

# Revista de Saúde Pública

---

# Journal of Public Health

## Importância do diagnóstico e tratamento da fenilcetonúria

### Diagnoses and treatment of phenylketonuria

Nádia VM de Mira\* e Ursula M Lanfer Marquez

*Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil*

# Importância do diagnóstico e tratamento da fenilcetonúria

## Diagnoses and treatment of phenylketonuria

Nádia VM de Mira\* e Ursula M Lanfer Marquez

Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil

### Descritores

Fenilcetonúria, diagnóstico.  
Dietoterapia. Diagnóstico diferencial. Necessidades nutricionais.

### Keywords

*Phenylketonuria. Diagnosis. Diet therapy. Diagnosis, differential. Nutritional requirements.*

### Resumo

A fenilcetonúria (PKU) é o mais comum dos erros congênitos do metabolismo de aminoácidos. Resulta da deficiência da fenilalanina hidroxilase, enzima que catalisa a conversão de fenilalanina em tirosina. A introdução de uma dieta com baixo teor de fenilalanina deve ter início nos primeiros meses de vida, de preferência no primeiro mês, para evitar o retardo mental, manifestação clínica mais severa da doença. Foi elaborada revisão sobre essa temática, que aborda desde a PKU clássica até a hiperfenilalaninemia branda, incluindo relato sobre a PKU materna e os efeitos da exposição do útero a altos níveis de fenilalanina sobre o feto.

### Abstract

*Phenylketonuria is the most common inborn error of amino acid metabolism. It is due to a deficiency of phenylalanine hydroxylase, which normally converts phenylalanine to tyrosine. A diet low in phenylalanine starting in the first month of life can significantly reduce mental retardation, the most important feature of the disease. The aim of the review is to discuss the difficulties found in the diagnosis of PKU and its variants, ranging from classic phenylketonuria to mild hyperphenylalaninaemia, and the effects of dietary restriction of phenylalanine on the growth and development of children. Also, we present the current controversies about the age of discontinuing the dietary treatment. This review summarizes the benefits and problems emerging from a prolonged therapy taking into account dietary compliance in different age groups, and discusses dietary alternatives to the synthetic amino acid mixtures free of phenylalanine, based on low phenylalanine protein hydrolysates. In addition, we show some information about the effects of maternal phenylketonuria on pregnancy outcome and infant development, if exposed to high phenylalanine levels intra uterineo.*

## INTRODUÇÃO

A hiperfenilalaninemia (HPA), nome genérico dado a elevados níveis de fenilalanina (Phe) no sangue, constitui uma desordem primária do sistema de hidroxilação da Phe, podendo ser causada pela deficiência da enzima hepática fenilalanina hidroxilase (PAH) ou das enzimas que sintetizam ou reduzem a coenzima tetrahydrobiopterina (BH<sub>4</sub>).<sup>17,22</sup>

Podem ser encontrados diferentes tipos de hiperfenilalaninemias, de acordo com o erro metabólico envolvido, formando um grupo heterogêneo de doenças, incluindo a fenilcetonúria (PKU) clássica e variações de hiperfenilalaninemias (HPAs), como a HPA persistente, a HPA branda e a PKU atípica.<sup>13,22,41</sup>

Nesse sentido, a presente revisão aborda as dificuldades em diagnosticar a fenilcetonúria e suas varian-

### Correspondência para/Correspondence to:

Nádia V. M. de Mira  
Av. Raimundo Pereira de Magalhães, 1720/103, Bloco 8  
05145-901 São Paulo, SP, Brasil  
E-mail: navalem@usp.br

Edição subvencionada pela Fapesp (Processo nº 100/01601-8)  
Recebido em 9/2/1999. Aprovado em 29/6/1999.

\*Aluna de pós-graduação em doutorado

tes; os efeitos da dietoterapia sobre o crescimento e desenvolvimento da criança; as controvérsias sobre a descontinuidade da dietoterapia; os benefícios e os problemas emergentes do tratamento prolongado nos diversos grupos etários; e dietas alternativas à mistura de aminoácidos sintéticos, à base de hidrolisados protéicos com baixo teor de fenilalanina.

## VARIANTES DA FENILCETONÚRIA (PKU)

Desde a década de 70, inúmeras variantes da PKU foram descobertas, exigindo freqüentemente exames laboratoriais adicionais que permitam uma perfeita diferenciação, para que o diagnóstico clínico e a prescrição do tratamento sejam adequados.

A PKU está relacionada com a deficiência da enzima fenilalanina hidroxilase (PAH), variando entre a completa ausência de atividade e 5% de atividade residual, associada respectivamente a altas concentrações de Phe no plasma ( $\geq 1.200 \mu\text{mol/L}$ ) e concentrações normais.<sup>20,36</sup>

As diferenças na capacidade de metabolização da fenilalanina deram origem a diversos estudos para classificar as variantes da PKU.<sup>13,31,33,36,39,41</sup>

Foram identificadas mais de 250 mutações da PAH, e a correlação dos genótipos da PAH e os fenótipos das HPAs/PKU têm sido reportados, ao menos parcialmente, como reflexo do grau de heterogeneidade étnica provida pelas imigrações.<sup>33</sup>

Burgard et al<sup>13</sup> (1996), na tentativa de estabelecer uma base molecular para explicar a variabilidade metabólica, observaram uma significativa correlação entre a atividade residual da enzima e os parâmetros de diagnóstico das hiperfenilalaninemias, por meio do isolamento do cDNA da PAH e da caracterização da maioria das mutações do gene.

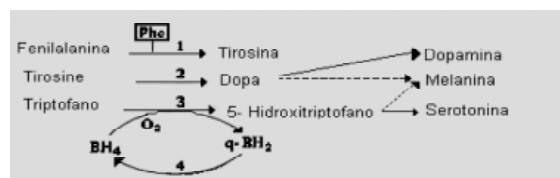
Em estudo realizado com 123 crianças com idade até 5 anos Güttler & Guldberg<sup>36</sup> (1996) estabeleceram que crianças que toleram menos que 250-350 mg Phe/dia para manter a concentração de Phe sanguínea em  $300 \mu\text{mol/L}$  são classificadas como tendo PKU clássica; crianças que toleram 350-400 mg Phe/dia como apresentando PKU moderada e as que toleram entre 400-600 mg Phe/dia como PKU branda. Já as crianças que conseguem manter os níveis de Phe sanguínea entre  $400-600 \mu\text{mol/L}$  com uma dieta normal, sem restrição de Phe, são classificadas como tendo HPA branda, demonstrando que a associação de cada tipo de mutação da atividade da PAH e seus genótipos está relacionada com a tolerância à Phe.

