

Verbesserung der Ernährungssituation bei Patienten mit Phenylketonurie

Dissertation

zur Erlangung des
Doktorgrades
der Ernährungswissenschaften (Dr. troph.)

der Naturwissenschaftlichen Fakultät III

der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg,

vorgelegt von

Frau Dipl. oec. troph. Carmen Rohde
geb. am 26. 11. 1958 in Witten

Gutachter:

Prof. Dr. rer. nat. Wim Wätjchen

Dr. med. Skadi Beblo

Verteidigungstermin am 12. 5. 2014

**Der Mensch lebt nicht nur von Brot,
sondern von jedem Wort,
das aus Gottes Mund kommt.**

Die Bibel, Matthäus 4,4

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung: Die Phenylketonurie (PKU)	1
1.1	Pathophysiologie der Phenylketonurie	1
1.2	Pathogenese der Phenylketonurie	2
1.3	Diagnose und Differenzialdiagnose der Phenylketonurie	3
1.4	Diätetische Therapie der Phenylketonurie	4
1.4.1	Prinzipien der diätetischen Therapie und Therapieziele	4
1.4.2	Phenylalaninarme Ernährung	5
1.4.3	Phenylalaninintoleranz	6
1.4.4	Nährstoffzufuhr	6
1.4.5	Adhärenz	7
1.5	Alternative Therapieformen der Phenylketonurie	8
1.5.1	Cofaktortherapie mit Sapropterindihydrochlorid	8
1.5.2	Therapie mit langkettigen neutralen Aminosäuren	9
1.5.3	Gentherapie	9
1.5.4	Enzymersatztherapie	10
1.6	Forschungsausblick und -bedarf	10
2	Zielstellung	13
3	Originalarbeiten	16
3.1	Unrestricted consumption of fruits/vegetables in PKU: no major impact on metabolic control	16
3.1.1	Nahrungsangebote und Auswahlverhalten bei Kindern und Jugendlichen	22
3.2	Unrestricted fruits and vegetables in the PKU diet: A one-year follow-up	29
3.3	PKU patients on a relaxed diet may be at risk for micronutrient deficiencies	35
4	Diskussion	41
4.1	Interventionsstudie zur Freigabe von Obst und Gemüse in der Diät bei klassischer PKU	42
4.2	Langzeitbeobachtung zur Freigabe von Obst und Gemüse in der Diät bei klassischer PKU	44
4.3	Mikronährstoffversorgung von Patienten mit PKU mit hoher Phenylalanintoleranz	46

4.4	Schlussfolgerungen	51
5	Zusammenfassung	52
6	Summary	54
7	Literaturverzeichnis	58

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Abbauwege von Phenylalanin

3

Abkürzungsverzeichnis

BH ₄	Tetrahydrobiopterin
G	Gramm
kg	Kilogramm
l	Liter
mg	Milligramm
Phe	Phenylalanin
PKU	Phenylketonurie
μmol	Mikromol

1 Einleitung: Die Phenylketonurie

Die Phenylketonurie (PKU) ist eine der häufigsten angeborenen Erkrankungen des Aminosäurestoffwechsels, die mit einer Prävalenz von 1:10.000 in Europa (Scriver et al., 2001) auftritt. Die Prävalenz unterscheidet sich in verschiedenen Ländern (1:3.000 – 1:30.000) erheblich und beträgt in Deutschland 1:8.553 (Loeber, 2007). Wie die meisten anderen angeborenen Stoffwechselerkrankungen, wird auch die PKU autosomal-rezessiv vererbt. In der humangenetischen Onlinedatenbank (Online Mendelian Inheritance in Man) ist die PKU unter der Nummer OMIM 261600 registriert.

Die unbehandelte klassische PKU führt zu schwerster psychomotorischer Retardierung. Die neurologische Beeinträchtigung kann sich in Epilepsie, Spastik, Bewegungsstörungen und Tremor. Die mentale Retardierung zeigt sich durch einen IQ von unter 50. Nichtbehandelte Patienten mit PKU entwickeln zudem Verhaltensauffälligkeiten wie Irritierbarkeit, Ängstlichkeit, Apathie, depressives Verhalten, Aggressivität und Affektlabilität leiden. Weiterhin findet man ein vermindertes Längenwachstum, Mikrozephalie und Ekzeme sowie eine reduzierte Pigmentierung von Haaren, Haut und Iris (Mönch and Link, 2006; Fernandes et al., 2006).

1.1 Pathophysiologie der Phenylketonurie

Ursache der Erkrankung sind Mutationen im Gen der Phenylalaninhydroxylase, das auf dem langen Arm des Chromosoms 12 lokalisiert ist (Fernandes et al., 2006). Bisher wurden fast 500 Mutationen (<http://www.pahdb.mcgill.ca>) beschrieben, die eine eingeschränkte oder fehlende Aktivität des hauptsächlich in der Leber exprimierten Enzyms Phenylalaninhydroxylase hervorrufen. Aufgrund dieser verminderten Enzymaktivität kann die Aminosäure Phenylalanin (Phe) nicht ausreichend zu Tyrosin metabolisiert werden. Dies bewirkt einen Anstieg der Phe-Konzentration im Blut und allen anderen Körperflüssigkeiten (Abbildung 1).

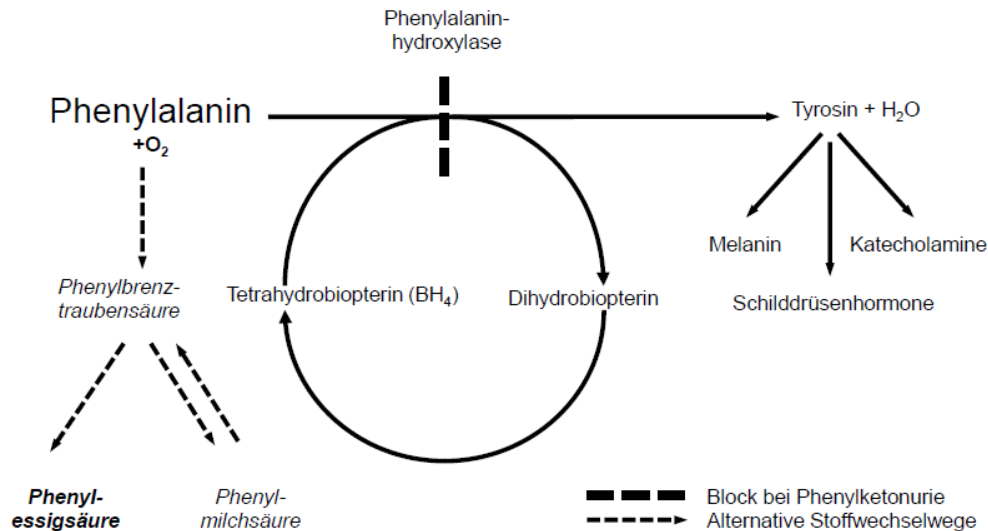


Abbildung 1: Abbauwege von Phenylalanin

Phe wird in alternativen Stoffwechselwegen zu Phenylbrenztraubensäure, Phenylmilchsäure und Phenylessigsäure abgebaut. Diese Metaboliten werden über den Urin und Schweiß ausgeschieden und rufen den für die unbehandelte PKU typischen, mäuseurinartigen Geruch hervor (Fernandes et al. 2006; Mönch and Link, 2006). Die über den Urin ausgeschiedenen Phenylketone sind namensgebend für die PKU (Abbildung 1). Dieser Zusammenhang wurde 1934 erstmals von Asbjørn Følling beschrieben (Følling, 1934; Christ, 2003).

1.2 Pathogenese der Phenylketonurie

Die Pathogenese der klinischen Auffälligkeiten, insbesondere der Schädigung des Gehirns ist noch nicht vollständig verstanden. Verschiedene Mechanismen werden diskutiert:

- Tyrosin wird aufgrund des fehlenden oder eingeschränkten Umbaus von Phe zur essentiellen Aminosäure. Infolge der erniedrigten Tyrosinplasmaspiegel kommt es zu einer verminderten Synthese von biogenen Aminen, insbesondere von Melanin, Schilddrüsenhormonen sowie von Dopamin und Noradrenalin (Abbildung 1) (Fernandes et al., 2006).
- Die langkettigen neutralen Aminosäuren, Tyrosin, Tryptophan, Leucin, Isoleucin und Valin konkurrieren mit Phe um das gleiche Transportsystem an der Blut-Hirn-

Schranke. Phe hat jedoch eine höhere Affinität zum Transporter und wird bevorzugt transportiert. Demzufolge können erhöhte Phe-Konzentrationen im Plasma die Aufnahme der anderen Aminosäuren ins zentrale Nervensystem behindern. Durch diese kompetitive Hemmung der Aufnahme von langkettigen, neutralen Aminosäuren folgt eine Beeinträchtigung der Proteinbiosynthese im zentralen Nervensystem. Dies kann bereits durch gering erhöhte Phe-Konzentrationen von 200-500 $\mu\text{mol/l}$ verursacht werden (Pardridge et al., 1998; Scriver et al., 2001). Hohe Phe-Konzentrationen und/oder eine geringere Verfügbarkeit von langkettigen neutralen Aminosäuren könnten die Ursache für eine verminderte Myelinbildung und damit einer gestörten zerebralen Myelinisierung darstellen (Surtees and Blau, 2000).

- Aufgrund des gleichen Mechanismus ist die Aufnahme von Hydroxy-Tryptophan durch die Blut-Hirn-Schranke eingeschränkt. So können daraus keine ausreichenden Mengen an Serotonin decarboxyliert werden (Fernandes et al., 2006).
- Ob die durch den Phenylalaninhydroxylasedefekt entstehenden alternativen Abbauprodukte von Phe (Phenylketone) neurotoxisch sind, ist weiterhin ungeklärt. Weder im PKU-Mausmodell noch bei PKU-Patienten wurden sie bislang in toxischen Bereichen gefunden. Somit ist wahrscheinlich das Phenylalanin selbst für die neurotoxischen Veränderungen verantwortlich ist (Scriver et al., 2001).

1.3 Diagnose und Differenzialdiagnose der Phenylketonurie

Aufgrund der intrauterinen Metabolisierung von Phe durch den mütterlichen Stoffwechsel zeigen Kinder mit PKU zum Zeitpunkt der Geburt noch normale Phe-Konzentrationen im Plasma. Unter normaler Ernährung (Muttermilch oder kommerzieller Säuglingsnahrung) steigen diese jedoch innerhalb der ersten Lebensstage an. Heutzutage ist die PKU in allen europäischen Ländern mit Ausnahme von Armenien, Finnland und Malta eine Zielerkrankung des Neugeborenen Screenings (Loeber, 2007). Seit 1969 wird ein Neugeborenen Screening in den alten und seit 1971 in den neuen Bundesländern Deutschlands flächendeckend durchgeführt. Das Screening in den einzelnen europäischen Ländern unterscheidet sich in Bezug auf die Testmethode (z.B. Guthrie Test, Tandem-Massen-Spektrometrie) und den Grenzwerten für die Kennmetaboliten der einzelnen Erkrankungen (Loeber, 2007; Ceglarek

et al., 2002). Bei der heutigen Screeningmethode in Deutschland wird die Tandemmassenspektroskopie angewendet. Es werden die Phe- und auch die Tyrosinkonzentration im Plasma bestimmt. Die Betrachtung der beiden Konzentrationen und ihres Quotienten erhöhen die Diagnosespezifität und -sensitivität. (Chace et al., 1998). Auch der Zeitpunkt der Blutentnahme unterscheidet sich europaweit und liegt zwischen dem ersten und dem 10. Lebenstag (Fernandes et al., 2006). Nach den deutschen Richtlinien für das erweiterte Neugeborenencreening des gemeinsamen Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen (von Schnackenburg and Zoubeck, 2002; Nennstiel-Ratzel et al., 2011) soll die Blutentnahme im Normalfall zwischen der 36. und 72. Lebensstunde erfolgen.

Von der Restaktivität der Phenylalaninhydroxylase ist die phänotypische Ausprägung der PKU abhängig. Bei der klassischen PKU steigen die Phe-Konzentrationen im Plasma über 1200 $\mu\text{mol/l}$ an und die Restaktivität des Enzyms liegt unter 1%. Von einer milden PKU spricht man bei Werten zwischen 600 und 1200 $\mu\text{mol/l}$. Hier liegt die Restaktivität des Enzyms bei 1-5%. Wenn die Werte 120-600 $\mu\text{mol/l}$ betragen liegt eine milde Hyperphenylalaninämie vor, mit einer Restaktivität des Enzyms von über 5% (Fernandes et al., 2006). Bei Gesunden betragen die Phe-Konzentrationen ca. 60 $\mu\text{mol/l}$ (Scriver et al., 2001).

1.4 Diätetische Therapie der Phenylketonurie

1.4.1 Prinzipien der diätetischen Therapie und Therapieziele

Die zwei grundlegenden Prinzipien der diätetischen Therapie der PKU sind die Reduktion der Phe- und damit der Proteinzufuhr (= Substratreduktion) sowie die Supplementierung von Aminosäuren (ausgenommen Phe) und Mikronährstoffen (= Produktsupplementierung).

Das primäre Ziel der diätetischen Therapie bei PKU besteht in der Gewährleistung einer normalen statomotorischen Entwicklung und einer adäquaten Nährstoffversorgung. Dazu muss die Phe-Zufuhr über die Nahrung reduziert werden, um die Phe-Konzentrationen in den therapeutischen Bereich zu senken. Die unter dieser Ernährung fehlenden Nährstoffe müssen supplementiert werden. Dies betrifft Mikronährstoffe und Aminosäuren, auch Tyrosin, das aufgrund der eingeschränkten Phenylalaninhydroxylaseaktivität bei PKU-

Patienten zur essentiellen Aminosäure geworden ist. Der therapeutische Zielbereich für Phe im Plasma ist altersabhängig und wurde von den nationalen Fachgesellschaften teilweise unterschiedlich festgelegt (Fernandes et al., 2006; Loeber, 2007).

Ein früher Therapiebeginn, idealerweise vor dem siebten Lebensstag, (National Institutes of Health, 2001), spätestens aber drei Wochen nach der Geburt ist von großer Bedeutung (Blau, 2010). Verzögerungen wirken sich negativ auf den Intelligenzquotienten des Patienten aus (Smith et al., 1990). Früh und streng eingestellte PKU-Patienten zeigen eine nahezu normale psychomotorische Entwicklung. Dazu müssen in den ersten zehn Lebensjahren, die Zeit der Myelinisierung des Gehirns Phe-Konzentrationen im Plasma zwischen 40 und 240 $\mu\text{mol/l}$ eingehalten werden (Burgard et al., 1999). Diese Zielwerte für Phe liegen etwas höher als die physiologischen Werte. Für PKU- Patienten ergibt eine weitere Senkung der Phe-Konzentrationen in den physiologischen Bereich keinen zusätzlichen therapeutischen Benefit (Smith and Waisman, 1971). Nach dem zehnten Lebensjahr kann die Diät etwas gelockert werden. Die Zielwerte des Phe im Plasma liegen dann zwischen 40 und 900 $\mu\text{mol/l}$ (Burgard et al., 1999).

1.4.2 Phenylalaninarme Ernährung

Zu Diätbeginn beim Neugeborenen kann die Phe-Konzentration im Plasma durch Füttern einer Phe-freien Spezialnahrung in den therapeutischen Bereich gesenkt werden. Teilstillen ist möglich und gewünscht (Motzfeldt et al., 1999; National Institutes of Health, 2001; Greve et al., 1994).

