

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
METABOLİZMA BİLİM DALI

SAPROPTERİN DİHİDROKLORİD TEDAVİSİ BAŞLANAN
HİPERFENİLALANİNEMİLİ HASTALARIN İZLEM SONUÇLARI

Dr. Özlem ÜNAL

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2012

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
METABOLİZMA BİLİM DALI

SAPROPTERİN DİHİDROKLORİD TEDAVİSİ BAŞLANAN
HİPERFENİLALANİNEMİLİ HASTALARIN İZLEM SONUÇLARI

Dr. Özlem ÜNAL

YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır

Tez Danışmanı
Prof. Dr. H. Serap SİVRİ

ANKARA
2012

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında ve eğitimim süresince her konuda bilimsel katkısını, emeğini, desteğini, yol göstericiliğini, yakın ilgisini ve anlayışlılığını esirgemeyen tez danışmanı hocam Sn. Prof. Dr. H. Serap Sivri'ye,

En ideal bilimsel çalışma ortamının hazırlanabilmesi için sonsuz çabası, metabolizma bilim dalının daha ileriye götürülebilmesi konusunda hem bizleri teşvik etmesi hem örnek olması nedeniyle bilim dalı başkanımız Sn. Prof. Dr. Turgay Coşkun'a,

Yetişmemizde büyük emekleri, katkıları ve destekleri olan bilim dalımızın değerli öğretim üyeleri Sn. Prof. Dr. Ayşegül Tokatlı ve Sn. Prof. Dr. Ali Dursun'a,

Tez çalışmasında çok büyük emeği geçen, beslenme ve diyetetik bölümü öğretim üyesi Sn. Doç. Dr. Hülya Gökmen-Özel'e, moleküler genetik incelemelerini sağlayan Sn. Doç. Dr. R. Köksal Özgül ve Dr. Didem Yücel'e,

Değerli çalışma arkadaşım Sn. Uzm. Dr. Burcu Öztürk-Hişmi'ye,

Tüm metabolizma laboratuvarı çalışanlarımıza, hemşirelerimiz ve personelimize,
Çalışmaya katılan sevgili çocuklarımıza ve ailelerine

Çok teşekkür ederim.

ÖZET

Ünal, Ö., Sapropterin Dihidroklorid Tedavisi Başlanan Hiperfenilalaninemili Hastaların İzlem Sonuçları, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Metabolizma Bilim Dalı, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Ankara 2012. Fenilketonüri önlenebilir mental retardasyonun en önemli nedeni olan kalıtsal metabolik hastalıktır. Geçtiğimiz on yıla kadar bu hastalıktaki tek tedavi seçeneği diyetle alınan fenilalaninin kısıtlanması olmuştur. Özellikle hafif fenilketonüri bazı hastaların tetrahidrobiopterine (BH₄) yanıtı oldukları ve BH₄'ün tedavi amaçlı kullanılması ile kan fenilalanin düzeyinin düşürülerek, diyet ile alınan fenilalanin miktarının artırılabilceğinin gösterilmesi ile tetrahidrobiopterinin sentetik analogu olan sapropterin dihidroklorid, yeni bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmiştir. Bu çalışmada, tetrahidrobiopterine yanıtılığın araştırılması için sapropterin dihidroklorid yükleme testi yapılan ve/veya tedavisi başlanan hiperfenilalaninemili hastaların izlem sonuçlarının araştırılması amaçlanmıştır. Yükleme testi için 0–16 yaş arasında 131 hasta değerlendirilmiş, bunlardan 122 hastaya test uygulanmış, 63 hasta yanıtı bulunmuştur. Yanıtı bulunan 63 hastadan, en az iki ay süre ile tedavi almış olan 54'ü tedavi altındaki izlem sonuçları açısından değerlendirilmiştir. Tedavi başlanan hastaların 28'i erkek 26'sı kız, yaş aralıkları 0–14 yaşdır. Tedavi izlem süresi 2–25 ay arasında değişmektedir. Tedavi alan hastalarda fenilalanin toleransı 7–148 mg/kg (1,2–6,6 kat) aralığında artmıştır. Beş hastanın tedavisi ikincil yanıtızsızlık nedeni ile kesilmiştir. Tedavi süresi içerisinde hiçbir hastada yan etki gelişmemiştir. Sonuç olarak, fenilketonüri hastalığının tedavisinde ilk "Food and Drug Administration" (FDA) onaylı ilaç olan sapropterin dihidrokloridin, yaşam boyu sıkı bir diyet almak zorunda olan hastaların BH₄'e yanıtı olanları için ümit verici bir tedavi olduğu belirlenmiştir. Genotip-fenotip ilişkisinin belirlenmesi konusunda araştırmamız sürmektedir.

Anahtar kelimeler: Fenilketonüri, Tetrahidrobiopterin, sapropterin dihidroklorid, BH₄-yanıtılılığı

ABSTRACT

Ünal, Ö., Follow-up Results of Hyperphenylalaninemic Patients Treated with BH₄, Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Metabolism, Thesis of Subspeciality in Metabolism, Ankara 2012. Phenylketonuria is one of the most commonly seen inborn errors of metabolism that if left untreated causes mental retardation. Until ten years ago, protein and phenylalanine-restricted diet was the only therapeutic option for this disorder. More recently, some of the PAH-deficient patients was found to be responsive to a synthetic analog of BH₄ which is the natural cofactor of the enzyme phenylalanine hydroxylase (PAH). In these patients, blood Phe levels decrease with the administration of BH₄ and thus more liberal diet could be used while on BH₄. Description of such cases has proved that BH₄ might be an alternative to low-protein and low-Phe diet. In order to select potentially BH₄ responsive PAH-deficient patients a BH₄ loading test is necessary. In this study, long-term follow-up results of hyperphenylalaninemic patients loaded with BH₄ and treated with BH₄ alone or BH₄ along with relaxed diet were presented. A total of 131 patients with hyperphenylalaninemia were evaluated both clinically and biochemically and were categorized to be “more likely responders”. A hundred and twenty two of them were tested for BH₄ responsiveness. Patients’ ages ranged from 0 to 16 years. Sapropterine dihydrochloride treatment was started in 54 of 63 responders. The age range was between 0-14 years in the treated group. A total of 28 patients were male and 26 were female. Duration of the treatment ranged from 2 to 25 months. Phenylalanine tolerance increased from 7 to 148 mg/kg corresponding to 1.2-6.6 folds increase in daily phe intake as compare to their previous diet. BH₄ treatment in five patients was stopped because of secondary unresponsiveness in the course of treatment. No adverse/side events was reported. In conclusion, sapropterin dihydrochloride which is the first drug with FDA approval in the pharmacotherapy of hyperphenylalaninemia seems to be a promising and safe molecule to be used in well-selected responsive patients with PAH deficiency.

Key words: Phenylketonuria, sapropterin dihydrochloride, tetrahydrobiopterin, BH₄-responsiveness

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	x
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Tetrahydrobiopterin (BH ₄)	4
2.2. BH ₄ Yanıtlılığının Değerlendirilmesi	6
2.2.1. BH ₄ Yükleme Testi	6
2.3. BH ₄ Yanıtlı Mutasyonlar ve Genotip-Fenotip İlişkisi	9
2.4. Sapropterin Dihidrokloridin Etki Mekanizması, Metabolizması ve Farmakokinetiği	14
2.4.1. Etki Mekanizması	14
2.4.2. Metabolizması	16
2.4.3. Farmakokinetiği	16
2.5. Sapropterin Dihidrokloridin Güvenliliği	18
2.6. Hasta Seçimi ve Maliyet	19
2.7. Tedaviye Başlangıç, Diyetin Serbestleştirilmesi ve İzlem	19
2.8. Sapropterin Dihidrokloridin Etkinliği ile İlgili Klinik Çalışmalar	21
GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1. Araştırmanın Deseni	28
3.2. Araştırmanın Evreni	28
3.3. Araştırmanın Örnekleme	28

3.4. Örnekleme Giriş ve Örneklemeden Dışlanma Koşulları	28
3.5. Uygulamalar	28
3.6. Araçlar	31
3.6.1. Fenilalanin Ölçümü	31
3.6.2. Moleküler Genetik İnceleme	31
3.6.3. Antropometrik Değerlendirme	32
3.6.4. Çocuklar için Yaşam Kalitesi Ölçeği	32
3.7. Veri Analizi	32
3.8. Etik Kurul Onayı	33
BULGULAR	34
4.1. BH ₄ Yükleme Testi Sonuçları	34
4.2. Yanıtlı Bulunan Hastaların Sonuçları	40
TARTIŞMA	45
SONUÇLAR	52
KAYNAKLAR	55
EKLER	
Ek 1: Sapropterin dihidroklorid tedavisi alan bir hastamızın annesinin mektubu	

KISALTMALAR VE SİMGELER

AS	Anne sütü
BH ₄	Tetrahidrobiopterin
BMIZ	Beden kitle indeksi Z skoru (body mass index Z score)
FA	Fenilalanin
FAD	Fenilalanin düzeyi
FDA	“Food and Drug Administration”
FK	Fenilketonüri
HAZ	Yaa göre boy Z skoru (Height for Age Z score)
PAH	Fenilalanin hidroksilaz enzimi
<i>PAH</i>	Fenilalanin hidroksilazı kodlayan gen
WAZ	Yaa göre ağırlık Z skoru (Weight for Age Z score)

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. Fenilalanin metabolizması	4
2.2. 5,6,7,8-Tetrahidrobiopterinin kimyasal yapısı	5
2.3. İnsan PAH monomerinin en sık görülen BH ₄ yanıtı mutasyonları ile üç boyutlu kristal yapısı	11
4.1. Yanıtı, kısmi yanıtı ve yanıtı olmayan grupta fenotipe göre alt gruplardaki hasta dağılımı	39

TABLolar

Tablo	Sayfa
2.1. BH ₄ yanıtılığını etkileyen etmenler	9
2.2. Sapropterin dihidroklorid tedavisinin etkinliği ile ilgili alışmalar	26
3.1. Kliniğimizde uygulanan BH ₄ yükleme testi protokolü	31
4.1. Değerlendirmeye alınan tüm hastaların klinik zellikleri	35
4.2. Yanıtlı, kısmi yanıtlı ve yanıtsız toplam 122 hastanın klinik verilerinin karşılaştırılması	38
4.3. Tedavi başlanan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası diyet ve fenilalanin tolerans değerisimleri	40
4.4. Tedavi ncesi ve sonrası antropometrik değerlendirme sonuçları	41
4.5. Tedavi başlanan hastaların tedavi öncesi ve sonrası klinik bulgularının değerlendirilmesi	43
4.6. Yanıtlı hastaların mutasyon sonuçları	44

GİRİŞ

Fenilketonüri (FKÜ) önlenebilir mental retardasyonun önemli nedeni olan kalıtsal metabolik hastalıklardan biridir. Tedavide, proteinden dolayısı ile fenilalaninden kısıtlı diyet, fenilalanin içermeyen amino asit karışımları ile desteklenerek uygulanır. Diyetle kan fenilalanin düzeyi toksik olmayan sınırlarda tutulabildiği sürece nörolojik ve işlevsel herhangi bir sorun gelişmez. Ömür boyu diyet tedavisi yapılması gerektiğinden belli bir dönemden sonra diyete uyumun bozulduğu ve başlangıçta iyi tedavi edilen vakalarda dahi beyinde özellikle frontal lobda yapısal ve fonksiyonel anormallikler saptandığı bilinmektedir (1). Bireylerin fenilalanin toleransı genetik yapı dışında metabolik denge ve genel sağlık durumlarına göre değişkenlik gösterdiğinden diyet, her birey için özel olarak belirlenmekte, hızlı büyüme, puberte, gebelik, laktasyon gibi dönemlerle enfeksiyonların seyrinde fenilalanin düzeyini kontrol altında tutabilmek zorlaşmaktadır. Protein desteği için kullanılan amino asit karışımlarının tad ve kokuları hoş olmadığı için gerektiği şekilde kullanımlarında güçlük olmakta ve diyetle yer alan diğer besin öğelerinin de çok kısıtlı ölçümlerle tüketilmesi zorunluluğu diyete uyum ve devamı zorlaştırmaktadır. Tüm bu nedenler fenilketonüri tedavisinde diyet dışı yeni tedavilerin geliştirilmesine neden olmuştur.

Klinik gidişi ve hastanın diyete uyumunu artıracak yeni farmakolojik seçeneklerin geliştirilmesi için yapılan çalışmalar ve geliştirilen tedavi yöntemlerinin bir kısmı, halen kullanılmakta bir kısmı ise deneme aşamasındadır. İlk kez 1999 yılında Kure ve arkadaşlarının BH₄'e yanıt veren bazı fenilketonüri vakaları tanımlamasından sonra bu alanda büyük gelişmeler olmuştur (2). 2007 Aralık ayında "The Food and Drug Administration" (FDA) tarafından da onaylanan bir yetim ilaç (orphan drug) olan sapropterinin, seçilmiş hiperfenilalaninemi ve fenilketonüri hastalarında kullanımı başlamış ve giderek yaygınlaşmıştır. Fenilalanin hidroksilaz enziminin kofaktörü olan tetrahidrobiopterinin sentetik analogu olan sapropterin (Kuvan®) özellikle az da olsa enzim aktivitesi olan hafif hiperfenilalaninemi vakalarında ve çok daha az oranda klasik vakalarda tedavide kullanılabilir. Sapropterin, ana endikasyonu kan fenilalanin düzeyini düşürmek olan ve şu anda fenilketonüri tedavisi için hastalara sunulan tek

farmakolojik etken maddedir. Etki mekanizması halen tam olarak bilinmemesine karşın fenilalanin hidrosilaz enziminin tetramer yapısına girerek enzimin regülasyonunu, modifikasyonu, aktivasyonunu veya stabilizasyonunu sağladığı düşünülmektedir. Oral alımından sonra fenilketonürdeki hatalı yolakta fenilalanin tirozin dönüşümünü sağladığı bilinmektedir. Hafif baş ağrısı, üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları, burun akıntısı, faringolarengeal ağrı ve gastrointestinal yakınmalar dışında önemli bir yan etkisi yoktur. Uzun dönem etkileri ve nörolojik gidiş konusunda, gebelerde, küçük bebek ve çocuklarda kullanımı ile ilgili çalışmalar sürmektedir. Genellikle önerilen günde tek doz şeklinde 5–20 mg/kg/gün olarak uygulanmasıdır. Kuvan[®], tableti bütün olarak alamayacak çocuklarda 100 mg'lık tabletler 120–240 ml su veya meyve suyuyla 15 dakika çözüldürüldükten sonra alınmaktadır. Yükleme testini takiben BH₄'e yanıt veren vakalar belirlendikten sonra diyet tedavisine hiç gerek kalmadan veya toleransı artırıcı olarak tedavide kullanılabilir. En önemli dezavantajı alışlagelmiş tedaviye göre oldukça yüksek maliyet gerektirmesidir. Sapropterinin, fenilketonüri dışında koroner arter hastalığı, hipertansiyon, periferik arter hastalığı veya orak hücreli anemi gibi diğer hastalıklarda da endikasyonu ile ilgili çalışmalar devam etmekte olup, daha geniş hasta grubunda kullanılabilirse maliyetinin düşebileceği öngörülmektedir. Şu anki gelişmeler göz önüne alındığında sadece BH₄ tedavisi ile diyetin tamamen bırakılması mümkün görülmekte ve onun dışındaki seçenekler diyet tedavisi ile kombine yürütülmektedir.

Ülkemizde sapropterin, T.C. Sağlık Bakanlığı'nın ilaca başlangıçta "endikasyon dışı kullanım onayı" vermesi, sonrasında ise endikasyon dışı kullanım onayına da gerek kalmaksızın, tedavi giderlerinin resmi sağlık güvenceleri ile karşılanmaya başlanması ile son iki yılda artarak FKÜ tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. İlacın, ülkemizde izlem sonuçlarının araştırılarak ortaya konması ve başta genotip-fenotip ilişkisi olmak üzere tedavi sonuçlarına etkileyen etmenlerin belirlenmesi önem taşımaktadır.

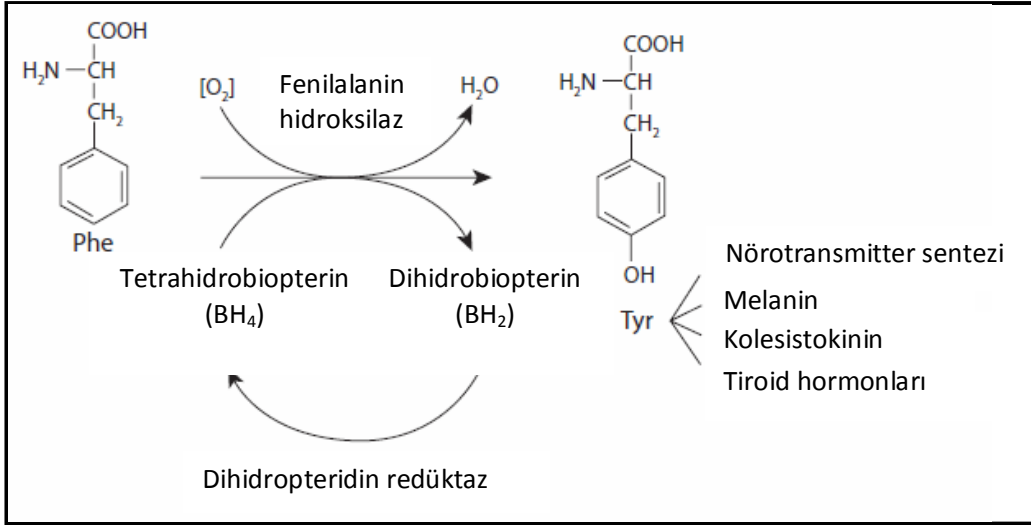
Bu çalışmada, 48 saatlik BH₄ yükleme testinin yanıtı hastaları saptamadaki etkinliği, sapropterin dihidroklorid tedavisi alan hiperfenilalaninemili hastaların izlem sonuçlarının araştırılması amaçlanmıştır. Hastaların genotiplendirilmesi ile elde olunan verilerle ülkemize özgü BH₄ yanıtı ile ilişkili mutasyonların saptanması mümkün olacaktır.

GENEL BİLGİLER

Fenilketonüri (OMIM 261600), fenilalanini tirozine çeviren fenilalanin hidroksilaz (PAH) (EC 1. 14.16.1) enziminin eksikliğinin neden olduğu, otozomal resesif kalıtılan bir metabolik hastalıktır. Enzimi kodlayan gen 12. kromozomun 12q22-24.1 bölgesinde yer alır (3). Dünya üzerinde en sık görülen amino asit metabolizma bozukluğu olan FKÜ'ye neden olan, görülme sıklığı değişik etnik gruplarda farklı olan, 600'ün üzerinde mutasyon bildirilmiştir. Fenilalanin hidroksilaz enziminin aktivitesinin eksikliği sonucunda, metabolize olamayan fenilalanin kanda ve dokularda birikir. Fenilalanin hidroksilaz enziminin aktivitesinin eksikliği dışında enzim aktivitesi için gerekli olan enzimin kofaktörü BH₄ eksikliği ya da metabolizmasının bozukluğu da fenilalanin yüksekliğine yol açar. Bu durum, hiperfenilalaninemi (HFA) vakalarının %1-2'sinden sorumludur (4). Fenilalanin metabolizması Şekil 2.1'de verilmiştir.

Fenilketonüri, hiperfenilalanineminin düzeyine göre sınıflandırılır. Kan fenilalanin düzeyinin normal sınırları 0,85–1,85 mg/dL'dir (50–110 µmol/L). Tedaviye başlamadan önce kan fenilalanin düzeyi 2–10 mg/dL (120–600 µmol/L) arasında olan hastalar hafif hiperfenilalaninemi, 10–20 mg/dL (600–1200 µmol/L) arasında olan hastalar hafif fenilketonüri 20 mg/dL'nin (1200 µmol/L) üzerinde olan hastalar ise klasik fenilketonüri olarak sınıflandırılır. Ancak sınıflandırma yapılması her zaman çok kolay olmamaktadır. Çünkü yenidoğan bebeklerde tanı sırasında elde edilen kan değerleri henüz olabilecek en yüksek düzeyine ulaşmamış olabilir (4).

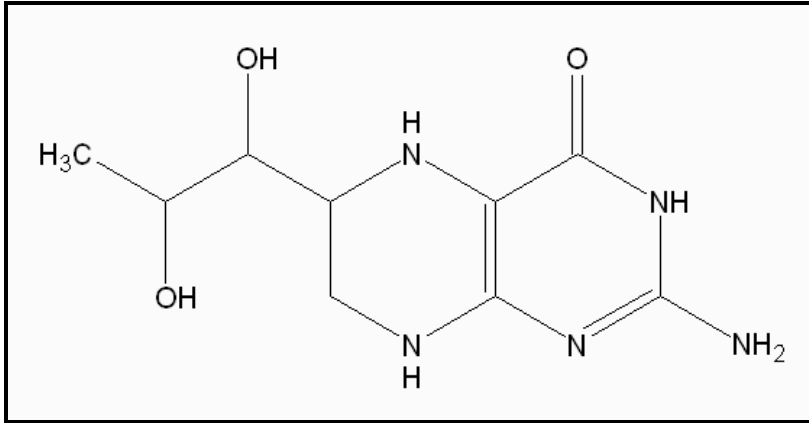
Son on yıl içinde enzimin kofaktörü olan BH₄'ün sentetik analogu sapropterin dihidroklorid, sapropterine yanıtı FKÜ tedavisinde, kan fenilalanin düzeyini düşürüp, fenilalanin toleransını artırarak, klasik tedavide uygulanan, pek çok zorlukları olan ve bazı besin öğelerinin eksikliğine yol açabilen sıkı diyeti gevşetmeyi ya da tamamen serbest diyete geçmeyi sağlayan yeni bir yöntem olarak kullanılmaya başlamıştır.



Şekil 2.1. Fenilalanin metabolizması.

2.1. Tetrahydrobiopterin

Tetrahydrobiopterin, çok büyük metabolik önemi olan PAH enzimi dahil dört aromatik amino asit hidroksilaz, alkilgliserol mono-oksijenaz ve üç nitrikoksit sentazı içeren bir grup enzimin doğal kofaktörüdür. BH_4 , yüksek organizmaların hemen tüm hücre ve dokularında bulunur ve çok sayıda biyolojik süreç ile monoamin nörotransmitter oluşumu, kardiyovasküler ve endotelial işlev bozukluğu, immün yanıt ve ağrı duyarlılığı ile ilgili bazı patolojik olaylarda temel rolü vardır (3). BH_4 eksikliği yalnız PAH enziminin işlev bozukluğuna ve hiperfenilalaninemiye neden olmaz, beyinde tirozin sentezinde yetersizlik ve tirozin hidroksilaz enziminin BH_4 eksikliği nedeniyle yetersiz işlev görmesine de yol açarak, değişik BH_4 eksikliği sendromlarında birbirinden farklı nörotransmitter eksikliği bulguları ile çok ağır nörolojik sorunlara neden olur. Tetrahydrobiopterinin üç boyutlu kristal yapısı Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2. 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterinin kimyasal yapısı.

1980’li yıllarda FKÜ üzerinde çalışan araştırmacılar, kalıtsal BH₄ eksikliğini saptamak için, kan fenilalanin düzeyi yüksek olan hastalara ağızdan BH₄ verme uygulamasına başlamışlardır. Ancak, bu kısa süreli protokoller, daha uzun süreli test ve daha yüksek BH₄ dozu gerektiren, BH₄ yanıtı PAH eksikliği olan bireyleri saptamak için yeterli olmamıştır. İlk kez 1999 yılında Kure ve ark. (2) *PAH* geninde mutasyonları olan bazı hastalara farmakolojik dozda (20 mg/kg) verilen BH₄’ün kan fenilalanin düzeylerini düşürebildiğini göstermişlerdir. Bu yayından sonra, PAH enzim eksikliği olan hastaların % 10-60’ında, farklı toplumlarda sık görülen mutasyonlara bağlı olarak, farklı yüzdelerde düşüş bulunmuştur (5-13). Türk hastalar ile yapılmış bir çalışmada 462 hastaya BH₄ yükleme testi yapılmış ve BH₄ yanıtı oranı %22 olarak saptanmıştır, %25’in üzerinde in vitro enzim aktivitesi, yanıtılık ile ilişkili bulunmuştur (12).