Uma outra forma para classificar a PKU se baseia nos teores de Phe plasmáticos. Valores iguais ou superiores a  $1.200 \mu\text{mol/L}$ , mudanças nos níveis de

tirosina, excreção de diversos metabólitos da Phe na urina, reduzida ou nenhuma atividade da PAH, aliados a uma dieta sem restrição, caracterizam a PKU clássica, a qual apresenta maior incidência entre as diversas variantes.<sup>31,39,41</sup>

As hiperfenilalaninemias, da mais severa até a mais branda, se caracterizam por uma variação da concentração sanguínea de Phe entre  $240-600 \mu\text{mol/L}$ , e a atividade da PAH costuma ser reduzida.<sup>41,58</sup>

A PKU atípica ou hiperfenilalaninemia não fenilcetonúrica (PKU-HPA) é uma desordem que ocorre devido a erros no metabolismo da coenzima tetrahydrobiopterina ( $\text{BH}_4$ ), cofator essencial na hidroxilação da Phe, aumentando indiretamente os níveis de Phe sanguínea.<sup>17,30,58</sup> A  $\text{BH}_4$  é também requerida pela tirosina hidroxilase e triptofano hidroxilase, enzimas que catalisam reações que precedem a síntese de neurotransmissores como a serotonina e catecolaminas (dopamina) (Figura).



**Figura** - Tetrahydrobiopterina ( $\text{BH}_4$ ) é dependente da hidroxilação de aminoácidos aromáticos, via fenilalanina-4-hidroxilase (1), tirosina-3-hidroxilase (2), e triptofano-5-hidroxilase (3). A dihydrobiopterina quinóide ( $\text{q-BH}_2$ ) formada é regenerada para  $\text{BH}_4$  por  $\text{NADH-BH}_2$  redutase dependente (4). Na PKU clássica, a enzima 1 é deficiente. O acúmulo de Phe inibe completamente as enzimas 2 e 3. Essa inibição e a deficiência de dopamina e serotonina resultantes podem ser causadas pela dieta pobre em Phe. Na deficiência congênita da  $\text{BH}_4$ , a enzima 4 ou uma das enzimas da biossíntese da biopterina é defeituosa. Então, nenhuma das enzimas 1-3 é ativada e a dieta pobre em Phe é terapêuticamente inefetiva; adaptado de Giugliani et al<sup>29</sup> (1983).

Essa variante faz com que uma pequena parcela de pacientes com deficiência da coenzima tetrahydrobiopterina ( $\text{BH}_4$ ) redutase ou da  $\text{BH}_4$  sintetase seja diagnosticada incorretamente com PKU clássica e submetida a tratamento clínico baseado nos níveis de Phe sanguíneos. Vários grupos de pesquisadores relatam que o tratamento inadequado faz com que o quadro neurológico e de retardo mental desses pacientes persista, ou mesmo se agrave, pois a dieta restrita em Phe não reverte os efeitos causados no sistema nervoso central pela deficiência dos neurotransmissores.<sup>22,29,30,58</sup>

O tratamento da PKU atípica consiste na administração simultânea de  $BH_4$ , 5-hidroxitriptofano, L-Dopa e inibidor de Dopa descarboxilase, que então permitem a penetração da  $BH_4$  no sistema nervoso central e a correção da biossíntese dos neurotransmissores.<sup>29,58</sup>

## FENILCETONÚRIA CLÁSSICA (PKU CLÁSSICA)

A fenilcetonúria ou PKU clássica é uma entre as 300 doenças hereditárias causadas por desordens nos processos bioquímicos celulares, sendo clinicamente a mais encontrada dentro do grupo de doenças envolvendo erros congênitos no metabolismo de aminoácidos. É uma desordem autossomal recessiva, causada pela deficiência da PAH, resultando na reduzida conversão de Phe em tirosina (Tyr).<sup>31,41,58</sup>

Pacientes com PKU clássica apresentam deficiência na pigmentação (cabelos e pele claros) devido à inibição completa da hidroxilação da tirosina pela tirosinase (primeira etapa na formação do pigmento melanina).<sup>17,41</sup> Eczemas, complicações neurológicas e ocasionalmente atividade autística, bem como transtornos de conduta, também podem se fazer presentes.<sup>58</sup>

Fenilactato, fenilacetato e fenilpiruvato, na presença da enzima PAH, não são encontrados em quantidade significativa na urina de pessoas normais, apresentando-se elevados na PKU. O acúmulo desses metabólitos anormais e de Phe no plasma têm graves consequências no sistema nervoso central, como falhas no andar ou falar, hiperatividade, tremor, microcefalia, falhas no crescimento e retardo mental, sendo essa última a manifestação clínica mais severa.<sup>31</sup>

O diagnóstico clínico da PKU clássica é bastante difícil. A criança é aparentemente normal durante os primeiros meses, surgindo apenas por volta do terceiro ao quarto mês o atraso no desenvolvimento, fazendo-a perder o interesse por tudo que a rodeia. As crianças tornam-se inquietas, irritadas e podem apresentar convulsões, além de outros sintomas. Portanto, fazem-se necessários exames em todos os recém-nascidos, normalmente realizados nas primeiras 24 horas de vida até no máximo sete dias após o nascimento.

O diagnóstico laboratorial para PKU clássica (concentração de Phe na circulação maior que 1.200  $\mu\text{mol/L}$ , acompanhada de concentração de tirosina menor que 118  $\mu\text{mol/L}$ ) deve ser confirmado após um período de 48 horas de vida, tempo suficiente para que o recém-nascido tenha mamado no peito ou na mamadeira.<sup>51</sup>

Têm sido muito utilizados dois métodos para determinar a concentração de Phe no sangue: teste de Guthrie-BIA (semiquantitativo) e o de McCaman e

Robins modificado (quantitativo). No entanto, os mesmos sofrem interferência, principalmente de antibióticos, resultando falsos negativos para o teste de Guthrie-BIA e falsos positivos para o de McCaman. Atualmente, a metodologia enzimática vem ganhando a preferência dos especialistas em programas de triagem neonatal, pois vem se apresentando mais precisa e de menor custo\*.

Diagnosticada a PKU, a criança recém-nascida deve ser prontamente submetida a uma dieta com teor controlado de Phe, visando a reduzir os níveis plasmáticos para uma concentração próxima à de crianças saudáveis (60-180  $\mu\text{mol/L}$ ).<sup>69</sup>

De imediato, sugere-se substitutos do leite materno com reduzido teor de Phe. A intenção da dieta pobre em Phe é fornecer ao organismo apenas quantidades imprescindíveis para a síntese de proteínas, regeneração e crescimento normal da criança.

A necessidade do controle da dieta e dos níveis de Phe é bem estabelecida na infância. A interrupção prematura do tratamento põe em risco as funções cognitiva e emocional, incluindo perda de QI, dificuldade de aprendizado, ansiedade, distúrbios de personalidade e anormalidade de raciocínio.

No primeiro ano de vida, a necessidade de fenilalanina é relativamente elevada devido ao rápido crescimento da criança (50% da fenilalanina ingerida por uma criança normal de um ano de idade é utilizada na síntese protéica, caindo para 20% na criança em idade escolar).