Phe ist Bestandteil vieler Proteine und damit in fast allen Lebensmitteln enthalten. Mit Einführung der Beikost ist es daher notwendig, die Lebensmittel vor dem Verzehr abzuwiegen und deren Phe-Gehalt zu berechnen. Um die Phe-Zufuhr zu erfassen eignen sich Ernährungsprotokolle, in denen alle verzehrten Getränke und Lebensmittel grammgenau notiert werden. Die Phe-Gehalte in $\text{mg}/100 \text{ g}$ Lebensmitteln und Getränken können speziellen Lebensmitteltabellen entnommen werden. Im deutschsprachigen Raum wird u.a. eine Tabelle genutzt, die auf dem Bundeslebensmittelschlüssel und auf Herstellerangaben beruht (Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Diätetik, 2009). In Großbritannien, Italien und

Dänemark werden hingegen Austausch Tabellen verwendet, die die Lebensmittel in grammgenauen Portionen von 10-50 mg Phenylalanin Gehalt auflühren (Ahring et al., 2009).

1.4.3 Phenylalaninintoleranz

Die Phe-Toleranz beschreibt die individuell verschiedene Menge an Phe, die ein Patient mit PKU täglich über die Nahrung aufnehmen kann ohne dass die Phe-Konzentrationen über den therapeutischen Zielbereich ansteigen. Sie ist abhängig von der individuellen Restaktivität der Phenylalaninhydroxylase und vom Phe-Bedarf, der sich nach Alter und Körpergewicht des Patienten richtet. Zum Zeitpunkt der Geburt weist die Phenylalaninhydroxylase ihre maximale Aktivität auf. Sie wird in mg Phe-Hydroxylierung pro kg Körpergewicht angegeben (Wendel et al., 1990) und fällt im Mittel von 34 mg/kg im Alter von sechs Monaten auf 15 mg/kg im Alter von sechs Jahren ab (Wendel et al., 1990). Absolut gesehen steigt die Phe-Toleranz in den ersten zwei Lebensjahren an und bleibt dann annähernd konstant (Mönch and Link, 2006). Die individuelle Phe-Toleranz wird nach Diagnosestellung bestimmt, in dem die größtmögliche Menge an normaler Phe-haltiger Nahrung verabreicht wird, unter der die Phe-Plasmawerte im Zielbereich liegen.

1.4.4 Nährstoffzufuhr

Die Auswahl natürlicher Lebensmittel ist für die Patienten unter diätetischer Therapie aufgrund der limitierten Phe-Zufuhr stark eingeschränkt, so dass eine adäquate Versorgung mit Protein und Mikronährstoffen nicht möglich ist. Der Proteingehalt der für die Patienten notwendigen proteinarmen Ersatzprodukte liegt deutlich unter der empfohlenen Zufuhr entsprechend der Empfehlungen der nationalen Fachgesellschaften (z.B. (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE), 2000; WHO, 2002)). Daher sind spezielle Phe-freie Supplemente, sogenannte Aminosäuremischungen entwickelt worden, die alle essentiellen und nicht essentiellen Aminosäuren außer Phe in freier Form enthalten. Des Weiteren beinhalten sie die Mikronährstoffe, deren Bedarf im Rahmen der diätetischen Therapie bei PKU nicht ausreichend aus natürlichen Lebensmitteln gedeckt werden kann. Zur

geschmacklichen Verbesserung und zur Erhöhung der Energiezufuhr sind einigen Aminosäuremischungen Kohlenhydrate, Fett und/oder Aromen zugesetzt. Die Aminosäuremischung muss mit den Mahlzeiten eingenommen werden. Für eine optimale Resorption der Nährstoffe sollte die tägliche Dosis der Aminosäuremischung auf mindestens drei Portionen verteilt werden (Herrmann et al., 1994; Monch et al., 1996).

Aufgrund der schnelleren Resorption und Metabolisierung von freien Aminosäuren im Gegensatz zu natürlichen Proteinen wird eine Gesamtproteinzufuhr von 120% der Empfehlung für Gesunde ohne diätetische Einschränkungen empfohlen (Gropper and Acosta, 1991). Damit soll auch die schlechtere Proteinwertigkeit und geringere Verdaulichkeit der überwiegend pflanzlichen Produkte (Elmatfa and Leitzmann, 1988) der PKU-Diät ausgeglichen werden. In Deutschland wird der höhere Proteinbedarf für Patienten mit PKU anhand der Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung von 1985 berechnet (Mönch and Link, 2006). Dieser liegt etwa 20% über den aktuellen Empfehlungen der deutschsprachigen Fachgesellschaften (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE), 2000).

Die Zufuhrempfehlungen für Patienten mit PKU hinsichtlich Energie, Fett, Kohlenhydraten und allen Mikronährstoffen entsprechen denen Stoffwechselgesunder (Müller, 2003).

1.4.5 Adhärenz

Das strikte Diätregime bei PKU unterscheidet sich sehr deutlich von dem Ernährungsverhalten Gesunder und erfordert ein hohes Maß an Therapietreue. Es ist von besonderer Bedeutung innerhalb der ersten zehn Lebensjahre, um irreversible mentale Schäden während der Gehirnentwicklung zu vermeiden (Burgard et al., 1999). Oftmals lockern insbesondere Jugendliche und Erwachsene die Diät mit der Folge steigender Phe-Plasmakonzentrationen, die dann häufiger über dem therapeutischen Bereich liegen. Es konnte gezeigt werden, dass bei PKU-Kindern weniger als 30% der Phe-Plasmakonzentrationen über dem therapeutischen Bereich liegen, bei Jugendlichen und Erwachsenen hingegen über 80% der Werte (Walter et al., 2002). Die erhöhten Phe-Konzentrationen bringen neurologische Defizite in der Informationsweiterleitung und der Aufmerksamkeit mit sich (Weglage et al., 2013). Als primäre Gründe für mangelnde

Adhärenz werden von den Patienten selbst der zusätzliche Zeitaufwand für die Lebensmittelzubereitung, Stress mit dem Protokollieren der Phe-Zufuhr und die Einschränkungen des normalen sozialen Lebens genannt (Bilginsoy et al., 2005). Für schwangere PKU-Patientinnen ist es für ihr Kind von besonderer Bedeutung eine strenge Stoffwechseleinstellung zu erzielen. Die Phe-Plasmaspiegel, sollten schon vor Eintreten der Schwangerschaft in dem Zielbereich für Kinder von unter zehn Jahren liegen, um die Gefahr einer maternalen PKU zu umgehen (Koch et al., 1993). Die maternale PKU ist eine Zweitgenerationserkrankung. Das ungeborene Kind ist selbst nicht von einer PKU betroffen. Das hohe mütterliche Phenylalanin passiert die Plazenta und schädigt so das ungeborene Kind im Sinne einer schweren Embryofetopathie. Die betroffenen Kinder leiden unter schweren Herzfehlern, einer ausgeprägten Mikrozephalie und zeigen eine irreversible schwere psychomotorische Retardierung. Das klinische Bild ähnelt stark dem einer Alkoholembryopathie (Fernandes et al., 2006).

1.5 Alternative Therapieformen der Phenylketonurie

Die Phe-arme Diät und Substitution einer Phe-freien Aminosäuremischung war die erste Form der Therapie (Bickel et al., 1953; Bickel et al., 1954) und ist weiterhin die Therapie der ersten Wahl. Da diese Therapie jedoch insbesondere hinsichtlich der starken Einschränkung und lebenslangen Compliance schwer zu führen ist, wurden weitere Behandlungsmethoden der PKU entwickelt oder befinden sich als mögliche zukünftige Therapien noch in Stadium der Grundlagenforschung oder Erprobung. Diese werden im Folgenden kurz dargestellt.

1.5.1 Cofaktortherapie mit Sapropterindihydrochlorid

Sapropterindihydrochlorid, das industriell hergestellte Äquivalent des natürlichen Cofaktors Tetrahydrobiopterin (BH₄) der Phenylalaninhydroxylase ist seit 2007 in den USA und seit 2009 in Deutschland ab einem Alter von vier Jahren zur medikamentösen Therapie der BH₄-sensiblen PKU zugelassen (Burnett, 2007; Lee et al., 2008). Es wirkt als Chaperon und steigert die Metabolisierungsleistung und damit die Restaktivität der

Phenylalaninhydroxylase (Gersting et al., 2010). Bei Patienten mit BH_4 -sensibler PKU können durch die Therapie mit BH_4 die Phe-Plasmakonzentrationen gesenkt werden (Muntau et al., 2002). Analog steigt dazu die Phe-Toleranz der Patienten (Hennermann et al., 2005; Lambruschini et al., 2005; Burlina and Blau, 2009; Trefz et al., 2009). Aufgrund der damit verbundenen Lockerungsmöglichkeit der Diät bezüglich der Aufnahme an natürlichem Eiweiß kann die Dosis der Phe-freien Aminosäuremischung reduziert werden. In manchen Fällen ist die Einnahme einer Aminosäuremischung nicht mehr nötig (Burlina and Blau, 2009; Ziesch et al., 2012). Die Dosierung von Sapropterindihydrochlorid erfolgt in Abhängigkeit vom Körpergewicht. Es sollen mindestens 2-5mg/kg und maximal 20mg/kg verabreicht werden. Die tägliche Dosis kann auf einmal oder auf 2-3 Portionen verteilt eingenommen werden (Lee et al., 2008; Merck Serono, 2013).

1.5.2 Therapie mit langkettigen neutralen Aminosäuren

Die langkettigen neutralen Aminosäuren Tyrosin, Tryptophan, Leucin, Isoleucin und Valin konkurrieren kompetitiv mit Phe um denselben Transportmechanismus (L Typ Aminosäuretransporter) an der Blut-Hirn-Schranke. Durch mit der Mahlzeit aufgenommene große Mengen an langkettigen neutralen Aminosäuren wird der Phe-Transport über die Blut-Hirnschranke reduziert (Andersen and Avins, 1976; Pietz et al., 1999; Koch et al., 2003; Matalon et al., 2003). Von dieser Therapieform könnten beispielsweise Erwachsene, die Schwierigkeiten haben die Diät einzuhalten profitieren (Schindeler et al., 2007; Moats et al., 2003). Diese Therapieform wird bisher jedoch nur erprobt und kontrovers diskutiert, da ihre Sicherheit und Langzeitwirkung bisher nicht ausreichend überprüft wurde (Matalon et al., 2007).

1.5.3 Gentherapie

Die Gentherapie könnte eine zukünftige Therapieoption bei PKU sein, steht aber noch im Stadium der Tierversuche. Voraussetzung für eine erfolgreiche Therapie ist der effektive und zuverlässige Transfer des Phenylalaninhydroxylasegens in die Leberzellen. Dazu wurden

Versuche durchgeführt, überwiegend an der sogenannten Pah^{enu2}-Maus. Hierbei erfolgte der Gentransfer in vitro an isolierte Zellen, die direkt nach dem Gentransfer in die Leber reimplantiert wurden (Harding, 2008). Alternativ erfolgten Transfusionsversuche in vivo mit Hilfe von Vektoren direkt in die Vena portae oder auch ein großkalibriges peripheres Gefäß der Pah^{enu2}-Maus (Ding et al., 2004; Ding et al., 2006; Thony, 2010; Belanger-Quintana et al., 2011). Bisher konnte allerdings keine Form der Gentherapie eine dauerhafte Veränderung der Phenylalaninhydroxylaseaktivität im Mausmodell erreichen (Belanger-Quintana et al., 2011).

1.5.4 Enzymersatztherapie

Die Phenylalaninlyase, ein stabiles, pflanzliches Enzymderivat der Phenylalaninhydroxylase, wurde in Tierversuchen erprobt (Blau, 2010; Belanger-Quintana et al., 2011; Sarkissian et al., 2011). Experimente zur oralen Applikation der Phenylalaninlyase zeigen am Mausmodell eine 40%ige Reduktion der Phe-Plasmakonzentrationen (Sarkissian et al., 2011). Eine Medikamentenstudie zur subkutanen Injektion ist in Vorbereitung (Belanger-Quintana et al., 2011). Noch sind die Ergebnisse der Untersuchungen nicht ausreichend, um die Enzymersatztherapie am Menschen einsetzen zu können.

1.6 Forschungsausblick und -bedarf

Trotz großer Erfolge der diätetischen Therapie der PKU findet man auch bei frühzeitig behandelten und gut eingestellten Patienten subtile neurokognitive Defizite im Erwachsenenalter (Enns et al., 2010; Weglage et al., 2013). Magnetresonanztomografische Untersuchungen an der weißen Substanz des Gehirns zeigen Beeinträchtigungen, die mit dem Alter und hohen Phe-Konzentrationen im Plasma zunehmen (Peng et al., 2013). Die beobachteten psychosozialen Defizite zeigen sich durch Schwierigkeiten im Aufbau zwischenmenschlicher Beziehungen, Erreichen von Selbstständigkeit im alltäglichen Leben, Aufmerksamkeitsstörungen und Erreichen von beruflichem Erfolg (Mutze et al., 2011). Die Lebensqualität von PKU-Patienten wird im Vergleich zu Gesunden unterschiedlich bewertet (Cotugno et al., 2011; Ziesch et al., 2012). Eine leichte Reduktion der mentalen

Verarbeitungsgeschwindigkeit, soziale Schwierigkeiten und emotionale Probleme können über Jahre hin unbemerkt bleiben (Gentile et al., 2010; Enns et al., 2010). Das Leben mit einer chronischen Krankheit, die diätetische Restriktionen erfordert, kann sich ungünstig auf die Einstellung zum Essen und auf das Essverhalten auswirken. Daraus ergibt sich eine Prädisposition für die Entwicklung von Essstörungen (Antisdel and Chrisler, 2000) oder anderen psychologischen Auffälligkeiten (Burgard et al., 1994; Pietz et al., 1997; Weglage et al., 2000). Gerade im Hinblick auf die physische und psychische Gesundheit älterer Erwachsener mit PKU kommt einem Ernährungsregime, das eine ausreichende Nährstoffversorgung gewährleistet und nur so streng wie nötig gestaltet wird, eine entscheidende Bedeutung zu. Es gibt nur wenig Erfahrung darüber, wie streng die Diät gestaltet werden muss bzw. wie viel Freiheit in der Diätführung möglich ist, ohne dass es zu Therapieeinbußen kommt.

Obst und Gemüse enthalten nur geringe Mengen an Protein. Zudem ist der Anteil an Phe im Protein von Obst (27 mg/g) und Gemüse (36 mg/g) im Vergleich zu Milch (51 mg/g), Eiklar (69 mg/g) oder Getreide (55 mg/g) niedrig (Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Diätetik, 2009). Bisher gibt es keine Untersuchungen, die zeigen ob die Lebensmittelgruppe „Obst und Gemüse“ ohne Berechnung des Phe-Gehalts verzehrt werden kann, ohne dass die Qualität der therapeutischen Einstellung darunter leidet und das Therapieziel einer normalen geistigen und körperlichen Entwicklung in Frage gestellt wird.