Başlangıçta sadece bazı merkezler BH₄’ün ticari olmayan biçimine ulaşabilmişler, daha sonrasında ise sentetik analogu sapropterin dihidroklorid geliştirilmiş, 2007’de Amerika’da onay almasından sonra ticari biçimi piyasaya sürülmüş, 2008’den sonra ise giderek artan sayıda Avrupa ülkesinde ve dünya çapında kullanımına başlanmıştır.

2.2. BH₄ Yanıtlılığı ve Değerlendirilmesi

BH₄ yükleme testi, başlangıçta PAH enzimi eksikliğine bağlı fenilalanin yüksekliği ile PAH enziminin kofaktörü BH₄'ün biyosentezi ya da yenilenmesindeki bozukluklara bağlı ikincil fenilalanin yüksekliğini ayırt etmek için kullanılmıştır. BH₄ yükleme testi, Avrupa ülkelerinde, BH₄ eksikliğinin erken tanısında yaklaşık 30 yıldır kullanılmaktadır. Bunun dışında test, BH₄'e yanıtı FKÜ'lü hastaların saptanmasında da kullanılan bir yöntemdir (14). BH₄'e yanıtı hastaların saptanması, bu hastalarda, BH₄'ün diyet tedavisi dışında bir tedavi seçeneği olarak kullanılabilmesinden dolayı önem taşımaktadır. BH₄'e yanıtı FKÜ kavramı, ilk kez Japon hastalarda tanımlanmış, daha sonra geriye dönük ve ileriye dönük geniş kohort çalışmaları ile doğrulanmış, fenilketonürinin, hafif, hafif-orta ve klasik tipi dışında bir fenotipi olarak kabul görmüştür (2,5,15,16). Hafif fenotipte FKÜ'lü hastalar arasında BH₄'e yanıtı oranları, fenilalanin toleransı düşük hastalara göre daha yüksek orandadır (6-13). Hemen hiç enzim aktivitesi olmayan klasik fenilketonüri hastalarda BH₄'e yanıt oranı çok düşüktür. BH₄ yanıtı ile ilişkili *PAH* mutasyonları tanımlanmıştır ve genotipin belirlenmesi yanıtı değerlendirilmesi açısından yol gösterici olabilir (11).

2.2.1. BH₄ Yükleme Testi

Tetrahidrobiopterine yanıtı derecesi çok geniştir. Yanıtı değerlendirme için ağızdan tek ve yüksek dozda, bir gün-dört hafta arasında değişen sürelerde verilen BH₄ ile yükleme testi yapılmaktadır. Test için kullanılan farklı protokoller bulunmaktadır. Literatürde BH₄ yanıtı değerlendirme için kullanılan BH₄ yükleme testleri 10-20 mg/kg tek doz BH₄ verilmesi sonrası 24. saatte yanıtı değerlendirilmesinden, kan fenilalanin düzeylerinin günlük ya da haftalık olarak izlendiği, birkaç hafta süren test uygulamalarına kadar değişkenlik göstermektedir (17). Genellikle, BH₄ yüklemesinde, kan fenilalanin düzeyinde %30'un üzerinde düşme klinik olarak anlamlı yanıt kabul edilmektedir. Bununla birlikte bazı merkezlerde daha düşük değerler anlamlı kabul edilebilmekte ya da özgül bir kritik değer kullanılmamaktadır, yanıtı bireysel olarak değerlendirilmektedir (18).

Avrupa ülkelerinde ve bizim ülkemizde genellikle 48 saatlik test tercih edilmektedir. En sık kullanılan 48 saatlik BH₄ yükleme testinde, fenilalaninden kısıtlı

diyet almakta olan hastanın diyetle aldığı fenilalanin miktarı doğal protein ya da fenilalanin toz ile artırılır ve sabit, yüksek bir düzeye ulaştırılır. Testin birinci gününde, sapropterin yüklemesi öncesi (-) 24, (-) 16 ve (-) 8. saatlerde kan düzeyleri kontrol edilerek, dalgalanmalar olmayan durağan ve 400 $\mu\text{mol/L}$ 'nin (6,67 mg/dL) üzerinde yüksek bir kan fenilalanin düzeyi sağlandığı belirlenir. Testin ikinci gününde ağızdan 20 mg/kg tek dozda sapropterin yüklemesi yapılır. Sapropterin sonrası 8., 16., 24. saatlerde kan fenilalanin düzeyi kontrol edilir. Testin 3. gününde sapropterin yüklemesi tekrarlanır ve ikinci kez ağızdan 20 mg/kg tek dozda verilir. Testin 4. gününde yani ilk sapropterin uygulamasından sonraki 48. saatte kan fenilalanin düzeyinde %30'un üzerinde düşme "anlamlı yanıtılık", %20'nin altındaki düşme ise "yanıtsızlık" kabul edilir. Kan fenilalanin düzeyinde %20-30 arasında düşme ise "kısmi yanıt"tır. Kısmi yanıt alındığında 1-3 hafta arasında süren, günlük kan fenilalanin düzeyi ölçümleri yapılan daha uzun süreli protokol denenebilir.

Anjema ve ark.ın (19) 186 FKÜ'lü hasta ile yaptıkları bir çalışmada, 24 ve 48 saatlik BH_4 yükleme testleri karşılaştırılmış, teste başlarken sağlanması istenen 400 $\mu\text{mol/L}$ (6,67 mg/dL) kan fenilalanin düzeyinin gerekliliği araştırılmıştır. Hastalara 0. ve 24. saatlerde 20 mg/kg dozda BH_4 verilmiş, 0., 8., 16, 24. ve 48. saatlerde kan fenilalanin düzeyleri ölçülmüştür. Fenilalanin düzeyinde %30'un üzerinde azalma, yanıtılık kabul edilmiştir. Kan düzeyi 400 $\mu\text{mol/L}$ altında olan 92 hastaya 40-2000 mg arasında fenilalanin yüklemesi yapılmış, ancak fenilalanin yüklemesi yapılan hastaların %32'sinde teste başlanması sırasında kan düzeyi 400 $\mu\text{mol/L}$ üzerine çıkarılamamıştır. Tüm hastaların %46'sı yanıtılı bulunmuş, yanıtılı hastaların %53'ü en çok düşüşü 48. saatte göstermiştir. Fenilalanin kan düzeyi başlangıçta 400 $\mu\text{mol/L}$ altında olan hastalarda da %30'un üzerinde yanıtılık görülmüştür. Çalışmanın sonucunda 48 saatlik testin 24 saatlik teste göre daha çok bilgi verici olduğu sonucuna varılmıştır. Kan fenilalanin düzeyi düşük olan hastalara fenilalanin yüklemesi yapılmadan da BH_4 yükleme testi yapılabileceği, yanıtılık görülmüyorsa, daha yüksek kan düzeylerinde testin tekrarlanabileceği öne sürülmüştür.

Amerika Birleşik Devletleri'nde uzun protokolün kullanımı daha yaygındır. Levy ve ark. (17) tarafından önerilen protokolde 20 mg/kg BH_4 , 2-4 hafta süresince her gün

verilir, haftalık olarak kan fenilalanin düzeyi ölçümleri yapılır. Yanıtlılık için kullanılan kritik değerler Avrupa standartları ile aynıdır ve %30'un üzerinde yanıt klinik olarak anlamlı kabul edilir.

Önerilen bu protokoller, en sık kullanılan klinik uygulama yaklaşımlarını yansıtmaktadır ve farklı merkezlerde farklı biçimlerde uygulanabilir. Genelde, yeterli sayıda çoklu fenilalanin ölçümleri yapılırsa, 48 saatlik test ile BH₄'e yanıtı vakaların büyük bir çoğunluğu saptanır, maliyeti daha düşüktür. Test, diyet değişiklikleri ve enfeksiyon dönemleri gibi kan fenilalanin düzeyini etkileyebilecek başka etmenlerden daha az etkilenir (20). Diğer yandan daha uzun testler ile de geç yanıt veren hastaların kaçırılması olasılığı azalmaktadır (21).

Klinik pratikteki uygulamalarda hemen hiç kullanılmasa da BH₄ yanıtını saptayan başka farklı yöntemler de vardır. ¹³C-Phe oksidasyon testi hasta özelinde in vivo olarak güvenle kullanılabilir, BH₄'ün, enzim aktivitesi üzerine etkisini saptayan bir tanı yöntemidir. Bu testte, solunum ile atılan ¹³CO₂ yüzdesi, BH₄ alımından sonra artar ve in vivo olarak PAH enzim aktivitesinin arttığını gösterir (22).

BH₄ yanıtılığını saptamak için BH₄ yükleme testi her yaşta etkin bir yöntemdir, ancak testin duyarlılığının yenidoğanlarda düşük olabileceğine dair endişeler de vardır. Üç aydan sonra hepatositlerin daha olgunlaştığı ve testin daha güvenilir olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte testin yenidoğan döneminde yapılmasının bazı avantajları da vardır. Yenidoğan döneminde uygulanan test, fenilalanin hidrosilaz ve BH₄ eksikliğini ayırt etmesi dışında, PAH eksikliği yönünden BH₄ yanıtı hastaların, fenilalanin kısıtlayıcı diyet ile karşılaşmadan yeterince erken dönemde saptanmasını sağlar, beyin gelişiminin en hızlı olduğu dönemde daha kaliteli protein, yağlar, vitaminler, mikrobeyin öğeleri ve bağışıklık maddelerinden daha zengin anne sütü ve doğal protein alımı ile beslenmeye olanak verir (20). Yenidoğanlarda yanıtılığın değerlendirilmesi için diyet tedavisine başlanmadan, kan değerleri yüksek bulunup tanı konduğu sırada sapropterin yükleme testi yapılması uygun bir yaklaşımdır (14,19) Yanıt vermeyen hastalarda tedaviyi geciktirmemek için 24 saatlik kısa testler uygulanabilir. BH₄ yanıtılığını etkileyen etmenler Tablo 2.1'de verilmiştir (14).

Tablo 2.1. BH₄ yanıtılığını etkileyen etmenler

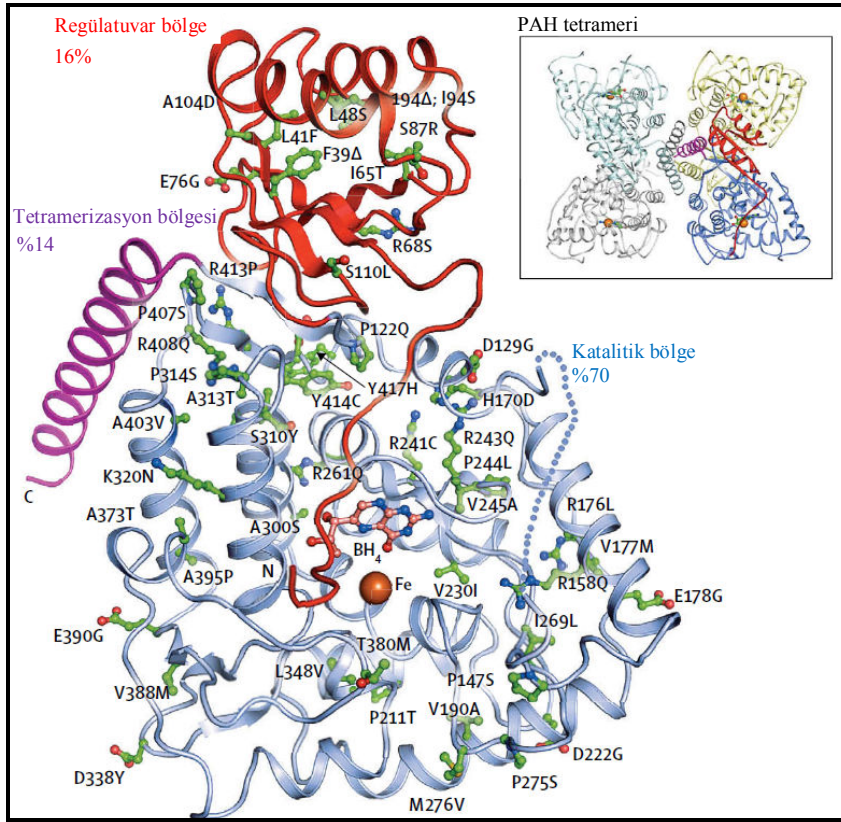
1. BH ₄ dozu (20 mg/kg ile 10 mg/kg'ye göre daha iyi yanıt alınabilir)
2. Testin süresi (başlangıçta tarama için 24-48 saat, etkinlik için 4-8 hafta)
3. Besin alımı (yüksek kalorili besinler ile birlikte alındığında BH ₄ emilimi daha iyidir)
4. Yaş (yenidoğan, çocuk, ergen ve yetişkinlikte sonuçlar farklı olabilir)
5. Diyet (daha yüksek fenilalanin düzeylerinde BH ₄ 'e yanıt daha iyidir)
6. Gastrointestinal sistemden emilim (bireysel farklılıklar olabilir)
7. Genotip

2.3. BH₄ Yanıtlı Mutasyonlar ve Genotip-Fenotip İlişkisi

Fenilketonürde, bazı kısıtlılıklara karşın anlamlı düzeyde yüksek bir genotip ve fenotip ilişkisi tanımlanmıştır (23). Bu ilişki, mutasyonun neden olduğu enzim aktivitesinin düzeyinden kaynaklanmaktadır. Enzim aktivitesinin düzeyi fenilalanin toleransı ile ilişkilidir. Fenilalanin toleransı, bir hastanın kan fenilalanin düzeyinin kabul edilebilir sınırlarda tutulabildiği diyetle alınan en yüksek fenilalanin miktarına işaret eder. Enzim aktivitesinin düzeyi, her iki mutant alel ve mutant alellerin birlikte oluşturduğu homotetramer enzim yapısı ile ilişkilidir. Bu düzey, iki alelden herbirinin kendisinin neden olduğu enzim aktivitelerinin matematiksel ortalaması değildir. Alel içi tamamlamalar nedeniyle, bazı farklı alel birlikteliklerinin aynı enzim aktivitesi düzeyini sağlayacağı öngörülse dahi fenotipler birbirinden farklı olabilir (14,23).

PAH mutasyonları ve BH₄ yanıtılığını da içeren fenotipleri bildiren veri tabanları hazırlanmıştır. Zürih Üniversitesinde oluşturulan BIOPKU (www.biopku.org) veri tabanında, 730 hastanın verisi ile oluşturulan 430 farklı mutasyon birlikteliği ve ilişkili fenotipler verilmektedir (24). Listede bildirilen bazı mutasyon birliktelikleri her zaman aynı fenotipi yansıtmamaktadır ve az da olsa genotip-fenotip ilişkisi tutarsızlıkları görülebilmektedir, ancak farklı mutasyon birlikteliklerinde BH₄ yanıtılılığı hemen daima aynı biçimde tanımlanmaktadır. p.L48S homozigot mutasyonu ise bir istisnadır, bu mutasyon %19 oranında BH₄ yanıtısızken, %81 BH₄ yanıtılı olarak bildirilmektedir. Benzer bir durum, p.E390G mutasyonunu homozigot olarak taşıyan

hastalar için de söz konusudur. BIOPKU veri tabanında bu çok hafif mutasyonu homozigot ya da birleşik heterozigot olarak taşıyan tüm hastalar BH_4 'e yanıt verirken bu mutasyon için homozigot olan Türk hastaların %40'ında BH_4 'e yanıt alınamamıştır (12). Homozigot durumda bu iki hafif mutasyona ilişkin gözlemler, bazı mutant homotetramerlerin, mutasyonların kendisi in vitro olarak hafif olsa dahi durağan, sabit bir aktif enzim sağlanmasına izin vermeyebileceğine işaret etmektedir (14). Bu mutasyonları homozigot olarak taşıyan hastalar, BH_4 'e yanıt vermeyebilir ya da en azından 48 saatlik testte yanıtılık bulunmayabilir. Son olarak, c.1066-11G>A mutasyonunu homozigot olarak taşıyan hastalarda, BH_4 yanıtılılığı bakımından farklılık olduğu görülmektedir. Vakaların bir kısmı BH_4 'e yanıtısız iken, yanıt veren vakaların bazılarının yavaş ve uzun dönemde yanıtılı olduğu görülmektedir. Bu mutasyonun intron içinde kriptik kayan bağlantı bölgesi oluşturduğu göz önüne alınırsa, kriptik kayan bölgenin her zaman etkili olmayacağı, ancak bazı koşullarda işlevsel enzim yazılımının olacağı ve bunun değişkenliği yaratacağı düşünülebilir. Şekil 2.3'te insan PAH monomerinin en sık görülen BH_4 yanıtılı mutasyonları ile üç boyutlu kristal yapısı verilmiştir. BH_4 yanıtılı mutasyonların %70'i katalitik bölgede, %16'sı regülatuar bölgede, %14'ü ise tetramerizasyon bölgesinde yerleşimlidir.



Şekil 2.3. İnsan PAH monomerinin en sık görülen BH₄ yanıtı mutasyonları ile üç boyutlu kristal yapısı (4).

BH₄ yanıtı FKÜ'de genotipin önemini belirlemeyi amaçlayan Trefz ve ark. (25) tarafından 2009 yılında yayınlanmış bir çalışmada 250 FKÜ'lü hastaya BH₄ yükleme testi ve mutasyon analizi yapılmıştır. Bu çalışmada kısmi BH₄ yanıtı, kan fenilalanin düzeyinde BH₄ yükleme sonrası %10-29 azalma ve tam yanıtılık %30'ün üzerinde azalma olarak tanımlanmıştır. Genotip ve BH₄ yanıtı arasındaki en büyük tutarsızlığın PAH enziminin, regülatuar bölgesindeki mutasyonlarla (p.R68S, p.I65T, p.L48S and p.F39C) ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu bölgedeki 62 alelin 20'sinde (%32) yanıt yoktur. Buna karşın katalitik bölgede bulunan (p.Y414C, p.R261Q, p.E390G, p.A300S, p.R241C, p.A403V, p.V388M) 125 alelin yalnız 8'i (%6) yanıtı bulunmuştur. BH₄ yanıtı iki aleli olan yedi hastanın, yanıtı ya da kısmi yanıtı olduğu, aynı genotipe sahip on hastanın BH₄ yanıtı tutarsızlığı olduğu gösterilmiştir.

Yanıtılı iki aleli bulunan hastalardaki yanıtızsızlığın alel içi negatif tamamlama ile ilişkili olduğu düşünölmüştür. Aynı genotipe sahip olup farklı yanıtılıkları olan hastalardaki sonuçların ise BH₄ yanıtılılığına etki eden genotip dışındaki diğere etmenler ile ilişkili olabileceğı öne sürölmüştür.

BIOPKU veri tabanından elde edilen bilgiler %15'in altında enzim aktivitesine neden olan mutasyonların BH₄'e yanıtısız olduğunu, %20 ve üzerinde enzim aktivitesi sağlayan mutasyon birlikteliklerinin hafif-orta FKÜ'ye neden olduğunu ve bu vakaların BH₄'e yanıt verdiğini göstermektedir. Ortalama olarak, hafif hiperfenilalaninemili hastaların %80'inin, hafif-orta FKÜ'lü hastalarının %50'sinin ve klasik FKÜ'lü hastaların da %10'undan azının BH₄'e yanıtılı olduğu bildirilmektedir (26). Ancak, in vitro enzim aktivitesinin olmasınınun, her zaman in vivo BH₄ yanıtılılığı olacağını göstermediğı de bilinir. Avrupa'nın güneyindeki ölkelerde, sık görölen mutasyonlar ile ilişkili olarak BH₄ yanıtılılığı en yüksek oranlarda görölmektedir (11). PAH genindeki "missens" mutasyonların, proteinin yanlış katlanmasına (misfolding), durağan yapısının bozulmasına ve enzimin erken yıkımına yol açarak PAH enziminin işlev kaybını tetiklediğı gösterilmiştir (27,28). Birçok mutasyon birlikteliğinde, BH₄ yanıtılılığı çok iyi tanımlanmıştır ve bu genotipleri taşıdığı bilinen hastalarda, BH₄ yanıtılılık testi yapılmasına gerek olmayabilir (14). Yanıtılı olduğu çok iyi bilinen bir mutasyonu taşıyan birey yanıtısız bulundu ise teste başlarken saptanan fenilalanin düzeyi, verilen BH₄ dozu yeniden değerlendirilerek testin tekrarlanması ya da test süresinin uzatılması önerilir (20). Yine de özellikle bileşik heterozigot mutasyonu olan hastalarda, aynı genotipe karşın, fenotipte farklılıklar olabileceğı göz önünde bulundurulmalıdır.

Bilim dalımızda Türkiye'de BH₄ yanıtılılığı ve genotip-fenotip ilişkisini değerlendirmek amacıyla Yıldırım ve ark. (29) tarafından yapılmış olan bir çalışmada, dört hafif hiperfenilalaninemili, dokuz hafif fenilketonürili ve yedi orta fenilketonürili hastaya 20 mg/kg tek doz BH₄ ile 24 saatlik yükleme testi yapılmıştır. Bu çalışmada, BH₄ yüklemesinin 8. saatinde kan fenilalanin düzeyinde %30'dan daha çok düşme olan hastalar iyi yanıtılı, 12-16 saatten sonra %30'dan daha çok düşme olan hastalar ise kısmi-yavaş yanıtılı olarak tanımlanmıştır. Dokuz hasta yanıtılı, üç hasta yavaş yanıtılı, sekiz hasta ise yanıtısız olarak değerlendirilmiştir. Yanıtılı hastaların mutasyon sonuçları,

DelF39/-, p.L48S/p.L48S, p.R261Q/- (dört hasta), p.A300S/IVS2nt5g>c, p.A300S/-, p.E390G/p.E390G olarak belirlenmiştir. Kısmi/yavaş yanıt veren hastaların mutasyon sonuçları ise p.L48S/p.L48S, p.R261Q/p.R261Q, IVS10nt546/- bulunmuştur. Aynı mutasyonun farklı hastalarda farklı fenotipik özellikler gösterebileceği ve tek başına genotipin BH₄ yanıtlılığı için yol gösterici olmayacağı vurgulanmıştır.

Dobrowolsky ve ark.ın (12) 583 hiperfenilalaninemili Türk hastada genotip değerlendirdikleri, 462 hastada BH₄ yükleme testi yaptıkları ve BH₄'e yanıtlılık oranını %22 buldukları çalışmada ise, homozigot mutasyonu olan hastaların büyük bir bölümünde daima aynı fenotipik özellik saptanırken (örneğin, p.R408W/p.R408W mutasyonunda hiç PAH aktivitesi saptanmamış, hastaların tümü klasik FKÜ olarak değerlendirilmiş ve %100'ü BH₄'e yanıtız bulunmuştur), bazı genotiplerde fenotipik özellikler açısından farklılıklar saptanmıştır (örn. p.L48S/p.L48S mutasyonunu taşıyan hastaların %42'sinin hafif hiperfenilalaninemi, %33'ünün hafif FKÜ, %25'inin klasik FKÜ olduğu ve %44,4'ü BH₄'e yanıtlı olduğu belirlenmiştir). Bu çalışmada Türk hastalarda en sık görülen 10 homozigot mutasyonda PAH enzim aktiviteleri ve BH₄ yanıtlılıkları sırasıyla, IVS4+5G>T (<%1 aktivite, %0 yanıtlılık), p.P281L (%1 aktivite, %3,7 yanıtlılık), IVS10-11G>A (<%1 aktivite %3,6 yanıtlılık), p.R408W (%2 aktivite, %0 yanıtlılık), p.A300S (%31 aktivite, %25 yanıtlılık), p.R252W (%1 aktivite, %20 yanıtlılık), p.L48S (%39 aktivite, %44,4 yanıtlılık), p.R261Q (%38,5 aktivite, %39,1 yanıtlılık), p.R241C (%25 aktivite, %40 yanıtlılık), p.E390G (%72,5 aktivite, %40 yanıtlılık) olarak belirlenmiştir.