As recomendações da manutenção da concentração de Phe no plasma em diferentes idades, compatível com melhor desenvolvimento intelectual e psicomotor, otimizando o crescimento físico, mental, emocional e intelectual da criança, têm sofrido mudanças de acordo com a ampliação do conhecimento clínico e científico. Clark,<sup>20</sup> 1992, sugere que nos primeiros dois anos de vida a concentração de Phe no plasma seja mantida entre 120  $\mu\text{mol/L}$  e 300  $\mu\text{mol/L}$ , podendo atingir 480  $\mu\text{mol/L}$  entre as idades de 2 a 10 anos, enquanto em Cechák et al<sup>16</sup> (1996) as recomendações são de 120-360  $\mu\text{mol/L}$  para crianças na faixa etária de 0-10 anos, menor que 900  $\mu\text{mol/L}$  entre 10 a 15 anos e, acima dessa idade,  $\leq 900 \mu\text{mol/L}$ .

O cardápio da criança com PKU é restrito a alimentos com teor reduzido e conhecido de Phe, e o controle da dieta, que é relativamente fácil nos primeiros anos de vida, pode tornar-se de difícil execução a partir da idade escolar. Geralmente o abandono ou relaxamento da dieta ocorre na adolescência, quando surgem as crises de desenvolvimento, próprias da puberdade.

\* <http://www.intercintifica.com.br/p-fenil.htm>, consultada em 18/03/1999.

Diversas razões contribuem para essa descontinuidade, como: 1) pressões sociais que dificultam a integração do indivíduo com PKU na sociedade, 2) disponibilidade de tempo para adequar-se à dietoterapia; 3) limitação financeira devido ao elevado custo dos alimentos especiais, 4) independência familiar, 5) desconhecimento dos teores de Phe nos alimentos, 6) falta de produtos com teores reduzidos de Phe que possam suprir as necessidades nutricionais, e 7) desconhecimento das implicações dieta-doença.<sup>54</sup>

Por outro lado, a literatura é rica na apresentação de estudos confirmando a necessidade de haver controle rigoroso e prolongado da dieta até, no mínimo, a adolescência, relatados a seguir.

Foram estudados por Weglage et al<sup>75</sup> (1996) os aspectos psicológicos de dois grupos de pacientes fenilcetonúricos: grupo I formado por crianças com 10 anos de idade e grupo II composto por adolescentes com idade média de 15 anos, ambos com dietoterapia iniciada logo nas primeiras semanas de vida. Os pesquisadores reportam grau normal de inteligência nos dois grupos. No entanto, o grupo I não apresentou desajustes emocionais e de conduta, enquanto o grupo II mostrou diferença significativa quanto ao contexto psicológico e social, demonstrando menor autonomia e maior dependência de adultos, baixa tolerância a frustrações, introversão, pouca satisfação com a vida e grande excitabilidade emocional. Os dados observados foram atribuídos ao relaxamento no controle da dieta, verificado a partir do início da adolescência.

Schmidt et al<sup>66</sup> (1996) estudaram os efeitos dos níveis de Phe sanguíneo sobre a capacidade da criança e do adulto fenilcetonúrico de realizar cálculos com rapidez e de fixar a atenção. Observaram que crianças que possuem um bom controle da dieta, mantendo um baixo nível de Phe sanguíneo, apresentaram melhor "performance" e funções neuropsicológicas normais. Por outro lado, um reduzido controle na dieta, por um período prolongado, fez com que crianças e adultos com PKU exibissem deficiências neuropsicológicas e apresentassem dificuldade na reintrodução do tratamento.

Em outro estudo com crianças fenilcetonúricas, com idades entre 0 a 12 anos, foi observada a correlação entre o controle dos níveis de Phe sanguíneo e os escores de inteligência, leitura, fala e testes de conduta. As crianças com controle pouco rigoroso da dieta apresentaram diminuição acentuada do QI quando comparadas com aquelas que não relaxaram a dieta. Das crianças estudadas, o grupo etário de 8 a 10 anos mostrou ser o mais prejudicado, com um tratamento pouco rigoroso, pois o controle dos níveis plasmáticos de Phe quando iniciado após a idade pré-escolar já não contribui para a melhoria do QI.<sup>7,14,62</sup>

Adolescentes fenilcetonúricos com idades entre 15 a 19 anos que abandonaram a dieta precocemente geralmente apresentam níveis de Phe entre 1300 mmol/L a 1.500  $\mu$ mol/L, tendo como conseqüências mais frequentes complicações no desenvolvimento emocional, baixa performance escolar e intelectual.<sup>79</sup>

Koch et al<sup>43</sup> (1996) avaliaram 43 adultos identificados com PKU clássica desde o nascimento e tratados com dieta restrita em Phe. Observou-se que os indivíduos que seguem com severidade a dietoterapia apresentam melhor percepção, são mais estáveis emocionalmente, possuem maior energia, maior desenvolvimento intelectual e maior maturidade social.

Apesar das pesquisas já realizadas, que apontam para uma continuidade da dieta por toda a vida adulta, essa somente é bem estabelecida para mulheres fenilcetonúricas, devido à síndrome conhecida por PKU-maternal,<sup>23</sup> que será referida mais adiante. Para os demais casos, o efeito do relaxamento é controverso.

Os principais argumentos a favor da continuidade são as complicações neurológicas como tremor ou epilepsia, deterioração da função cognitiva e melhoria da performance intelectual, conforme estudos realizados por Brenton et al<sup>10</sup> (1996). A continuidade da dietoterapia requer uma considerável autodisciplina, que pode tornar-se estressante.

Tendo em vista as dificuldades mencionadas, o maior objetivo é encorajar e educar primeiramente a família, orientando sobre a importância da manutenção da dieta, ainda que a decisão da dieta prolongada no adolescente deva ser individual, devendo o término ou relaxamento ser monitorado por profissionais capacitados.<sup>39</sup>

## INCIDÊNCIA DA PKU/HPA

A PKU ocorre em todos os grupos étnicos e, devido à grande variabilidade genética, a incidência em recém-nascidos pode variar de 1:2.600 até 1:26.000, sendo a média de 1:10.000.<sup>68</sup>

Na Europa Ocidental, a freqüência da doença é em média de 1:8.000 recém-nascidos, apesar de grandes diferenças entre os vários países.<sup>71</sup> Nos Países Baixos, a incidência foi calculada em 1:18.000 no período de 1974 a 1989.<sup>71</sup> No Reino Unido a incidência é de 1:10.000,<sup>20</sup> enquanto na Irlanda é duas vezes maior, afetando 1 em 4.000 recém nascidos.<sup>76</sup>

A incidência de PKU também pode sofrer variações geográficas dentro de um mesmo país. Na Espanha, por exemplo, a incidência é de 1:7.000 na área central, 1:13.000 nas regiões de Cantabria e Castilha de León e 1:25.254 na região da Gálícia.<sup>35</sup>

Na Áustria, o “Programa de proteção para recém-nascidos com erros no metabolismo” registrou no período de março de 1966 a setembro de 1994 307 casos, dentre os quais 249 com PKU (incidência de 1:9.622) e 58 com HPA (incidência de 1:41.309).<sup>63</sup>