Ein weiterer erheblicher Unterschied in der Ernährung von Patienten mit PKU und Stoffwechselgesunden besteht in der stark eingeschränkten Auswahlmöglichkeit der Lebensmittel und die dadurch beeinträchtigte Zusammensetzung der Nahrung. Mit den für die gesunde Bevölkerung ausgesprochenen Ernährungsempfehlungen werden die Erhaltung von Gesundheit und Leistungsfähigkeit sichergestellt. Dafür wurden die Lebensmittel in Gruppen eingeteilt (Forschungsinstitut für Kinderernährung, 2007, DGE, 2011). Einige Lebensmittelgruppen mit hohem und mittleren Proteingehalt (Milch und Milchprodukte; Fleisch, Fisch, Eier; Getreideprodukte) können von PKU-Patienten nicht oder nur in sehr geringem Umfang verzehrt werden. So ist es für sie nicht möglich, diese Empfehlungen mit der natürlichen Nahrung umzusetzen (z.B. (WHO, 2002, Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE), 2000; National Institutes of Health, 2001). Das Schließen von Versorgungslücken ist nur mit Hilfe von Aminosäuremischungen möglich. Im Hinblick auf die relativ neue und

erfolgreiche Therapie mit Sapropterindihydrochlorid und die milden Formen der PKU ist unklar, ob das Ernährungsverhalten von Patienten mit relativ hoher Phenylalanintoleranz, eine ausreichende Versorgung mit allen Nährstoffen gewährleistet (Thiele et al., 2013). Ursachen für eine unzureichende Nährstoffzufuhr sind unterschiedlich: Das Ernährungsverhalten ändert sich aufgrund der höheren Phe-Toleranz, entspricht aber nicht den Ernährungsempfehlungen für Gesunde. Oftmals ernähren sich diese Patienten jedoch eher vegetarisch und meiden Lebensmittel mit höherem Proteingehalt wie z.B. Fisch oder Fleisch, so wie sie es aus ihrem alten Diätregime gewohnt sind. Damit ist eine Mikronährstoffversorgung über die natürlichen Lebensmittel nicht gewährleistet. Dies ist umso problematischer, wenn keine Aminosäuremischung mehr genommen bzw. deren Dosis reduziert wird.

2 Zielstellung

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung von Verbesserungsmöglichkeiten der Ernährung bei Patienten mit PKU. Die hier zusammengefassten Arbeiten setzen sich detailliert mit verschiedenen ernährungswissenschaftlich wichtigen Aspekten der diätetischen Dauertherapie auseinander. Zwei Forschungsschwerpunkte standen dabei im Vordergrund. Erstens: Gibt es Möglichkeiten, die diätetische Therapie bei PKU zu modifizieren, so dass die tägliche Belastung durch die Bilanzierung des Phe-Gehaltes aller Nahrungsmittel verringert werden kann? Welche Folgen hat dies für die kurz- und langfristige metabolische Einstellung? Zweitens: Sind Patienten mit hoher Phe-Toleranz ausreichend mit Mikronährstoffen versorgt? Unterscheidet sich die Mikronährstoffversorgung der Patienten mit Einnahme einer Aminosäuremischung von den Patienten ohne Einnahme einer Aminosäuremischung?

- (1) Das Ziel der ersten Studie bestand darin, zu prüfen, in wieweit Patienten mit PKU Obst und Gemüse verzehren können, ohne deren Proteingehalt bilanzieren zu müssen. Diese Freigabe sollte an Hand der metabolischen Einstellung überprüft werden. Weiterhin sollten dadurch mögliche Veränderungen der Ernährungsgewohnheiten der Patienten unter den gelockerten Bedingungen analysiert werden. Für diese Untersuchung wurden bewusst nur Patienten im Alter von 2-10 Jahren ausgewählt. Für diese Altersgruppe wäre es von besonderem Vorteil, eine Möglichkeit zur Vereinfachung der Diät zu finden, denn sie bedürfen einer besonders strengen metabolischen Einstellung, damit die Ausreifung des zentralen Nervensystems nicht negativ beeinflusst wird. Ab dem Alter von zehn Jahren ist in der Regel eine geringe Lockerung der Diätführung möglich (Burgard et al., 1999). Dennoch können die Erkenntnisse der Studie auch auf ältere Patienten übertragen werden. Nach dem Erhalt des positiven Votums der Ethikkommission wurden Patienten beiderlei Geschlechts im Alter von 2-10 Jahren in der Stoffwechselambulanz der Universitätskinderklinik in Leipzig rekrutiert und in zwei Gruppen randomisiert. Die eine Gruppe sollte über zwei Wochen das herkömmliche Diätregime anwenden, indem alle Lebensmittel gewogen und berechnet werden,

einschließlich Obst und Gemüse. Die andere Gruppe konnte über zwei Wochen zusätzlich zur bisherigen Phe-Zufuhr Obst und Gemüse frei verzehren. Nach zwei Wochen wurde das Regime beider Gruppen getauscht (Cross-over Design). Wöchentlich wurden fünf Ernährungsprotokolle geschrieben, in denen die verzehrten Lebensmittel abgewogen und grammgenau dokumentiert wurden. Jeweils am Folgetag erfolgte eine kapillare Blutentnahme zur Phe-Bestimmung. Sie erfolgten wie gewohnt durch die Eltern zuhause. Kapilläres Blut wurde auf Trockenblutkarten (WS 903 GE healthcare) getropft und mit Hilfe der Flüssigkeitschromatographie/Tandem-massenspektrometrie (LC-MS/MS) die Phe-Plasmakonzentration analysiert (Ceglarek et al., 2002). Die Auswertung der Ernährungsprotokolle wurde an Hand des Bundeslebensmittelschlüssels in der Version BLS II.3 durchgeführt. Weitere Details zu Material und Methodik sowie die ausführliche Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse dieser Studie sind ersichtlich in:

Rohde C, Mütze U, Weigel JF, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W, Beblo S. Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control, Eur J Clin Nutr. 2012

- (2) Nach Auswertung der Daten aus der ersten Studie (1) sollte in der zweiten Studie geprüft werden welchen Einfluss die Freigabe von Obst und Gemüse über einen längeren Zeitraum auf die metabolische Einstellung der Patienten hat. Auch hier wurden die Änderungen der Verzehrsmengen von Obst und Gemüse erfasst. Zusätzlich zu den Patienten aus der ersten Studie wurden Patienten im Alter von 2-10 Jahren aus anderen Stoffwechsellaboren rekrutiert. Sie durchliefen zunächst eine vierwöchige Phase in der die Ernährung zwei Wochen lang wie gewohnt durchgeführt wurde und zwei Wochen lang Obst und Gemüse nicht berechnet wurden. Jeweils nach sechs und zwölf Monaten ohne Berechnung von Obst und Gemüse haben alle Patienten Esstagebücher geschrieben und an den Folgetagen eine Blutentnahme zur Bestimmung der Phe-Plasmakonzentration durchgeführt. Die Auswertung der Esstagebücher und die Bestimmung der Phe-Plasmawerte erfolgten analog zur ersten Studie. Weitere Details zu Material und Methodik sowie die ausführliche Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse dieser Studie sind ersichtlich in:

Rohde C, Mütze U, Schulz S, Thiele AG, Ceglarek U, Thiery J, Müller AJ, Kiess W, Beblo S. Unrestricted fruits and vegetables in the PKU diet: a one-year follow-up, Eur J Clin Nutr. 2013 (in press)

- (3) Das Ziel der dritten Arbeit bestand in der Erfassung der Mikronährstoffzufuhr bei Patienten mit milder PKU und damit hoher Phe-Toleranz. Bei der klassischen PKU wird ein Großteil der notwendigen Mikronährstoffe mit Hilfe der Phe-freien Aminosäuremischungen substituiert. Ihre Zusammensetzung ist auf Patienten mit klassischer PKU ausgerichtet, die eine hohe Dosis Aminosäuremischung benötigen. Durch Einführung der Cofaktorthherapie mit Sapropterindihydrochlorid als zusätzliche Therapieform hat sich die Anzahl der Patienten mit hoher Phe-Toleranz deutlich vergrößert. Diese Patienten benötigen nur eine geringe Dosis Aminosäuremischung, zum Teil erfolgt überhaupt keine Aminosäuresubstitution. Bislang gibt es nur wenige Daten zur Nährstoffversorgung dieser Patienten. Insbesondere die Versorgung mit Mikronährstoffen ist unklar. Da sich die Ernährung dieser Patienten deutlich von der der Stoffwechselgesunden unterscheidet, besteht ein höheres Risiko für eine Mangelversorgung. Für die Untersuchung der Mikronährstoffzufuhr wurden Kinder, Jugendliche und Erwachsene beiderlei Geschlechts mit einer Phe-Toleranz von > 600 mg, z.B. mit milder PKU und Hyperphenylalaninämie, aus verschiedenen Stoffwechselzentren in Deutschland rekrutiert. Sie sollten an drei aufeinanderfolgenden Tagen ein Esstagebuch schreiben. Hier sollten alle Lebensmittel, Getränke und die Aminosäuremischung grammgenau erfasst werden. Die Auswertung der Esstagebücher erfolgte wiederum auf der Grundlage des Bundeslebensmittelschlüssels in der Version BLS II.3. Die erhobenen Daten wurden mit den Empfehlungen der DACH-Referenzwerte (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE), 2000), sowie mit Vergleichsdaten Stoffwechselgesunder aus der EsKiMo-Studie (Mensink et al., 2007) und der Nationalen Verzehrstudie (Heseker, 2008) verglichen. Weitere Details zu Material und Methodik sowie die ausführliche Beschreibung und Diskussion der Ergebnisse dieser Studie sind ersichtlich in:

Rohde C, von Teeffelen-Heithoff A, Thiele AG, Arelin M, Muetze U, Kiener C, Gerloff J, Baerwald C, Schulz S, Heller C, Müller AJ, Kiess W, Beblo S. PKU patients on a relaxed diet may be at risk for essential nutrient deficiencies, Eur J Clin Nutr. 2013

3 Originalarbeiten

3.1 Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control

European Journal of Clinical Nutrition (2012), 1–6
© 2012 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0954-3007/12
www.nature.com/ejcn



ORIGINAL ARTICLE

Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control

C Rohde¹, U Mütze¹, JFW Weigel¹, U Ceglarek², J Thiery², W Kiess¹ and S Beblo¹

¹University Hospital for Children and Adolescents, Department for Inborn Metabolic Diseases, University of Leipzig, Leipzig, Germany and ²Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, University of Leipzig, Leipzig, Germany

Background/Objectives: The treatment of phenylketonuria (PKU) requires consistent restriction of protein intake from natural sources. Therefore, protein from all foods has to be accounted for, even the small amounts in fruits and vegetables. We studied whether free consumption of fruits and vegetables containing less than 75 mg phenylalanine (phe) per 100 g affects metabolic control in children with PKU.

Subjects/Methods: Fourteen children (2–10 years) were included in a cross-over study, with a two-week period of conventional treatment (accounting for protein from fruits and vegetables) and a two-week period with free fruit and vegetable consumption. The instruction to follow liberal fruit and vegetable consumption in the first or second study period was randomized. Detailed daily dietary records were obtained throughout the study. Phe and nutrient content was calculated. Dried-blood phe concentration was monitored daily.

Results: Although total phe intake increased by an average of 58 mg per day ($P=0.037$) during the 2 weeks of free fruit and vegetable consumption, dried-blood phe concentrations were unchanged. Total intake of fruits and vegetables did not increase, but patients instead used the higher phe tolerance to consume more of other foods, which were calculated and accounted for.

Conclusion: Free consumption of fruits and vegetables does not impair metabolic control in PKU patients over a 2-week period.

European Journal of Clinical Nutrition advance online publication, 8 February 2012; doi:10.1038/ejcn.2011.205

Keywords: phenylketonuria; phenylalanine; fruits; vegetables; diet

Introduction

Phenylketonuria (PKU) is one of the most common inborn metabolic diseases, with an incidence varying between 1:3000 and 1:30000 across Europe (Loeber, 2007). It is caused by deficient activity of phenylalanine (phe) hydroxylase in the liver. Children with untreated PKU suffer from severe physical and mental disability. Postnatal diagnosis by newborn screening and immediate initiation of a lifelong

protein-restricted diet with substitution of a phe-free amino acid mixture result in normal cognitive development. The tolerated amount of phe is determined by the plasma phe concentration, which has to be monitored on a regular basis. It depends on the residual activity of phe hydroxylase, and the patient's age and weight (Scriver *et al.*, 1998). As natural protein contains fairly high amounts of phe, almost all foods have to be severely restricted. This includes even those that are not typically regarded as protein providers, such as fruits and vegetables. It is therefore common practice in Germany and many other, but not all, countries to calculate phe intake from all foods to achieve tolerable phe plasma concentrations (Burgard *et al.*, 1999; Stemerink *et al.*, 2000; Anon, 2001).

Living on a strict diet adversely influences the quality of life. As a consequence, eating disorders are not uncommon in PKU patients (Burgard *et al.*, 1994; Pietz *et al.*, 1997; Weglage *et al.*, 2000; Anon, 2001). If dietary restrictions can be eased without compromising metabolic control, this can be expected to improve the quality of life and may even

Correspondence: Dr med S Beblo, University Hospital for Children and Adolescents, University of Leipzig, Liebigstraße 20a, 04103 Leipzig, Germany. E-mail: Skadi.Beblo@medizin.uni-leipzig.de

Contributors: The trial was designed and submitted to the authorities by SB and CR, with substantial consultation by WK and UC; patients were recruited and examined, and samples taken by SB, UM and JFWW; blood samples were analysed by UC and JT; dietary reports were analysed by CR; data management was maintained by CR and SB; statistical analyses were performed by SB; results were discussed and conclusions drawn by all contributing authors; CR and SB drafted the manuscript and incorporated comments by all co-authors. Received 22 March 2011; revised 10 October 2011; accepted 11 November 2011



enhance compliance. Such modifications will primarily affect those foods containing only small amounts of phe. Although it is common practice in many European countries to restrict fruits and vegetables in the PKU diet (Ahring *et al.*, 2009), this may not be necessary. Fruits and vegetables contain little protein and carry the additional advantage of providing vitamins and being rich in dietary fibre. The latter may even inhibit complete resorption of protein (Gilani *et al.*, 2005). Therefore, it is important to systematically study the effect of unrestricted consumption of fruits and vegetables containing less than 75 mg phe per 100 g in PKU children, while keeping energy intake, the dosage of the phe-free amino-acid mixture and all other factors of the diet as stable as possible. A study performed earlier with standardized meals demonstrated that it is safe to omit fruits and vegetables when calculating the daily phe tolerance (Macdonald *et al.*, 2003). We wondered if this result also applies in a less-controlled everyday situation. We therefore conducted an open clinical trial on outpatients in order to analyse if the PKU diet can be eased with respect to fruit and vegetable intake for a limited time without compromising metabolic control.

Subjects and methods

Study design

The presented clinical trial was planned and carried out as an open trial in patients with classical PKU. The trial was performed in accordance with the declaration of Helsinki/Somerset West and followed ICH-GCP guidelines. The protocol was reviewed by the ethics committee of the University of Leipzig, Germany. Information regarding patients and/or guardians, and their consent were obtained in writing. Inclusion was restricted to patients aged between 2 and 10 years, with a documented average dried-whole-blood phe concentration of $<360 \mu\text{mol/l}$, determined at least monthly over the previous 6 months. Patients with additional diseases or abnormal signs at the general or neurological examination were excluded.

At study entry, a 3-day diet diary was maintained by the parents and phe concentration in a dried-blood sample was determined daily. During this time, dietary control was followed according to the individual phe tolerance. All food

intake was included in the phe calculation. The target total protein intake, including protein from natural foods and protein substitutes, was calculated according to the recommendations of the German Society of Nutrition (Deutsche Gesellschaft fuer Ernährung, 1985). Patients were instructed to continue on the specific protein substitute that they were using before the study.