2.4. Sapropterin Dihidrokloridin Etki Mekanizması, Metabolizması ve Farmakokinetiği

2.4.1. Etki Mekanizması

Sapropterin dihidroklorid (Kuvan[®]), 6R-tetrahidro-L-biopterin ya da 6R-BH₄, BH₄'e yanıtı FKÜ'lü hastalarda hiperfenilalanineminin tedavisinde kullanılan BH₄'ün sentetik analogudur. BH₄, PAH enziminin kofaktörüdür ve oksidatif reaksiyon yolu ile fenilalaninin tirozine dönüşümünü artırır (30). Sapropterin, yalnız biyolojik olarak aktif olan 6R-BH₄ formunu içerir ve bu etken maddenin az da olsa PAH aktivitesi olan hafif HFA'lı ya da FKÜ'lü hastalarda serum fenilalanin düzeyini düşürdüğü gösterilmiştir (31).

Sapropterinin etki mekanizması ile ilgili başlangıçtaki düşünce *PAH* gen mutasyonlarının, mutant proteinin kofaktöre bağlanma ilgisinde azalmaya neden olduğu ve farmakolojik dozda BH₄ verilmesi ile bunun düzeltilebildiği şeklinde olmuştur. Rekombinant PAH protein kullanılarak yapılan kinetik çalışmalar, bunun sadece bazı nadir durumlarda olduğunu göstermiştir (30,32,33). Daha sonraki çalışmalar, bu konudaki görüşleri kinetik etkiden, moleküler şaperon gibi etki ederek BH₄'ün kısmen yanlış katlanmış PAH proteinlerinin durağanlığını ve bu şekilde işlevsel PAH enziminin etkin hücre içi konsantrasyonunu artırdığı yönüne doğru çevirmiştir. Geniş aralıktaki substrat ve konsantrasyonları ile PAH aktivitesini analiz etmeyi sağlayan tekniği kullanarak PAH kinetikleri konusundaki daha geniş bir bakış açısı sağlayan çalışmalar ise, kesin şaperon etkisi yanı sıra, kinetik etkinin de dikkate alınması gerektiğini göstermiştir

Sapropterin ilk onaylanmış farmakolojik şaperondur. Şaperonlar, hedef protein yapısını durağanlaştıran ya da etkilenmiş biyolojik yolların işlevini yeniden düzenleyen küçük molekül yapıda kimyasal bileşiklerdir. BH₄, protein agregasyon hızını yavaşlatarak, hidrofobisiteyi azaltarak ve yıkımı yavaşlatarak, enzim proteininin yanlış katlanmasını (misfolding) düzeltir (34). Böylece enzimi proteolitik yıkım ve termal inaktivasyondan korur. BH₄, kısmen yanlış katlanmış mutant PAH proteinlerinin yapısını ve bu proteini kodlayan mRNA'yı durağan hale getirip işlevsel PAH enziminin

hücre içi etkin konsantrasyonunu artırarak moleküler şaperon görevi yapar (3,34-37). Bu nedenle BH₄'e yanıt verebilmek için karaciğerde, BH₄ ile etkileşime girebilecek, belli bir düzeyde PAH proteini olması gerekir. Bu da neden hafif FKÜ ve hafif mutasyonların BH₄'e yanıt verdiğini, fenotip ağırlaştıkça yanıtın daha yavaş ve yetersiz olduğunu açıklamaktadır. Bazı mutant enzim proteinleri, BH₄'e daha düşük bağlanma eğilimi gösterdiklerinden bu vakalarda daha yüksek doz gerekebilir.

Sarkissian ve ark. (33) tarafından karaciğerdeki PAH protein miktarı normalin %20'si ve enzim aktivitesi normalin %2,5'i olup, hafif hiperfenilalaninemi modeli gösteren mutant *Pahenu1/enu2* (ENU1/2) fare modeli ile, bu farelerde BH₄ yüklemesinin etkilerinin araştırıldığı bir çalışma, yakın dönemde yayınlanmıştır. Mutant PAH proteininin yanlış katlanması artmış ve durağan yapısı bozulmuştur. Tek doz fenilalaninin deri altına verilmesi ile (0,1 mg L-Phe/g vücut ağırlığı) kan fenilalanin düzeyi ve fenilalanin/tirozin oranında 2-3 kat artış, PAH protein miktarı ve PAH enziminin aktivite düzeyinde ise 1,6 kat artış gözlenmiştir. Büyük olasılıkla bu uygulama ile fenilalaninin GTP siklohidrolaz-1 enzimi üzerine etkisi ve regülatuar proteinlerin "feedback etkisi" ile karaciğerde BH₄ düzeyinde artış sağladığı, artmış BH₄ miktarının ise PAH enziminin durağanlaşmasına neden olduğu düşünülmüştür. ENU1/2 farelere 10 gün süre ile 50 mg/kg/gün BH₄ verilmesi sonrasında, kan fenilalanin/tirozin oranı düşmüş, fenilalanin düzeyi hafif hiperfenilalaninemi sınırlarına inmiş, bununla birlikte PAH miktarı ve aktivitesi değişmemiştir. Bu nedenle ENU1/2 farelere BH₄ verilmesinin, fenilalanin hidrosilasyonunu, şaperon durağanlaştırıcı etkiden çok, kinetik etki yoluyla artırdığı belirlenmiştir. Sonuç olarak, ENU1/2 fare modelinde fenilalanin aracılıklı mutant PAH protein aktivitesinin uyarılmasının durağanlaştırıcı şaperon mekanizması ile olduğu, aksine BH₄ verilmesinin mutant enzim üzerinde açıkça bir şaperon etki ortaya çıkarmadan fenilalanin hidrosilasyonunu artırabileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada, fenilalanin konsantrasyonunu artırıp, BH₄ verilmesi yoluyla, ENU1/2-mutant PAH'ın in vivo yapılanması ve düzenlenmesi konusunda yeni görüşler getirilmiştir.

Etki mekanizması ile ilgili çalışmaları klinik uygulamalar ile birleştirilecek olursa, kısa dönem BH₄ vermenin açığa çıkmamış ve gizli kalmış BH₄ eksikliğini yerine

koyarak enzimin en uygun katalitik işlevini sağladığı (kinetik etki), uzun dönem farmakolojik dozlarda BH₄ ile tedavinin ise, fenilalanin hidroksilazın durağanlığını artırdığını ve işlevsel enzim miktarını artırdığı (şaperon etki) söylenebilir. Ek olarak bireysel mutasyonların sağlanan etkiyi, terapötik etkinin biri ya da diğerine çevirebildiği söylenebilir. Bu nedenle kısa süreli BH₄ yükleme testi kinetik etkileri değerlendirir, uzun dönem BH₄ tedavi testleri şaperon etkileri değerlendirir. İn vivo ¹³C-fenilalanin oksidasyon testleri ise in vivo PAH enzim aktivitesi üzerine BH₄'ün etkisini değerlendirebilir.

2.4.2. Metabolizması

Karaciğer işlevlerinde bozukluk olan hastaların sapropterin alırken yakından izlenmeleri gerekir. Karaciğer işlev bozukluğu, fenilalanin metabolizmasını olumsuz etkiler, ancak, karaciğer ya da böbrek yetmezliği olan hastalarda sapropterinin farmakokinetiği henüz çalışılmamıştır (30).

2.4.3. Farmakokinetiği

Sapropterinin biyolojik olarak aktif formu 6R-BH₄'ün, hızlı bir emilim ve dağılım fazı, uzun bir vücuttan atılım fazı vardır. Dört yetişkin hastada yapılmış bir çalışmada, hastalara 10–20 mg/kg arasında tek dozda sapropterin verildiğinde, vücuttan atılım kinetiğinin, yüksek plazma konsantrasyonlarında, az da olsa daha yüksek olduğu bulunmuştur (38). Bu çalışmada bir hastaya hem 10 hem de 20 mg/kg/dozda ilaç verilmiş, yüksek doz ile yarılanma ömrünün daha uzun olduğu gösterilmiştir (T=5.1'e karşılık 4.2 saat). Eğrinin altında kalan alan (AUC_{0-10 h}) 20 mg/kg/dozda 10 mg/kg ile karşılaştırıldığında, 1.6 kat daha yüksektir (3046'ya karşılık 1958 nmolh/L). Başka bir çalışmada, BH₄ verilmesinden sonra, en üst konsantrasyona dört saatte ulaşıldığı ancak, farmakolojik yanıtın geciktiği, kan fenilalanin düzeyinin ilaç verilmesinden 8–24 saat sonra düştüğü gösterilmiştir (39) Başka bir çalışmada ise, en yüksek kan düzeyine ilacın alımından sonra 2-4 saatte ulaşıldığı ve yarılanma ömrünün altı saat olduğunu bildirilmiştir (40).

Gramer ve ark. (41) tarafından 10 mg/kg, 20 mg/kg ve 30 mg/kg dozda BH₄ ile yükleme testi yapılan 17 hastada ilaç düzeyleri araştırılmıştır. İlaç konsantrasyonunun

iki özgül göstergesi olan kan biopterin ve pterin düzeyleri daha yüksek dozlarda ilaç ile anlamlı olarak artmış, ancak biopterin ve pterin düzeyleri ile kan fenilalanin düzeyinde düşüş arasında ilişki saptanmamıştır. İlaç kan düzeyinin cinsiyet, fenotip ya da genotipten etkilenmediği gösterilmiştir. Bir başka çalışmada ise ilacın bütün ya da çözünmüş biçimde alınması ve yemek ile birlikte alınmasının biyoyararlanım üzerine etkisi araştırılmıştır (42). Hastalara 10 mg/kg dozda açken çözünmüş tablet, 10 mg/kg dozda açken bütün tablet ve yüksek enerjili yemek ile birlikte bütün tablet verilmiştir. BH₄ konsantrasyonları, çözünmüş tablet alanlara göre bütün tablet alanlarda ve açken alanlara göre yemek sırasında alanlarda daha yüksek bulunmuştur. Bu nedenle ideal olarak büyük çocuk ve yetişkinlerde, ilacın çözünmeden bütün tablet olarak yemek ile birlikte ve her gün aynı zamanda alınması önerilmektedir.

Aynı genotipe sahip olan bireylerin BH₄ yanıtınlığı yönünden farklı fenotipik özelliklerinin olabilmesi konusunda bir açıklama da BH₄'ün şaperon özelliği yanında kinetik özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. PAH enzim kinetiği ile substrat-kofaktör konsantrasyonlarındaki geniş aralığın PAH aktivitesi üzerine etkisini inceleyen Staudigl ve ark.ın (43) yaptığı çalışmada BH₄ verildiği sıradaki kan fenilalanin düzeyi ile verilen BH₄ dozu arasındaki ilişkinin önemi gösterilmiştir. Belirli bir mutasyon, bu değişkenler farklı olduğunda farklı yanıtınlık özellikleri gösterebilir. Özellikle heterozigot mutasyonu olan hastalarda bu etki daha da büyüyebilir. Genotip, PAH enzim kinetiği ve BH₄ yanıtınlığı arasındaki ilişkiler üzerine önemli yeni görüşler getiren bu çalışmada, değişik PAH genotipleri taşıyan bireylerde, tek doz BH₄ testlerinin sonuçları üzerinde değişik substrat ve kofaktör konsantrasyonlarının etkisini analiz edilmiştir. Klinik pratikte, BH₄ yükleme testinin başlangıcındaki fenilalanin konsantrasyonunun testin sonuçlarını etkileyeceği beklenmemektedir. Çalışmada sürpriz olarak, literatürde ve BIOPKU veri tabanında bulunan BH₄ yükleme testlerinden elde edilen verilerin bu görüşü her zaman doğrulamadığı görülmüştür. F39L, I65T ya da Y414C mutasyonlarını homozigot ya da hemizigot olarak taşıyan hastalar testin başlangıcındaki fenilalanin konsantrasyonunun işlevi ile BH₄ yükleme testine önemli ölçüde farklı yanıt vermektedirler. Örneğin I65T mutasyonunun varlığında 500 µM (8,3 mg/dL) fenilalanin ile yanıt %60 iken, 1500 µM (25 mg/dL) fenilalanin düzeyinde yanıt %0 olabilmektedir. Bu, şu an kullanılan BH₄

yükleme protokollerini yeri geldikçe yeniden gözden geçirilmesini gerektiren bir bulgudur. Gelecekte, test için en uygun fenilalanin düzeyi ve BH₄ dozunun standart olarak uygulanmayıp, bireyselleştirilmesi gündeme gelebilir.

2.5. Sapropterin Dihidrokloridin Güvenliliği

Sapropterin dihidrokloridin güvenliliği ile ilgili çalışmalar olumlu sonuçlar vermektedir. En sık bildirilen yan etkiler, baş ağrısı (%10-20), nazofarenjit (%15), faringolarenjial ağrı (%2-14), üst solunum yolu enfeksiyonu bulguları (%3-28), kusma (%2-13), ishal (%5-10) ve karın ağrısıdır (%5-9) (16,25,44,45). İlaç klinik uygulamalarda kullanılmaya başlandıktan sonraki çalışmalarda da tedaviye uyumu zorlaştıracak ya da ilacın kesilmesini gerektirecek ciddi bir yan etki bildirilmemektedir (46-49). Burton ve ark. (50) tarafından sapropterinin güvenliliğinin değerlendirildiği üç yıllık faz 3b uzatma çalışmasında, sapropterin kullanan 111 hasta içinde, bir hastada konsantrasyon güçlüğü, bir hastada trombosit sayısında düşüklük, bir hastada aralıklı diyare ve bir hastada gastroözofajiyal reflü bildirilmiştir. Bununla birlikte uzun döneme ait güvenlilik verileri halen yeterli değildir ve küçük çocuklarda, gebelikte, böbrek ve karaciğer işlevlerinde bozukluk olan hastalarda güvenli kullanımı ile ilgili daha çok çalışmaya gereksinim vardır.

Sapropterin dihidrokloridin başka ilaçlar ile etkileşimini değerlendiren insan çalışmaları henüz yoktur, ancak potansiyel olarak ilaç etkileşimlerinin olabileceği bilinmektedir. Metotreksat gibi folik asit metabolizmasını etkileyen ilaçlar, dihidropteridin redüktaz enzminin aktivitesini baskılayarak, BH₄ konsantrasyonlarını düşürebilir. Sapropterin kullanan hastalarda bu ilaçların kullanımına çok dikkat edilmelidir. BH₄, nitrik oksit aracılıklı vazodilatasyonu tetikleyebilir ve fosfodiesteraz-5 inhibitörü ilaçlar ile birlikte vazodilatasyon etkisi artabileceğinden bu grup ilaçlar ile birlikte kullanımından sakınılmalıdır. Sapropterin ve levodopanın birlikte kullanımı, konvülsiyon, aşırı uyarım, huzursuzluk gibi nörolojik sorunlara neden olabileceğinden bu birlikte kullanıma da dikkat edilmelidir.

2.6. Hasta Seçimi ve Maliyet

Fenilketonüri tedavisinde ömür boyu süren katı diyetin getirdiği psikososyal zorluklar yanında, tedavi maliyeti de sorunların farklı bir boyutudur. Hastalık klasik yöntem ile tek başına fenilalaninden kısıtlı diyet ile tedavi edildiğinde, fenilalanin içermeyen özel amino asit karışımları ve protein içeriği düşük beslenme ürünlerinin bireye ve sosyal güvenlik kurumlarına getirdiği önemli bir mali yük bulunmaktadır. Sapropterin dihidroklorid tedavisi ise klasik tedavi yöntemine göre çok daha pahalıdır ve bu mali yük tedavinin en önemli dezavantajıdır. Büyük çocuklarda yıllık maliyet 300.000 TL'ye ulaşabilmektedir ve bu maliyet klasik tedavinin yaklaşık 11 katıdır. Bu nedenle tedavi kararı, uzun dönemde tedaviden beklentileri göz önünde bulundurarak, her bir bireyin özelinde dikkatle düşünülerek bu konuda deneyimli uzman hekimlerce alınmalıdır.

2.7. Tedaviye Başlangıç, Diyetin Serbestleştirilmesi ve İzlem

BH₄'e yanıtı bulunan ve tedaviye başlama kararı verilen hastalar için halen çok düzenlemeler ile tedavi yönetimine gereksinim vardır. Uzun dönemde tedaviye yanıtılığın sürdüğü kanıtlanmalıdır. Kan fenilalanin düzeyinde dalgalanmalar ve test sırasında istenmeden yapılan diyet değişiklikleri, yanlış pozitif yanıtılık sonuçları ortaya çıkarabilir. Kan fenilalanin düzeylerinde düşme ya da diyetteki fenilalanin toleransında belirgin biçimde artış, bireyin gerçekten BH₄ yanıtı olduğunu doğrular. Ancak ne düzeyde kontrol ya da tolerans artışının yeterli kanıt olarak değerlendirileceği konusunda ortak bir görüş birliği halen yoktur (20). BH₄ tedavisi, özellikle tedavinin ilk yılında hekim ve diyetisyen tarafından çok yakından denetlenmelidir.

İlk olarak, birey için uygun BH₄ dozu kararlaştırılmalıdır. Bazı çalışmaların sonuçları, doz yükseldikçe kan fenilalanin düzeylerindeki düşme oranının da artacağını bildirmektedir (45). Bu nedenle Amerika Birleşik Devletleri'nde sapropterinin 20 mg/kg dozda kullanılması eğilimi vardır. Bununla birlikte başka çalışmalar, her hastanın yararlanacağı belirli bir doz olduğunu, bunun üzerine çıkmanın hastaya fazladan bir yarar sağlamayacağını ileri sürmektedir. Avrupa ülkelerinden yapılan yayınlar daha çok bu tezi savunmaktadır ve hastalara düşük dozda ilaç başlanıp daha fazla tolerans artışı

sağlamayacak doza ulaşılması hedeflenmektedir (48,51-55). Vücut ağırlığı başına doz yaşa bağlı değildir, ancak genotip-fenotip ilişkisinden etkilendiği görülmektedir. Uzun dönem tedavide daha hafif tiplerde daha düşük BH₄ dozları gerekmektedir (20). Günlük doz, diğer tüm ilaçlar gibi, vücut ağırlığından bağımsız, daha yüksek dozlara çıkıldığında yarar sağlamayan, verilebilecek en yüksek doz olmalıdır. Ancak bunun ölçümünün yapıldığı bir çalışma yoktur. Fazla kilolu ya da yetişkin hastalar için her merkezin kendi protokollerine göre kararlaştırdığı bir en üst doz vardır. Bazı merkezler 20 mg/kg/doza devam ederken, bazı merkezlerde 1-1,4 g/gün arasında bir doz aşılmamaktadır (20). Sapropterinin 20 mg/kg üzerinde kullanımının denendiği yayınlarda, daha yüksek dozda ek bir yan etki gözlenmediği, ancak daha çok klinik yarar da sağlanmadığı bildirilmektedir (48). Hayvan çalışmalarında ise 20 mg/kg üzerindeki dozların tersine baskılayıcı etki gösterebildiği bildirilmiştir (56).

Farmakokinetik çalışmalar, en yüksek kan düzeyine ilacın alımından sonra 2-4 saatte ulaşıldığını ve yarılanma ömrünün altı saat olduğunu göstermektedir (40). İlaç genellikle günde tek doz kullanılmaktadır, ancak, gün içinde kan fenilalanin düzeyinde dalgalanmaları önlemek için günlük toplam dozun 2-3'e bölünerek verilmesini öneren çalışmalar da vardır (53). Emilimin daha iyi olmasından dolayı ilacın yemek ile birlikte alınması önerilmektedir (42).

Sapropterin tedavisine başlanması ile birlikte, diyet değişiklikleri yapılmaya başlanmalı, diyet ile alınan fenilalanin miktarı, olabilecek en yüksek fenilalanin toleransı belirleninceye kadar giderek artırılmalıdır. Özellikle tedavinin ilk ayları, çok yakın beslenme izlemi gerektirir. Aileye gerekli diyet değişiklikleri çok iyi anlatılmalı, uzun dönem izlemde besin öğesi eksiklikleri oluşmasına yol açılmaması için önerileri doğru anlayıp uyguladıklarından ve herhangi bir besin isteksizliği olmadığından emin olunmalıdır. Sapropterin kullanan her hastada tümüyle serbest diyete geçme olanağı olmadığı, ancak diyetin kısmen de olsa serbestleştirilebileceği açıklanmalıdır.

Sapropterin öncesi fenilalanin toleransı hesaplanmalıdır. Genel yaklaşım, ilaç ile birlikte yeni fenilalanin toleransını saptamak için diyet ile alınan fenilalanini haftalık olarak küçük miktarlarda artırmak ve kan fenilalanin düzeyini yakından izlemektir. Fenilalanin doğal protein olarak artırılabilir, ancak bazı merkezler başlangıçta,

fenilalanin artışının daha kolay ve doğru hesaplanabileceği ve çocuğun sevebileceği ancak uzun dönemde tolere edemeyeceği besinler ile karşılaşmasını önlediği için yalnız yumurta ya da süt tozu ile diyetteki fenilalanin miktarını artırmayı tercih etmektedirler (20). Özel fenilalanin içermeyen amino asit karışımları yeni protein gereksinimlerine göre giderek azaltılmalıdır (57). Yeni diyetin nasıl düzenleneceğini gösteren akış şemaları vardır, ancak diyetin düzenlenmesi ve her bir doğal protein içeren besin ögesi ile karşılaşma zamanının belirlenmesi konusundaki yaklaşımlar, sıklıkla hastanın beklentileri ve her merkezin kendi deneyimlerinden en çok etkilenmektedir (20). Çok hafif fenotip olup, BH₄ yükleme testinde kan fenilalanin düzeyinde yüksek oranda düşüş gösteren hastalar, hızla normal kısıtlama gerektirmeyen diyetle geçebilirler. Bununla birlikte, daha ağır fenotipte, kan fenilalanin düzeylerinde daha küçük düşüşler olan hastalarda ve geç yanıtılılarda sapropterin verilmesi diyetteki tolere edilebilen fenilalanin miktarını artırabilir ama uzun dönemde kısıtlı diyet gereksinimini tamamen ortadan kaldırmayabilir. Bu dönemde normalden fazla kilo artışının önüne geçmek için izlem de önemlidir.

İlaçla başarılı biçimde tedavi edilebilen hastada fenilalanin toleransında artış gerçekleşir. Bu artış gözlenmiyorsa, BH₄ yükleme testinde yanlış pozitif yanıtılık olasılığı düşünülmeli ve uzun dönem tedavi yeniden değerlendirilmelidir. Tolerans artışını yanıtılılığın bir göstergesi olarak kullanma konusunda açık bir öneri yoktur ve bu konudaki görüşler günlük 2 g/kg doğal protein alımı ölçütünden, tedavi öncesi fenilalanin toleransının iki katına çıkması ya da tamamen serbest diyete geçilebilmesine kadar değişkenlikler göstermektedir. Tedavinin ilk aylarından ve fenilalanin toleransının belirlenmesi, ilaç dozunun ayarlanmasından sonra sapropterin kullanan hastaların izlemine diğer FKÜ'lü hastaların olağan izlemlerine benzer şekilde devam edilebilir.