Na Hungria, país com 10 milhões de habitantes, no qual existem dois centros para PKU, foram registrados pelo Centro de proteção à PKU” em Budapeste, durante o período de 1975 a 1994, 160 casos de PKU clássica, o que corresponde a uma incidência de 1:9.000, entre um total de 1,5 milhões de recém-nascidos.<sup>67</sup>

Cabalska et al<sup>15</sup> (1996) reportam que a ocorrência de PKU clássica na população da Polônia é 1:8.000, enquanto que para HPA é 1:40.000. Já na Turquia, a incidência de PKU é de 1:4.370 e de HPA de 1:8.971 recém-nascidos.<sup>34</sup>

No Brasil, Schmidt et al<sup>65</sup> (1987) estimam que na cidade de São Paulo 1:12.000 a 1:15.000 recém-nascidos são portadores de PKU, com base em levantamento realizado em postos de saúde e berçários. Já na região sul do país, Jardim et al<sup>40</sup> (1996) reportam que a razão é de 1:12.500, não sendo registrados os casos de HPA.

## FENILCETONÚRIA MATERNAL (PKU-MATERNAL)

Na PKU-maternal, a elevada concentração de Phe circulante na mãe produz uma síndrome clínica característica no feto. Estudos levantam a hipótese de que, supostamente, os altos níveis de Phe sanguíneo provocam uma inibição no transporte competitivo de outros aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina) para dentro da placenta, acarretando deficiência de tirosina, que pode ser a responsável pela patogênese dessa síndrome.<sup>45</sup>

O elevado nível de Phe no plasma da mãe faz com que o nível de Phe no embrião seja ainda superior, devido ao gradiente positivo transplacentar, causando a PKU embrionária na maioria dos bebês de mães fenilcetonúricas, resultando em dano cerebral antes do nascimento e tendo quadro clínico irreversível.<sup>21,34,41</sup>

Como consequência do alto nível de Phe no sangue de mães fenilcetonúricas, a ocorrência na prole é de 92% de retardo mental, 73% de microcefalia, 15% de risco de doenças congênitas do coração e 40-52% apresentam ao nascer, peso abaixo do normal.<sup>21,40,42,72</sup>

Mulheres fenilcetonúricas devem ser alertadas e educadas sobre essas implicações, devendo receber dietas especiais, pobres em Phe, antes e principalmente durante a gravidez.<sup>41</sup> A dietoterapia, o controle dos níveis plasmáticos de Phe e a suplementação protéica isenta de Phe são muito importantes nessas gestações.

Existem evidências de que a PKU-maternal é fator teratogênico que pode ser prevenido ou modificado pela dietoterapia que controla os níveis de Phe plasmática, especialmente se o tratamento for iniciado antes da concepção ou durante as primeiras semanas do primeiro trimestre da gestação.<sup>47,48</sup>

Os efeitos deletérios sobre o feto diminuem quando os níveis de Phe no plasma da mãe são mantidos entre 120-400 µmol/L. Níveis acima de 400 µmol/L estão associados com baixo peso do recém-nascido e ligeiro abaixamento de QI.<sup>47,76</sup>

O início do tratamento a partir do segundo ou terceiro trimestre de gestação pode não ter o efeito esperado, a criança pode vir apresentar baixo peso, microcefalia, aumento do risco de doenças cardíacas congênitas, e o retardo mental costuma ser inevitável.<sup>11,18,42,72</sup>

Assim, não devem ser poupados esforços para que mulheres portadoras de HPAs sejam diagnosticadas antes da concepção, para que a gravidez seja assistida corretamente.<sup>40</sup>

A ocorrência dos danos causados à prole de mães com HPA branda ou HPA persistente é muito menor quando comparada com a prole de mães portadoras de PKU clássica sem tratamento (20% das crianças apresentam retardo mental, contra 92%, respectivamente), e não há ocorrência de doenças cardíacas congênitas superior à da população normal.<sup>48</sup>

Os aspectos sociais e psicológicos têm papel importante na educação dessas mulheres. São necessários programas de orientação realizados por profissionais da saúde para prover as mulheres fenilcetonúricas do conhecimento da sua doença, suas implicações sobre o feto, a importância da decisão de reprodução e conscientização da necessidade de iniciar o tratamento clínico apropriado.

A gravidez na mulher com PKU é uma experiência estressante, difícil de enfrentar. Os altos níveis de Phe são mais comuns no primeiro trimestre, no qual a tolerância à dieta é menor devido às náuseas e vômitos serem mais frequentes.

Nos Estados Unidos, documentos reportam a baixa disposição das mulheres fenilcetonúricas à dietoterapia, devido à dieta ser altamente restritiva, permitindo somente quantidades controladas de frutas, legumes e grãos e requerendo o consumo de fórmulas especiais não palatáveis para muitas das mulheres.<sup>72</sup>

Portanto, necessitam ter a sensação confortável de expor o assunto e a segurança de que receberão suporte adequado, como supervisão da dieta e frequente doseamento dos níveis de Phe sérica durante a gravidez.<sup>11</sup>

## NECESSIDADES NUTRICIONAIS DOS FENILCETONÚRICOS

O tratamento da PKU é baseado numa dieta com baixo teor de Phe, na qual alimentos de origem animal são pouco utilizados, resultando em baixa ingestão de proteínas de alto valor biológico, similar a uma dieta vegetariana. Essa alimentação é geralmente acrescida de um alimento medicinal contendo uma mistura de aminoácidos livres que provém 50-90% de equivalentes de proteínas, 90-100% de vitaminas e de elementos-traços e 50-70% de energia.<sup>9,12</sup> Aproximadamente 75-95% das necessidades protéicas são cobertas por esses alimentos medicinais.

A quantidade de fenilalanina (Phe) que pode ser ingerida depende dos níveis de Phe no plasma, da atividade da PAH e da tolerância à Phe, que podem variar de indivíduo para indivíduo.<sup>55,59</sup>

Por falta de maiores estudos, os requerimentos protéicos para os fenilcetonúricos seguem as recomendações propostas pela FAO/WHO,<sup>19,55,60</sup> considerando-se a necessidade de ingestão de proteína igual à de indivíduos saudáveis.

No entanto, têm-se demonstrado que o requerimento de energia de bebês fenilcetonúricos, alimentados com essas misturas de aminoácidos livres, é 25% superior aos valores estimados para crianças saudáveis.<sup>1</sup> Ao contrário das proteínas alimentares que são digeridas lentamente, essas misturas saturam o organismo com altas concentrações de aminoácidos, aumentam a competição nos sítios de transporte e diminuem a eficiência de absorção intestinal.<sup>61</sup>

Sabe-se também que a concentração individual de cada aminoácido dessas misturas nem sempre está de acordo com as recomendações de ingestão estabelecidas pela FAO/WHO. Krauch et al<sup>44</sup> (1996) avaliaram a composição de algumas misturas de aminoácidos sintéticos, isentas de Phe, verificando que a ingestão sugerida fornecia quantidade de aminoácidos essenciais inferior à recomendada pela FAO/WHO para bebês de 3 a 10 meses. Nas formulações para crianças com 3 anos de idade, os aminoácidos valina, isoleucina e lisina estavam presentes nessas misturas em concentrações duas a três vezes acima das recomendadas. Para crianças com idade de 8 a 12 anos, os mesmos aminoácidos (valina, isoleucina e lisina) excederam em 217%, 229% e 291%, respectivamente, as recomendações da FAO/WHO.