On day 4 (visit 1), the patients were randomized and either continued on restricted consumption of fruits and vegetables, or started on a period of free fruits and vegetables (study phase 1). On day 18 (visit 2), patients switched over to the other type of diet, for another 2 weeks (study phase 2). No standardized meals were given throughout the study.

During restricted fruit and vegetable consumption, the patients followed the classic treatment of PKU. All foods were weighed and the phe content was calculated. The amount of daily phe allowed was according to the individual tolerance. The phe-free amino-acid mixture was given in three portions throughout the day as advised by the treating physician.

During free fruit and vegetable consumption, the patients were allowed to eat as much fruits and vegetables as they liked. The phe content of fruits and vegetables was not included in calculation of their daily tolerance. However, the patients were advised to fully adhere to the same individual phe tolerance. They were not specifically asked to increase their consumption of fruits and vegetables, but were encouraged to do so if they liked. Only vegetables with a phe content over 75 mg per 100 g, for example, peas, potatoes and dried fruits, had to be accounted for in the phe tolerance. All other foods were again weighed and the phe content was calculated. The patients were instructed to remain on the same dosage of phe-free amino acid mixture as during the study phase with restricted intake of fruit and vegetables. To investigate metabolic control, dried-blood phe content was analysed daily in a sample taken between 0700 and 0900 hours after an overnight fast. In addition, diet diaries were recorded on days 5, 6, 15, 16 and 17 (study phase 1), as well as on days 19, 20, 29, 30 and 31 (study phase 2) (Figure 1).

Subjects

A total of 28 PKU patients aged 2–10 years and treated at this center were screened for participation in the study. Of

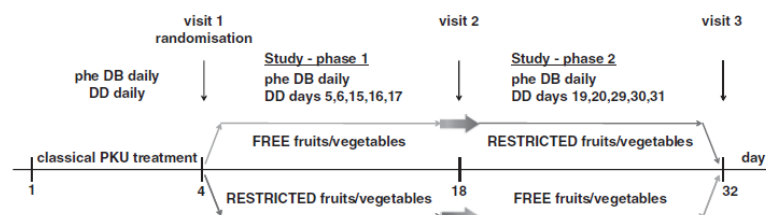


Figure 1 Study design. Randomization of the patients at visit 1. Depending on the study arm beginning, the study was conducted in the group of free or restricted fruit and vegetable consumption. After 14 days (visit 2) change of regimen as indicated (cross-over design). Evaluation of all data at visit 3. DD, diet diary; Phe DB, phenylalanine concentration in dried blood.

Table 1 Characterization of the study population ($n=14$, f/m 8/6)

	Mean	s.d.	Range
Age	5.7	2.4	2 to 10
BMI (kg/m^2)	15.5	1.4	12.7 to 17.6
BMI-SDS	-0.26	0.95	-2.22 to 1.32
Phenylalanine tolerance (mg/day)	335	48	270 to 480
Dried blood phe concentrations before study entry ($\mu\text{mol}/\text{l}$)	230	63	121 to 306

Abbreviations: BMI, body mass index; BMI-SDS, body mass index-standard deviation score; f, female; m, male.

these, 16 PKU patients met the inclusion criteria and were enrolled; two had to be excluded during the study (Table 1). Fourteen patients completed the protocol (mean age 5.7 ± 2.4 years, 8 females, 6 males). The diagnosis of PKU had been established by newborn screening and was confirmed by further clinical testing and molecular genetics. Dietary treatment had been initiated within the first 3 weeks of life in all patients. Patients were regularly followed up in our clinic for inborn metabolic diseases and adhered to a strict protein-restricted diet. The dosage of substitution with synthetic amino acids followed the recommendations of the German Society of Nutrition for protein intake in children (2- and 3-year-olds: 1 g/kg/day and 4-10-year-olds: 0.9 g/kg/day), with an added surplus of 20% to account for possible differences in the biological value of synthetic amino-acid mixtures relative to natural protein (Deutsche Gesellschaft fuer Ernaehrung, 1985). All patients continued to use the same powdered phe-free amino-acid mixtures as before the study entry, of which some did and some did not contain vitamin C.

Methods

Determination of dietary intake. On the days of dietary record taking, all foods and drinks were weighed with a dietary scale accurate to 1 g. Only foods actually eaten were recorded in the diary. Nutritional analysis was performed using the updated version of the Bundeslebensmittelschlüssel (Hartmann, 2009) and additional analysis data provided by the manufacturers. Intake of energy, protein, phe, carbohydrates, fat, vitamin C, fruits and vegetables was calculated as percentage of the recommendations issued by the German Research Institute of Child Nutrition (Kersting and Alexy, 2005).

Measurement of the phe concentration. Patients' parents took samples of capillary whole blood on filter paper WS 903 (GE Healthcare) daily between 0700 and 0900 hours after an overnight fast. All parents were familiar with the proper technique, having been trained during the newborn period of the patients. Twice a week, they mailed the filter paper cards to the hospital. Analysis of phe and tyrosine was performed by liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) as previously described (Ceglarek *et al.*, 2002).

If a subject became ill during the study, blood sampling and dietary records were interrupted until the patient had recovered. Two subjects went on collecting the data despite a slight upper respiratory infection without elevated body temperature.

Statistical analyses

In order to reduce the number of variables, data from each period were averaged and used for analyses. The longitudinal changes over the three periods were analysed by Wilk's multivariate analysis of variance (MANOVA) with 'time' as the within-subject factor with three levels (study entry, study phase 1, study phase 2), and 'group' as the between-subjects factor with two levels (study phase sequence 1-2 or 2-1). If Wilk's analysis revealed a significant effect of 'time', this was followed by repeated (sequential) contrasts to locate pairs with significant changes over time. A nominal level of $P < 0.05$ was regarded as statistically significant. Data are given as mean \pm s.d. unless otherwise stated. All procedures were performed using SPSS for Windows 11 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Results

During the study, the patients went on with their daily routine as usual. The low-protein diet was carried out as previously taught to parents and patients. The main results are presented in Table 2. The overall energy intake was just below the recommended amount (Deutsche Gesellschaft fuer Ernaehrung e.V.(DGE) *et al.*, 2000). None of the children was over- or underweight (Table 1). The intake of protein was within the recommended range, the consumption of carbohydrates exceeded it throughout all study phases by around 10%. However, the patients reached only about 75% of the recommended fat intake in all study phases.

The fibre consumption remained stable throughout the different study periods. This is especially true with fibre from fruits and vegetables. Neither the total amount nor the types of fruits and vegetables changed significantly. However, the true total fibre consumption is difficult to evaluate, as the fibre content, especially that of low-protein foods, is not reported by the manufacturers.

Compared with the intake recommendations of fruits and vegetables for German children (Kersting and Alexy, 2005), intake of our patients reached about 76-83% in all study phases. During both study phases, fruit accounted for three quarters and vegetables for the remaining quarter of the total (combined) amount. Apple sauce or other fruit purees, apples and bananas were favourite fruits, and carrots and cucumbers were the vegetables consumed most. These variables were not significantly different between the two study phases.

Likewise, there was no significant difference concerning the supply of vitamin C. Only 2 of the 14 patients used a phe-free amino-acid mixture containing vitamin C. The



Table 2 Nutrient intake before and during the study: mean (s.d.)

Nutrient intake	Before study entry	Restricted fruits and vegetables	Free fruits and vegetables	P
Phenylalanine mg/day	335 (72) [#]	322 (52) ^{**}	380 (52) ^{#,**}	0.037 [#] P=0.038 (classic vs free) ^{**} P=0.01 (restricted vs free)
Phenylalanine from fruits/vegetables (mg/day)	67 (36)	61 (26)	56 (21)	0.76
Total fruits/vegetables (g/day)	331 (169)	307 (147)	332 (129)	0.82
% FKE RDA	82 (45)	76 (35)	83 (31)	0.842
Energy (kcal/kg body weight)	1384 (331)	1348 (300)	1370 (353)	0.940
% DACH RDA	92 (17)	90 (19)	92 (23)	0.594
Protein (g/day)	41 (15)	39 (13)	41 (13)	0.366
% DACH RDA	124 (33)	120 (26)	126 (25)	0.094
Protein from fruits/vegetables (g/day)	2.2 (1.1)	2.1 (0.9)	2.0 (0.7)	0.544
Carbohydrates (g/day)	214 (45)	203 (42)	204 (48)	0.560
% DACH RDA	115 (25)	109 (21)	109 (22)	0.388
Fat (g/day)	38 (15)	39 (15)	40 (18)	0.573
% DACH RDA	70 (25)	73 (28)	75 (34)	0.401
Fibre (g/day) ^a	10.2 (4.7)	9.2 (3.7)	10.2 (3.2)	NS
Vitamin C (mg/day)	70 (35)	65 (22)	83 (34)	0.451
% DACH RDA	99 (55)	91 (33)	116 (51)	0.468

Abbreviations: %DACH RDA, percentage of regular daily allowance, recommended for the German speaking countries (Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE) et al., 2000); %FKE RDA, percentage of regular daily allowance, recommended by the Research Institute of Child Nutrition, Dortmund, Germany (Kersting and Alexy, 2005); NS, nonsignificant.

^aEstimate excluding low-protein products, for which fiber content is not reported (see text).

[#]Comparison between classic treatment and free fruit and vegetables; ^{**}comparison between restricted fruit and vegetables and free fruit and vegetables.

Multivariate Wilk's test with period as within-subject factor (with three levels), group as between-subjects factor, and age and phenylalanine tolerance as covariates. Where multivariate test yielded significant difference, tests with contrasts were applied to identify the levels that were significantly different.

relative contribution of vitamin C from the amino-acid mixture was only 3 mg or 4.5% of the average daily intake (data not shown).

The unrestricted intake of fruits and vegetables did not lead to an increased consumption of fruits and vegetables. The amount of phe normally derived from fruits and vegetables was used to increase consumption of other phe-containing foods (Table 2). As a consequence, total phe consumption increased significantly (by an average of 58 mg/day, or 18% of the daily phe tolerance, $P=0.037$) during the study phase when consumption of fruits and vegetables was unrestricted. This 58 mg was derived from carbohydrate-containing natural foods such as potatoes or cereals (about 50%). The other 50% was covered by dairy products, meat or sweets (chocolate).

Even though the total phe intake increased significantly, the free use of fruits and vegetables did not influence the quality of therapy (Figure 2). Average dried-blood phe concentrations remained stable and were within the recommended range throughout the study (restricted: $246 \mu\text{mol/l} \pm 140$, unrestricted: $243 \mu\text{mol/l} \pm 137$, $P=0.76$, Wilk's test). Still, the frequency of phe concentrations in dried blood above the ideal range (36–240 $\mu\text{mol/l}$) increased slightly but not significantly (restricted: 30%, unrestricted: 37%, $P=0.123$, non-parametric Friedman test) during the study phase with free fruits and vegetable intake. There was no influence on average dried-blood tyrosine concentrations (data not shown).

The sequence of study phases had no effect on any dietary or laboratory variables (Wilk's test).

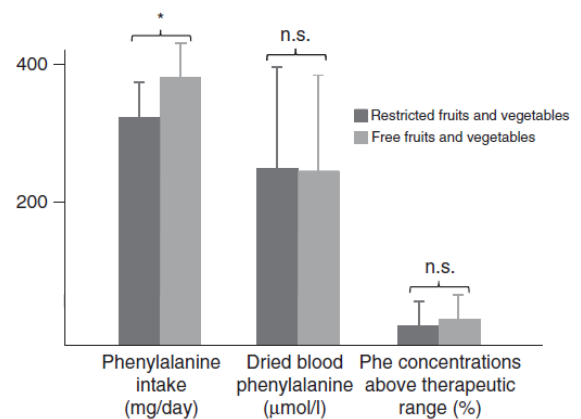


Figure 2 Effects of unrestricted consumption of fruits and vegetables (mean \pm s.d.). Phe intake per day is given as mg/day (restricted 332 ± 52 vs unrestricted consumption of fruits and vegetables 380 ± 52), dried-blood phe as $\mu\text{mol/l}$ (246 ± 140 vs 243 ± 137), and the frequency of phe plasma concentration above the recommended therapeutic range in percent (30 vs 37). Wilk's test with age and phe tolerance as covariates. P for phe intake: 0.01.

Discussion

The main finding of this clinical trial is that unrestricted intake of fruits and vegetables in the PKU diet did not compromise short-term metabolic control, measured by mean dried-blood phe concentrations. During the study, the patients increased their daily intake of phe by an average

of 58 mg, about 18% of their daily permitted amount of natural protein. Although such an increase would be irrelevant in a healthy subject, it offers a considerable gain in quality of life to a child with classic PKU: for example, 58 mg phe corresponds to 40 ml cow's milk, in turn corresponding to a scoop of vanilla ice cream (50 g) that the patient can enjoy additionally. The amounts of these foods were big enough to grant more freedom to the patients in choosing natural foods, but not big enough to influence the mean fat and carbohydrate intake over the study period, because a slice of bread containing 30 mg phe only contains about 4 g of carbohydrates and almost no fat; a small serving of cheese or meat containing 30 mg phe does not contain any carbohydrates and less than 1 g of fat. Even more important, we identified fruits and vegetables as one of the few foods that the PKU child may just eat from the kitchen counter without asking for permission or weighing it. This is expected to help develop a relaxed handling of at least one group of foods and thus help to prevent eating disorders. Our results are encouraging and can serve as a basis for a larger study extending over a longer period to rule out long-term negative impact on metabolic control.

It is surprising that the additional phe intake did not lead to increased phe concentrations in the blood. The phe tolerance varies interindividually in PKU patients and directly depends on the residual enzyme activity. It normally ranges between 250 and 500 mg daily (Scriver *et al.*, 1998) and our patients constitute a typical sample. The individual phe tolerance is determined after diagnosis, by providing the maximum possible amount of breast milk or formula associated with a phe blood concentration in the target range of 36–240 $\mu\text{mol/l}$. The phe tolerance increases only slightly during the initial years of life and remains stable thereafter. Usually, the origin (dairy, animal or plant protein) of the phe in the daily food is not taken into account. However, utilization of protein depends on the fibre content of the respective food: the higher the quantity of fibre in a food, the lower the digestibility of its protein and the higher the nitrogen excretion in the faeces (Hopkins, 1981; Eggum, 1995; Gilani *et al.*, 2005). Therefore, individuals consuming a lot of fruits and vegetables may have a seemingly higher phe tolerance, while this phenomenon is in fact due to poor utilization of phe from these foods. Unfortunately, we can neither prove nor reject this hypothesis, as the exact fibre content of most types of food is unknown.

The fact that the proportion of phe concentrations outside the target range increased (nonsignificantly) from 30 to 37% is difficult to evaluate. Most importantly, we assume that patients and their parents paid additional attention to meet dietary requirements during the study phase with restricted fruit and vegetable intake; these phe concentrations may therefore be artificially low, as suggested by a slightly higher percentage of elevated phe concentrations over the 6 months before the study. Other potentially confounding factors may include respiratory tract infections or stress of various origins; these factors are almost impossible to record

reliably and few events may bias data in a moderate sample size. As the study was performed as a home-based intervention, and no standardized meals were provided, individual preferences may have introduced some unexpected, hidden influence. We still felt that it was important to assess the unrestricted consumption of fruits and vegetables in an everyday situation rather than in an artificial setting. We were encouraged by a similar study with standardized meals, which had shown no adverse effects of the increase in fruits and vegetable intake on the PKU diet (Macdonald *et al.*, 2003).

Unfortunately, most patients did not increase their consumption of fruits and vegetable, but used the spare phe tolerance to consume other protein-containing foods.