2.8. Sapropterin Dihidrokloridin Etkinliği ile İlgili Klinik Çalışmalar

Sapropterin tedavisi kullanılan dört yaşın altındaki hastalar ile ilgili az sayıdaki çalışmaların sonuçları önemli bir yan etki bildirmemekteyse de (58-61) birçok Avrupa ülkesinde ilacın dört yaş altında kullanımı halen onaylı değildir. Bu yaş grubunda kullanımının etkinliği, güvenliliği ve ilacın farmakokinetik özelliklerinin araştırıldığı,

bilim dalımızın da içinde yer aldığı uluslararası bir çalışma halen devam etmektedir. İlacın kullanımının yaygınlaşması özellikle son beş yıl içinde olduğu için az sayıda merkezin 2-3 yıldan uzun deneyimi vardır (48,51-55,62,63). Uzun dönem izlem çalışmalarında sapropterinin diyetteki fenilalanin toleransını artıran etkisi dışında, bilişsel gelişimi en olumsuz etkileyen etmenlerden biri olan kan fenilalanin düzeylerindeki dalgalanmaların azalması (54,64,65) büyümenin daha iyi olması (54) ve beslenme durumunun düzelmesi (47,52) gibi başka olumlu etkileri de bildirilmekte, ancak değerlendirmelerin sağlıklı olabilmesi için nöropsikolojik değerlendirmeler ve yaşam kalitesinde artış olacağı beklenmektedir, ancak bu konudaki çalışmaların artması ve FKÜ'lü hastalara özel yaşam kalitesi ölçeklerinin geliştirilmesi gereklidir (66-68). Bilim dalımız, FKÜ hastalığına özel bir yaşam kalitesi ölçeği geliştirilmesi için, halen devam etmekte olan, uluslararası bir çalışmanın da içinde yer almaktadır. Sapropterin dihidroklorid tedavisinin etkinliği ile ilgili klinik çalışmalar, Tablo 2.2'de verilmiştir.

Dört yaş altındaki hafif FKÜ'lü hastalarda sapropterin kullanımının etkinliği ve güvenliliğinin araştırıldığı bir çalışmada (61) 24 saatlik BH₄ yükleme testinde yanıtı bulunan 15 hastaya 7-80 ay aralığında süreler ile tedavi uygulanmıştır. Hastalardan yedisinin tedavisine yenidoğan döneminde başlanmıştır. Tedavi ile hastaların fenilalanin toleransları belirgin artış göstermiş, 14 hastada fenilalanin içermeyen amino asit karışımları kesilmiş ya da kullanılmasına hiç gereksinim olmamıştır. Hiçbir yan etki bildirilmemiştir.

Ziesch ve ark. (68) tarafından yapılmış olan bir çalışmada, yenidoğan BH₄ yükleme testi sonuçlarına ve mutasyon analizine dayanılarak yanıtı olduğu düşünülen 4-18 yaşları arasında 19 hastanın, tedavi başlanmasından bir yıl önce, ilk 42 gün içinde ve üç ay sonrasındaki kan düzeyi kontrolleri, beslenme protokolleri ve yaşam kalitesi ölçeği sonuçları değerlendirilmiştir. Sekiz hastada iyi bir metabolik kontrol ile fenilalanin toleransında artış saptanırken, altı hastanın protein kısıtlaması gereksinimi tamamen ortadan kalkmıştır. Yaşam kalitesi ölçeği KINDL "Kinder Lebensqualitätsfragebogen" ile yapılan değerlendirmelerde tedavi başlanmadan önce ve sonra saptanan puanlar sağlıklı çocuklara benzer bulunmuş, yaşam kalitesi değerlendirme sonuçlarında tedavi ile değişim gözlenmemiştir. Ancak, FKÜ ve diğer doğuştan metabolik hastalıklardaki

yaşam kalitesini değerlendirmek için farklı ölçeklerin geliştirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Burton ve ark. (50) tarafından bildirilmiş olan sapropterinin uzun dönem kullanımı ile ilgili çok merkezli faz 3b üç yıllık uzatma çalışmasında, çalışmanın önceki aşamalarını tamamlamış, 4-50 yaş arasında 5-20 mg/kg dozda ilaç kullanan 111 hastanın, üç ayda bir klinik izlemleri, kan fenilalanin düzeyleri, yan etki bildirimleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın bu bölümünde hastalar ortalama 659 gün süre ile izlenmiştir. Hastaların büyük bir bölümünde kan düzeyleri istenen aralıkta saptanmış, bir hastada konsantrasyon güçlüğü, bir hastada trombosit sayısında düşüklük, bir hastada aralıklı ishal ve bir hastada gastroözofajiyal reflü bildirilmiştir.

Singh ve ark.ın (47) yaptıkları çalışmada sapropterin tedavisinin, fenilalanin toleransı, FKÜ tedavisinde kullanılan özel beslenme ürünleri, beslenme durumu üzerine etkileri araştırılmıştır. İyi metabolik kontrolü olan, 20 mg/kg /dozda BH₄ tedavisi alan 5-12 yaşlar arasındaki altı hasta 24 ay süresince değerlendirilmiştir. Hastaların fenilalanin toleransları ortalama üç katına çıkmış, özel ürün tüketimleri azalmış ve doğal protein tüketimleri artmış, boy Z skorlarında anlamlı artış saptanmıştır.

Sapropterin tedavisinin fenilalanin toleransı üzerine etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise 3-16 yaş arasında 12 FKÜ'lü hastaya 10 mg/kg ile başlanan dozda 6 ay-7 yıl arasında tedavi verilmiş, tedavi altında fenilalanin toleransında 2-3 kat artış görülmüştür (69). Hastaların tümünde özel amino asit karışımları kesilmiş, tedavi sonrasında diyet, düşük protein içeren özel ürün içerse de büyük oranda hayvansal protein tüketimi sağlanmıştır.

Burton ve ark., (64) sapropterin tedavisi kullanan hastaların kan fenilalanin düzeylerinde dalgalanmaların azalmasını değerlendirmek üzere yaptıkları bir çalışmada, ortalama yaşları 12,6 olan 37 hastanın tedavi öncesi ve sonrasında kan düzeylerindeki değişkenliği karşılaştırmışlar ve tedavi sonrasında belirgin olarak azaldığını belirlemişlerdir. Bu etkinin uzun dönemde bilişsel işlevler üzerine olumlu etkisi olacağını öne sürmüşlerdir.

Vernon ve ark., (46) 3-58 yaş arasında 29 hastanın sapropterin tedavisi sonuçlarını değerlendirmişler, 18 hasta çalışmayı tamamlamış ve yanıtı kabul edilmiştir.

Yanıtlı kabul edilen hastaların dördü klasik, 14'ü hafif FKÜ olarak sınıflandırılmıştır. Hastaların 14'ünde 7-15 mg/kg, 4'ünde 15-20 mg/kg/dozda ilaç kullanılmış, fenilalanin toleransı ortalama olarak iki katına çıkmıştır. Beş hastada başlangıçta daha düşük sapropterin dozlarına yanıt alınmışken izlemde dozun artırılması gerekmiştir.

Sapropterinin, yeterli kan fenilalanin düzeyi kontrolünü sağlarken, fenilalanin toleransını artırıcı etkisini değerlendirmek üzere yapılmış olan uluslararası, çift-kör randomize plasebo kontrollü bir çalışmada, 4-12 yaş grubunda 90 çocuk, çalışmanın birinci bölümünde sekiz günlük yükleme testi ile sapropterin yanıtlılığı yönünden incelenmiştir (25). Hastalardan 46'sı yanıtlı bulunmuş ve çalışmanın ikinci bölümünde sapropterin ya da plasebo grubunda olacak şekilde randomize edilmiştir. İlk üç hafta fenilalanin kısıtlı diyetle devam edilmiş, sonrasında kan fenilalanin düzeyi kontrol altında ise iki haftada bir fenilalanin alımı artırılmıştır. Çalışmaya on hafta devam edilmiş, 10 haftanın sonunda plasebo grubuna alınan hastalarda fenilalanin alımı ancak 3 mg/kg/gün artırılabilirken, sapropterin grubuna alınan hastalar, tedavi öncesine göre fazladan ortalama 21 mg/kg/gün fenilalanin alımını tolere edebilmişlerdir.

Sekiz günlük sapropterin kullanımına yanıtlılığın ve güvenliliğin değerlendirildiği bir çalışmada sekiz yaşın üzerindeki 490 hastaya, sapropterin 10 mg/kg/gün dozunda sekiz gün süre ile uygulanmıştır (44). Hastalardan 485'i çalışmayı tamamlayabilmiş, 96 hasta (%20) yanıtlı bulunmuştur. Fenilalanin düzeyinde azalma, başlangıç fenilalanin düzeyi temel alınarak hastalığın her fenotipik alt grubunda saptanmıştır, ancak hafif tipteki hastalarda yanıtlılık oranları daha yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, her fenotipik alt grupta yanıtlılık derecesinde büyük değişkenlikler görülmüştür. Fenilalanin düzeyindeki azalma derecesinde görülen değişkenlikler nedeniyle, başlangıç fenilalanin düzeyine bakarak yanıtlılığın öngörülemediği ileri sürülmüştür. Yanıtlı hastalardan 89'u çok merkezli, randomize, çift kör plasebo kontrollü bir çalışmaya alınmış, 87'si 10 mg/kg/gün dozda sapropterin ya da plasebo grubuna randomize edilerek altı haftalık çalışmayı tamamlamıştır (16). Altı haftanın sonunda sapropterin grubundaki hastaların %44'ünde, plasebo grubundaki hastaların %9'unda başlangıç değerlerine göre kan fenilalanin düzeylerinde %30'dan fazla düşme saptanmış, fark anlamlı bulunmuştur. Sapropterin grubundaki hastalarda birinci haftanın

sonunda kan fenilalanin düzeyinde azalma saptanmış, bu etki kalan beş hafta süresince devam etmiştir. Sapropterin grubundaki hastaların %23'ünde, plasebo grubundaki hastaların ise %20'sinde yan etki bildirilmiştir. Bildirilen yan etkiler en sık üst solunum yolu enfeksiyonu olmuştur.

Lambruschini ve ark. (52) 11 hastada bir yıl süre ile 5 mg/kg dozda BH₄ tedavisinin sonuçlarını değerlendirdikleri çalışmada, fenilalanin toleransının yaklaşık beş katına çıktığını saptamışlardır. Üç hasta, fenilalanin toleransında yeterli artış sağlanamadığı ve tedavi kesildiği için çalışmaya alınmamıştır. Tedavi sonrasında serum selenyum düzeyinde belirgin bir artış olduğunu belirlemişlerdir. Hastaların büyüme ve nöropsikolojik değerlendirme ile ilgili sonuçları normal sınırlarda bulunmuştur. Genotip yönünden p.P275S ve p.R408W birlikteliğinin uzun dönem BH₄ yanıtlılığı ile ilişkili bulunduğunu, p.P362T/p.V388M ve p.R243Q/IVS10-11G>A birlikteliklerinin uzun dönemde kötü metabolik kontrole neden olduğunu saptamışlardır. Çalışma sonucunda yanıtı hastalarda BH₄'ün güvenli ve etkin bir tedavi olduğunu, düşük doz kullanmanın yan etkiye neden olmadan yeterli beslenme ve iyi metabolik kontrol sağladığını belirtmişlerdir.

Trefz ve ark.ın (54) 8-12 mg/kg dozda BH₄ tedavisi alan 8 hasta ile yaptıkları uzun dönem izlem çalışmasında, üç hastada yenidoğan döneminden itibaren, beş hastada ise başlangıçta fenilalanin kısıtlı diyet verildikten sonra tedaviye başlanmıştır. Yedi hasta yalnız BH₄ tedavisine devam edilebilmiş, bir hastada ise diyet ile alınan fenilalanin miktarında artış sağlanabilmiştir. En uzun izlem süresinin beş yıl olmuş, tedavi süresince büyüme ve gelişim normal sınırlar içinde bulunmuş, yan etki gözlenmemiştir.

Tablo 2.2. Sapropterin dihidroklorid tedavisinin etkinliği ile ilgili çalışmalar.

Yazar	Araştırma yöntemi	Hasta sayısı	Çalışma grubu	Doz	Süre	Sonuçlar
Ziesch, 2012 (68)	Geriye ve ileriye dönük	19	4-18 yaş BH ₄ yanıtı FKÜ	20 mg/kg	Tedavi öncesi bir yıl ve sonrası üç yıl	Sekiz hasta tolerans artışı, altı hastada serbest diyeteye geçilmiş, yaşam kalitesi ölçeklerinde değişiklik bulunmamıştır
Leuret, 2012 (61)	Geriye dönük	15	4 yaş altı BH ₄ yanıtı hafif FKÜ	20 mg/kg	7-80 (ortalama 23) ay	Fenilalanin toleransı belirgin olarak artmış, hiçbir yan etki gözlenmemiştir
Burton, 2011 (50)	Faz 3b, üç yıllık uzatma çalışması	111	4-50 yaş	5-20 mg/kg	Ortalama 659 gün	İlaç güvenli bulunmuş, çalışma süresince BH ₄ yanıtı sürmüştür
Singh, 2010 (47)	İleriye dönük	6	5-12 yaş	20 mg/kg	24 ay	Fenilalanin toleransları artmış, boy büyümeleri hızlanmıştır
Burton, 2010 (64)	Geriye dönük	37	Ortalama 12,6 yaş	-	-	Tedavi sonrasında kan fenilalanin düzeyindeki dalgalanmalar belirgin olarak azalmıştır
Vernon, 2010 (46)	İleriye dönük	29	3-58 yaş	7-20 mg/kg	-	Fenilalanin toleransı ortalama olarak iki katına çıkmıştır
Burlina, 2009 (69)	Geriye dönük	12	3-16 yaş	10 mg/kg	6 ay-7 yıl	Tedavi altında fenilalanin toleransında 2-3 kat artış görülmüştür.
Trefz, 2009 (25)	İleriye dönük, açık etiketli	90	4-12 yaş	20 mg/kg	8 gün	Hastaların %56'sı sapropterine yanıtı bulunmuştur
Trefz, 2009 (25)	Randomize, çift kör, plasebo kontrollü	Yukarıdaki çalışmada yanıtı bulunan 46 hasta	4-12 yaş	20 mg/kg	10 hafta	Sapropterin alan hastalarda fenilalanin toleransı yedi kat artmış ve plaseboya göre anlamlı bulunmuştur
Burton, 2007 (44)	İleriye dönük, çok merkezli, açık etiketli	485	8-49 yaş	10 mg/kg	8 gün	Hastaların %20'si yanıtı bulunmuştur
Levy, 2007 (17)	Randomize çift kör plasebo kontrollü	Yukarıdaki çalışmada yanıtı bulunan 89 hasta	8-49 yaş	10 mg/kg	6 hafta	Sapropterin kullanan hastaların %44'ünün fenilalanin düzeylerinde anlamlı düşme, plasebo ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur

Tablo 2.2. “devam” Sapropterin dihidroklorid tedavisinin etkinliği ile ilgili alışmalar.

Lambruschini, 2005 (52)	İleriye dönük 11 hasta	4 yaş üzeri	5 mg/kg	1 yıl	Fenilalanin toleransı beş katına ıkmiş, büyüme ve nöropsikolojik değerlendirme normal bulunmuştur.
Trefz, 2005 (48)	İleriye dönük 8 hasta	Yenidoğan dönemi ve sonrası	8-12 mg/kg	Beş yıla kadar	Yedi hasta yalnız BH ₄ tedavisine devam edilebilmiş, bir hastada ise diyet ile alınan fenilalanin miktarında artış sağlanabilmiştir. Büyüme ve gelişim normal sınırlar içinde bulunmuştur. Yan etki gözlenmemiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırmanın Deseni

Bu araştırma, ileriye dönük (prospektif), kesitsel (“cross-sectional”), gözlemsel (“non-experimental”) bir araştırmadır.

3.2. Araştırmanın Evreni

Araştırmanın evreni, sapropterin dihidroklorid yükleme testi yapılan ve/veya tedavisi başlanan fenilketonürlü hastalardan oluşmuştur.

3.3. Araştırmanın Örnekleme

Araştırmanın örneklemini, Haziran 2010 – Haziran 2012 tarihleri arasında kliniğimizde izlenen sapropterin dihidroklorid tedavisi yönünden değerlendirilen ve 48 saatlik sapropterin dihidroklorid yükleme testi yapılan tüm hastalar oluşturmuştur.

3.4. Örnekleme Giriş ve Örneklemeden Dışlanma Koşulları

1. Bilişsel düzeyi normal olan ya da hafif bilişsel sorunu olan, yanıtılığın değerlendirilebilmesi için test uygulanmasını isteyen tüm hastalar çalışma grubuna alınmış,
2. Test sonucunda tedaviye yanıtı bulunan ve tedaviyi kullanmak isteyen tüm hastalara tedavi başlanmıştır.
3. Orta ya da ağır düzeyde bilişsel sorunu olan, sapropterin dihidroklorid tedavisi kullanmak istemeyen hastalar çalışma grubuna alınmamıştır.

3.5. Uygulamalar

Haziran 2010 – Haziran 2012 tarihleri arasında kliniğimizde izlenen sapropterin dihidroklorid tedavisi için uygun görülen ve 48 saatlik sapropterin dihidroklorid yükleme testi yapılan tüm hastalar çalışmaya alınmıştır.

Hastalar, tanı sırasındaki fenilalanin düzeylerine göre üç grupta sınıflandırılmıştır. Tedaviye başlamadan önce, kan fenilalanin düzeyi 2–10 mg/dL arasında olan hastalar hafif hiperfenilalaninemi, 10–20 mg/dL arasında olan hastalar

hafif fenilketonüri 20 mg/dL'nin üzerinde olan hastalar ise klasik fenilketonüri olarak sınıflandırılmıştır.

Sapropterin yükleme testi için kullandığımız protokol Tablo 3.1'de verilmiştir. Test öncesinde 7-10 gün süreyle fenilalanin yüklemesi yapılmış, teste başlanması planlanan hastalarda, testin birinci gününde 0., 8., 16., 24. saatlerde kan fenilalanin düzeyi ölçülerek dalgalanma olmayan, durağan ve yüksek kan değerleri olduğu belirlenmiştir. Ancak, kan alım işleminin çalışma saatleri içerisinde tamamlanabilmesi ve hasta refahının korunabilmesi amacıyla kan örnekleri tam sekizer saat arayla değil, 8, 7 ve 9 saat aralar ile alınmıştır. Teste başlamak için hedeflenen kan fenilalanin düzeyleri, Tablo 3.1'de verilmiştir. Ancak hastaların çoğunun Ankara dışından gelmesi, testin hastanede yatırılarak yapılmaması gibi nedenlerle hastalar fenilalanin toz yüklemesini yaşadıkları şehirde alarak gelmişlerdir. Bu nedenle tam hedeflenen değere ulaşmak her hasta için mümkün olmamıştır. Bazı hastalarda beklenmedik yüksek sonuçlar elde olunurken bazı hastalarda da yüklemeye devam edilmesi gerekmiştir. Bu nedenle optimum fenilalanin düzeyine erişmeden ya da beklenenden yüksek fenilalanin düzeyleri ile teste başlanması gereken hastalar olmuştur. Testin ikinci gününde 20 mg/kg/gün BH₄ verilmiş, 0., 8., 16., 24. saatlerde kan fenilalanin düzeyi değerlendirilmiş, testin üçüncü gününde BH₄ dozu tekrarlanmış, dördüncü günde, ilk dozdan 48 saat, ikinci dozdan 24 saat sonra kan fenilalanin düzeyi son kez ölçülerek test sonlandırılmıştır. Kan fenilalanin düzeyinde, %30'un üzerinde düşüş tam yanıt, %20-30 arasında düşüş kısmi yanıt, %20'nin altında düşüş, yanıtızsızlık olarak kabul edilmiştir.

Yanıtlı olan hastalara 20 mg/kg/gün dozunda sapropterin dihidroklorid (Kuvan[®]) tedavisi başlanmıştır. Tedaviye başlamadan önce, diyetle günlük fenilalanin ve protein alımları geriye dönük bir günlük besin tüketim kaydı ile metabolizma alanında deneyimli diyet uzmanı tarafından belirlenmiştir. Tedaviye başlandıktan sonra, diyetle fenilalanin alımı haftalık olarak 10 mg/kg/gün düzeyinde arttırılmıştır. Günlük fenilalanin alımındaki artış en fazla 300–350 mg olarak ayarlanmıştır. Hasta obez ise bu artış haftalık olarak 5–10 mg/kg/gün düzeyinde olacak şekilde sınırlandırılmıştır. Diyete eklenen ve/veya diyetle var olup miktarı arttırılan besin türlerine, hastanın sapropterin öncesi diyetine göre karar verilmiştir. Hastanın sapropterin öncesi diyetinde amino asit

karışımı ile özel ürünler var, ancak hayvansal besinler yoksa, öncelikle diyetten düşük proteinli özel ürünler çıkarılmış, aşamalı olarak tahıl grubu ve daha sonra hayvansal besinler eklenmiştir. Diyete hayvansal besin eklenmesi esnasında amino asit karışımının miktarı eş zamanlı olarak azaltılmış ya da diyetten çıkartılmıştır (57). Diyetle alınan fenilalanin arttırılması sırasında, kan fenilalanin düzeyleri 7-10 gün aralıklarla ölçülmüştür. Bu amaçla hastaların yaşadıkları illerdeki sağlık merkezlerinde alınan örnekleri hastanemiz Metabolizma laboratuvarına kargo ile yollanmıştır. Analiz sonucunda elde edilen kan fenilalanin düzeyleri bilim dalımızın yaş gruplarına göre belirlediği tedaviyle elde edilmek istenen değerler (0-10 yaş: 2-6 mg/dL, 11-16 yaş: 2-12 mg/dL ve >16 yaş: 2-15 mg/dL) ile karşılaştırılarak kan fenilalanin düzeylerinin belirtilen aralıklarda kalması hedeflenmiştir (70).

İlaç sabah yemek ile birlikte, büyük çocuklarda bütün tablet olarak, tableti bütün olarak kullanamayacak küçük çocuklarda, su ya da meyve suyu ile sulandırılarak verilmiştir. Her bir tablet 20 cc ile sulandırılmıştır. Kan fenilalanin düzeyi istenen sınırlarda kaldığı sürece, çocuğun vücut ağırlığında artış olsa da verilen toplam ilaç miktarında değişiklik yapılmamıştır. Bu şekilde, vücut ağırlığı başına düşen doz giderek azalmış, olabilecek en düşük ilaç dozu ile en yüksek fenilalanin toleransına ulaşılmıştır.

Çalışmanın sonlandığı tarihte en az iki ay tedavi almış olan hastalar ilacın etkileri yönünden değerlendirilmeye alınmıştır.

Yanıtlı bulunan ve tedavi başlanan tüm hastaların moleküler genetik inceleme yapılmak üzere DNA örnekleri saklanmıştır.

Tablo 3.1. Kliniğimizde uygulanan BH₄ yükleme testi protokolü.

BH ₄ YÜKLEME TESTİ						
FENİLALANİN YÜKLEME (7-10 gün)		BH ₄ YÜKLEME (4 gün)				SONUÇ
5 mg/kg/gün dozunda başlanıp 5 mg/kg/gün dozunda artışlarla fenilalanin toz yüklemesi yapılır	Klasik FKÜ'de 20±2 mg/dL	En son verilen dozda fenilalanin toza testin ilk üç günü devam edilir				Kan fenilalanin düzeyinde: %30'un üzerinde düşüş, tam yanıt %20 - 30 arasında düşüş, kısmi yanıt %20'nin altında düşüş, yanıtsızlık kabul edilir
	Hafif-orta FKÜ'de 15±2 mg/dL	1.GÜN	2. GÜN	3. GÜN	4. GÜN	
	Hafif HFA'da 10 mg/dL	09:00 FAD	09:00 FAD 20 mg/kg BH₄	09:00 FAD 20 mg/kg BH₄	09:00 FAD (BH ₄ 'ün 48.saati)	
	kan düzeyine ulaşıldığında teste başlanır	17:00 FAD	17:00 FAD			
		24:00 FAD	24:00 FAD			

FAD: Fenilalanin düzeyi

Çalışmamızda, tedavinin uzun dönem izlem sonuçları ve buna etki eden etmenlerin araştırılması yanında, tedavinin yaşam kalitesi üzerine etkilerini değerlendirmek için tedavi öncesinde 2-12 yaş arasında 12 çocuğa “Çocuklar için Yaşam Kalitesi Ölçeği” uygulanmıştır.