A baixa ingestão de proteínas de alto valor biológico e a predominância de alimentos de origem vegetal contendo fibras, fitatos, oxalatos e taninos, entre outros fatores, repercute diretamente na redução da

biodisponibilidade de nutrientes como ferro, zinco, cálcio, selênio, vitaminas A, complexo B, D, entre outros.<sup>2,32</sup>

O zinco (Zn) é essencial para a função de mais de 70 enzimas diferentes e tem seu requerimento aumentado durante a adolescência, devido ao crescimento do esqueleto e do tecido muscular. Assim, a biodisponibilidade do Zn é influenciada pela dieta rica em fibra e ácido fítico, pela presença de hemiceluloses, que aumentam a excreção de Zn fecal, por dietas ricas em ácidos graxos polinsaturados, pelo excesso de aminoácidos livres e pelas interações entre Zn/Fe, Zn/Ca e Zn/P.

Pesquisa realizada por Hillman et al<sup>38</sup> (1996) em 11 crianças fenilcetonúricas mostra um decréscimo da densidade mineral óssea na espinha lombar e extremidades menores, e discute se a menor concentração de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) séricos de crianças com PKU é devida ao tratamento e processo da doença ou à reduzida biodisponibilidade mineral.

As necessidades de Fe aumentam na adolescência devido à demanda da expansão de massa muscular e volume sanguíneo.<sup>39</sup>

Na Alemanha, Lombeck et al<sup>49</sup> (1996), investigando a quantidade de selênio (Se) em 87 pacientes com PKU, verificaram que os valores de Se e a atividade da glutathione peroxidase no plasma e eritrócitos foram bem menores, quando comparados com os de crianças saudáveis. Nutrientes ricos em Se estão ligados a carnes, frutos do mar, ovos e alguns grãos, que não fazem parte da alimentação dos fenilcetonúricos devido ao alto teor de Phe. Conseqüentemente, a quantidade de Se diminui nos pacientes após o início da dietoterapia, reduzindo a atividade da glutathione peroxidase no eritrócito.

Deficiência de vitamina B<sub>12</sub> também foi observada em adolescentes e adultos com PKU.<sup>6,37</sup> A vitamina B<sub>12</sub> é essencial para o crescimento dos tecidos, havendo maior necessidade durante a adolescência. A sua deficiência se manifesta por anemia megaloblástica e distúrbios neurológicos. As maiores fontes dessa vitamina são carnes, fígado, peixe, ovos, leite e derivados. Cereais, legumes e frutas não contêm vitamina B<sub>12</sub>. Logo, portadores de PKU têm grande propensão a essa deficiência, devido ao tratamento alimentar.

Aung et al<sup>6</sup> (1997) observaram dois casos de jovens com PKU, que apresentaram anemia megaloblástica, e sugerem a suplementação oral dessa vitamina, bem como avaliação hematológica.

Observa-se também que, devido à reduzida ingestão de proteínas animais, crianças com PKU têm como conseqüência baixa ingestão de ácidos graxos

polinsaturados de cadeia longa, como ácido araquidônico, ácido eicosapentaenóico e ácido docosahexaenóico, encontrados somente em alimentos de origem animal. Esses ácidos graxos estão ligados quase que exclusivamente à síntese endógena de precursores como o ácido linoleico e  $\alpha$ -linolênico. A redução ou não ingestão desses ácidos graxos faz com que esse mecanismo de síntese seja inadequado às necessidades fisiológicas das células e tecidos e tem por conseqüência implicações nas respostas inflamatórias, coagulativas e vasoativas, bem como sobre os processos homeostáticos.<sup>28</sup>

## TRATAMENTO DA PKU

O tratamento, até o momento, é realizado exclusivamente por meio de uma alimentação restrita em Phe, suprindo-se, geralmente, as necessidades protéicas pelas misturas de aminoácidos livres, isentas de Phe, comentadas anteriormente. Uma alternativa são os hidrolisados protéicos isentos ou com baixo teor de fenilalanina.

A dietoterapia da PKU é complexa, de longa duração, e requer muitas mudanças nas ações por parte do paciente e de sua família. O sucesso do tratamento por longo tempo, como de qualquer doença crônica, depende exclusivamente da disponibilidade do paciente em seguir as recomendações médicas prescritas.<sup>59</sup>

A dificuldade desse tipo de dietoterapia tem estimulado pesquisas que visam ao desenvolvimento de tratamentos baseados na transferência de genes somáticos.<sup>23</sup> Até o momento, a maior dificuldade é a obtenção de um vetor que possa transferir eficientemente o cDNA da proteína funcional da PAH para dentro dos hepatócitos ou outra célula somática onde a enzima possa exercer a sua função. As pesquisas nessa direção estão abrindo um novo capítulo no estudo da PKU.

### Misturas de aminoácidos livres

As fórmulas encontradas disponíveis no mercado para tratamento da fenilcetonúria, como já comentado anteriormente, são constituídas de misturas de aminoácidos sintéticos, isentas de Phe, podendo ser acrescidas de carboidratos, gorduras, minerais, vitaminas e elementos-traço para suprir as necessidades nutricionais de diversas faixas etárias. Essas misturas comerciais, apesar de serem equilibradas em termos de carboidratos, lípides e energia, são isentas de proteínas, tendo como fonte de nitrogênio exclusivamente aminoácidos livres.

Do ponto de vista sensorial, essas misturas possuem odor e paladar desagradáveis e a sua ingestão, que deveria ocorrer em pequenas porções durante o decorrer do dia, freqüentemente é feita de uma só vez, com prejuízo na utilização biológica e com aumento da

metabolização dos aminoácidos por via oxidativa.<sup>12,70</sup> O consumo diário dos aminoácidos requeridos, em dose única, pode resultar em náuseas, vômitos, tonturas e diarreia, mudanças na excreção de nitrogênio e metabolismo catabólico, diminuindo as taxas de glicose e lactato e aumentando os níveis de insulina no sangue.<sup>55</sup> As misturas de aminoácidos sintéticos também são indesejáveis do ponto de vista do equilíbrio osmótico, pois causam hiperosmolaridade no trato gastrointestinal, resultando em absorção ineficiente pelo organismo.