Although an increase of fruit and vegetable intake would be desirable, it is not surprising that it remained unchanged during the clinical trial. Healthy German children in the age range between 2 and 10 years consume, according to the VELS study and the ESKIMO module of the KIGGS study, only 50% of the recommended daily allowance of fruits and vegetables (Heseker, 2008). In a hospital-based survey, 2- to 18-year-old children consumed less fruits and vegetables than generally recommended (Kapellen *et al.*, 2006). In the study presented here, the PKU patients consumed, on an average, 80% of the recommended daily allowance. This difference is probably due to the primarily vegetarian aspect of the PKU diet. In general, the amount of fruit and vegetable consumption seems to depend on different social and behavioral factors. The role model of the parents is crucial in this respect (Kremers *et al.*, 2003; Young *et al.*, 2004; Zabinski *et al.*, 2006; De Bourdeaudhuij *et al.*, 2008).

It cannot be expected that a 2-week study phase overrules such eating habits. To further increase the intake of fruits and vegetables, a long-term change of diet recommendations would certainly be necessary.

In conclusion, the free consumption of fruits and vegetables has no adverse effect on short-term metabolic control in the PKU patients tested here. Further long-term multicentre trials are necessary before complete liberation of fruit and vegetable intake can be recommended in the PKU diet.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

We thank the patients and their parents for their participation and daily efforts to meet the protocol requirements. The unrestricted financial support by MetaX, Institut für Diätetik, is greatly appreciated. Dr Gelbrich provided valuable advice concerning biometry and statistical analysis.



References

- Ahring K, Belanger-Quintana A, Dokoupil K, Gokmen OH, Lammardo AM, Macdonald A et al. (2009). Dietary management practices in phenylketonuria across European centres. *Clin Nutr* 28, 231–236.
- Anon (2001). National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16–18, 2000. *Pediatrics* 108, 972–982.
- Burgard P, Armbruster M, Schmidt E, Rupp A (1994). Psychopathology of patients treated early for phenylketonuria: results of the German collaborative study of phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl* 407, 108–110.
- Burgard P, Bremer HJ, Buhrdel P, Clemens PC, Monch E, Przyrembel H et al. (1999). Rationale for the German recommendations for phenylalanine level control in phenylketonuria 1997. *Eur J Pediatr* 158, 46–54.
- Ceglarek U, Muller P, Stach B, Buhrdel P, Thiery J, Kiess W (2002). Validation of the phenylalanine/tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry: sensitive newborn screening for phenylketonuria. *Clin Chem Lab Med* 40, 693–697.
- De Bourdeaudhuij I, te Velde S, Brug J, Due P, Wind M, Sandvik C et al. (2008). Personal, social and environmental predictors of daily fruit and vegetable intake in 11-year-old children in nine European countries. *Eur J Clin Nutr* 62, 834–841.
- Deutsche Gesellschaft fuer Ernährung (1985). *Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr (German)*. Umschau-Verlag: Frankfurt am Main.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE), Österreichische Gesellschaft für Ernährung (ÖGE), Schweizerische Gesellschaft für Ernährung (SGE), Schweizerische Vereinigung für Ernährung (2000). *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr (German)*, 1st edn. Umschau/Braus: Frankfurt am Main.
- Eggum BO (1995). The influence of dietary fibre on protein digestion and utilization in monogastrics. *Arch Tierernähr* 48, 89–95.
- Gilani GS, Cockell KA, Sepehr E (2005). Effects of antinutritional factors on protein digestibility and amino acid availability in foods. *J AOAC Int* 88, 967–987.
- Hartmann B (2009). Bundeslebensmittelschlüssel. Max-Rubner-Institut: Karlsruhe, Germany. <http://www.bls.nvs2.de/index.php?id=37>.
- Heseker H (2008). *Ernährungssituation in Deutschland. Deutsche Gesellschaft für Ernährung, ÖGfE, SGfE, and SVfE. Nutrition Report 2008*. Umschau Braus: Frankfurt/M, 49–92.
- Hopkins DT (1981). Effects of variations in protein digestibility. In: Bodwell CE (ed). *Protein Quality in Humans: Assessment and In Vitro Estimation*. AVI Publisher: Westport, pp 178–181.
- Kapellen S, Kapellen T, Zeidler A, Sachse U, Kiess W (2006). Nahrungsangebote fuer Kinder und Jugendliche im Krankenhaus. *Ernaehrungslehre praxis* 1, B1–B4.
- Kersting M, Alexy U (2005). *OptimiX—Empfehlungen für die Ernährung von Kindern und Jugendlichen (German)*. aid Infodienst: Bonn.
- Kremers SP, Brug J, de Vries H, Engels RC (2003). Parenting style and adolescent fruit consumption. *Appetite* 41, 43–50.
- Loeber JG (2007). Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *J Inher Metab Dis* 30, 430–438.
- Macdonald A, Rylance G, Davies P, Asplin D, Hall SK, Booth IW (2003). Free use of fruits and vegetables in phenylketonuria. *J Inher Metab Dis* 26, 327–338.
- Pietz J, Fatkenheuer B, Burgard P, Armbruster M, Esser G, Schmidt H (1997). Psychiatric disorders in adult patients with early-treated phenylketonuria. *Pediatrics* 99, 345–350.
- Scriver CR, Kaufman S, Eisensmith RC, Woo SLC (1998). The hyperphenylalaninemias. In: Scriver RC, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 7th edn. McGraw-Hill: New York, pp 1015–1075.
- Stemerdink BA, Kalverboer AF, van der Meere JJ, van der Molen MW, Huisman J, de Jong LWA et al. (2000). Behaviour and school achievement in patients with early and continuously treated phenylketonuria. *J Inher Metab Dis* 23, 548–562.
- Weglage J, Grenzebach M, Pietsch M, Feldmann R, Linnenbank R, Denecke J et al. (2000). Behavioural and emotional problems in early-treated adolescents with phenylketonuria in comparison with diabetic patients and healthy controls. *J Inher Metab Dis* 23, 487–496.
- Young EM, Fors SW, Hayes DM (2004). Associations between perceived parent behaviors and middle school student fruit and vegetable consumption. *J Nutr Educ Behav* 36, 2–8.
- Zabinski MF, Daly T, Norman GJ, Rupp JW, Calfas KJ, Sallis JF et al. (2006). Psychosocial correlates of fruit, vegetable, and dietary fat intake among adolescent boys and girls. *J Am Diet Assoc* 106, 814–821.

3.1.1 Nahrungsangebote und Auswahlverhalten bei Kindern und Jugendlichen

wissenschaft & forschung | Begutachtetes Original

Eingereicht: 1. 10. 2007 Akzeptiert: 6. 2. 2008

Das nicht optimale Ernährungsverhalten von Kindern und Jugendlichen in Deutschland ist ausreichend bekannt. Leider findet sich dieses Ernährungsverhalten auch bei Aufenthalten im Krankenhaus wieder. Gibt es Möglichkeiten, das Ernährungsverhalten von Kindern im Krankenhaus positiv zu beeinflussen? Kann ein verändertes Speisenangebot die Situation verbessern? Diesen Fragen stellt sich die vorliegende Arbeit, indem sie das Bestellverhalten einer vorangegangenen Studie [1] mit dem Bestellverhalten nach einer Intervention vergleicht.

Nahrungsangebote im Krankenhaus und Auswahlverhalten bei Kindern und Jugendlichen

Was können Interventionen bewirken?



Dipl. oec. troph.
Carmen Rohde¹
E-Mail: Carmen.
Rohde@medizin.
uni-leipzig.de

Dipl. oec. troph.
Sibylle Kapellen¹
E-Mail: kapellens
@medizin.
uni-leipzig.de

Ein Klinikaufenthalt stellt für Kinder, Jugendliche und deren Familien immer eine Situation mit besonderen Herausforderungen dar. Die Speisenauswahl und Zusammensetzung der Mahlzeiten scheint dabei nur am Rande von Bedeutung zu sein und richtet sich stärker nach den Vorlieben des Patienten als nach Prinzipien einer bedarfsgerechten Ernährung.

Wie hinlänglich bekannt, entspricht die Nahrungszusammenstellung der Deutschen nicht den Empfehlungen der Fachgesellschaften [2]. Weder Kinder und Jugendliche [3] noch die Situation im Krankenhaus [4] bilden hier eine Ausnahme. Andererseits sollte das Krankenhaus ein Ort sein, an dem gesunde Verhaltensweisen unterstützt werden. In Sachsen gilt der Arzt mit Abstand als die glaubwürdigste Informationsquelle bezüglich Ernährungsfragen [5]. Unser Anliegen ist es, dieses Image zu nutzen. Weiterhin ist für unsere Klinik die Förderung einer bedarfsgerechten Ernährung von hohem Wert. Daher wurde ein klinikeigener Ernährungs- und Diätkatalog zusammengestellt, der besonders der Ernährung von kranken Kindern und Jugendlichen gewidmet ist. Die Kliniksituation wirkt, ob sie es will oder

nicht, auch ernährungserzieherisch und dieses Moment kann positiv genutzt werden. Dazu wurde das Bestellverhalten der Patienten vor [1] und nach einer Intervention miteinander verglichen. Es soll gezeigt werden, welche der Interventionsmöglichkeiten einen Effekt zeigen.

Methoden

Die Speiserversorgung der Universitätsklinik in Leipzig wird durch ein externes Unternehmen gewährleistet. Außer bei Patienten mit Erkrankungen, die eine spezielle Diät verlangen, bekommt jeder Patient als Eingangsmenü zunächst leichte Vollkost, bis der Arzt die Kostform festlegt. Nun kann der Patient bzw. bei jüngeren Kindern die Begleitperson das Essen auswählen. Frühstück und Abendbrot können aus verschiedenen Komponenten individuell zusammengestellt werden. Für das Mittagessen stehen verschiedene Menüs zur Auswahl. Die Bestellungen werden auf der Station erfasst und an das Versorgungszentrum weitergeleitet. Kopien dieser Bestellungen standen uns zur Auswertung zur Verfügung. Ungesüßter Tee, Mineralwasser, 1,5 %-fettthaltige Milch ohne Zucker

Weitere Autoren:
Katrin Schmidt¹,
Dr. Antje Körner¹,
Prof. Dr. Holger Till²,
Ute Sachse^{1/2},
Prof. Dr.
Wieland Kiess¹,

¹Universitätsklinik und
Poliklinik für Kinder und
Jugendliche, Leipzig

²Universitätsklinik für
Kinderchirurgie, Leipzig
Liebigstraße 20
04103 Leipzig



und Geschmackszusätze sowie rohes Obst und Gemüse als Zwischenmahlzeit werden auf den Stationen zusätzlich angeboten.

Erfasst wurden in der 1. Erhebung 230 und in der 2. Erhebung 247 Patienten (112/132 Mädchen und 118/140 Jungen) im Alter von 2 bis 18 Jahren (2- bis 3-Jährige: 37/57, 4- bis 6-Jährige: 46/59, 7- bis 9-Jährige: 29/38, 10- bis 12-Jährige: 43/43, 13- bis 14-Jährige: 46/32, 15- bis 18-Jährige: 29/43), deren Erkrankung uneingeschränkte Nahrungsauswahl zuließ. Die Alterskategorien wurden analog zu denen des Forschungsinstituts für Kinderernährung gewählt, um die bestellten Mengen mit dessen Empfehlungen (s. u.) vergleichen zu können. In der 1. und 2. Erhebung, die im Jahr 2004/2006 stattgefunden haben, wurden respektive 860/982 Frühstücke, 843/981 Mittagessen und 905/1055 Abendmahlzeiten erfasst. Die unterschiedlichen Zahlen für die Mahlzeiten und die Patienten ergeben sich aus den verschiedenen langen Liegezeiten der Kinder und Jugendlichen. Für jeden Patienten wurden die durchschnittlichen Frühstücks-, Mittagessen- und Abendbrotmengen addiert und mit den Empfehlungen für die Ernährung von Kindern und Jugendlichen (optimiX®) [6] des Forschungsinstituts für Kinderernährung in Dortmund (FKE) verglichen.

Die Daten wurden zunächst mittels Kolmogorow-Smirnow-Test auf Normalverteilung überprüft. Der Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte mittels ungepaartem t-Test, wenn Normalverteilung vorlag bzw. mit Mann-Whitney-U-Test bei Nicht-

Normalverteilung mit einem Signifikanzniveau von $P < 0.05$.

Die Portionsgrößen orientieren sich im Universitätsklinikum Leipzig standardmäßig am Erwachsenen. Das erklärt, warum die jüngeren Kinder von allen Lebensmittelgruppen zu viel zu bestellen scheinen. Die Speisen wurden als Standardmengen der verschiedenen Lebensmittelgruppen in einer Datenbank erfasst.

In der vorliegenden und zurückliegenden Studie wurden Bestellmengen erfasst, um festzustellen, ob im Krankenhaus überhaupt eine ausreichende Nährstoffversorgung gewährleistet werden kann. Die Bestellmengen dürfen nicht mit den wirklich verzehrten Mengen und Vorlieben der Patienten gleichgesetzt werden. Folgende Faktoren konnten keine Berücksichtigung finden:

- Lebensmittel, die bestellt, aber nicht verzehrt wurden. Das trifft im besonderen Maß auf die kleinen Kinder zu, da generell jede MittagSPORTION eine Erwachsenenportion darstellt. Die nicht verzehrten Mengen zu erfassen und zu verrechnen war nicht möglich.
- Ein geringer Teil von Lebensmitteln, der auf den Stationen zusätzlich angeboten wurde.
- Lebensmittel, die zusätzlich mitgebracht wurden. Das gilt insbesondere für den Bereich Süßigkeiten. Hier können die mitgebrachten Lebensmittel einen ganz erheblichen Anteil ausmachen, der nicht erfasst wurde.
- Wenn Eltern oder das Pflegepersonal für die kleineren Kinder die

Bestellung aufgeben, ist aus der Bestellung nicht ersichtlich, ob die Wünsche der Kinder oder der Erwachsenen Berücksichtigung finden.

Die Ergebnisse der ersten Erhebung wurden bereits beschrieben [1].

Interventionen

Veränderungen des Speiseplans, die zwischen den beiden Erhebungen eingeführt wurden:

1. Die Bestellzettel für die Mahlzeitenkomponenten für Frühstück, Abendbrot und Zwischenmahlzeiten wurden mit Smileys versehen, die für den Gesundheitswert der Speisen stehen. Es gibt folgende Kategorien:
 - 2 lachende Gesichter (empfehlenswertes Lebensmittel),
 - 1 lachendes Gesicht,
 - 1 neutrales Gesicht,
 - 1 trauriges Gesicht,
 - 2 traurige Gesichter (nicht empfehlenswertes Lebensmittel).
2. Der Speisekarte wurde eine bunte, laminierte Checkliste beigelegt, die anhand von fünf Fragen den Patienten helfen soll, eine ausgewogene Nahrungsauswahl zu treffen. Die Fragen betreffen die Bereiche: Getränke, Milch und Milchprodukte, Obst und Gemüse, Vollkorn und süße Lebensmittel.
3. Nachmittags kann jetzt außer Kuchen auch Fruchtjogurt, Müsli und Obst bestellt werden.

4. Vollkornbrot wird nicht mit ganzen Körnern, sondern mit fein gemahlenem Mehl angeboten.
5. Das Gemüseangebot für das Mittagessen wurde erhöht. Zusätzlich zur Vollkost und dem vegetarischen Gericht wurde ein Kindergericht eingeführt. Dies enthält immer eine Portion Gemüse. Falls die Kombination unpassend erschien, konnte Obst als Nachtisch bestellt werden. Somit ist es jetzt möglich geworden, die Empfehlungen der 5-am-Tag Kampagne umzusetzen.