3.6. Araçlar

3.6.1. Fenilalanin Ölçümü

Hastanemiz metabolizma laboratuvarında “high performance liquid – chromatography” (HPLC) ve bazı hastalarda Guthrie bakteriyel inhibisyon ölçüm yöntemi ile çalışılmıştır.

3.6.2. Moleküler Genetik İnceleme

Hastalardan EDTA'lı tüpe alınan kan örnekleri, Invitrogen firmasına ait iPrep DNA izolasyon robotunda “iPrep PureLink gDNA Blood Kit”i kullanılarak izole edilmiştir. Elde edilen her bir DNA örneğinin konsantrasyonu NanoDrop (NanoDrop

Technologies, USA) ile otomatik olarak ölçülerek belirlenmiştir. DNA örneklerinin bir kısmı başka bir tüpe alınarak PCR analizi için 50 ng/µl DNA olacak şekilde sulandırılmış ve konsantrasyonlarının doğruluğu için tekrar Nano Drop'ta ölçülmüştür. DNA örneklerine ait 260/280 değerleri 1,6 – 1,8 olarak bulunmuştur. PAH genine ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde kontrol edilmiştir. PCR ürünleri, ortamdaki fazla dNTP ve primerden temizlenmesi için 96'luk PCR pürifikasyon kiti (Qiagen MinElute 96 protocol PCR purification kit) kullanılarak pürifiye edilmiştir. Saflaştırılmış PCR ürünleri PAH genindeki mutasyonların yeri ve tipinin tespit edilmesi için DNA dizi analizine tabi tutulmuştur. DNA dizi analizi için “BigDye Terminator v3.1” reaksiyon kiti kullanılmıştır. DNA dizi analizi reaksiyonu sonrasında reaksiyona girmeyerek ortamda kalan enzim, floresan işaretli ddNTP (dideoksinükleozit trifosfat) karışımı ve primerlerin uzaklaştırılması için ürünler çöktürülerek tekrar bir saflaştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. DNA dizi analizi reaksiyon ürünleri çöktürülmüş ve otomatik olarak elektroforez işlemine tabi tutulmuştur.

3.6.3. Antropometrik Değerlendirme

Hastaların büyüme ve gelişimi Dünya Sağlık Örgütü'nün “WHO Anthro” (<http://www.who.int/childgrowth/software/en/>) programı ile değerlendirilmiştir.

3.6.4. Çocuklar için Yaşam Kalitesi Ölçeği

Varni ve ark. tarafından 1999 yılında geliştirilmiş olan “Pediatric Quality of Life Questionnaire- PEDS-QL” (71) adlı yaşam kalitesi ölçeğinin Türkçe'ye uyarlanarak geçerli ve güvenilir bulunmuş biçimi kullanılmıştır (72,73). İki-18 yaş arasındaki çocuklar için kullanılan bu ölçek, fiziksel, duygusal, sosyal işlevsellik ve okul işlevselliği olmak üzere dört alanın sorgulandığı 23 maddeden oluşmaktadır.

3.7. Veri Analizi

Veri analizinde grup içi ortalama, standart sapma, median değerlerin hesaplanması ve gruplar arası ortalamaların karşılaştırılması kullanılmıştır. Gruplar arası ortalamaların karşılaştırılması “paired sample t test yöntemi” ile yapılmıştır.

3.8. Etik Kurul Onayı

Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Değerlendirme Kurulu tarafından etik sakınca bulunmadığına karar verilmiş ve onay alınmıştır (Etik Kurul Karar No: 40-861).

BULGULAR

4.1. BH₄ Yükleme Testi Sonuçları

Çalışma süresi boyunca, klinik özellikleri ile BH₄ yanıtı ve sapropterin tedavisi için aday olabileceği düşünülen ya da ailenin BH₄ yükleme testi denenmesini istediği toplam 131 hastaya BH₄ yükleme testi yapılması planlanmıştır. Hastalardan 122'sine test uygulanmış, dokuz hastada ise fenilalanin yüklemesine karşın, kan fenilalanin düzeyinin yeterince yükseltilememiş olması ve fenilalanin toleranslarının, fenilalanin yüklemesi öncesinde öngörülenden çok daha yüksek olduğunun düşünülmesi nedeniyle test yapılmasından vazgeçilmiş ve diyet serbestleştirilmesine gidilmiştir.

BH₄ yükleme testi için değerlendirilmiş olan 131 hastanın yaş aralığı 0–16 yıl arasında değişmektedir (ortalama 5,3±3,6 yıl, median 4,5 yıl). Hastaların 73'ü erkek, 58'i kızdır.

Tüm hastaların cinsiyet ve yaşları, ilk tanı sırasındaki fenilalanin düzeyleri, ilk fenilalanin düzeyine göre hastalığın sınıflandırması, test öncesinde diyetle aldıkları ve fenilalanin yüklemesi ile çıkılan fenilalanin miktarları, teste başlandığı sırada (0. saat) ve BH₄ verilmesi sonrasında kan fenilalanin düzeyleri, BH₄ sonrası düşüş oranları, test sonuçlarının yorumu Tablo 4.1'de verilmiştir. Tabloda, hastalığın sınıflandırmasında hafif hiperfenilalaninemi için 1, hafif fenilketonüri için 2, klasik fenilketonüri için 3 rakamı kullanılmıştır.

BH₄ yükleme testi yapılan 122 hastadan, 63'ü (%51,6) kan fenilalanin düzeylerinde başlangıç düzeye göre %30'dan fazla azalma saptanmış olması nedeniyle yanıtı kabul edilmiş, çalışma süresi içinde yanıtı kabul edilen hastalardan 54'ü en az iki ay süre ile ilaç kullanmıştır.

Test uygulanan hastalardan 14'ünün kan fenilalanin düzeylerinde %20–30 arasında azalma olmuş ve kısmi yanıtı kabul edilmiş, 45 hasta ise %20'den daha az düşme olması nedeniyle yanıtı kabul edilmiştir.

Tablo 4.1. Değerlendirmeye alınan tüm hastaların klinik özellikleri.

NO	AD	CİNS	YAŞ (yıl)	TANIFAD (mg/dL)	Sınıflandırma	TEST ÖNCESİ ALDIGI FA MİKTARI	YÜKLEME İLE ÇIKILAN FA MİKTARI	BH ₄ ÖNCESİ FAD (mg/dL)	BH ₄ SONRASI FAD (mg/dL)	FA DÜŞÜŞ %	SONUÇ
1	AEU	E	0,0	11,07	2	anne sütü	anne sütü	11,07	3,72	66	yanıtlı
2	AV	E	0,4	6,61	1	55 mg/kg	135 mg/kg	8,00	1,31	83	yanıtlı
3	AD	K	2,5	16,50	2	serbest diyet	serbest diyet	10,92	5,79	46	yanıtlı
4	AYÖ	K	4,0	31,84	3	40 mg/kg	95 mg/kg	20,90	14,27	31	yanıtlı
5	BK	K	4,0	17,52	2	25 mg/kg	85 mg/kg	25,93	16,16	37	yanıtlı
6	BS	K	4,0	26,60	3	20 mg/kg	75 mg/kg	30,92	16,04	48	yanıtlı
7	BKA	E	3,0	7,72	1	40 mg/kg	90 mg/kg	20,25	5,62	72	yanıtlı
8	BM	E	0,8	6,19	1	AS+FA kısıtlı diyet	ek olarak 70 mg/kg	14,93	2,04	86	yanıtlı
9	BD	E	8,0	8,23	1	30 mg/kg	90 mg/kg	20,52	14,18	30	yanıtlı
10	BMU	E	2,0	5,65	1	FA kısıtlı diyet	serbest diyet	9,92	4,64	53	yanıtlı
11	CEK	E	4,5	15,62	2	15 mg/kg	75 mg/kg	42,91	17,37	60	yanıtlı
12	DA	E	9,5	14,20	2	15 mg/kg	45 mg/kg	18,51	9,97	46	yanıtlı
13	DÖ	K	5,5	11,90	2	40 mg/kg	85 mg/kg	10,14	2,74	73	yanıtlı
14	ENA	K	2,0	12,83	2	40 mg/kg	100 mg/kg	10,39	2,83	72	yanıtlı
15	EK	E	1,0	8,56	1	AS+FA kısıtlı diyet	serbest diyet	9,39	2,11	77	yanıtlı
16	ELG	K	2,0	16,50	2	30 mg/kg	75 mg/kg	17,83	12,31	31	yanıtlı
17	EEY	K	4,5	9,66	1	25 mg/kg	100 mg/kg	7,79	2,97	64	yanıtlı
18	EA	E	1,0	8,70	1	30 mg/kg	100 mg/kg	11,43	4,85	58	yanıtlı
19	EFY	E	2,5	17,00	2	FA kısıtlı diyet	serbest diyet	9,31	4,56	51	yanıtlı
20	EÇ	E	5,5	4,14	1	55 mg/kg	100 mg/kg	20,62	13,94	32	yanıtlı
21	EG	E	6,0	14,30	2	27,5 mg/kg	67,5 mg/kg	19,29	10,45	46	yanıtlı
22	EZ	K	0,4	5,43	1	anne sütü	anne sütü	7,51	1,61	78	yanıtlı
23	EAK	K	3,5	10,60	2	650 mg/gün (35)	100 mg/kg	12,26	2,08	83	yanıtlı
24	FB	K	8,0	16,68	2	45 mg/kg	85 mg/kg	8,44	3,07	63	yanıtlı
25	HAT	E	2,0	7,43	1	60 mg/kg	110 mg/kg	8,05	2,47	69	yanıtlı
26	HHA	E	2,0	6,63	1	FA kısıtlı diyet	ek olarak 100 mg/kg	21,32	2,55	88	yanıtlı
27	İB	K	2,5	14,40	2	40 mg/kg	100 mg/kg	30,45	18,14	40	yanıtlı
28	İD	E	3,5	13,26	2	35 mg/kg	100 mg/kg	15,00	7,61	50	yanıtlı
29	İAE	E	5,0	24,30	3	40 mg/kg	75 mg/kg	19,33	12,31	36	yanıtlı
30	KD	E	6,5	10,47	2	20 mg/kg	100 mg/kg	13,61	8,60	36	yanıtlı
31	KDE	E	4,0	5,75	1	20 mg/kg	80 mg/kg	13,56	7,23	46	yanıtlı
32	MA	K	9,0	13,80	2	40 mg/kg-uyumsuz	serbest diyet	10,17	3,81	62	yanıtlı
33	MED	E	2,5	16,92	2	40 mg/kg	95 mg/kg	12,13	8,37	31	yanıtlı
34	MT	E	1,0	5,99	1	serbest diyet	serbest diyet	8,75	2,05	76	yanıtlı
35	MY	E	7,0	11,10	2	30 mg/kg	120 mg/kg	9,44	2,87	69	yanıtlı
36	MCC	K	6,0	18,90	2	15 mg/kg	70 mg/kg	23,28	11,25	53	yanıtlı
37	MED	E	1,5	3,45	1	FA kısıtlı diyet	serbest diyet	7,44	3,30	55	yanıtlı
38	MMC	E	1,3	5,80	1	serbest diyet	serbest diyet	18,50	3,99	78	yanıtlı
39	MUA	E	5,0	5,74	1	45 mg/kg	100 mg/kg	14,58	4,97	66	yanıtlı
40	MBB	E	1,0	6,02	1	AS+FA kısıtlı diyet	ek olarak 60 mg/kg	8,52	2,40	71	yanıtlı
41	NS	K	8,5	5,85	1	FA kısıtlı diyet	ek olarak 60 mg/kg	10,79	9,70	40	yanıtlı
42	NK	K	8,5	10,20	2	30 mg/kg	75 mg/kg	12,81	7,89	38	yanıtlı
43	NT	K	7,0	14,36	2	40 mg/kg	100 mg/kg	11,03	4,42	60	yanıtlı
44	OY	E	3,0	10,30	1	575 mg/gün (35)	95 mg/kg	14,81	1,22	91	yanıtlı
45	ÖŞ	E	5,0	5,47	1	30 mg/kg	60 mg/kg	10,85	4,99	54	yanıtlı
46	RK	K	1,5	11,82	1	serbest diyet	serbest diyet	12,84	4,12	67	yanıtlı
47	SEŞ	E	1,5	9,81	1	50 mg/kg	120 mg/kg	8,72	2,58	70	yanıtlı

Tablo 4.1. “devam” Değerlendirmeye alınan tüm hastaların klinik özellikleri.

48	SÇ	K	8,0	14,28	2	350 mg/gün (15)	55 mg/kg	18,00	9,71	46	yanıtlı
49	SS	E	11,0	14,40	2	30 mg/kg-uyumsuz	ek olarak 30 mg/kg	21,83	14,40	35	yanıtlı
50	ST	K	5,5	6,36	1	50 mg/kg	100 mg/kg	18,00	11,35	37	yanıtlı
51	SA	K	1,0	8,29	1	AS+30 mg/kg FA	ek olarak 100 mg/kg	9,51	2,70	71	yanıtlı
52	SK	K	6,5	10,22	2	25 mg/kg	60 mg/kg	6,90	3,59	48	yanıtlı
53	ŞS	K	6,5	12,32	2	30 mg/kg	90 mg/kg	17,75	9,29	47	yanıtlı
54	TÇ	K	4,0	8,06	1	45 mg/kg	95 mg/kg	15,06	8,29	45	yanıtlı
55	TG	K	14,0	18,22	2	1200 mg/gün (28)	2920 mg/gün (68)	17,65	9,86	44	yanıtlı
56	TİŞ	K	0,1	5,91	1	anne sütü	anne sütü	7,04	3,07	56	yanıtlı
57	UD	E	7,5	13,00	2	20 mg/kg	50 mg/kg	13,64	8,32	39	yanıtlı
58	UK	E	5,0	7,93	1	25 mg/kg	serbest diyet	10,17	5,08	50	yanıtlı
59	US	E	4,5	13,22	2	25 mg/kg	80 mg/kg	14,91	8,73	41	yanıtlı
60	YEK	E	3,0	8,64	1	FA kısıtlı diyet	ek olarak 60 mg/kg	14,68	5,36	63	yanıtlı
61	ZU	K	4,5	11,14	2	25 mg/kg	60 mg/kg	14,54	9,11	37	yanıtlı
62	ZMG	K	0,0	8,46	1	anne sütü	inek sütü	7,59	2,52	66	yanıtlı
63	ZSB	K	2,0	10,68	2	50 mg/kg	100 mg/kg	14,64	7,96	45	yanıtlı
64	AA	E	3,0	18,20	2	35 mg/kg	95 mg/kg	22,73	17,50	23	kısmi yanıt
65	AÖ	E	1,0	6,16	1	50 mg/kg	120 mg/kg	8,78	6,66	24	kısmi yanıt
66	AK	K	2,0	17,49	2	60 mg/kg	115 mg/kg	15,09	14,66	28	kısmi yanıt
67	BK	K	8,5	25,00	3	15 mg/kg	55 mg/kg	22,26	15,63	29	kısmi yanıt
68	DY	K	4,5	7,19	1	30 mg/kg	70 mg/kg	9,94	7,04	29	kısmi yanıt
69	EE	E	0,5	9,49	1	AS+PKU-1 mikş	serbest diyet	9,39	7,56	20	kısmi yanıt
70	EA	E	2,5	10,00	2	50 mg/kg	100 mg/kg	9,85	7,63	22	kısmi yanıt
71	EA	K	13,0	19,50	2	400 mg/gün (8,5)	38,5 mg/kg	16,96	12,13	28	kısmi yanıt
72	KY	E	5,0	11,21	2	20 mg/kg	60 mg/kg	21,21	15,94	24	kısmi yanıt
73	MYA	K	7,0	18,30	2	25 mg/kg	65 mg/kg	19,55	15,49	21	kısmi yanıt
74	MMA	E	8,0	30,36	3	30 mg/kg	90 mg/kg	31,34	22,03	29	kısmi yanıt
75	RG	K	13,5	35,05	3	20 mg/kg	40 mg/kg	35,71	25,87	27	kısmi yanıt
76	YÖ	E	9,0	10,09	2	30 mg/kg	85 mg/kg	22,46	16,52	26	kısmi yanıt
77	ZİÇ	K	7,5	7,50	1	30 mg/kg	90 mg/kg	18,13	14,37	20	kısmi yanıt
78	AMG	E	6,5	16,81	2	350 mg/gün (10)	1370 mg/gün (40)	35,78	31,47	12	yanıtsız
79	ABK	K	15,0	29,23	3	500 mg/gün (10)	2260 mg/gün (45)	23,42	22,95	2	yanıtsız
80	ABC	K	16,0	18,98	2	800 mg/gün (14)	1960 mg/gün (34)	28,63	25,74	10	yanıtsız
81	BD	E	6,0	29,31	3	30 mg/kg	60 mg/kg	19,82	17,80	10	yanıtsız
82	BA	K	4,0	33,02	3	25 mg/kg	45 mg/kg	22,08	24,17	0	yanıtsız
83	BYA	E	11,0	13,63	2	15 mg/kg	30 mg/kg	18,19	20,72	0	yanıtsız
84	BY	E	5,5	33,09	3	30 mg/kg	65 mg/kg	21,12	17,67	16	yanıtsız
85	BYI	K	13,5	9,62	1	500 mg/gün (9)	2150 mg/gün (39)	11,60	10,82	6	yanıtsız
86	BS	E	6,5	40,41	3	15 mg/kg	35 mg/kg	25,34	23,84	6	yanıtsız
87	CÖ	E	13,5	23,28	3	16 mg/kg	51 mg/kg	30,75	27,92	10	yanıtsız
88	EH	K	10,0	13,48	2	12 mg/kg	52 mg/kg	21,39	19,61	8	yanıtsız
89	EB	E	7,0	36,86	3	20 mg/kg	60 mg/kg	20,21	19,01	6	yanıtsız
90	ESE	K	5,5	26,63	3	15 mg/kg	40 mg/kg	15,74	13,80	12	yanıtsız
91	EYT	K	2,0	6,30	1	FA kısıtlı diyet	serbest diyet	9,74	10,05	0	yanıtsız
92	EK	E	1,0	20,00	3	AS+30 mg/kg	ek olarak 60 mg/kg	30,65	30,39	0	yanıtsız
93	ED	E	7,5	12,87	2	30 mg/kg	90 mg/kg	19,70	20,25	0	yanıtsız
94	EY	E	12,5	20,00	3	15 mg/kg	35 mg/kg	20,41	16,54	19	yanıtsız
95	FE	E	5,5	5,88	1	25 mg/kg	105 mg/kg	11,87	10,14	15	yanıtsız
96	GŞ	E	3,5	41,61	3	30 mg/kg	80 mg/kg	32,02	32,58	0	yanıtsız
97	HFG	E	12,5	16,80	2	20 mg/kg	50 mg/kg	27,35	26,41	4	yanıtsız
98	HIÇ	E	2,0	6,97	1	25 mg/kg	100 mg/kg	9,73	11,04	0	yanıtsız
99	HK	E	4,5	10,95	2	20 mg/kg	60 mg/kg	21,70	27,37	0	yanıtsız
100	HK	K	9,5	49,80	3	19 mg/kg	54 mg/kg	23,13	22,49	3	yanıtsız
101	İE	K	13,0	41,58	3	10 mg/kg	10 mg/kg	19,90	21,82	0	yanıtsız

Tablo 4.1. “devam” Değerlendirmeye alınan tüm hastaların klinik özellikleri.

102	İK	K	6,0	18,22	2	25 mg/kg	60 mg/kg	19,37	16,84	13	yanıtsız
103	İD	E	2,0	22,23	3	40 mg/kg	100 mg/kg	30,83	29,71	3	yanıtsız
104	KG	E	2,0	14,30	2	30 mg/kg	80 mg/kg	25,11	34,71	0	yanıtsız
105	MO	K	2,5	18,34	2	40 mg/kg	100 mg/kg	30,67	31,03	0	yanıtsız
106	MA	E	4,0	41,73	3	15 mg/kg	65 mg/kg	19,99	17,94	10	yanıtsız
107	MEÖ	E	4,5	5,55	1	FA kısıtlı diyet	serbest diyet	18,06	20,02	0	yanıtsız
108	MA	E	2,5	13,63	2	30 mg/kg	70 mg/kg	17,70	16,35	7	yanıtsız
109	MÖ	E	4,0	8,36	1	33 mg/kg	103 mg/kg	9,58	8,74	9	yanıtsız
110	NŞ	K	3,5	13,47	2	20 mg/kg	75 mg/kg	32,32	29,29	9	yanıtsız
111	OK	E	8,0	18,03	2	35 mg/kg	75 mg/kg	20,70	22,21	0	yanıtsız
112	ÖFÖ	E	8,0	28,46	3	20 mg/kg	70 mg/kg	26,06	25,93	0	yanıtsız
113	PC	E	2,5	20,45	3	30 mg/kg	75 mg/kg	26,64	22,14	17	yanıtsız
114	RC	E	2,5	18,94	2	30 mg/kg	75 mg/kg	32,05	25,45	19	yanıtsız
115	SIU	K	4,5	20,00	3	20 mg/kg	50 mg/kg	25,09	25,40	0	yanıtsız
116	ŞE	K	11,0	26,76	3	500 mg/gün (15)	500 mg/gün (15)	26,76	21,96	18	yanıtsız
117	TED	E	11,0	16,26	2	15 mg/kg	45 mg/kg	24,60	27,36	0	yanıtsız
118	ÜEG	K	6,0	29,00	3	30 mg/kg	65 mg/kg	25,65	27,00	0	yanıtsız
119	YEE	E	3,5	6,92	1	30 mg/kg	90 mg/kg	30,98	27,61	10	yanıtsız
120	YK	E	7,5	18,03	2	20 mg/kg	50 mg/kg	18,39	17,42	5	yanıtsız
121	ZNK	K	11,5	20,00	3	15 mg/kg	50 mg/kg	25,51	24,66	3	yanıtsız
122	ZO	K	7,0	37,90	3	25 mg/kg	85 mg/kg	44,02	34,87	15	yanıtsız
123	AG	E	4,0	4,53	1	FA kısıtlı diyet	ek olarak 55 mg/kg	5,84			verilmedi
124	ADA	K	0,5	7,64	1	AS+PKU 1 mix	serbest diyet	4,48			verilmedi
125	BAT	E	6,0	13,73	2	50 mg/kg	110 mg/kg	7,19			verilmedi
126	EK	K	5,0	7,29	1	60 mg/kg	110 mg/kg	4,80			verilmedi
127	GÇ	E	3,5	3,50	1	125 mg/kg	185 mg/kg	4,33			verilmedi
128	HA	K	2,5	12,75	2	55 mg/kg	125 mg/kg	6,22			verilmedi
129	HAL	K	2,5	8,80	1	55 mg/kg	125 mg/kg	5,60			verilmedi
130	MD	E	6,0	7,21	1	40 mg/kg	100 mg/kg	6,08			verilmedi
131	ŞA	K	3,5	9,51	1	70 mg/kg	100 mg/kg	6,57			verilmedi

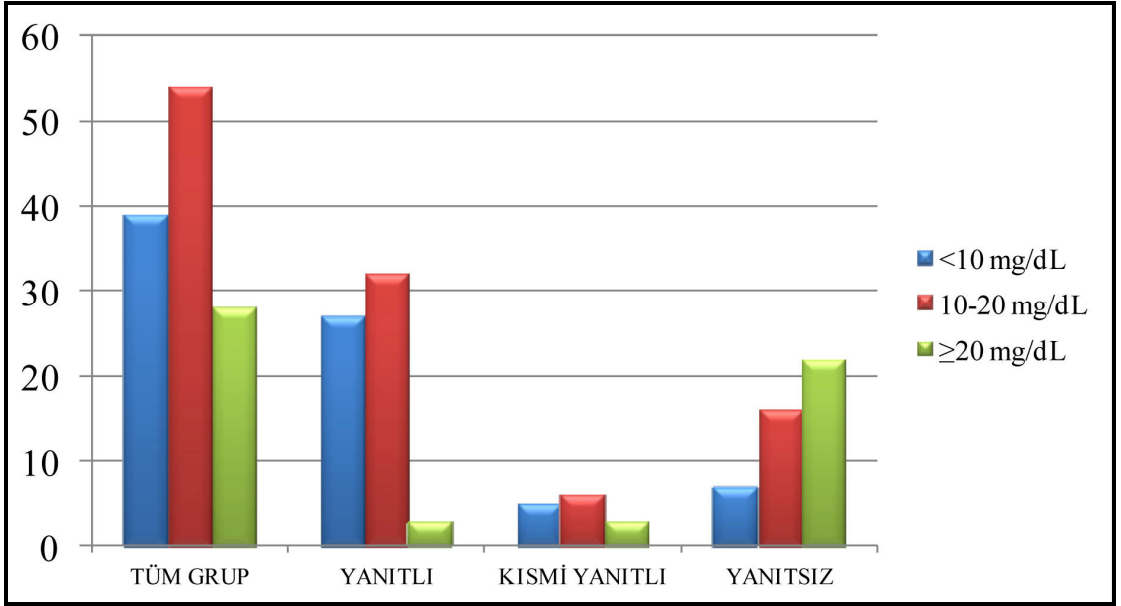
Fenilalanin yüklemesi ile kan düzeyleri teste başlamak için yeterli düzeye getirilemeyen dokuz hastanın yaş dağılımları 6 ay-6 yıl aralığındadır (ortalama $3,72 \pm 1,78$, median: 3,5 yıl). Tanıdaki fenilalanin düzeyleri, 3,5-13,73 mg/dL arasındadır (ortalama $8,37 \pm 3,32$, median: 7,64 mg/dL).