Diversas formulações estão disponíveis no mercado. Há produtos fabricados que incluem o Lofenalac (com alto teor calórico), Phenyl-free (reduzido teor calórico), PKU-1, PKU-2 e PKU-3 (sem adição de gordura e teor reduzido de carboidratos, formulados para faixas etárias específicas).<sup>39,52</sup> Outros, como XP Analog, XP Maxamaid e XP Maxamum, contêm 5 mg de Phe ou menos, sendo que o XP Maxamaid e XP Maxamum não contêm lipídeos.<sup>73</sup>

Apesar desses produtos oferecerem facilidade na prescrição e distribuição aos pacientes, eles resultam em uma dieta dispendiosa, monótona e pouco palatável. O reconhecimento desses problemas faz com que países como a Inglaterra e os Estados Unidos recomendem investimentos em pesquisa e tecnologia para desenvolvimento de novos produtos de melhor aceitação.<sup>59</sup>

Buist et al<sup>12</sup> (1994) testaram e desenvolveram durante 6 anos uma nova mistura de aminoácidos, procurando melhorá-la nutricionalmente e conferir-lhe propriedades organolépticas que aumentassem sua aceitação. A nova mistura mostrou boa aceitabilidade quando incorporada a outros alimentos, não causando alteração do sabor, mas foi inferior quando comparada com outras misturas no controle dos níveis de Phe no plasma, pelo fato dos demais ingredientes não serem isentos de Phe.

Como alternativa à alimentação com as misturas de aminoácidos, podem ser utilizados hidrolisados protéicos, (incorporados ou não a outros alimentos) para tratamento clínico de pacientes com desordens específicas na digestão, absorção e metabolismo de aminoácidos, pois prevêm algumas vantagens, como menor custo e maior facilidade na administração.<sup>8,24</sup>

### Hidrolisados protéicos

Hidrolisados protéicos são produtos (fontes de nitrogênio) designados primeiramente para uso nutricional de indivíduos que apresentam necessidades nutricionais e/ou fisiológicas não cobertas pela alimentação convencional.<sup>64</sup> A hidrólise de proteínas alimentares pode melhorar as características nutricionais da proteína, aumentar sua vida de prateleira e conferir melhorias nas propriedades organolépticas devido à remo-



ção de odores e ingredientes tóxicos ou inibitórios.<sup>46</sup>

Os hidrolisados geralmente são destinados a três grandes grupos: (1) formulações infantis para crianças que apresentam alergia à proteína intacta ou erro no metabolismo, como a PKU e a fibrose cística; (2) formulações especiais para adultos com função gastrointestinal prejudicada ou doenças em órgãos específicos; e (3) suplementos nutricionais para facilitar a assimilação do nitrogênio.<sup>53</sup> Os mesmos podem ser obtidos a partir da hidrólise enzimática, alcalina ou ácida da proteína. As hidrólises ácida e alcalina constituem métodos químicos drásticos para produção de hidrolisados nutricionais. Hidrolisam a ligação peptídica em pontos inespecíficos, fornecem um perfil de aminoácidos e peptídeos variável e causam racemização parcial dos aminoácidos, podendo formar ainda substâncias tóxicas. Já a hidrólise enzimática é preferível a esses rigorosos métodos químicos, pois fornece uma proporção fixa entre aminoácidos e pequenos peptídeos de composição bem definida.<sup>46</sup>

Arai et al<sup>5</sup> (1988) estudaram as propriedades físico-químicas de hidrolisados para fins de alimentação de pacientes portadores de PKU. Observaram que os hidrolisados diminuem em 50% a pressão osmótica causada por misturas de aminoácidos, solucionando em grande parte o problema da hipertonicidade.

### Hidrolisados protéicos com baixo teor de Phe

Nos anos 70, iniciou-se no Japão a investigação sobre a possibilidade de produção de hidrolisados protéicos com baixo teor de Phe.<sup>25-27,77,78</sup> Procurou-se obter concentrados protéicos inodoros, sem cor e sem sabor a partir de proteínas de soja e de peixe, através da proteólise enzimática.

Nesse processo são utilizadas comumente no mínimo duas enzimas, uma das quais com especificidade para aminoácidos aromáticos (pepsina, carboxipeptidases) e

uma outra com especificidade reduzida, agindo sobre a maioria das ligações peptídicas, como papaína e proteases de diversas origens.

Diversos laboratórios produziram peptídeos com baixo teor de Phe em escala laboratorial, alguns em escala piloto, por processos que consistiram de duas etapas: (1) liberação da fenilalanina do material protéico; e (2) remoção da fenilalanina liberada. A remoção da Phe foi realizada segundo técnicas e procedimentos diferenciados, como: uso de carbono ativado, peneira molecular, cromatografia de troca iônica, bioreator com células imobilizadas de *Rhodotorula glutinis*, ou por filme de membrana líquida (pertração). A escolha do procedimento deve considerar a relação custos vs eficiência.<sup>3,4,50,56,57,74</sup>

Se o hidrolisado protéico assim obtido ainda apresentar características organolépticas indesejáveis, recomenda-se a realização da reação de plasteína, que consiste na condensação peptídeo-peptídeo, útil para a remoção do paladar amargo e para a incorporação de tirosina e triptofano, parcialmente perdidos durante a hidrólise enzimática.<sup>25-27,56,77,78</sup> Esses dois aminoácidos, liberados juntamente com a Phe, são importantes, pois são aminoácidos essenciais. Os produtos resultantes da reação de plasteína formam géis trixotrópicos ou soluções trixotrópicas viscosas, dependendo da concentração, e são estáveis numa ampla faixa de pH e de temperatura, no mínimo entre 0-70°C.

As propriedades físicas desses produtos são de utilidade na indústria alimentícia no preparo de sobremesas e outros produtos de grande aceitação pelas crianças. São nutritivos, de baixo teor calórico, incolores, praticamente inodoros e constituem uma base adequada para adição de sabores, aromas e nutrientes.

Portanto, até o momento, hidrólises enzimáticas parecem ser uma boa alternativa para preparação de produtos com reduzido teor em fenilalanina.

### REFERÊNCIAS

1. Acosta PB. Recommendations for protein and energy intakes by patients with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S121-4.
2. Acosta PB. Nutrition studies in treated infants and children with phenylketonuria: vitamins, minerals, trace elements. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S136-9.
3. Adachi S, Kimura Y, Murakami K, Matsuno R, Yokogoshi. Separation of peptide groups with definite characteristics from enzymatic protein hydrolysate. *Agric Biol Chem* 1991;45:925-32.
4. Arai S, Maeda A, Matsumura M, Hirao N, Watanabe M. Enlarged scale production of a low-phenylalanine peptide substance as a foodstuff for patients with phenylketonuria. *Agr Biol Chem* 1986;50:2929-31.
5. Arai S, Maeda A, Watanabe M. Physicochemical properties of a low phenylalanine peptide substance as a foodstuff for patients with phenylketonuria. *Agric Biol Chem* 1988;52:287-8.
6. Aung TT, Klined A, Mcginn T. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in the adult phenylketonuric patient. *J Inher Metab Dis* 1997;20:603-4.
7. Azen C, Koch R, Friedman E, Wenz E, Fishler K. Summary of findings from the United States Collaborative Study of children treated for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S29-32.
8. Bautista J, Hernandez-Pinzon I, Alaiz M, Parrado J, Millan F. Low molecular weight sunflower protein hydrolysate with low concentration in aromatic amino acids. *J Agric Food Chem* 1996;44:967-71.