6. Bei der Bestellung von Wurst als Beilage wurde nur noch eine Scheibe geliefert statt bisher zwei. Wer zwei Scheiben wollte, musste jetzt auch zwei anfordern.

Auf die Lebensmittelgruppen bezogen bedeutet das:

Vollkornprodukte

Um den Verzehr von Vollkornprodukten zu fördern wurde Folgendes unternommen:

- 2 lachende Smileys für Vollkornbrot und Müsli auf der Bestellliste
- Empfehlung auf der Checkliste: „Super ist, wenn über die Hälfte aller Getreideprodukte aus Vollkorn bestehen!“
- Einführung eines Vollkornbrottes aus fein vermahlenem Mehl ohne ganze Ölsaaten

- Angebot von Müsli für nachmittags

Gemüse und Obst

Um den Verzehr von Obst und Gemüse zu fördern und die Empfehlungen von 5 Portionen am Tag realisierbar zu machen, wurde Folgendes unternommen:

- 2 lachende Smileys auf der Bestellliste für Obst, Gemüse und Salat
- Empfehlung auf der Checkliste: „Super ist, wenn du sogar 5 Portionen schaffst! Eine Portion ist so viel, wie in deine Hand passt. Zähl mal nach!“
- Einführung eines Kindermenüs mit einem höheren Gemüseanteil bzw. Obst als Nachtisch

Milch und Milchprodukte

Um den Verzehr von Milch und Milchprodukten zu fördern, wurde Folgendes unternommen:

- 1 lachendes Smiley für Käse, Quark, Naturjogurt, gesüßten Joghurt und gesüßte Milch auf der Bestellliste
- Empfehlung auf der Checkliste: „Super ist, wenn du mindestens 3 Becher Milch oder Joghurt und Käse verzehrst.“
- Zusätzliches Angebot von Joghurt am Nachmittag

Fleisch und Wurst

Um den Verzehr von Fleisch und Wurst zu senken, wurde Folgendes unternommen:

- Auf der Bestellliste bekam fettreiche Wurst als Brotaufstrich 1 trauriges Smiley, fettarmer Brotaufstrich 1 neutrales Smiley und Schnitzel, Hacksteak, sowie Hamburger als Abendmahlzeit bekamen 2 traurige Smileys
- Halbierung der Wurstportionen beim Frühstück und Abendbrot

Geduldete Lebensmittel nach der Definition des FKE [6]

Um den Verzehr von geduldeten Lebensmitteln zu senken, wurde Folgendes unternommen:

- 1 trauriges Smiley für Kuchen auf der Bestellliste
- Empfehlung auf der Checkliste: „Super ist, wenn du sie (süße Lebensmittel) genießen kannst, ohne zu viel davon zu essen! Ein süßer Brotaufstrich, ein süßes Getränk und eine kleine Süßigkeit am Tag sind genug.“

Ergebnisse und Diskussion

Unterschiedliche Verzehrsgewohnheiten der Mädchen und Jungen, wie sie im Kinder- und Jugendgesundheitsurvey KiGGS [7] und der darin

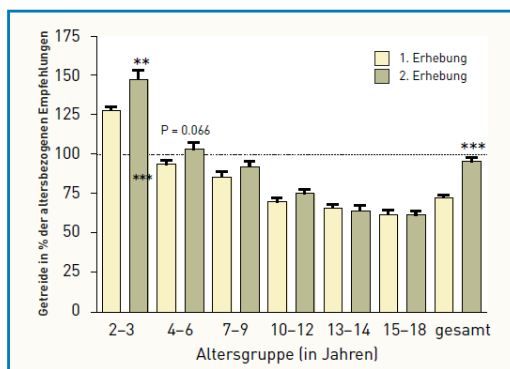


Abb. 1: Bestellmengen (bei standardisierten Mittagsportionen) von Getreideprodukten und Kartoffeln in % der Empfehlungen (** P<0.01; *** P<0.001)

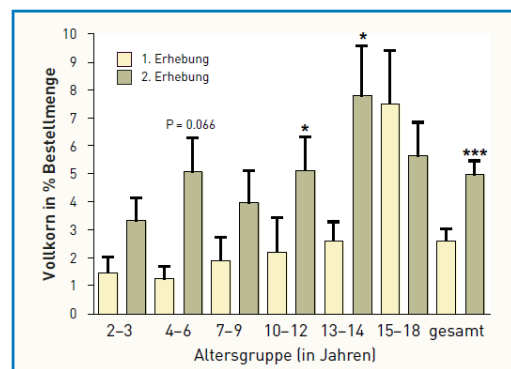


Abb. 2: Bestellmengen (bei standardisierten Mittagsportionen) von Vollkornprodukten in % der Bestellmengen von Getreideprodukten und Kartoffeln (* P<0.05; *** P<0.001)

enthaltenen Teilstudie EsKiMo [8] aufgezeigt werden, spiegeln sich in den Bestellungen nicht wieder. Die wesentlich kleinere Stichprobe unserer Studie erlaubt es auch nicht Aussagen zu den Geschlechtsunterschieden zu machen.

Bei den kleineren Kindern findet man in allen Lebensmittelgruppen sehr große Bestellmengen. Diese sind auf die am Erwachsenen ausgerichteten standardisierten Portionsgrößen des Mittagessens zurückzuführen und dürfen nicht gleichgesetzt werden mit einer ausreichenden Zufuhr aus der entsprechenden Lebensmittelgruppe.

Es liegen in der Literatur nur Daten vor, die den Lebensmittelverzehr von Kindern genauer beschreiben, aber keine Daten, die das Bestellverhalten von Kindern aufzeigen. In der Diskussion können die Ergebnisse in Folge dessen nur mit Verzehrsstudien verglichen werden.

Vollkornprodukte

Die zweite Erhebung zeigt einen deutlichen Anstieg der bestellten Getreide- und Kartoffelmengen von 72 % auf 95 % gemessen an den Empfehlungen. Dieser signifikante Anstieg ist primär auf die Altersgruppe der 2- bis 3-Jährigen zurückzuführen. Der hier verzeichnete Anstieg liegt an den nicht zu beeinflussenden Porti-

onsgrößen des Mittagessens, die sich bei den kleineren Kindern am deutlichsten auswirken. (◆Abbildung 1).

In der DONALD Studie wurde gezeigt, dass in der heutigen Ernährung Brot eine nachrangige Rolle einnimmt [9]. Der Ernährungsbericht 2004 belegt, dass die durchschnittliche Kohlenhydrataufnahme weniger als 50 % und die Polysaccharidaufnahme weniger als 30 % der empfohlenen Energiezufuhr erreicht (zum Vergleich: empfohlener Anteil von Kohlenhydraten an der Energiezufuhr >50 %, überwiegend als Polysaccharide) [2].

Die Vollkornanteile an den Getreideprodukten sind in beiden Erhebungen sehr gering (2,6 % bzw. 5 % der bestellten Getreideprodukte und Kartoffeln), haben sich aber zur zweiten Erhebung verdoppelt. Der Anstieg findet sich bei allen Altersklassen, außer bei den 15- bis 18-Jährigen, die schon bei der ersten Erhebung am häufigsten Vollkorn bestellten (◆Abbildung 2).

Eine gemessen an den Empfehlungen zu niedrige Ballaststoffzufuhr findet sich bundesweit in allen Altersklassen der Bevölkerung [2]. Dies gilt auch für Kinder [8]. Eine in einem Krankenhaus durchgeführte Erhebung bei Erwachsenen liefert gleiche Ergebnisse [4]. In Sachsen stößt Vollkornbrot bei Kindern auf eine niedri-

gere Akzeptanz als bei den Erwachsenen [10]. Nirgendwo konnte gezeigt werden, dass der Empfehlung, Getreideprodukte und Brot mindestens zur Hälfte aus Vollkorn zu verzehren, Folge geleistet wird. Sensoriktests des Forschungsinstituts für Kinderernährung haben allerdings gezeigt, dass Kinder und Jugendliche Vollkornbrot eher mögen, wenn es aus fein ausgemahlenem Vollkornmehl gebacken wurde [9].

Die Interventionen bezüglich der Vollkornprodukte nehmen einen, wenn auch geringen, Einfluss auf das Bestellverhalten der Patienten. Sie scheinen aber zu wenig Aufforderungscharakter zu besitzen, um eine größere Veränderung bewirken zu können.

Gemüse und Obst

Weder während der ersten noch während der zweiten Erhebung werden in den Bestellungen die Empfehlungen für den Gemüseverzehr (70 %/60 %) erreicht (◆Abbildung 3). Im zweiten Erhebungszeitraum geht das bestellte Gemüsevolumen sogar zurück. Die Gemüsemenge des Abendbrots ist deutlicher davon betroffen als die des Mittagessens.

Die bestellten durchschnittlichen Obstportionen unterscheiden sich in beiden Erhebungszeiträumen um nur 5 % (81 %/86 %). Hier erreichen die

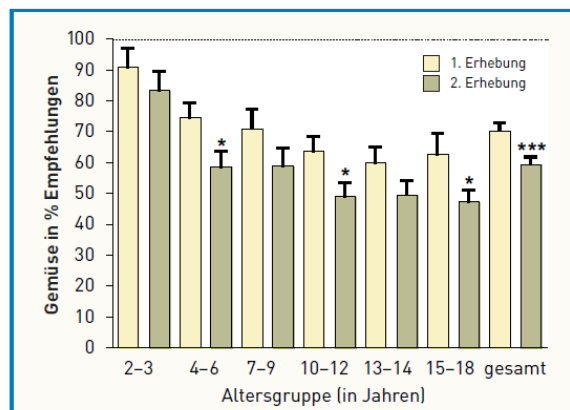


Abb. 3: Bestellmengen (bei standardisierten Mittagsportionen) von Gemüse in % der Empfehlungen (* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$)

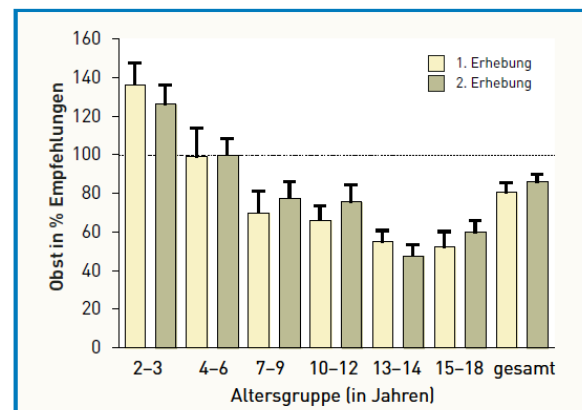


Abb. 4: Bestellmengen (bei standardisierten Mittagsportionen) von Obst in % der Empfehlungen

Vorschulkinder die Empfehlungen. Mit zunehmendem Alter ist die bestellte Obstmenge aber rückläufig. (◆Abbildung 4).

Die gefundenen Verzehrsmengen an Obst in anderen Studien sind unterschiedlich. Der Ernährungsbericht 2004 findet in der Gesamtbevölkerung eine Zunahme des Gemüse- und Obstverbrauchs gegenüber den vorhergehenden Berichten. Absolut gesehen ist der Konsum aber noch zu niedrig [2]. Erhebungen an Kindern und Jugendlichen (KiGGS) zeigen, dass mit zunehmendem Alter ein immer geringerer Anteil der empfohlenen Obst- und Gemüsemenge verzehrt wird. Dies gilt für Jungen und Mädchen gleichermaßen [7], obwohl Mädchen im Durchschnitt in fast allen Altersgruppen mehr Obst und Gemüse als Jungen essen [8]. Nur sehr wenige Kinder und etwas mehr Jugendliche erreichen die empfohlenen Verzehrsmengen [8]. Die DONALD Studie findet bei nur 40–50 % der Klein- und Schulkinder ein Erreichen der Empfehlungen für den Gemüseverzehr [11]. Die beiden sächsischen Verzehrsstudien zeigen, dass dort in der Altersklasse der Erwachsenen und der Kinder jeweils die empfohlene Menge an Obst erreicht wird. Auf Gemüse hingegen trifft das in keiner Altersklasse zu. Die Altersklasse Kinder wird nicht weiter differenziert [10, 5].

Den niedrigen Verzehrsmengen an Gemüse und teilweise Obst steht das gute Ernährungswissen der Kinder in Deutschland gegenüber. Laut Ernährungsbericht 2000 stimmen 98 % aller 6- und 7-Jährigen zu, dass man Obst essen muss, und 90 %, dass man Gemüse essen muss, um gesund zu bleiben [12].

Unsere Interventionen bezüglich Obst und Gemüse scheinen nicht motivierend genug zu sein, um auf das Bestellverhalten Einfluss nehmen zu können. Zudem ist das geeignetere Kindermenü nur eine Option unter anderen und der eigentlich dazugehörige Obstnachtschicht nur fakultativ. Diese Interventionen haben noch nicht einmal erreicht, das offenbar nachlassende Interesse an Gemüse aufzufangen.

Milch und Milchprodukte

Im zweiten Erhebungszeitraum ist eine deutliche Zunahme der Bestellungen von Milch- und Milchprodukten zu verzeichnen. Im ersten Erhebungszeitraum beläuft sich die durchschnittliche Bestellmenge auf 99 % der Empfehlungen, in der zweiten auf 124 %. Erst durch die Interventionen erreichen nun alle Altersklassen 100 % und werden den Empfehlungen gerecht mit Kalzium versorgt. Die Milch, die als Trinkmilch und für Müsli und Cornflakes

direkt auf den Stationen ausgegeben wurde, konnte nicht erfasst werden, spielt aber bei den geringen Bestellmengen nur eine untergeordnete Rolle. (◆Abbildung 5).

Unsere Ergebnisse zum ersten Erhebungszeitraum bestätigen die Aussage des Ernährungsberichts 2004, dass die Kalziumzufuhr bei Kindern und Jugendlichen nicht zufriedenstellend ist [2]. Die beiden sächsischen Verzehrsstudien machen widersprüchliche Aussagen: In der ersten Studie [10] wird zu einem höheren Milchkonsum ab dem 10. Lebensjahr aufgerufen und in der zweiten Studie [5] wird trotz rückläufigem Verzehr von Milch und Milchprodukten gesagt, der Verzehr sei ausreichend. Bei Kindern sind Milch, Milchgetränke und Joghurt beliebt. Nach Ergebnissen des Ernährungsberichts 2000 werden sie als Pausenverpflegung auch von Kindern gewünscht, die sie bisher nicht in der Schule bekommen [12]. Uns erschien es in unserer Situation an der Klinik nach den Ergebnissen der ersten Erhebung sinnvoll, den Verzehr von Milch und Milchprodukten und damit die Kalziumzufuhr weiter zu fördern.

Angesichts der offensichtlichen Beliebtheit von süßen Milchprodukten reichte die Intervention durch Information aus, um auf das Bestellverhalten positiven Einfluss zu nehmen.