Yanıtlı, kısmi yanıt ve yanıtsız hastaların klinik verilerinin karşılaştırılması Tablo 4.2’de verilmiştir. Yanıtlı grupta ilk tanıda kan fenilalanin düzeyi 20 mg/dL üzerinde olan klasik FKÜ’lü hastaların oranı 3/63’tür (%4,8). Yanıtsız grupta ise bu oran %48,8 bulunmuştur. Yanıtlı grupta hastaların %95,2’sinin, kısmi yanıt grupta %78,6’sının, yanıtsız grupta ise %51,2’sinin ilk tanıda kan fenilalanin düzeyleri 20 mg/dL’nin altındadır.

Tablo 4.2. Yanıtlı, kısmi yanıtlı ve yanıtsız toplam 122 hastanın klinik verilerinin karşılaştırılması.

	\geq %30 yanıt n=63	%20-30 yanıt n=14	<%20 yanıt n=45	Toplam n=122	
Cinsiyet K/E	29/34	7/7	17/28	53/69	
BH₄ yükleme testi sırasında yaş	0-14 yıl median: 4 yıl ort:4,17±2,98 yıl	0,5-13,5 yıl median: 6 yıl ort:6,07±4,14 yıl	1-16 yıl median: 6 yıl ort:6,83±4,04 yıl	0-16 yıl median: 6 yıl ort:5,37±3,73 yıl	
Tanıda kan fenilalanin düzeyi, n (%)					
<10 mg/dL	28 (44,4)	4 (28,6)	7 (15,6)	39 (32,0)	p<0,001
10-20 mg/dL	32 (50,8)	7 (50,0)	16 (35,6)	55 (45,0)	
\geq 20 mg/dL	3 (4,8)	3 (21,4)	22 (48,8)	28 (23,0)	
Ortalama (mg/dL)	11,31±5,43	16,11±9,01	21,63±11,20	15,16±9,51	
Median	10,47	14,35	18,98	13,00	
Aralık	3,41-31,84	6,16-35,05	5,55-49,80	3,45-49,80	
Teste başlarken kan fenilalanin düzeyi, n (%)					
<10 mg/dL	17 (27,0)	4 (28,6)	3 (6,7)	24 (19,7)	
10-20 mg/dL	35 (55,5)	4 (28,6)	12 (26,7)	51 (41,8)	
\geq 20 mg/dL	11 (17,5)	6 (42,8)	30 (66,6)	47 (38,5)	

Yanıtlı, kısmi yanıtlı ve yanıtsız grupta fenotipe göre alt gruplardaki (ilk tanıdaki fenilalanin düzeyi değerlendirilerek) hastaların dağılımı Şekil 4.1 'de verilmiştir.



Şekil 4.1. Yanıtlı, kısmi yanıtlı ve yanıtız grupta fenotipe göre alt gruplardaki hasta dağılımı.

4.2. Yanıtlı Bulunan Hastaların Sonuçları

Tablo 4.3. Tedavi başlanan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası diyet ve fenilalanin tolerans değişimleri.

Hasta NO	AD	YAŞ (yıl)	ÖZEL AA KARIŞIMI TÜKETİMİ (g)		ÖZEL ÜRÜN TÜKETİMİ		ALDIĞI FA MİKTARI (mg/kg)		FA TOLERANS ARTIŞI		SERBEST DİYETE GEÇİŞ SÜRESİ (gün)*	SON BH ₄ DOZU (mg/kg)	İZLEM SÜRESİ (ay)	
			ÖNCE	SONRA	ÖNCE	SONRA	ÖNCE	SONRA	mg/kg	kat				
1	AEU	0,0			AS**	yok	77	93	16	1,21	1	10	13	
2	AV	0,4	2,5		yok	yok	100	177	77	1,77	70	1	17	4
3	AD	2,5			yok	yok	87	114	27	1,31	111	1	20	7
4	AYÖ	4,0	17,5	15,0	var	yok	35	86	51	2,46		2	20	12
5	BK	4,0	25,0	25,0	var	yok	46	53	7	1,15		3	20	8
6	BS	4,0	22,5	30,0	var	yok	20	40	20	2,00		3	19	7
7	BKA	3,0	20,0		var	yok	40	122	82	3,05	66	1	19	25
8	BM	0,8			AS	yok	79	175	96	2,22	57	1	17	10
9	BD	8,0	20,0	10,0	var	yok	30	85	55	2,83		2	20	10
10	BMU	2,0			yok	yok	72	137	65	1,90	22	1	15	8
11	CEK	4,5	45,0		var	yok	15	75	60	5,00	43	1	19	17
12	DA	9,5	35,0		var	yok	9	59	50	6,56	63	1	16	16
13	DÖ	5,5	20,0		yok	yok	45	105	60	2,33	62	1	15	17
14	ENA	2,0	22,5		var	yok	40	112	72	2,80	108	1	18	11
15	EK	1,0			yok	yok	65	120	55	1,85	0	2	12	15
16	ELG	2,0	25,0	25,0	var	yok	30	43	13	1,43		3	18	7
17	EEY	4,5	32,5		var	yok	35	119	84	3,40	56	1	20	15
20	EÇ	5,5	7,5		var	yok	55	124	69	2,25	69	1	20	5
21	EG	6,0	20,0		var	yok	35	87	52	2,49	267	1	20	18
22	EZ	0,4			AS	yok	32	180	148	5,63		1	12	8
25	HAT	2,0	5,0		var	yok	60	167	107	2,78	61	1	20	11
26	HHA	2,0			yok	yok	90	151	61	1,68	67	1	15	8
27	IB	2,5	27,5		var	yok	30	88	58	2,93	180	1	20	12
28	ID	3,5	22,5		var	yok	35	134	99	3,83	100	1	15	11
29	IAE	5,0	40,0	30,0	var	yok	35	57	22	1,63		2	20	13
30	KD	6,5	17,5	10,0	var	yok	20	62	42	3,10		2	20	13
31	KDE	4,0	25,0		yok	yok	60	134	74	2,23	77	1	20	8
32	MA	9,0	17,5		yok	yok	65	96	31	1,48	6	1	10	13
33	MED	2,5	22,5	25,0	var	yok	40	48	8	1,20		3	20	6
35	MY	7,0	12,5		var	yok	30	105	75	3,50	48	1	18	10
36	MCC	6,0	30,0		var	yok	30	77	47	2,57	86	1	20	17
38	MMC	5,0	20,0		yok	yok	55	132	77	2,40	111	1	16	15
39	MUA	1,3	22,5		yok	yok	45	125	80	2,78	103	1	18	12
41	NS	8,5			yok	yok	40	82	42	2,05	88	1	18	13
42	NK	8,5	12,5		yok	yok	50	97	47	1,94	68	1	10	17
44	OY	3,0	25,0		var	yok	35	126	91	3,60	90	1	20	11
45	ÖŞ	5,0	15,0		yok	yok	35	90	55	2,57	196	1	19	24
46	RK	1,5	15,0		yok	yok	40	115	75	2,88	0	1	15	12
47	SEŞ	1,5	12,5	5,0	var	yok	50	77	27	1,54		2	19	4
48	SÇ	8,0	25,0	20,0	var	yok	15	50	35	3,33		2	19	24
49	SS	11,0	35,0		yok	yok	40	83	43	2,08	28	1	16	15
50	ST	5,5	2,5		var	yok	50	70	20	1,40	55	1	20	13
51	SA	6,5	7,5		yok	yok	65	184	119	2,83	76	1	18	24
52	SK	1,0	20,0		var	yok	50	129	79	2,58	50	1	17	13
53	ŞS	6,5	15,0	5,0	var	yok	53	76	23	1,43		2	20	5
54	TÇ	4,0	20,0		yok	yok	45	110	65	2,44	52	1	19	18
55	TG	14,0	32,5		var	yok	20	70	50	3,50	101	1	19	13
56	TİŞ	0,1			AS	yok	60	154	94	2,57	0	2	11	6
57	UD	7,5			yok	yok	40	83	43	2,08	343	1	17	25
58	UK	5,0	22,5		yok	yok	25	85	60	3,40		2	19	2
60	YEK	3,0			var	yok	70	156	86	2,23	57	1	16	11
61	ZU	4,5	20,0		var	yok	40	119	79	2,98	75	1	17	14
62	ZMG	0,0			AS	yok	39	88	49	2,26	0	1	10	8
63	ZSB	2,0	12,5	15,0	yok	yok	50	61	11	1,22		3	20	6

*1 serbest diyet, 2 serbest diyete geçilemedi, 3 ilaç kesildi **Anne sütü

Tablo 4.4. Tedavi öncesi ve sonrası antropometrik değerlendirme sonuçları.

Hasta NO	AD	HAZ		WAZ		BMİZ	
		ÖNCE	SONRA	ÖNCE	SONRA	ÖNCE	SONRA
1	AEU	,33	-,39	1,10	,69	1,38	1,22
2	AV	-2,55	-,05	-,87	,42	1,10	,65
3	AD	,11	,31	,94	,70	1,24	,72
4	AYÖ	-2,60	-2,50	-1,86	-2,34	-,22	-1,06
5	BK	2,18	-,25	1,64	,62	,54	1,12
6	BS	-,27	,04	,66	,41	1,19	,54
7	BKA	,18	-,35	1,07	1,34	1,42	2,30
8	BM	-1,49	-,70	-1,05	-,14	-,22	,44
9	BD	-2,57	-2,19	-1,11	-,87	,83	,73
10	BMU	-,04	-,68	1,52	2,03	2,22	3,71
11	CEK	-,46	-,27	-,85	,0	-1,15	-,69
12	DA	,63	,82	1,91	2,0	2,80	2,63
13	DÖ	,01	-,04	1,80	1,28	2,45	1,72
14	ENA	,78	,34	1,92	1,58	2,06	2,01
15	EK	-,72	-,56	-,48	-,64	-,06	-,48
16	ELG	,25	-,52	,46	-,07	,41	,35
17	EEY	-,86	,05	,74	1,51	1,81	2,06
20	EÇ	-,95	-,28	-,86	-,77	-,39	-,97
21	EG	,30	,44	,01	1,18	-,32	1,30
22	EZ	-,76	1,19	,50	1,50	1,26	1,17
25	HAT	-,90	-,44	-1,00	,05	-,68	,46
26	HHA	-,48	-,48	-,09	2,13	,28	3,65
27	IB	1,26	,25	1,90	1,38	1,69	1,82
28	İD	-,12	,88	,30	,74	,52	,30
29	İAE	,79	,33	2,41	1,10	2,76	1,29
30	KD	-2,11	-1,59	-,70	,30	1,05	1,93
31	KDE	-1,91	-2,30	-1,02	-1,25	,37	,45
32	MA	-1,48	-,20	-,12	,62	,91	,95
33	MED	,54	-,17	,33	,0	-,06	,12
35	MY	,01	-,5	,93	1,00	1,31	1,5
36	MCC	,07	,32	,91	,62	1,20	,58
38	MMC	-,75	-,52	,28	1,36	,95	2,23
39	MUA	-,51	-,44	-,71	-,53	-,63	-,42
41	NS	,41	,65	,90	1,29	,92	1,27
42	NK	-,36	-,12	-,33	-1,0	-,20	-,84
44	OY	,06	,13	2,31	,91	3,25	1,23
45	ÖŞ	1,07	1,14	1,57	1,00	1,40	,45
46	RK	,60	,73	1,23	2,48	1,24	2,99
47	SEŞ	-,47	-,83	-,32	-,24	-,10	,37
48	SÇ	-2,07	-1,97	,16	1,31	1,76	2,65
49	SS	-,54	-,42	,42	,58	1,78	2,07
50	ST	-,40	,01	-,04	-,09	,27	-,17
51	SA	-,60	-2,18	,22	-,08	,77	1,74
52	SK	-1,37	-1,59	-1,41	-,95	-,84	-,02
53	ŞS	,52	-1,06	-,92	-1,06	-1,19	-,62
54	TÇ	0,41	0,35	0,95	0,40	1,0	0,5
55	TG	-1,16	-,48	-1,56	-1,06	,25	-,53
56	TİŞ	-1,01	-,94	-,35	,28	,28	1,11
57	UD	,22	,50	,17	,75	,03	,70
58	UK	,61	,61	,57	,57	,26	,26
60	YEK	-2,34	-,99	-,78	-,34	1,15	,46
61	ZU	,09	,79	,91	,91	1,21	,64
62	ZMG	-,75	-1,12	,22	,75	,92	1,88
63	ZSB	-,56	-,29	1,35	,82	2,31	1,41

Çalışma süresi içinde 63 hasta yanıtı bulunmuş, ancak, bu süre içinde tedavisi başlanabilen ve en az iki ay süre ile tedavi alan hasta sayısı 54 olmuştur. Tedavi başlanan hastalarda tedavi öncesi ve sonrası diyet ve fenilalanin tolerans değişimleri Tablo 4.3'te, tedavi öncesi ve sonrası antropometrik değerlendirme sonuçları Tablo 4.4'te verilmiştir.

Çalışma süresi içinde toplam 54 hasta en az iki ay süre ile sapropterin tedavisi altında izlenmiştir. Tedavi başlanan hastaların 28'i erkek 26'sı kız, yaş aralıkları 0-14 yaşdır (ortalama $4,30 \pm 3,02$ yıl).

Tedavi izlem süresi 2-25 ay arasında değişmiştir (ortalama $12,1 \pm 5,6$ ay).

Fenilalanin toleransı 7-148 mg/kg (ortalama $58,02 \pm 29,56$ mg/kg) miktarında artmış ve artış 1,2-6,6 kat aralığında (ortalama $2,53 \pm 1,05$ kat) olmuştur.

Serbest diyet alan 39 (%72,2) hastada ortalama serbest diyete geçiş süresi $79,79 \pm 68,26$ gündür. Tedavi sonrasında, 29 hastanın (%53,70) özel amino asit karışımı tüketimi ortadan kalkmış, 12 hastanın (%22,6) mama kullanımına gereksinimi devam etmiştir.

Beş hastanın tedavisi ikincil yanıtızsızlık nedeni ile kesilmiştir. Tedavi sonrasında mama kullanımı devam eden 12 hastadan beşi tedavisi kesilen hastalardır. Tedavi sonrasında özel ürün tüketen hasta olmamıştır. Tedavi öncesi ve sonrası boy ağırlık ve beden kitle indeksi Z skorlarında farklılık saptanmamıştır. Tedavi başlanan hastaların tedavi öncesi ve sonrası klinik bulgularının değerlendirilmesi Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tedavi süresi içerisinde hiçbir hasta yan etki bildirmemiştir.

Tablo 4.5. Tedavi başlanan hastaların tedavi öncesi ve sonrası klinik bulgularının değerlendirilmesi.

	Tedavi Öncesi n=54	Tedavi Sonrası n=54	p
Özel amino asit karışımı tüketimi (n)	41 (%77,3)	12 (%22,6)	<0.001
Özel ürün tüketimi (n)	29 (%54,7)	0 (%0,0)	
Diyetle alınan fenilalanin miktarı (mg/kg)	45,44±19,52	103,46±37,42	0,01 (<0,05)
BH₄ dozu (mg/kg)	20,0±0,0	17,37±3,07	0,01 (<0,05)
HAZ	-0,40±1,02	-0,32±0,87	0,48 (>0,05)
WAZ	0,29±1,05	0,46±0,97	0,08 (>0,05)
BMİZ	0,82±1,01	0,96±1,11	0,27(>0,05)

Çalışmamızda sapropterin tedavisi başlanan 12 hastaya tedavi öncesinde Çocuklar için Yaşam Kalitesi Ölçeği uygulanmış, ancak hastaların hiçbiri tedavi öncesinde ölçeğin değerlendirdiği alanlarda sorun belirtmemişlerdir. Bu nedenle tedavi sonrasında ölçek tekrarlanmamıştır.

Tedavi başlanan 54 hastadan 19'unun moleküler genetik analizleri tamamlanabilmiştir (Tablo 4.6). Elde olunan ön verilere göre beş hastada IVS10-11G>A/ p.E390G birleşik heterozigotluğu, 4 hastada homozigot IVS10-7C>A mutasyonu, 4 hastada homozigot p.L48S mutasyonu, 2 hastada ise homozigot p.R261Q mutasyonu saptanmıştır.

IVS10-11G>A/ p.R241H, p.E390G/ p.R261Q, p.E390G/ p.L15-S16fsdelCT ve p.L48S/ p.P281L birleşik heterozigotluğu da birer hastada bulunmuştur.

Moleküler genetik analizleri henüz tamamlanmayan 23 hastanın ise tek alelinde mutasyon saptanmıştır.

Bu mutasyonlar ise sıklık sırasıyla, IVS10-11G>A mutasyonu sekiz hasta, p.R261X üç hasta, p.E390G, pL48S, pR241C, p.T372S ikişer hastada ve p.R243Q, p.D394H, p.R241H ve IVS11+1G>C mutasyonları da birer hastada olacak şekildedir.

Tablo 4.6. Yanıtlı hastaların tamamlanmış mutasyon sonuçları.

NO	AD	ALEL1	ALEL2	FA TOLERANS ARTIŞI (kat)	İZLEM SÜRESİ (ay)	
1	AEU	IVS10-11G>A	p.E390G	1,21	13	
2	AV			1,77	4	
3	AD	p.R241H		1,31	7	
4	AYÖ	IVS10-11G>A		2,46	12	
5	BK	p.R261Q	p.R261Q	1,15	8	İlaç kesildi
6	BS	p.P281L	p.L48S	2,00	7	İlaç kesildi
7	BKA	IVS10-11G>A	p.E390G	3,05	25	
8	BM			2,22	10	
9	BD	p.L48S	p.L48S	2,83	10	
10	BMU			1,90	8	
11	CEK	p.L48S		5,00	17	
12	DA	p.R241C		6,56	16	
13	DÖ	IVS10-7C>A	IVS10-7C>A	2,33	17	
14	ENA	p.R241C		2,80	11	
15	EK	IVS10-11G>A	p.E390G	1,85	15	
16	ELG			1,43	7	İlaç kesildi
17	EEY	p.E390G		3,40	15	
20	EÇ			2,25	5	
21	EG	IVS10-11G>A	p.R241H	2,49	18	
22	EZ	p.D394H		5,63	8	
25	HAT			2,78	11	
26	HHA			1,68	8	
27	IB	p.L48S		2,93	12	
28	İD	IVS10-7C>A	IVS10-7C>A	3,83	11	
29	İAE	p.R261Q	p.R261Q	1,63	13	
30	KD			3,10	13	
31	KDE	IVS10-11G>A		2,23	8	
32	MA	IVS10-7C>A	IVS10-7C>A	1,48	13	
33	MED	p.R243Q		1,20	6	İlaç kesildi
35	MY			3,50	10	
36	MCC	p.L48S	p.L48S	2,57	17	
38	MMC	p.L48S	p.L48S	2,40	15	
39	MUA	IVS10-7C>A	IVS10-7C>A	2,78	12	
41	NS	p.E390G		2,05	13	
42	NK	p.R261X		1,94	17	
44	OY	IVS10-11G>A	p.E390G	3,60	11	
45	ÖŞ	p.T372S		2,57	24	
46	RK	IVS11+1G>C		2,88	12	
47	SEŞ	IVS10-11G>A		1,54	4	
48	SÇ	IVS10-11G>A		3,33	24	
49	SS	p.L48S	p.L48S	2,08	15	
50	ST			1,40	13	
51	SA	p.E390G	p.R261Q	2,83	24	
52	SK	IVS10-11G>A		2,58	13	
53	ŞS	IVS10-11G>A		1,43	5	
54	TÇ	IVS10-11G>A		2,44	18	
55	TG	IVS10-11G>A		3,50	13	
56	TİŞ	p.R261X		2,57	6	
57	UD			2,08	25	
58	UK	p.R261X		3,40	2	
60	YEK	p.T372S		2,23	11	
61	ZU	IVS10-11G>A	p.E390G	2,98	14	
62	ZMG	p.E390G	p.L15-S16fsdelCT	2,26	8	
63	ZSB			1,22	6	İlaç kesildi

TARTIŞMA

İlk kez 1934 yılında Norveçli hekim Ivar Asbjørn Følling tarafından tanımlanan ve bilinen en sık amino asit metabolizma bozukluğu olan FKÜ'de geçtiğimiz on yıla kadar tek tedavi seçeneği diyetle alınan fenilalanin kısıtlaması olmuş, tedaviyle mental retardasyon önlenbilse de makro ve mikrobesein öğelerinde yetersizlikler, yüksek bilişsel işlevlerde sorunlar, tedaviye uyumsuzluklar bildirilegelmiş, diyet dışında tedavi yöntemleri araştırılmıştır. İlk kez 1999 yılında Kure ve ark.ın (2) bazı hastaların BH₄ ile kan düzeyinde düşme sağlanabildiğini belirlemeleri ile tedavi yaklaşımları içinde bir yenilik olarak hastaların bir bölümünde farmakolojik bir ajan ile tedavi yöntemi gündeme gelmiştir. Tetrahidrobiopterinin sentetik formu olan sapropterinin kullanım onayı alması, Kuvan® jenerik adı ile piyasaya sürülmesi ve kullanımının giderek yaygınlaşmaya başlamasının ardından, yanıtı hastaların nasıl saptanabileceği, ilacın klinik pratikte nasıl kullanılacağı, kısa ve uzun dönem etki ve yan etkileri güncel araştırma alanları haline gelmiştir. Çalışmamızda, 48 saatlik BH₄ yükleme testinin yanıtı hastaları saptamadaki etkinliği, ilaç tedavisine başlanan hastaların izlem sonuçları ve BH₄ yanıtı vakaların genotiplerinin belirlenmesi araştırılmıştır.