9. Bremer HJ, Anninos A, Schulz B. Amino acid composition of food products used in the treatment of patients with disorders of the amino acid and protein metabolism. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S108-14.
10. Brenton DP, Tam AC, Cabrera-Abreu JC, Lilburn M. Phenylketonuria: treatment in adolescence and adult life. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S93-6.
11. Brenton DP, Lilburn M. Maternal phenylketonuria: a study from the United Kingdom. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S177-80.
12. Buist NRM, Prince AP, Huntington KL, Tuerck JM, Waggoner DD. A new amino acid mixture permits new approaches to the treatment of phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl* 1994;407:75-7.
13. Burgard P, Rup A, Konecki DS, Trefz FK, Schmitt H, Lichter-Konecki U. Phenylalanine hydroxylase genotypes, predicted residual enzyme activity and phenotypic parameters of diagnosis and treatment of phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S11-5.
14. Burgard P, Schmidt E, Rup A, Schneider W, Bremer HJ. Intellectual development of the patients of the German collaborative study of children treated for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S33-8.
15. Cabalska MB, Nowaczewska I, Sendek E, Zorska K. Longitudinal study on early diagnosis and treatment of phenylketonuria in Poland. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S53-5.
16. Cechák P, Hejčmanová L, Rup A. Long-term follow-up of patients treated for phenylketonuria (PKU). Results from the Prague PKU Center. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S59-63.
17. Champe PC, Harvey RA. Metabolic defects in amino acid metabolism. In: Champe PC, Harvey RA. *Biochemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: JB Lippincott; 1994. p. 253-5. (Lippincott's illustrated reviews).
18. Cipic-Schmidt S, Trefz FK, Fünders B, Seidlitz G, Ullrich K. German maternal phenylketonuria study. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S173-6.
19. Cockburn F, Clark BJ. Recommendations for protein and energy intakes by patients with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S125-9.
20. Clark BJ. Dietary management for the child phenylketonuria. *Eur J Clin Nutr* 1992;46 Suppl 1:S532-9.
21. Davidson DC. Maternal phenylketonuria. *Postgrad Med J* 1989;65 Suppl 2:S10-20.
22. Dutra JC, Weimer TA, Giugliani R, Netto CA. Heterozygote detection in two hyperphenylalaninemia types: classic phenylketonuria and dihydrobiopterin biosynthesis deficiency. *Rev Brasil Genet* 1986;9:123-31.
23. Eisensmith RC, Woo SLC. Gene therapy for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S16-9.
24. Freitas O, Padovan GJ, Vilela L, Santos JE, Oliveira JED, Greene LJ. Characterization of protein hydrolysates prepared for enteral nutrition. *J Agric Food Chem* 1993;41:1432-8.
25. Fujimaki M, Yamashita M, Arai S, Kato H. Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. Part I. Enzymic proteolysis and plastein synthesis application for preparing bland protein-like substances. *Agric Biol Chem* 1970;34:1325-32.
26. Fujimaki M, Utaka K, Yamashita M, Arai S. Production of higher-quality plastein from a crude single-cell protein. *Agric Biol Chem* 1973;37:2303-12.
27. Fujimaki M. Nutritional improvement of food proteins by enzymatic modification, specially by plastein synthesis reaction. *Ann Nutr Alim* 1978;32:233-41.
28. Giovannini M, Agostini C, Biasucci G, Rottoli A, Trojan S, Riva E. Fatty acid metabolism in phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S132-5.
29. Giugliani R, Costa JC, Dutra-Filho CS, Niederwieser A. Tetrahydrobiopterin deficiency in two patients with phenylketonuria who did not respond adequately to dietary treatment. *Rev Bras Genet* 1983;6:557-64.
30. Giugliani R, Costa JC, Dutra-Filho CS, Dutra JC, Pereira MLS, Niederwieser A. Successful therapy of hyperphenylalaninemia due to defective tetrahydrobiopterin metabolism in two siblings. *Rev Bras Genet* 1986;9:685-92.
31. Greve LC, Wheeler MD, Green-Burgeson DK, Zorn EM. Breast-feeding in the management of the newborn with phenylketonuria: a practical approach to dietary therapy. *J Am Diet Assoc* 1994;94:305-9.
32. Gropper SS, Acosta PB, Clarke-Sheehan N, Wenz E, Koch R. Trace element status of children with PKU and normal children. *J Am Diet Assoc* 1988;88:459-65.
33. Guldberg P, Levy HL, Hanley WB, Koch R, Matalon R, Rouse BM, et al. Phenylalanine hydroxylase gene mutations in the United States: report from the Maternal PKU Collaborative Study. *Am J Hum Genet* 1996;59:84-94.
34. Gungor N, Aysegüi T, Turgay C, Özgüç M, Özalp I. Microcephaly in a hyperphenylalaninemic infant leading to the diagnosis of maternal hyperphenylalaninemia. *Eur J Pediatr* 1996;155:257-8.
35. Gutiérrez-García E, García BB, Roselli AD, González IM, Domínguez JM, Rodríguez PE. Estudio de prevalencia de fenilcetonúria en una muestra de niños com retraso mental. *Rev Cubana Pediatr* 1989;61:94-8.
36. Guttler F, Guldberg P. The influence of mutations on enzyme activity and phenylalanine tolerance in phenylalanine hydroxylase deficiency. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S6-10.
37. Hanley WB, Feigenbaum ASJ, Clarke JTR, Schoonheydt WE, Austin VJ. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in adolescents and young adults with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S145-7.
38. Hillman L, Schlotzhauer C, Lee D, Grasela J, Witter S, Allen S, Hillman R. Decreased bone mineralization in children with phenylketonuria under treatment. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S148-52.
39. Hunt MM, Berry HK, White PP. Phenylketonuria, adolescence, and diet. *J Am Diet Assoc* 1985;85:1328-34.
40. Jardim LB, Palma-Dias R, Silva LCS, Ashton-Prolla P, Giugliani R. Maternal hyperphenylalaninemia as a cause of microcephaly and mental retardation. *Acta Paediatr* 1996;85:943-6.
41. Koch R, Wenz E. Phenylketonuria. *Ann Rev Nutr* 1987;7:117-35.