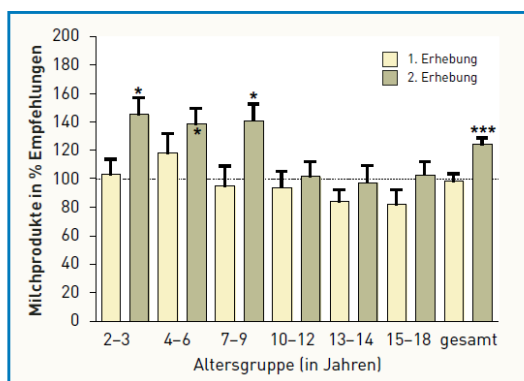


Abb. 5: Bestellmengen (bei standardisierten Mittagsportionen) von Milch und Milchprodukten in % der Empfehlungen (* $P < 0.05$; *** $P < 0.001$)

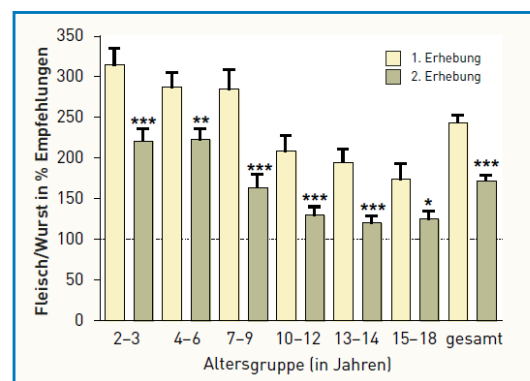


Abb. 6: Bestellmengen (bei standardisierten Mittagsportionen) von Fleisch und Wurst in % der Empfehlungen (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$)

Fleisch und Wurst

In der ersten Erhebung lagen die durchschnittlichen Bestellmengen von Fleisch und Wurst bei 244 %, in der zweiten bei 172 % der Empfehlungen (◆Abbildung 6). Die rückläufigen Bestellmengen spiegeln sich signifikant in allen Altersgruppen wieder.

Unsere Ergebnisse decken sich mit verschiedenen Verzehrstudien, die belegen, dass in Deutschland eine deutliche „Übersversorgung“ mit Fleisch und Wurst besteht. In Sachsen liegt bei Kindern und Jugendlichen der Verzehr bei dem Doppelten bis Drei- oder Vierfachen der Empfehlungen [10, 5]. Dies kann sich auch in der Höhe der Gesamtenergiezufuhr und der unerwünschten Zufuhr gesättigter Fettsäuren bemerkbar machen. Auch in der Gemeinschaftspflege im Krankenhaus [4] sowie in Kindertagesstätten [13] kann man ein zu hohes und häufiges Angebot an Fleisch und Wurstwaren finden. Durch unsere Interventionen wurde das Bestellverhalten deutlich verändert. Die Halbierung der Wurstportionen ist dabei eine wesentlich effektivere Intervention, als lediglich eine Empfehlung auszusprechen.

Geduldete Lebensmittel nach der Definition des FKE [6]

Zu dieser Lebensmittelgruppe wurden süße Brotaufstriche, Kuchen und Desserts gerechnet. Die geduldeten Mengen wurden in allen Altersgruppen der Mädchen als auch der Jungen in beiden Erhebungszeiträumen überschritten (188 %/191 %), obwohl es gerade für nachmittags ein verbessertes Angebot in Form von Joghurt, Müsli und Obst gab. Diese Überschreitung trifft mit dreifacher Menge besonders stark auf die kleineren Kinder zu (◆Abbildung 7). Süße Milchprodukte und mitgebrachte Süßigkeiten sind nicht mit eingerechnet. Die mitgebrachten Süßigkeiten erhöhen die tatsächlichen Verzehrsmengen erheblich.

Es besteht Einigkeit, dass der Verzehr von süßen Lebensmitteln in

Deutschland zu hoch ist [3, 8]. Der Ernährungsbericht 2004 [2] stellt fest, dass die durchschnittliche Energiezufuhr aus Mono- und Disacchariden weit über den empfohlenen maximal 10 % der Energiezufuhr liegt. In Sachsen betrug die Energiezufuhr aus zuckerreichen Lebensmitteln bei Kindern 20 %. In Kindertageseinrichtungen besteht der Nachttisch durchschnittlich jeden zweiten Tag aus einem süßen Dessert und nur einmal an Stelle der empfohlenen mindestens zweimal pro Woche aus Obst [13]. Der tägliche Verzehr von Keksen, Süßigkeiten und Schokolade bei Kindern und Jugendlichen nimmt allerdings mit dem Alter ab [7].

Trotz des verbesserten Angebots für nachmittags wurden nicht weniger Kuchen und Desserts bestellt. Diese Interventionen haben nichts bewirken können.

Auswirkungen der Interventionen

Einige unserer Interventionen haben informativen Charakter (Checkliste, Smileys) mit der Erwartung, dass ein verbessertes Ernährungswissen in der Krankenhaussituation gleichzeitig zu einem verbesserten Auswahlverhalten führt. In der bayrischen Verzehrstudie konnten in dieser Hinsicht positive Zusammenhänge aufgezeigt werden [14]. Im Ernährungsbericht 2000 wird allerdings die Hypothese untermauert, dass Ernährungswissen bei Kindern zwar aufgenommen wird, aber keine nachhaltige Veränderung im Essverhalten mit sich bringt [12]. Eine andere Studie über Mütter mit Säuglingen konnte Zusammenhänge zwischen der Beratungsintensität und dem Einhalten der Empfehlungen aufzeigen, die aber vielfach nicht signifikant waren [15]. In unserer Studie mit niedriger Beratungsintensität haben

die informativen Interventionen jedoch keine nachweislichen Veränderungen hervorgebracht.

Ein weiterer Teil unserer Interventionen bestand aus einem verbesserten Angebot bestimmter erwünschter Lebensmittel (kindgemäßeres Vollkornbrot, größeres Obst- und Gemüseangebot, Möglichkeit Müsli und Joghurt öfter zu bestellen), mit dem Wunsch, dass das erweiterte Angebot genutzt würde. Dies ist nur teilweise für Vollkornprodukte und Joghurt in Erfüllung gegangen, bei Gemüse und Obst zeigte sich nicht die erwünschte Wirkung.

Nur eine unserer Interventionen ließ keine Wahlmöglichkeit zu (Halbierung der Wurstportionen). Hier konnten wir einen messbaren Erfolg verzeichnen.

Schlussfolgerungen

Die nicht optimale Ernährungslage der Kinder und Jugendlichen in Deutschland bedarf dringend der Verbesserung. In dieser Hinsicht kann die Klinik durch ihre Vorbildwirkung ernährungserzieherischen Einfluss auf Kinder, Jugendliche und ihre Eltern nehmen, selbst bei nur kurzer Verweildauer. Dabei kann es nicht nur darum gehen, während des Krankenhausaufenthalts eine bedarfsgerechte und gesundheitsför-

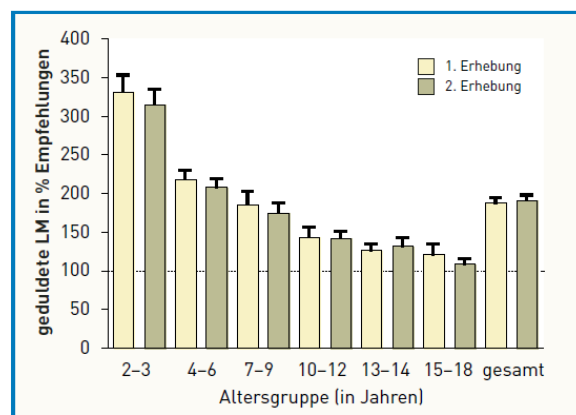


Abb.: 7 Bestellmengen (bei standardisierten Mittagportionen) geduldeter Lebensmittel in % der Empfehlungen

Zusammenfassung

Es ist hinreichend bekannt, dass die Deutschen kein optimales Ernährungsverhalten zeigen. Das gilt auch für Kinder in der Krankenhausituation. Die Autoren versuchten diese Situation mit Hilfe verschiedener Interventionen zu verbessern: Die Patienten wurden schriftlich informiert, welche Nahrungsmittel bevorzugt zu bestellen seien. Außerdem wurde das Auswahlangebot erweitert, so dass mehr sogenannte „gesunde“ Nahrungsmittel bestellt werden können. Und drittens wurden Menükomponenten verkleinert, von denen üblicher Weise zu viel gegessen wird. Dabei zeigte sich, dass die stärker direktiven Interventionen wesentlich effektiver waren, als die, die informativ arbeiteten oder auf einem breiteren Angebot basierten.

Summary

Choice of food for children and teenagers in a hospital setting

How effective are interventions?

Carmen Rohde, Sibylle Kapellen, Katrin Schmidt, Antje Körner, Holger Till, Ute Sachse, Wieland Kiess, Leipzig

It is generally known that the nutritional behaviour of Germans is not optimal. This also applies to the daily diet of children in a hospital setting. The authors tried to improve the situation by different interventions: First, by written information to the patients about what food should be preferred in particular. Secondly, by a wider spectrum of so-called „healthy food“ offered so that the patients had a greater choice. And thirdly, by smaller portions of those food components of which too much is usually taken. Then the eating behavior of about 250 children and teenagers was studied again. The findings were compared to the findings before the inventions. It became evident that the stricter interventions are much more effective than those just informing patients or increasing the spectrum of healthy food.

Keywords: preventive nutrition, nutritional intervention, nutritional information, nutrition in hospitals, choice of menu

Ernährungs Umschau 55 [2008]
S. 144–150

dernde Ernährung anzubieten, sondern auch exemplarisch aufzuzeigen, wie solch eine Ernährungsweise praktisch aussehen kann.

Unser Ziel muss es daher sein, dass Patienten und ihre Eltern nicht nur Ernährungswissen vermittelt bekommen, sondern eine schmackhafte und bedarfsgerechte Ernährung erleben. Interventionen, die lediglich das Wissen ansprechen, greifen nur sehr bedingt. Auch wenn die Wissensvermittlung noch so freundlich und ermutigend formuliert ist, zeigen die Patienten allein daraufhin kein verändertes Bestellverhalten. Beratende, präventive Ernährungsberatung kann Erfolg zeigen, muss dann aber intensiver betrieben werden, als es im Rahmen unserer Studie möglich war. Interventionen, die stärker direktiv angelegt sind, ohne den Patienten in der Nahrungsauswahl zu entmündigen, greifen stärker. In unseren Ergebnissen zeigt sich das an den Wurstportionsgrößen. Hier hat der Patient die Möglichkeit, wie bisher größere Wurstportionen zu bestellen, muss sich aber bewusst dafür entscheiden. Auf Grund dieser Ergebnisse empfehlen wir, nicht nur über die Wissensvermittlung Einfluss auf das Bestellverhalten zu nehmen, sondern stärker wirkende direktive Veränderungen im Speiseplan vorzunehmen.

Literatur

1. Kapellen S et al. (2006) Nahrungsangebote für Kinder und Jugendliche im Krankenhaus. *Ernährungs Umschau* 53, B1–4
2. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hg). *Ernährungsbericht 2004. Kapitel 1 Ernährungssituation in Deutschland*. DGE, Frankfurt am Main (2004)
3. Kersting M et al. (2004) Kinderernährung in Deutschland. *Bundesgesundheitsbl. – Gesundheitsforsch. – Gesundheitsschutz* 47, 213–218
4. Pust S, Lange S, Müller M J (2003) Probleme und Möglichkeiten einer „gesunden“ Ernährung im Krankenhaus. *Akt Ernähr Med* 28, 284–291
5. Sächsisches Staatsministerium für So-

ziales. 2. *Sächsische Verzehrsstudie (2006)* URL: www.smul.sachsen.de Zugriff 5.12.07

6. Forschungsinstitut für Kinderernährung Dortmund. *optimiX, Empfehlungen für die Ernährung von Kindern und Jugendlichen*. Broschüre. aid, Bonn (2002)
7. Mensink GBM, Kleiser C, Richter A (2007) *Lebensmittelverzehr bei Kindern und Jugendlichen in Deutschland*. *Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz* 50, 609–623
8. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Hg). *Forschungsbericht: Ernährungsstudie als KiGGS-Modul (EsKiMo)* (2007). URL: www.bmelv.de/SharedDocs/downloads/03-Ernaehrung/EsKiMoStudie.html Zugriff 5.12.07
9. Kersting M (2004) *Brotmahlzeiten und Energiezufuhr*. *Kinderärztl Prax* 75, 462–463
10. Sächsisches Staatsministerium für Soziales. 1. *Sächsische Verzehrsstudie*. (2001) URL: www.smul.sachsen.de Zugriff 5.12.07
11. Alexy U, Kersting M, Sichert-Hellert W (2003) *DONALD-News: Gemüseverzehr von Säuglingen, Kindern und Jugendlichen*. *Ernährungs Umschau* 49, 326
12. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hg). *Ernährungsbericht 2000. Kapitel 4: Essverhalten und Ernährungszustand von Kindern und Jugendlichen – eine Repräsentativerhebung in Deutschland*. DGE, Frankfurt am Main (2000), 115–146
10. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (Hg). *Ernährungsbericht 2000. Kapitel 3: Ernährungssituation in Kindertagesstätten: Die Kindertagesstätten-Ernährungs-Situations-Studie „KESS“*. DGE, Frankfurt am Main (2000), 97–114
14. Bayerisches Staatsministerium für Umwelt, Gesundheit und Verbraucherschutz, TU München (Hg). *Bayrische Verzehrsstudie (BVS) II, Abschlussbericht* (2003)
15. Köhler S, Sichert-Hellert W (2007) *Präventive Ernährungsberatung hat messbaren Erfolg*. *Monatsschr Kinderheilkd* 55, 53–60

3.2 Unrestricted fruits and vegetables in the PKU diet: A one-year follow-up

Carmen Rohde¹, Ulrike Mütze¹, Sabrina Schultz², Alena Gerlinde Thiele¹, Uta Ceglarek³, Joachim Thiery³, Andreas Stefan Mueller⁴, Wieland Kiess¹, Skadi Beblo¹

¹ Hospital for Children and Adolescents, Centre of Paediatric Research (CPR). Department of Women and Child Health, University Hospitals, University of Leipzig, Germany

² University Children's Hospital, Hamburg-Eppendorf, Germany

³ Institute of Laboratory Medicine, Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, University of Leipzig, Germany

⁴ Institute of Agricultural and Nutritional Sciences, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Germany

Unrestricted fruits and vegetables in the PKU diet: A one-year follow-up

European Journal of Clinical Nutrition 2013 (in press)

Address for correspondence: Dr. med. Skadi Beblo
University Hospital for Children and Adolescents
Liebigstraße 20a
04103 Leipzig
Germany
Phone: +49-341-97 26 242
Email: Skadi.Beblo@medizin.uni-leipzig.de

Short running title: Fruits and vegetables in phenylketonuria
Keywords: phenylketonuria, phenylalanine, fruits, vegetables, diet
Word count: Short running title 72 characters, abstract 167 words,
Text 986 words
Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.
Financial support: Unrestricted research grant from MetaX, Institut für Diätetik,
Friedberg, Germany

ABSTRACT

Objective: Phenylketonuria (PKU) therapy demands phenylalanine (Phe) calculation. In most countries almost all food is taken into account, even fruits and vegetables. We investigated whether unrestricted consumption of fruits and vegetables negatively influences metabolic control. Nineteen PKU children (2-10 years) started with two weeks of free or restricted fruit and vegetable intake. After two weeks, the regime changed from free to restricted or restricted to free (cross-over design). Over the first four weeks, dried blood Phe-concentration was measured, fruit and vegetable consumption recorded and nutrient intake calculated from diet records. Thereafter the diet was changed to free use of fruits and vegetables for all patients. Six and 12 months later, diet and Phe-concentrations were monitored. Median Phe-intake increased significantly by 65 mg/day (week 4, $p < 0.001$), 68 mg/day (month 6, $p < 0.001$), 70 mg/day (month 12, $p < 0.001$). Dried blood Phe-concentrations remained stable ($p = 0.894$), as did the frequency of Phe-concentrations above the recommended range ($p = 0.592$). In conclusion, PKU diet liberalisation for fruits and vegetables seems unproblematic.