Çalışma süresi boyunca, BH₄ yükleme testi uygulanan 121 hastada, yanıtı oranı %51,2 bulunmuştur. Literatürde, farklı toplumlarda sık görülen mutasyonların birbirinden farklı olması ve genotip-fenotip ilişkisi ile farklı mutasyonlarda BH₄ yanıtı lılığının değışkenlik göstermesinden dolayı, BH₄ yanıtı lılık oranları %10-60 gibi oldukça geniş bir aralıkta bildirilmektedir. Dobrowolski ve ark. (12) BH₄ yanıtı lılığında genotip-fenotip ilişkisini 462 Türk hasta ile yaptıkları bir çalışma ile araştırmışlar, BH₄ yanıtı lılığın oranını %22 bulmuşlardır. Ancak, PAH enzim aktivitesinin daha yüksek olduğu hafif fenotiplerde yanıtı lılık oranı arttığı bilinmektedir ve çalışma grubunda hafif fenotipte hasta oranı yükseldikçe bildirilen yanıt oranı da yükselmektedir. Bizim araştırmamızda hafif fenotipte hastalar, yanıtı lı olabilecekleri öngörüldüğünden, öncelikli olarak çalışma grubuna alınmıştır. İlk tanıdaki kan fenilalanin düzeyine göre fenotipik alt gruplara ayrılacak olursa, test yapılan hastalarımızın %76,8'ini hafif HFA'lı ve hafif

FKÜ'lü hastalar oluşturmaktadır ve yanıtılık oranının yüksek bulunmasında bu etmen rol oynamaktadır.

İki ay-iki yıllık izlem süreci içerisinde tedavi alan hastalarımızda, fenilalanin toleransında 1,2 - 6,6 kat arasında belirgin artış sağlanmıştır. Dört yaş altında özellikle yenidoğan döneminde kullanılmaya başlandığında ise ilaç, fenilalanin kısıtlı diyetle ya da özel amino asit karışımları ile hiç karşılaşmamayı sağlayabilmiştir. Benzer şekilde literatürde değişik çalışmalarda yanıtılı hastalarda sapropterin kullanılmasının enzim aktivitesini yükselterek fenilalanin toleransını 2-7 kat arasında artırabildiği bildirilmektedir (25,46,47,52,61,68,69). Ancak hastalar, fenilalanin toleransında belirgin bir artış olsa da, fenilalanin kısıtlaması ve özel amino asit karışımlarına devam etme gereksinimi gösterebilmektedirler. Tedavi alan hastalarımızın 12'sinde (%22,2) tolerans artışı, doğal protein alımında artış ve kan fenilalanin düzeyinde düşme olmasına karşın özel amino asit karışımı gereksinimi devam etmiştir. Beş hastamızda ise ilaca başladıktan bir süre sonra yeterli tolerans artışı sağlanamadığı için tedavi kesilmiştir. Tedavi başladıktan sonra tolerans artışı da genotip ve fenotipik alt gruplar, BH₄ duyarlılığının düzeyinden etkilenmekte, bireysel farklılıklar göstermektedir.

Sapropterin tedavisinin dört yaş altındaki kullanımı henüz bazı ülkelerde onaylanmamıştır, bununla birlikte bu yaş grubunda tedavinin kullanıldığı çalışmaların sonuçları önemli bir yan etki bildirmemektedirler. Bizim çalışma grubumuzdaki tedavi alan 54 hastanın 21'i çalışmanın sonlandığı tarihte henüz dört yaşını doldurmamıştır. Dört yaş altındaki hastalarımızın 5'inde yeterli fenilalanin toleransı sağlanamamış ve tedavi kesilmiştir, ancak hastalarımızın hiçbirinde yan etki bildirilmemiştir. Leuret ve ark.ın (61) dört yaş altında 15 hastada yaklaşık iki yıl süre ile sapropterin tedavisi verdikleri hasta grubunda da bizim çalışmamıza benzer şekilde fenilalanin toleransı belirgin olarak artmış, hiçbir yan etki gözlenmemiştir. Kliniğimizin de içinde bulunduğu dört yaş altında sapropterin tedavisinin güvenliliği ve farmakokinetiği ile ilgili uluslararası bir çalışma da halen yürütülmektedir.

Sapropterin tedavisine yanıtılığın değerlendirilmesi için BH₄ yükleme testi yapmayı planladığımız dokuz hastamızda, fenilalanin yüklemesine karşın, test öncesinde fenilalanin düzeyleri yeterince yükseltilemediği için, BH₄ yükleme testi yapılmasından

vazgeçilmiş ve diyetle aldıkları fenilalanin miktarları, fenilalanin toleranslarının tahmin edilenden daha yüksek olduğu düşüncesi ile artırılmıştır. Fenilalaninin tetramerik PAH aktivitesini artırdığı bilinmektedir (33,43). Hastalarda, kan fenilalanin düzeyinin yükselmemesi, dışarıdan fenilalanin toz ile verilen yüksek miktardaki fenilalaninin, PAH enziminin aktivitesini artırması mekanizması ile ilişkili olabilir, ancak fenilalanin toleransı daha yüksekken enfeksiyon gibi katabolizma artışı ya da diyet uyumsuzluğu gibi durumlarda diyetle alınan fenilalaninin gereğinden çok kısılmış olmasına da bağlı olabilir. Bu hastalarımızda test amacıyla kullanılan fenilalanin yükleme işleminin toleransı belirlemekle ilgili ikinci bir yararlığı görülmüştür.

Fenilketonüride yalnız başına diyet tedavisi, bilişsel gelişim yanında büyümeyi de en ideal düzeyde tutmak yönünden bazı zorlukları beraberinde getirmektedir (65,74,75). Özellikle, erken dönemde boy büyümesinde geri kalma, ileri dönemde boya göre vücut ağırlığında fazlalık, literatürde bildirilen sorunlardır (76,77). Bizim, 0-15 yaş arası, diyet tedavisi ile izlenen klasik FKÜ'lü 100 hastada büyümeyi değerlendirdiğimiz henüz yayınlanmamış bir çalışmamızda her iki uçtaki büyüme ile ilgili sorunu yansıtan boy kısalığı %12 ve obezite %12 oranında bulunmuştur. Sapropterin tedavisi ile tümüyle doğal ya da klasik tedaviye göre doğala daha yakın bir beslenme düzeni sağlanabildiğinden, büyümenin olumlu yönde etkileneceği düşünülebilir. Ancak, uzun dönem sapropterin tedavisi altında boyca büyümenin hızlanması şeklinde büyüme üzerine olumlu etki saptandığını bildiren yayınlar olduğu gibi, boy ve ağırlıkça değişim saptanmadığını ya da diyetin serbestleştirilmesinden sonra boya göre vücut ağırlığında artış olabileceğini ve bu yönden hastaların dikkatli izlenmesi gerektiğini bildiren yayınlar da bulunmaktadır (57). Singh ve ark.ın (47) 5-12 yaş grubunda iki yıl sapropterin tedavisi alan altı çocuk ile yaptıkları çalışmada tedavi sonrasında boya göre Z skorlarında olumlu yönde artış görülmüştür. Bizim çalışmamızda tedavi öncesi ve sonrası, yaşa göre boy, yaşa göre vücut ağırlığı ve beden kitle indeksi Z skorları karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır. Bununla birlikte, büyümeyi etkileyen pek çok etmen olduğu için az sayıda hasta ile birkaç yıl süren çalışmalar, bu konuda yanıltıcı olabilir ve sapropterin tedavisinin büyüme üzerine etkisi konusunda çok daha

fazla hasta sayısı ile çok daha uzun süreli randomize kontrollü çalışmalara gereksinim vardır.

Sapropterin tedavisi için ideal dozun ne olduğu halen netlik kazanmamıştır. İlk uzun dönem çalışmalarından biri olan Trefz ve ark.ın (54) 2005 yılında yayınlanan çalışmasında BH₄ tedavisi için temel sorunun değişik yaşlarda ve enfeksiyon hastalıkları gibi durumlarda en uygun dozu bulmak olduğu vurgulanmıştır. Literatürde BH₄ yükleme testi için 20 mg/kg şeklinde sıklıkla uygulanan bir ortak görüş vardır, ancak uzun dönem tedavi ile ilgili değişik ülke ve merkezlerin klinik uygulamalarında 5-20 mg/kg gibi geniş bir aralıkta değişen dozlar kullanılmaktadır. Bizim bu çalışmamızda ve klinik uygulamalarımızdaki yaklaşım 20 mg/kg doz ile başlayıp, yeterli metabolik kontrol sağlanmaya devam ediyorsa dozu artırmamak ve vücut ağırlığı başına düşen dozun giderek azalmasını sağlamak şeklinde olmaktadır. Bu yaklaşımın, özellikle hızlı ağırlık artımı sağlanan bebeklik ve erken çocukluk döneminde oldukça iyi sonuç verdiği görünmektedir. Ağırlık artımının daha yavaş olduğu yaş gruplarında ise 20 mg/kg ile başlayıp en üst fenilalanin toleransına ulaştıktan sonra yeterli metabolik kontrol sağlayarak dozu giderek azaltmayı denemekteyiz. Aksine, düşük doz ile başlayıp en üst toleransa ulaştıktan sonra giderek fenilalanin miktarı ve dozu artırmayı öneren yayınlar da vardır. Staudigl ve ark.ın (43) çalışmasında BH₄ yükleme testleri üzerine BH₄ dozunun etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada homozigot p.R261Q mutasyonu taşıyan hastalarda BH₄ dozu (10, 20, 30 mg/kg) test sonuçlarını etkilemiyor gibi görünmüştür (sırasıyla %26, 27 ve 25 düşüş). p.Y414C mutasyonunun varlığında artan BH₄ dozları BH₄ verilmesinden sonra kan fenilalanin düzeyindeki düşüş yüzdesi bakımından BH₄ yanıtlılığını artırmıştır. İlginç olarak hem p.R261Q hem de p.Y414C mutasyonunu bileşik heterozigot olarak taşıyan hastalar da homozigot Y414C'den daha düşük düzeyde ama doza bağlı yanıt göstermişlerdir. Bireysel olarak ilaç metabolizması ve emilimindeki farklılıklar, ayrıca genotip ve PAH enzim kinetiği ile ilgili çalışmalardan elde edilen bilgiler (43), BH₄ yanıtlılığının belirlenmesinde olduğu gibi, en uygun BH₄ dozunun bulunmasında da gelecekte daha çok uygulanması olasılığı olan hasta özelinde bireysel yaklaşımların uygun olacağını düşündürmektedir.

Çalışmamızda tedavi başlanan hastaların tedavi öncesinde ve sonrasında yaşam kalitesinin değerlendirilmesi planlanmış ve tedavi öncesinde 12 hastaya “Pediatric Quality of Life Questionnaire-PEDS-QL” adlı yaşam kalitesi ölçeğinin Türkçe’ye uyarlanarak geçerli ve güvenilir bulunmuş biçimi olan Çocuklar için Yaşam Kalitesi Ölçeği uygulanmıştır (72,73). Ancak hastaların hiçbiri ölçeğin değerlendirme alanları olan fiziksel, duygusal, sosyal işlevsellik ve okul işlevselliği alanlarında sorun bildirmediklerinden ölçeğin uygulanması tekrarlanmamıştır. Bununla birlikte ailelerden alınan ölçek ile ilgili geri bildirimler ölçek içinde değerlendirilen alanlarda sorun yaşamadıkları ancak, hastalığın izlem sürecinde yaşam kalitelerini olumsuz etkileyen başka etmenlerin olduğu yönünde olmuştur. Ailelerin en sık bildirdikleri sorunlar, küçük yaşta çocuğun yemesi konusunda sürekli engelleme getirmenin yarattığı baskı, okulda yeterince denetim sağlayamamak, çocuğun mama almayı ve özel besinleri tüketmeyi tat ve koku nedeniyle reddetmesi, ailenin bulunduğu her yerde mama hazırlamak konusunda uygun ortam bulamamak, her yerde kan fenilalanin düzeyini kolaylıkla ölçtürüp, diyetini düzenleyebilecek merkez bulamamak, diyetle karşı çocuğun bilişsel ve psikososyal gelişiminin yaşlılarında geri kalabileceği şeklindeki endişeler olmuştur. Cotugno ve ark.ın (78) 41 FKÜ’lü hastada diyetle uyum ve yaşam kalitesini “Child Health Questionnaire” ölçeğinin kısa formunun çevirisi ile değerlendirdikleri çalışmada çocuk ve ergen yaş gruplarında yaşam kalitesi puanlarının sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulmuşlardır. Ziesch ve ark.ın (68) sapropterin tedavisi kullanan 19 hastada KINDL “Kinder Lebensqualitätsfragebogen” ölçeği kullanarak yaşam kalitesini değerlendirdikleri çalışmanın sonucu da bizim çalışmamıza benzer olmuş, tedavi öncesinde ölçekten edinilen puanlarda genel toplum sonuçlarına göre fark saptanmamış ve doğuştan metabolik hastalığa özel ölçeklerin geliştirilmesi gereği vurgulanmıştır. Halen FKÜ hastalığına özel bir yaşam kalitesi ölçeği geliştirmeyi amaçlayan bilim dalımızın da içinde olduğu uluslararası bir çalışma devam etmektedir.

Bazı kısıtlılıklara karşı BH_4 yanıtılığında genotip-fenotip ilişkisi çok iyi tanımlanmıştır ve *PAH* mutasyonları ile BH_4 yanıtılığının arasındaki ilişkileri bildiren veri tabanları hazırlanmıştır (www.biopku.org). BH_4 yanıtılığının gösteren mutasyonlarda sıklıkla belli bir oranda enzim aktivitesi gözlenmekteyse de, *in vitro* enzim aktivitesinin

olması her zaman in vivo BH₄ yanıtılığını olacağını göstermemektedir. Ayrıca bizim çalışmamızda da gözlemlendiği gibi klasik FKÜ'lü hastalar da daha nadiren BH₄'e yanıtılı olabilmektedirler. Türk hastalar üzerinde BH₄ yanıtılığını ile genotip ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışmalardan biri Yıldırım ve ark. (29) tarafından 2007 yılında yayınlanmış 20 hastanın sonuçlarıdır. Daha sonra 2011 yılında Dobrowolsky ve ark. (12) tarafından 462 hasta ile çok daha geniş bir vaka serisi yayınlanmıştır. Bu iki çalışmada da hastalara tedavi başlanmamıştır ve in vivo yanıtılık sonuçları yoktur. Her iki çalışmada da benzer şekilde Türk hastalarda en sık görülen BH₄'e yanıtılı mutasyonlar, p.A300S, p.E390G, p.L48S, p.R261Q olarak belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda, moleküler genetik analizi tamamlanan 19 hastadan dördünde IVS10-7C>A homozigot mutasyonu bulunmuştur. İki hasta, p.R261Q homozigot mutasyonu taşımaktadır ve literatürde bildirildiği gibi bizim çalışmamızda da bu mutasyon yanıtılı görünmektedir. Ancak, bu iki hastadan birinde uzun dönemde yanıtılık görülmemiş ve ilaç kesilmiştir. IVS10-7C>A, p.E390G, p.L48S, p.R261Q hasta grubumuzda en sık BH₄ yanıtılığını gösteren mutasyonlar olarak görünmektedir. IVS10-7C>A mutasyonu Türk hiperfenilalaninemi hastalarında daha önce sık tanımlanan bir mutasyon olmamasına karşın BH₄ yanıtılı hasta grubumuzun ön verilerinde öne çıkan bir mutasyon olarak göze çarpmaktadır.

Türk popülasyonunda otozomal resesif hastalıkta akraba evliliği, kendileşme (inbreeding) gibi nedenlerle homozigotluk oranı yüksektir. Buna karşın çalışma grubumuzda heterozigotluk oranının beklenenden yüksek bulunması BH₄ yanıtılı olabilecek hastaların seçildiğini göstermektedir. Ancak çalışmamızın moleküler genetik analiz incelemeleri henüz tamamlanmamıştır ve yeterli sayıda hastanın genetik analizi elde edilemediğinden bu aşamada güvenilir bir genotip-fenotip ilişkisi değerlendirmesi mümkün olmamıştır. Çalışmaların tamamlanmasından sonra bu ilişkinin belirlenmesi hedeflenmektedir.

Çalışmamız, dünyada FKÜ hastalığının en sık olduğu ülkelerden biri olan Türkiye'de, en çok sayıda FKÜ'lü hasta izleyen merkezlerden birinde önemli sayıda hasta ile yapılmış olması ve uzun dönem tedavi ve in vivo yanıtılık sonuçlarını da bildirmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Vakaların yaklaşık yarısına yakın bir

bölümünün dört yaş altında hastalardan oluşması ve bu konuda literatürde de bilginin sınırlı olması, çalışmamızın güçlü yanlarındanadır. Henüz genotip-fenotip ilişkisi bildirilecek kadar sayıda hastanın moleküler genetik incelemesi tamamlanmamıştır, ancak tüm vakaların DNA eldesi için kanları alınmıştır ve bu konuda çalışma halen devam etmektedir.

SONUÇLAR-ÖNERİLER

1. Çalışmamızda 131 hasta, 48 saatlik BH₄ yükleme testi yapılması için değerlendirilmiş, 122'sine test uygulanmış, dokuz hastada ise fenilalanin yüklemesine karşın, kan fenilalanin düzeyi yeterince yükseltilemediğinden test uygulanmamış, ve diyet serbestleştirilmesine gidilmiştir.
2. BH₄ yükleme testi yapılan 122 hastadan, 63'ü (%51,6) kan fenilalanin düzeylerinde başlangıç düzeye göre %30'dan fazla azalma saptanmış olması nedeniyle yanıtı kabul edilmiştir.
3. Çalışma süresi içinde yanıtı kabul edilen hastalardan 54'ü en az iki ay süre ile tedavi almıştır. Tedavi altında fenilalanin toleransı 7-148 mg/kg (ortalama 58,02±29,56 mg/kg) miktarında artmış ve artış 1,2-6,6 kat aralığında (ortalama 2,53±1,05 kat) olmuştur.
4. Serbest diyet alan 39 (%72,2) hastada ortalama serbest diyete geçiş süresi 79,79±68,26 gündür. Tedavi sonrasında, 29 hastanın (%53,70) özel amino asit karışımı tüketimi ortadan kalkmış, 12 hastanın (%22,6) mama kullanımına gereksinimi devam etmiştir.
5. Beş hastanın tedavisi ikincil yanıtızsızlık nedeni ile kesilmiştir.
6. Tedavi öncesi ve sonrası boy ağırlık ve beden kitle indeksi Z skorlarında farklılık saptanmamıştır.
7. Tedavi süresi içerisinde hiçbir hasta yan etki bildirmemiştir.
8. Çalışmamızda sapropterin tedavisi başlanan 12 hastaya tedavi öncesinde Çocuklar için Yaşam Kalitesi Ölçeği uygulanmış, ancak hastaların hiçbiri tedavi öncesinde ölçeğin değerlendirdiği alanlarda sorun belirtmemişlerdir. Bu nedenle tedavi sonrasında ölçek tekrarlanmamıştır.
9. Tedavi başlanan 54 hastadan 19'unun moleküler genetik analizleri tamamlanabilmiştir. Elde olunan ön verilere göre beş hastada IVS10-11G>A/ p.E390G birleşik heterozigotluğu, 4 hastada homozigot IVS10-7C>A mutasyonu, 4 hastada homozigot p.L48S mutasyonu, 2 hastada ise homozigot p.R261Q mutasyonu saptanmıştır. IVS10-11G>A/ p.R241H, p.E390G/ p.R261Q,

p.E390G/ p.L15-S16fsdelCT ve p.L48S/ p.P281L birleşik heterozigotluğu da birer hastada bulunmuştur.

Moleküler genetik analizleri henüz tamamlanmayan 23 hastanın ise tek alelinde mutasyon saptanmıştır. Bu mutasyonlar ise sıklık sırasıyla, IVS10-11G>A mutasyonu sekiz hasta, p.R261X üç hasta, p.E390G, p.L48S, p.R241C, p.T372S ikişer hastada ve p.R243Q, p.D394H, p.R241H ve IVS11+1G>C mutasyonları da birer hastada olacak şekildedir.

IVS10-7C>A, p.E390G, p.L48S, p.R261Q hasta grubumuzda en sık BH₄ yanıtıllığı gösteren mutasyonlar olarak görünmektedir. IVS10-7C>A mutasyonu Türk hiperfenilalaninemi hastalarında daha önce sık tanımlanan bir mutasyon olmamasına karşın BH₄ yanıtı hasta grubumuzun ön verilerinde öne çıkan bir mutasyon olarak göze çarpmaktadır.

Fenilketonüri hastalığının tedavisinde ilk FDA onaylı ilaç olan sapropterin dihidroklorid, yaşam boyu katı bir diyet almak zorunda olan hastaların BH₄'e yanıtı olanları için ümit verici bir tedavidir.

Diyet ile fenilalanin kısıtlaması, halen standart tedavi yöntemi olmakla birlikte, BH₄'e yanıtın değerlendirilmesi en azından az da olsa enzim aktivitesi olduğu ve yanıt verebileceği düşünülen hastalarda uygun bir yaklaşımdır.

Kliniğimizde uygulanan 48 saatlik fenilalanin testi yanıtı hastaların belirlenebilmesi için kolay uygulanabilir ve güvenilir bir yöntemdir.

Tedaviye kısa ve uzun dönemde yanıtıllığı baştan tahmin etmek her zaman olanaklı değildir. Ancak, yanıtı hastalarda uzun dönemde fenilalanin toleransı artmakta ve fenilalanin kan düzeyi düşmektedir.

Test yapılırken diyeti gevşetildiği halde yeterli kan fenilalanin düzeyi artışı göstermeyen hastaların diyeti tamamen serbestleştirilmiştir. Bu bulgu kronik izlemde her hastanın tolere edebileceği en yüksek fenilalanin düzeyini belirlemek için diyetini gevşetmenin yaşam kalitesini arttırıcı ve gereksiz sıkı diyeti önleyici olabileceğini düşündürmüştür.

Bununla birlikte yüksek maliyeti ve uzun dönem etkinlik ve güvenilirliğinin halen tam olarak bilinmemesi tedavinin olumsuz yönleridir. Uzun dönem etkinlik ve güvenilirliği, diyet kısıtlamasını kolaylaştırması, gebelikte kullanımı konularında çalışmalara gereksinim vardır.

Sonuçta FKÜ'lü hastalarda BH4 kullanımı güvenilir ve etkili bir alternatiftir ve her hasta BH4 yanıtılılığı açısından değerlendirilmelidir.

KAYNAKLAR

1. Gassio, R., Artuch, R., Vilaseca, M.A., Fuste, E., Boix, C., Sans, A. ve diğeri. (2005) Cognitive functions in classic phenylketonuria and mild hyperphenylalaninaemia: experience in a paediatric population. *Dev Med Child Neurol*, 47 (7), 443-448.
2. Kure, S., Hou, D.C., Ohura, T., Iwamoto, H., Suzuki, S., Sugiyama, N. ve diğeri. (1999) Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr*, 135 (3), 375-378.
3. Werner, E.R., Blau, N., Thony, B. (2011) Tetrahydrobiopterin: biochemistry and pathophysiology. *Biochem J*, 438 (3), 397-414.
4. Blau, N., van Spronsen, F.J., Levy, H.L. (2010) Phenylketonuria. *Lancet*, 376 (9750), 1417-1427.
5. Bernegger, C., Blau, N. (2002) High frequency of tetrahydrobiopterin-responsiveness among hyperphenylalaninurias: a study of 1,919 patients observed from 1988 to 2002. *Mol Genet Metab*, 77 (4), 304-313.
6. Muntau, A.C., Roschinger, W., Habich, M., Demmelair, H., Hoffmann, B., Sommerhoff, C.P. ve diğeri. (2002) Tetrahydrobiopterin as an alternative treatment for mild phenylketonuria. *N Engl J Med*, 347 (26), 2122-2132.
7. Lindner, M., Steinfeld, R., Burgard, P., Schulze, A., Mayatepek, E., Zschocke, J. (2003) Tetrahydrobiopterin sensitivity in German patients with mild phenylalanine hydroxylase deficiency. *Hum Mutat*, 21 (4), 400-404.
8. Desviat, L.R., Perez, B., Belanger-Quintana, A., Castro, M., Aguado, C., Sanchez, A. ve diğeri. (2004) Tetrahydrobiopterin responsiveness: results of the BH4 loading test in 31 Spanish PKU patients and correlation with their genotype. *Mol Genet Metab*, 83 (1-2), 157-162.