42. Koch R, Levy H, Hanley W, Matalon R, Rouse B, Trefz F, de la Cruz F. Outcome implications of the International Maternal Phenylketonuria Collaborative Study (MPKUCS): 1994. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S162-4.
43. Koch R, Azen C, Friedman EG, Fishler K, Baumann-Friischling C, Lin T. Care of the adult with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S90-2.
44. Krauch G, Müller E, Anninos A, Bremer HJ. Comparison of the protein quality of dietetically treated phenylketonuria patients with the recommendations of the WHO Expert Consultation. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S153-7.
45. Kudo Y, Boyd CAR. Placental tyrosine transport and maternal phenylketonuria. *Acta Paediatr* 1996;85:109-10.
46. Lahl WJ, Braun SD. Enzymatic production of protein hydrolysates for food use. *Food Technol* 1994;48(10):68-71.
47. Levy HL, Waisbren SE, Lobbregt D, Allred E, Leviton A, Koch R, et al. Maternal non-phenylketonuric mild hyperphenylalaninemia. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S20-5.
48. Levy HL, Ghavami M. Maternal phenylketonuria: a metabolic teratogen. *Teratology* 1996;53:176-84.
49. Lombeck I, Jochum F, Terwolbeck K. Selenium status in infants and children with phenylketonuria and in maternal phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S140-4.
50. Lopez-Bajonero LJ, Lara-Calderon O, Galvez-Mariscal A, Velásquez-Arellano A, Lopez-Munguia A. Enzymatic production of a low-phenylalanine product from skim milk powder and caseinate. *J Food Sci* 1991;56:938-42.
51. Mabry CC. Phenylketonuria: contemporary screening and diagnosis. *Ann Clin Lab Sci* 1990;20:393-7.
52. McCabe ER, Nord AM, Ernest A, McCabe L. Evaluation of a phenylalanine-free product for treatment of phenylketonuria. *Am J Dis Child* 1987;141:1327-9.
53. Mahmoud MI. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products. *Food Technol* 1994;48(10):89-95.
54. Marquez UML. Fenilcetonúria: aspectos bioquímicos, nutricionais e importância da alimentação. *Cad Nutr* 1996;11:51-68.
55. Mönch E, Herrmann ME, Brösicke H, Schöffner A, Keller M. Utilisation of amino acid mixtures in adolescents with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S115-20.
56. Montecalvo JR, Constantinides SM, Yang CST. Enzymatic modification of fish frame protein isolate. *J Food Sci* 1984;49:1305-9.
57. Moszczynski P, Idziak J. Preparation of enzymatic hydrolysates of casein depleted in phenylalanine. *Appl Biochem Microbiol* 1993;29:302-6.
58. Pascual JE. La fenilcetonúria: problemas del diagnóstico y tratamiento. *Rev Cubana Pediatr* 1989;61:744-52.
59. Prince AP, Msmurry MP, Buist NRM. Treatment products and approaches for phenylketonuria: improved palatability and flexibility demonstrate safety, efficacy and acceptance in US clinical trials. *J Inherit Metab Dis* 1997;20:486-98.
60. Przyrembel H. Recommendations for protein and amino acid intake in phenylketonuria patients. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S130-1.
61. Rerat A, Nunes CS, Mendy F, Roger L. Amino acid absorption and production of pancreatic hormones in non-anesthetized pigs after duodenal infusions of a milk enzymatic hydrolysate or of free amino acids. *Brit J Nutr* 1988;60:121-36.
62. Rey F, Abadie V, Plainguet F, Rey J. Long-term follow up of patients with classical phenylketonuria after diet relaxation at 5 years of age. The Paris Study. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S39-44.
63. Scheibenreiter S, Tiefenthaler M, Hinteregger V, Strobl W, Mühl A, Ewald A, et al. Austrian report on longitudinal outcome in phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S45-9.
64. Schmade MK, Taylor SL, Nordlee JA. Use of hydrolysate-based products in special medical diets. *Food Technol* 1994;48(10):77-85.
65. Schmidt BJ, et al. Fenilcetonúria: aspectos clínicos e terapêuticos. *Pediatrics al dia* 1987;3:257-60.
66. Schmidt E, Burgard P, Rup A. Effects of concurrent phenylalanine levels on sustained attention and calculation speed in patients treated early for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S82-6.
67. Schuler A, Somogyi CS, Törös I, Pataki L, Máté M, Kiss E, Nagy A. A longitudinal study of phenylketonuria based on the data of the Budapest Screening Center. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S50-2.
68. Scriver CR, Kaufman S, Woo SLC. The hiperphenylalaninemias. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic, basis of inherited diseases*. 6<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill; 1989. p. 495-546.
69. Stegink LD, Filer LJ, Brummel MCJr, Baker GL, Krause WL, Bell EF, et al. Plasma amino acid concentrations and amino acid ratios in normal adults and adults heterozygous for phenylketonuria ingesting a hamburger and milk shake meal. *Am J Clin Nutr* 1991;53:670-5.
70. Tanimoto S, Tanabe S, Watanabe M, Arai S. Enzymatic modification of zein to producer a non-bitter peptide fraction with a very high fischer ratio for patients with hepatic encephalopathy. *Agric Biol Chem* 1991;55:1119-23.
71. Verkerk PH, van Spronsen FJ, van Houten M, Smit GP, Sengers RC. Predictors of mean phenylalanine levels during the first years of life in patients with phenylketonuria who where treated early. Dutch National PKU Steering Committee. *Acta Paediatr Suppl* 1994;407:70-2.
72. Waisbren SE, Hamilton BD, James PJSt, Shiloh S, Levy HL. Psychosocial factors in maternal phenylketonuria: women's adherence to medical recommendations. *Am J Public Health* 1995;85:1636-41.

73. Wardley BL, Taitz LS. Clinical trial of a concentrated amino acid formula for older patients with phenylketonuria (MAXAMUM XP). *Eur J Clin Nutr* 1988;42:81-6.
74. Watanabe M, Matsumura M, Yabuki S, Aizawa M, Arai S. Construction of a bioreactor with immobilized yeast cells for production of a low-phenylalanine peptide mixture as a phenylketonuria foodstuff. *Agric Biol Chem* 1988;52:2989-94.
75. Weglage J, Fünders B, Ullrich K, Rup A, Schmidt E. Psychosocial aspects in phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S101-4.
76. Whitehead H, Holmes J, Roberts R, Al-Mandhari NA, Greer A, Thom R, et al. Maternal phenylketonuria 1987 to 1993, pregnancy outcome and early infant development: the Northern Ireland experience. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:1041-4.
77. Yamashita M, Arai S, Gonda M, Kato H, Fujimaki M. Enzymatic modification of proteins in foodstuffs. Part II. Nutritive properties of soy plastein and its bio-utility evaluation on in rats. *Agric Biol Chem* 1970;34:1333-7.
78. Yamashita M, Arai S, Fujimaki MI. A low-phenylalanine, high-tyrosine plastein as an acceptable dietetic food. Method of preparation by use of enzymatic protein hydrolysis and resynthesis. *J Food Sci* 1976;41:1029-32.
79. Zeman J, Pijackova A, Behulova J, Urge O, Saligova D, Hyanek J. Intellectual and school performance in adolescents with phenylketonuria according to their dietary compliance. The Czech-Slovak Collaborative Study. *Eur J Pediatr* 1996;155 Suppl 1:S56-8