9. Matalon, R., Michals-Matalon, K., Koch, R., Grady, J., Tyring, S., Stevens, R.C. (2005) Response of patients with phenylketonuria in the US to tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S17-21.
10. Mitchell, J.J., Wilcken, B., Alexander, I., Ellaway, C., O'Grady, H., Wiley, V. ve diğerleri. (2005) Tetrahydrobiopterin-responsive phenylketonuria: the New South Wales experience. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S81-85.
11. Zurfluh, M.R., Zschocke, J., Lindner, M., Feillet, F., Chery, C., Burlina, A. ve diğerleri. (2008) Molecular genetics of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Hum Mutat*, 29 (1), 167-175.
12. Dobrowolski, S.F., Heintz, C., Miller, T., Ellingson, C., Ozer, I., Gokcay, G. ve diğerleri. (2011) Molecular genetics and impact of residual in vitro phenylalanine hydroxylase activity on tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish PKU population. *Mol Genet Metab*, 102 (2), 116-121.
13. Karacic, I., Meili, D., Sarnavka, V., Heintz, C., Thony, B., Ramadza, D.P. ve diğerleri. (2009) Genotype-predicted tetrahydrobiopterin (BH4)-responsiveness and molecular genetics in Croatian patients with phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency. *Mol Genet Metab*, 97 (3), 165-171.
14. Blau, N., Hennermann, J.B., Langenbeck, U., Lichter-Konecki, U. (2011) Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies. *Mol Genet Metab*, 104 Suppl, S2-9.
15. Fiege, B., Blau, N. (2007) Assessment of tetrahydrobiopterin (BH4) responsiveness in phenylketonuria. *J Pediatr*, 150 (6), 627-630.
16. Levy, H.L., Milanowski, A., Chakrapani, A., Cleary, M., Lee, P., Trefz, F.K. ve diğerleri. (2007) Efficacy of sapropterin dihydrochloride (tetrahydrobiopterin, 6R-BH4) for reduction of phenylalanine concentration in patients with phenylketonuria: a phase III randomised placebo-controlled study. *Lancet*, 370 (9586), 504-510.

17. Levy, H., Burton, B., Cederbaum, S., Scriver, C. (2007) Recommendations for evaluation of responsiveness to tetrahydrobiopterin (BH₄) in phenylketonuria and its use in treatment. *Mol Genet Metab*, 92 (4), 287-291.
18. Blau, N. (2008) Defining tetrahydrobiopterin (BH₄)-responsiveness in PKU. *J Inherit Metab Dis*, 31 (1), 2-3.
19. Anjema, K., Venema, G., Hofstede, F.C., Carbasius Weber, E.C., Bosch, A.M., Ter Horst, N.M. ve diğerleri. (2011) The 48-hour tetrahydrobiopterin loading test in patients with phenylketonuria: evaluation of protocol and influence of baseline phenylalanine concentration. *Mol Genet Metab*, 104 Suppl, S60-63.
20. Belanger-Quintana, A., Burlina, A., Harding, C.O., Muntau, A.C. (2011) Up to date knowledge on different treatment strategies for phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 104 Suppl, S19-25.
21. Fiege, B., Bonafe, L., Ballhausen, D., Baumgartner, M., Thony, B., Meili, D. ve diğerleri. (2005) Extended tetrahydrobiopterin loading test in the diagnosis of cofactor-responsive phenylketonuria: a pilot study. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S91-95.
22. Okano, Y., Takatori, K., Kudo, S., Sakaguchi, T., Asada, M., Kajiwara, M. ve diğerleri. (2007) Effects of tetrahydrobiopterin and phenylalanine on in vivo human phenylalanine hydroxylase by phenylalanine breath test. *Mol Genet Metab*, 92 (4), 308-314.
23. Guldberg, P., Rey, F., Zschocke, J., Romano, V., Francois, B., Michiels, L. ve diğerleri. (1998) 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*, 63 (1), 71-79.
24. Hoang, L., Byck, S., Prevost, L., Scriver, C.R. (1996) PAH Mutation Analysis Consortium Database: a database for disease-producing and other allelic variation at the human PAH locus. *Nucleic Acids Res*, 24 (1), 127-131.

25. Trefz, F.K., Burton, B.K., Longo, N., Casanova, M.M., Gruskin, D.J., Dorenbaum, A. ve diğeri. (2009) Efficacy of sapropterin dihydrochloride in increasing phenylalanine tolerance in children with phenylketonuria: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Pediatr*, 154 (5), 700-707.
26. Blau, N., Belanger-Quintana, A., Demirkol, M., Feillet, F., Giovannini, M., MacDonald, A. ve diğeri. (2009) Optimizing the use of sapropterin (BH(4)) in the management of phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 96 (4), 158-163.
27. Pey, A.L., Stricher, F., Serrano, L., Martinez, A. (2007) Predicted effects of missense mutations on native-state stability account for phenotypic outcome in phenylketonuria, a paradigm of misfolding diseases. *Am J Hum Genet*, 81 (5), 1006-1024.
28. Gersting, S.W., Kemter, K.F., Staudigl, M., Messing, D.D., Danecka, M.K., Lagler, F.B. ve diğeri. (2008) Loss of function in phenylketonuria is caused by impaired molecular motions and conformational instability. *Am J Hum Genet*, 83 (1), 5-17.
29. Yildirim, S., Tokatli, A., Yilmaz, E., Coskun, T. (2007) Assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish hyperphenylalaninemic patients. *Turk J Pediatr*, 49 (1), 1-6.
30. Peters, S., Van Gilder, D., Dvoracek, K., Hegge, K. (2011) Pharmacotherapy Options in the Management of Phenylketonuria. *Clinical Medicine Insights: Therapeutics*, 3, 327-338.
31. Michals-Matalon, K. (2008) Sapropterin dihydrochloride, 6-R-L-erythro-5,6,7,8-tetrahydrobiopterin, in the treatment of phenylketonuria. *Expert Opin Investig Drugs*, 17 (2), 245-251.
32. Gersting, S.W., Staudigl, M., Truger, M.S., Messing, D.D., Danecka, M.K., Sommerhoff, C.P. ve diğeri. (2010) Activation of phenylalanine hydroxylase induces positive cooperativity toward the natural cofactor. *J Biol Chem*, 285 (40), 30686-30697.

33. Sarkissian, C.N., Ying, M., Scherer, T., Thony, B., Martinez, A. (2012) The mechanism of BH(4) -responsive hyperphenylalaninemia-As it occurs in the ENU1/2 genetic mouse model. *Hum Mutat*.
34. Gersting, S.W., Lagler, F.B., Eichinger, A., Kemter, K.F., Danecka, M.K., Messing, D.D. ve diğerleri. (2010) Pahenu1 is a mouse model for tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency and promotes analysis of the pharmacological chaperone mechanism in vivo. *Hum Mol Genet*, 19 (10), 2039-2049.
35. Erlandsen, H., Pey, A.L., Gamez, A., Perez, B., Desviat, L.R., Aguado, C. ve diğerleri. (2004) Correction of kinetic and stability defects by tetrahydrobiopterin in phenylketonuria patients with certain phenylalanine hydroxylase mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 101 (48), 16903-16908.
36. Pey, A.L., Perez, B., Desviat, L.R., Martinez, M.A., Aguado, C., Erlandsen, H. ve diğerleri. (2004) Mechanisms underlying responsiveness to tetrahydrobiopterin in mild phenylketonuria mutations. *Hum Mutat*, 24 (5), 388-399.
37. Perez, B., Desviat, L.R., Gomez-Puertas, P., Martinez, A., Stevens, R.C., Ugarte, M. (2005) Kinetic and stability analysis of PKU mutations identified in BH4-responsive patients. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S11-16.
38. Fiege, B., Ballhausen, D., Kierat, L., Leimbacher, W., Goriounov, D., Schircks, B. ve diğerleri. (2004) Plasma tetrahydrobiopterin and its pharmacokinetic following oral administration. *Mol Genet Metab*, 81 (1), 45-51.
39. Zurfluh, M.R., Fiori, L., Fiege, B., Ozen, I., Demirkol, M., Gartner, K.H. ve diğerleri. (2006) Pharmacokinetics of orally administered tetrahydrobiopterin in patients with phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Inherit Metab Dis*, 29 (6), 725-731.
40. Feillet, F., Clarke, L., Meli, C., Lipson, M., Morris, A.A., Harmatz, P. ve diğerleri. (2008) Pharmacokinetics of sapropterin in patients with phenylketonuria. *Clin Pharmacokinet*, 47 (12), 817-825.

41. Gramer, G., Garbade, S.F., Blau, N., Lindner, M. (2009) Pharmacokinetics of tetrahydrobiopterin following oral loadings with three single dosages in patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*, 32 (1), 52-57.
42. Musson, D.G., Kramer, W.G., Foehr, E.D., Bieberdorf, F.A., Hornfeldt, C.S., Kim, S.S. ve diğerleri. (2010) Relative bioavailability of sapropterin from intact and dissolved sapropterin dihydrochloride tablets and the effects of food: a randomized, open-label, crossover study in healthy adults. *Clin Ther*, 32 (2), 338-346.
43. Staudigl, M., Gersting, S.W., Danecka, M.K., Messing, D.D., Woidy, M., Pinkas, D. ve diğerleri. (2011) The interplay between genotype, metabolic state and cofactor treatment governs phenylalanine hydroxylase function and drug response. *Hum Mol Genet*, 20 (13), 2628-2641.
44. Burton, B.K., Grange, D.K., Milanowski, A., Vockley, G., Feillet, F., Crombez, E.A. ve diğerleri. (2007) 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*, 30 (5), 700-707.
45. Lee, P., Treacy, E.P., Crombez, E., Wasserstein, M., Waber, L., Wolff, J. ve diğerleri. (2008) Safety and efficacy of 22 weeks of treatment with sapropterin dihydrochloride in patients with phenylketonuria. *Am J Med Genet A*, 146A (22), 2851-2859.
46. Vernon, H.J., Koerner, C.B., Johnson, M.R., Bergner, A., Hamosh, A. (2010) Introduction of sapropterin dihydrochloride as standard of care in patients with phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 100 (3), 229-233.
47. Singh, R.H., Quirk, M.E., Douglas, T.D., Brauchla, M.C. (2010) BH(4) therapy impacts the nutrition status and intake in children with phenylketonuria: 2-year follow-up. *J Inherit Metab Dis*, 33 (6), 689-695.

48. Trefz, F.K., Scheible, D., Frauendienst-Egger, G. (2010) Long-term follow-up of patients with phenylketonuria receiving tetrahydrobiopterin treatment. *J Inherit Metab Dis*. DOI 10.1007/s10545-010-9058-x
49. Elsas, L.J., Greto, J., Wierenga, A. (2011) The effect of blood phenylalanine concentration on Kuvan response in phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 102 (4), 407-412.
50. Burton, B.K., Nowacka, M., Hennermann, J.B., Lipson, M., Grange, D.K., Chakrapani, A. ve diğeri. (2011) Safety of extended treatment with sapropterin dihydrochloride in patients with phenylketonuria: results of a phase 3b study. *Mol Genet Metab*, 103 (4), 315-322.
51. Cerone, R., Schiaffino, M.C., Fantasia, A.R., Perfumo, M., Birk Moller, L., Blau, N. (2004) Long-term follow-up of a patient with mild tetrahydrobiopterin-responsive phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 81 (2), 137-139.
52. Lambruschini, N., Perez-Duenas, B., Vilaseca, M.A., Mas, A., Artuch, R., Gassio, R. ve diğeri. (2005) Clinical and nutritional evaluation of phenylketonuric patients on tetrahydrobiopterin monotherapy. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S54-60.
53. Belanger-Quintana, A., Garcia, M.J., Castro, M., Desviat, L.R., Perez, B., Mejia, B. ve diğeri. (2005) Spanish BH4-responsive phenylalanine hydroxylase-deficient patients: evolution of seven patients on long-term treatment with tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S61-66.
54. Trefz, F.K., Scheible, D., Frauendienst-Egger, G., Korall, H., Blau, N. (2005) Long-term treatment of patients with mild and classical phenylketonuria by tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab*, 86 Suppl 1, S75-80.
55. Boveda, M.D., Couce, M.L., Castineiras, D.E., Cocho, J.A., Perez, B., Ugarte, M. ve diğeri. (2007) The tetrahydrobiopterin loading test in 36 patients with hyperphenylalaninaemia: evaluation of response and subsequent treatment. *J Inherit Metab Dis*, 30 (5), 812.

56. Lagler, F.B., Gersting, S.W., Zsifkovits, C., Steinbacher, A., Eichinger, A., Danecka, M.K. ve diğeri. (2010) New insights into tetrahydrobiopterin pharmacodynamics from Pah enu1/2, a mouse model for compound heterozygous tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Biochem Pharmacol*, 80 (10), 1563-1571.
57. MacDonald, A., Ahring, K., Dokoupil, K., Gokmen-Ozel, H., Lammardo, A.M., Motzfeldt, K. ve diğeri. (2011) Adjusting diet with sapropterin in phenylketonuria: what factors should be considered? *Br J Nutr*, 106 (2) 175-182.
58. Feillet, F., Chery, C., Namour, F., Kimmoun, A., Favre, E., Lorentz, E. ve diğeri. (2008) Evaluation of neonatal BH4 loading test in neonates screened for hyperphenylalaninemia. *Early Hum Dev*, 84 (9), 561-567.
59. Bik-Multanowski, M., Pietrzyk, J.J., Didycz, B., Szymczakiewicz-Multanowska, A. (2008) Development of a model for assessment of phenylalanine hydroxylase activity in newborns with phenylketonuria receiving tetrahydrobiopterin: a potential for practical implementation. *Mol Genet Metab*, 94 (3), 389-390.
60. Burton, B.K., Adams, D.J., Grange, D.K., Malone, J.I., Jurecki, E., Bausell, H. ve diğeri. (2011) Tetrahydrobiopterin therapy for phenylketonuria in infants and young children. *J Pediatr*, 158 (3), 410-415.
61. Leuret, O., Barth, M., Kuster, A., Eyer, D., de Parscau, L., Odent, S. ve diğeri. (2012) Efficacy and safety of BH4 before the age of 4 years in patients with mild phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*.buraya sayfa numaraları yazılmaya calisilacak
62. Shintaku, H., Kure, S., Ohura, T., Okano, Y., Ohwada, M., Sugiyama, N. ve diğeri. (2004) Long-term treatment and diagnosis of tetrahydrobiopterin-responsive hyperphenylalaninemia with a mutant phenylalanine hydroxylase gene. *Pediatr Res*, 55 (3), 425-430.

63. Shintaku, H., Ohwada, M., Aoki, K., Kitagawa, T., Yamano, T. (2008) Diagnosis of tetrahydrobiopterin (BH4) responsive mild phenylketonuria in Japan over the past 10 years. *Ann Acad Med Singapore*, 37 (12 Suppl), 77-72.
64. Burton, B.K., Bausell, H., Katz, R., Laduca, H., Sullivan, C. (2010) Sapropterin therapy increases stability of blood phenylalanine levels in patients with BH4-responsive phenylketonuria (PKU). *Mol Genet Metab*, 101 (2-3), 110-114.
65. Trefz, F., Maillot, F., Motzfeldt, K., Schwarz, M. (2011) Adult phenylketonuria outcome and management. *Mol Genet Metab*, 104 Suppl, S26-30.
66. Gassio, R., Vilaseca, M.A., Lambruschini, N., Boix, C., Fuste, M.E., Campistol, J. (2010) Cognitive functions in patients with phenylketonuria in long-term treatment with tetrahydrobiopterin. *Mol Genet Metab*, 99 Suppl 1, S75-78.
67. Somaraju, U.R., Merrin, M. (2010) Sapropterin dihydrochloride for phenylketonuria. *Cochrane Database Syst Rev* (6), CD008005.
68. Ziesch, B., Weigel, J., Thiele, A., Mutze, U., Rohde, C., Ceglarek, U. ve diğerleri. (2012) Tetrahydrobiopterin (BH(4)) in PKU: effect on dietary treatment, metabolic control, and quality of life. *J Inherit Metab Dis*, 35 (6): 983-992.
69. Burlina, A., Blau, N. (2009) Effect of BH(4) supplementation on phenylalanine tolerance. *J Inherit Metab Dis*, 32 (1), 40-45.
70. Ozel, H.G., Kucukkasap, T., Koksall, G., Sivri, H.S., Dursun, A., Tokatli, A. ve diğerleri. (2008) Does maternal knowledge impact blood phenylalanine concentration in Turkish children with phenylketonuria? *J Inherit Metab Dis*, 31 Suppl 2, S213-217.
71. Varni, J.W., Seid, M., Rode, C.A. (1999) The PedsQL: measurement model for the pediatric quality of life inventory. *Med Care*, 37 (2), 126-139.
72. Cakin Memik, N., Agaoglu, B., Coskun, A., Uneri, O.S., Karakaya, I. (2007) [The validity and reliability of the Turkish Pediatric Quality of Life Inventory for children 13-18 years old]. *Turk Psikiyatri Derg*, 18 (4), 353-363.

73. Uneri, O.S., Agaoglu, B., Coskun, A., Memik, N.C. (2008) Validity and reliability of Pediatric Quality of Life Inventory for 2- to 4-year-old and 5- to 7-year-old Turkish children. *Qual Life Res*, 17 (2), 307-315.
74. Giovannini, M., Verduci, E., Salvatici, E., Paci, S., Riva, E. (2012) Phenylketonuria: nutritional advances and challenges. *Nutr Metab (Lond)*, 9 (1), 7-14.
75. Demirkol, M., Gizewska, M., Giovannini, M., Walter, J. (2011) Follow up of phenylketonuria patients. *Mol Genet Metab*, 104 Suppl, S31-39.
76. Acosta, P.B., Yannicelli, S., Singh, R., Mofidi, S., Steiner, R., DeVincentis, E. ve diğeri. (2003) Nutrient intakes and physical growth of children with phenylketonuria undergoing nutrition therapy. *J Am Diet Assoc*, 103 (9), 1167-1173.
77. Dobbelaere, D., Michaud, L., Debrabander, A., Vanderbecken, S., Gottrand, F., Turck, D. ve diğeri. (2003) Evaluation of nutritional status and pathophysiology of growth retardation in patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis*, 26 (1), 1-11.
78. Cotugno, G., Nicolo, R., Cappelletti, S., Goffredo, B.M., Dionisi Vici, C., Di Ciommo, V. (2011) Adherence to diet and quality of life in patients with phenylketonuria. *Acta Paediatr*, 100 (8), 1144-1149.

EKLER

Ek 1: Sapropterin dihidroklorid tedavisi alan bir hastamızın annesinin mektubu

Adım Demet Küleksi. Gaziantep'te yaşıyorum ve İngilizce öğretmeniyim. 15 yıl önce adı Emre olan bir erkek çocuk sahibi oldum. Her anne gibi ilk çocuğumu gurur ve büyük bir heyecanla kucağıma aldım. Doğumdan 6 gün sonra bir tesadüfle çocuğumun topuk kanını, tam olarak ne olduğunu bilmeden ve acıması çok da önemsemeden verdik. Bir süre sonra Ankara Hacettepe Hastanesinden gelen bir haberle bütün hayatımız bir anda değişti ve hatta alt üst oldu diyebilirim. Emre'de fenilketonüri vardı. O günden bu güne tam 15 yıl boyunca Hacettepe Hastanesi Metabolizma Bölümündeki doktorların ve Diyet Bölümündeki diyetisyenlerin yardım ve desteğiyle oğlumuzu sağlıklı bir şekilde büyüttük. Şu anda Emre 15 yaşının içerisinde. 15 yılın sonunda yine Ankara Hacettepe Hastanesinden aldığımız bir haberle yine hayatımız bir anda değişti ama bu seferki değişiklik bir mucizeydi. 15 yıl boyunca yaşadığımız hayat, oğlumun günde 8 tablet içeceği bir ilaç ile değişecekti. 15 yıl boyunca Emre'nin ve onun yanında da anne baba olarak bizim yaşadığımız kısıtlı olan yaşamımız bir anda değişti. Anne baba olarak bize elbette zordu. Fakat bu hayatı birebir yaşayan Emre için şüphesiz daha da zordu. Bebekliğinden itibaren sürekli önünden birşeyler kaldırarak, büyüme aşamasında bazı yiyeceklerin sağlığı için zararlı olduğunu anlatarak onu hayata hazırlamaya çalıştık. Okul dönemi başladığında bir anlamda artık bizim kontrolümüzden çıkarak, Emre kendi kendini kontrol etmeye ve birçok şeyi arkadaşları yanında yerken kendi yemeyerek, sağlıklı olabilmek için iradesiyle savaştı. Yumurta, eti, sütü, çikolatayı, dondurmayı ve bunlar gibi birçok şeyi merakını gidermek için sadece koklayarak geçen 15 yılın sonunda kullanmaya başladığımız ilaç oğlum için yeniden doğuş gibi birşey oldu. Doktorlarımızın ve

diyet uzmanımızın yakın takibi ile gecirdiğimiz yaklaşık 2 aylık bir süreç içerisinde, şu an et, süt, yumurta, peynir ve 15 yıl boyunca yiyemediği tüm yiyeceklerden sınırsız olmasa da normal beslenen bir insanın tüketebileceği ölçülerde gün içerisinde yiyebiliriz. İlaç tedavisine başladığımız günden itibaren oğlumun ve bizim mutluluğumuzu anlatmaya kelimelerin yetmeyeceğini belirtmek isterim. Çünkü bu olayı anlayabilmek için ancak yaşamak gerekir. Emre ilacı kullanmaya başladıktan sonra çok daha mutlu bir çocuk oldu. Öz güveni gözle görülür ölçüde arttı. Hayatla insanlarla daha barışık olduğunu çok net bir şekilde gözlemleyebiliyorum. Yaşamak zorunda olduğu tüm kısıtlamalardan kurtuldu. Fenilketonüri size belli sınırlar içerisinde normal bir hayat sunuyor. Fakat onun şartlarına, onun sınırlarına ve onun kısıtlamalarına boyun eğmek zorundasınız. Bana göre bu bir çeşit esaret. Fakat bu ilaç sayesinde biz bu esareten kurtulduk. Şu an en başta oğlum Emre ve dolayısıyla biz özgürüz. Şüphesiz bu özgürlüğümüzü, önce Allah'a, sonra da fenilketonüri üzerinde çalışan tanıdığımız ve tanımadığımız pek çok insana ve özellikle 15 yıldır oğlumuza emek veren Hacettepe Çocuk Hastanesi Metabolizma Bölümündeki çok değerli doktorlarımıza, diyetisyenlerimize ve en son aşamada kuvan tedavimiz ve diyetimiz ile ilgilenen çok değerli diyetisyenimiz Sayın Hülya Gökmen Özelle borçluyuz. Minnettarlığımız kelimelerle ifade edilemez. Şu an tek dileğim bu ilacın daha da geliştirilerek, daha geniş kapsamlı bir şekilde tüm fenilketonüri insanlara uygulanabilir hale gelmesidir.

Emeği geçen herkese sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunuyorum.

09.03.2011

Demet Külekçi