INTRODUCTION

Classic phenylketonuria (PKU, OMIM 261600) is one of the most common inborn metabolic disorders. Phenylalanine (Phe) cannot be metabolized because of deficient phenylalaninhydroxylase activity (EC 1.14.16.1). Early diagnosis and treatment with strictly limited protein and Phe-intake prevents mental and physical disabilities (1;2). Regular determination of dried blood Phe-concentration as well as calculation of Phe-intake by weighing all food is the basis of the lifelong therapy.

Simplifying the diet without impairing metabolic control is a major challenge, since diet adherence is often poor, especially during adolescence and adulthood (3). One option, the liberalisation of fruit and vegetable intake, which would affect a large portion of the total food intake, has been shown to be feasible without compromising metabolic control in two short-term studies in a strictly controlled in-patient setting (4) and in a daily-life, out-patient setting (5). This current study reports the long-term effects in an extended observation of the latter study.

PATIENTS and METHODS

Study design

The design and results of the core trial have been published (5). It was registered as DRKS00000509 and approved by the ethics-committee of the University of Leipzig, Germany (registration-number: 289-09-141209). Patients/guardians were informed in writing and gave their written consent. In summary, PKU patients between 2 and 10 years of age and with a mean dried blood Phe-concentration < 360 $\mu\text{mol/l}$ 6 months prior to study underwent a randomized cross-over intervention with two weeks each of restricted consumption and of free access to fruits and vegetables with <75mg Phe/100g (study-phases 1 and 2). Thereafter, all patients were given free access to fruits and vegetables for another 12 months. Phe-concentration was determined bi- to four-weekly. Diet records and dried blood Phe-concentrations were recorded over a three day period after 6 (study-phase 3) and 12 months (study-phase 4) (Figure 1). No standardized meals were given.

Patients

25 PKU patients, aged 2-10 years with a documented average dried whole blood Phe-concentration < 360 $\mu\text{mol/l}$, determined over the previous six months, were enrolled. Six patients were not able to fulfill essential study-criteria or did not finish the protocol because of the workload. 19 patients with the mean age of 4.7 years (SD 2.1) and a mean Phe-tolerance of 357 mg/day (SD 1.3; range 215-660 mg/day) could be included into data analysis, however, three of them did not complete the last 6 months of the study protocol.

Methods

Phe-concentrations in dried blood were determined by liquid chromatography/ tandem mass spectrometry as described (6). Nutrient intake was analyzed by evaluation of diet records, using Bundeslebensmittelschlüssel, version II.3 (7), and data provided by the manufacturers. Intake of fruits and vegetables was calculated as percentage of the current recommendations (8).

Statistical analyses

Patients completing at least three study-phases (n=19) were included into analyses. Data from each study-phase were averaged. As the sequence of core study phases (1 followed by 2 or the inverse) had no effect on the outcome of the cross-over-study. Data from standard restricted fruit intake of all patients were combined and designated as phase 1, and data from liberated consumption as phase 2. Longitudinal changes over the four periods were analyzed by Friedman-test with 'time' as the within-subject factor. If significant differences occurred, Wilcoxon-test was used to compare individual study phases. A nominal level of $p < 0.05$ was regarded as statistically significant. All procedures were performed using SPSS for Windows 17, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA.

RESULTS

Longitudinal data of metabolic control are shown in the table. Throughout the study mean dried blood Phe-concentrations remained within the recommended range. The frequency of Phe-concentrations above the therapeutic range (40-240 $\mu\text{mol/l}$) decreased slightly but not significantly (Table 1).

Following the restricted diet our patients consumed 91% of the recommended amount of fruits and vegetables for German children. Despite liberalisation of fruit and vegetable intake their consumption (in g), as well as the Phe-intake from these foods remained stable during all study phases (Table 1). Due to liberalisation of fruit and vegetable consumption Phe-tolerance (Table 1) increased significantly ($p < 0.001$). The increased protein intake in study phases 3 and 4 was a consequence of the adjustment of amino acid mixture to increasing body weight, in order to keep the protein supply within the recommended range over the one year period.

DISCUSSION

In our short-term study, unrestricted intake of fruits and vegetables in the PKU diet did not impede long-term metabolic control, measured by mean Phe-concentrations or frequency of Phe-concentrations above the therapeutic range (5). The present one-year follow-up shows that this condition is fully maintained over a long period, despite an overall increase of Phe-tolerance by 68 mg/day. We hypothesize a poor Phe-utilization from fruits and vegetables, because of their lower protein-digestibility. Individuals consuming a lot of fruits and vegetables may therefore have a seemingly higher Phe-tolerance, while this phenomenon is in fact due to poor utilization of Phe from these foods (9).

Our results extend the experience from a total of three studies which showed similar results in different settings: using standardised meals (4), inclusion of patients with hyperphenylalaninemia (10) and the original short-term trial from our centre (5).

Interestingly the eating habits of the patients, particularly with regard to fruit and vegetable consumption, did not change over the period of one year. Instead of consuming more of the food, which does not have to be accounted for, they made use of the newly gained dietary freedom to eat more protein-rich food, which still has to be calculated into the daily Phe-intake. Whereas 68 mg of additive Phe-intake may not be of relevance for a healthy person, it translates into a 28% increase in Phe-intake for our PKU-children. The most significant consequence is not the additional amount of Phe the patients are allowed to take, but moreover a newly gained freedom of considerable dimension: The patients are allowed to eat from a large and healthy food group without calculation

and without the necessity to ask the parents. Our results encourage further studies to evaluate which other foods can be liberated without jeopardizing metabolic control.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the patients and their parents for their participation and daily efforts to meet the protocol requirements. The unrestricted financial support by MetaX, Institut für Diätetik, is greatly appreciated. Dr. Gelbrich provided valuable advice concerning biometry and statistical analysis. Authors' contributions were as follows: the trial was designed and submitted to authorities by S.B. and C.R., with substantial consultation by W.K. and U.C.; patients were recruited and examined, and samples taken by S.B., U.M. and M.A.; blood samples were analysed by U.C. and J.T.; diet records were analysed by C.R.; data management was maintained by C.R. and S.B.; statistical analyses were performed by C.R.; results were discussed and conclusions drawn by all contributing authors, especially A.M., A.T. and U.M.; C.R. and S.B. drafted the manuscript and incorporated comments by all co-authors.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ABBREVIATIONS

g	gram
l	liter
mg	milligram
Phe	phenylalanine
PKU	phenylketonuria
SD	standard deviation
μmol	micromol

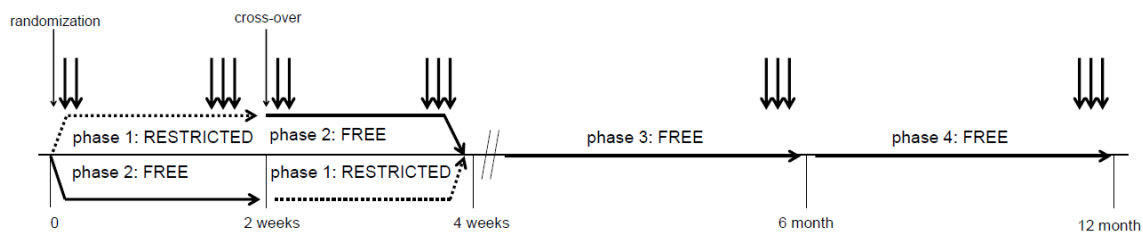
REFERENCES

- (1) Scriver CR, Kaufmann S, Eisensmith RC, Woo SL. The hyperphenylalaninemias. Scriver RC BASWaVD, editor. The metabolic and molecular basis of inherited disease. [7th], 1015-1075. 1998. New York, McGraw-Hill.
- (2) Burgard P, Bremer HJ, Buhrdel P, Clemens PC, Monch E, Przyrembel H, et al. Rationale for the German recommendations for phenylalanine level control in phenylketonuria 1997. Eur J Pediatr 1999 Jan;158(1):46-54.
- (3) MacDonald A, Gokmen-Ozel H, van RM, Burgard P. The reality of dietary compliance in the management of phenylketonuria. J Inherit Metab Dis 2010 Dec;33(6):665-70.
- (4) MacDonald A, Rylance G, Davies P, Asplin D, Hall SK, Booth IW. Free use of fruits and vegetables in phenylketonuria. J Inherit Metab Dis 2003;26(4):327-38.
- (5) Rohde C, Mutze U, Weigel JF, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W, et al. Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control. Eur J Clin Nutr 2012 May;66(5):633-8.

- (6) Ceglarek U, Muller P, Stach B, Buhrdel P, Thiery J, Kiess W. Validation of the phenylalanine/tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry: sensitive newborn screening for phenylketonuria. *Clin Chem Lab Med* 2002 Jul;40(7):693-7.
- (7) Hartmann B. Bundeslebensmittelschlüssel. 2009. <http://www.bls.nvs2.de/index.php?id=37>, Max-Rubner-Institut.
- (8) Kersting M, Alexy U. *OptimiX - Empfehlungen für die Ernährung von Kindern und Jugendlichen* (German). 2005. Bonn, aid Infodienst.
- (9) Eggum BO. The influence of dietary fibre on protein digestion and utilization in monogastrics. *Arch Tierernahr* 1995;48(1-2):89-95.
- (10) Zimmermann M, Jacobs P, Fingerhut R, Torresani T, Thony B, Blau N, et al. Positive effect of a simplified diet on blood phenylalanine control in different phenylketonuria variants, characterized by newborn BH4 loading test and PAH analysis. *Mol Genet Metab* 2012 Jul;106(3):264-8.

FIGURE and TABLE

Figure 1: Study design



Patients were randomized to study phase 1 or 2, cross-over after 2 weeks. After 4 weeks, evaluation of all data and changing diet to free use of fruits and vegetables for both patient groups during study phase 3 and 4.

→ diet record and phenylalanine concentration in dried blood at the following day (days 1, 2, 11, 12, 13, 15, 16, 25, 26, 27, 178, 179, 180, 363, 364, 365).

FREE: free use of fruits and vegetables

RESTRICTED: restricted use of fruits and vegetables

Table 1: Comparison of the study phases

* Longitudinal changes over the four periods were analyzed by Friedman-test with 'time' as the within-subject factor. If significant differences occurred, Wilcoxon-test was used to compare individual study phases. For phases 1 to 3 all 19 patients were included into data analyses. To compare phase 1 through 4 only 16 patients were included. P is given in the table for 16 und 19 patients. A nominal level of $p < 0.05$ was regarded as statistically significant.

Phe: phenylalanine, SD: standard deviation, therapeutic range of Phe in dried blood: 40-240 μ mol/l

Study phase	1	2	3	4	p*
n	19	19	19	16	19/16
Dried blood Phe (μmol/l)					
Mean (SD)	195 (108)	178 (108)	178 (108)	167 (95)	
Median(range)	175(59-455)	153 (38-501)	123 (65-438)	148 (54-427)	1 vs 2 vs 3 vs 4 = 0.905/0.790
Number of dried blood Phe above therapeutic range (%)					
Mean (SD)	24 (33)	22 (35)	18 (37)	19 (32)	
Median(range)	0 (0-100)	0 (0-100)	0 (0-100)	0 (0-100)	1 vs 2 vs 3 vs 4 = 0.620/0.272
Phe from fruits/vegetables (mg/day)					
Mean (SD)	68 (28)	61 (27)	67 (47)	52 (22)	
Median(range)	62 (30-138)	54 (32-94)	51 (18-80)	51 (20-91)	1 vs 2 vs 3 vs 4 = 0.543/0.117
Protein from fruits/vegetables (g/day)					
Mean (SD)	2.4 (1.0)	2.2 (0.9)	2.5 (1.6)	2.1 (0.9)	
Median(range)	2.2 (1.0-4.9)	1.9 (1.1-3.9)	2.0 (0.7-7.9)	2.0 (0.9-4.4)	1 vs 2 vs 3 vs 4 = 0.763/0.454
Fruits/vegetables (g/day)					
Mean (SD)	345 (133)	367 (178)	379 (185)	318 (102)	
Median(range)	305 (159-616)	299 (196-924)	340 (132-874)	306 (147-497)	1 vs 2 vs 3 vs 4 = 0.763/0.984
Fruits/veg (% of recommendations)					
Mean (SD)	91 (37)	97 (46)	100 (49)	86 (30)	
Median(range)	85 (46-187)	88 (45-231)	90 (44-219)	82 (37-144)	1 vs 2 vs 3 vs 4 = 0.763/0.984
Phe intake (mg/day)					
Mean (SD)	352 (92)	410 (92)	422 (95)	413 (101)	
Median(range)	340 (218-649)	405 (285-692)	408 (282-713)	410 (259-695)	1 vs 2 vs 3 vs 4 <0.001/<0.001 1 vs 2, 1 vs 3, 1 vs 4 <0.001 2 vs 3 = 0.441, 2 vs 4 = 0.820 3 vs 4 = 0.495
Protein intake (g/day)					
Mean (SD)	36 (12)	39 (12)	44 (16)	46 (16)	
Median(range)	34 (17-68)	37 (19-69)	42 (22-83)	45 (27-78)	1 vs 2 vs 3 vs 4 <0.001/<0.001 1 vs 2, 1 vs 3, 1 vs 4, 2 vs 3 <0.001 2 vs 4 = 0.002, 3 vs 4 = 0.909

3.3 PKU patients on a relaxed diet may be at risk for micronutrient deficiencies

European Journal of Clinical Nutrition (2013), 1–6
© 2013 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0954-3007/13
www.nature.com/ejcn



ORIGINAL ARTICLE

PKU patients on a relaxed diet may be at risk for micronutrient deficiencies

C Rohde¹, A von Teeffelen-Heithoff², AG Thiele¹, M Arelin¹, U Mütze¹, C Kiener³, J Gerloff³, C Baerwald⁴, S Schultz⁵, C Heller⁶, AS Müller⁷, W Kiess¹ and S Beblo¹

OBJECTIVE: To investigate micronutrient supply in phenylketonuria (PKU) patients on a relaxed diet.
SUBJECTS/METHODS: Sixty-seven patients (6–45 years) with a phenylalanine tolerance ≥ 600 mg/day were included in the study. From a 3-day diet record, protein supply as well as consumption of essential amino acids and several micronutrients were assessed and compared with the current recommendations and data for the healthy population.
RESULTS: Protein supply and consumption of all essential amino acids were sufficient in all patients. Supply of micronutrients depended on dietary regime. Patients with a total protein supply of 120% or more of the recommended amount and at least 0.5 g protein per kg body weight from amino-acid mixture (AAM) were sufficiently supplied with all investigated micronutrients. All patients without AAM supplement showed severe micronutrient deficiencies in their diet records.
CONCLUSION: PKU patients under a relaxed diet are at risk of an insufficient nutrient supply, if they have first no substitution with AAM, second a protein supply less than 0.5 g per kg body weight from AAM or third a total protein supply less than 120% of the recommendations. Therefore, close monitoring, specific dietary counseling and potential supplementation is mandatory to prevent micronutrient deficiencies in PKU patients.

European Journal of Clinical Nutrition advance online publication, 20 November 2013; doi:10.1038/ejcn.2013.218

Keywords: Phenylketonuria; relaxed diet; micronutrient deficiencies; micronutrients

INTRODUCTION

Phenylketonuria (PKU; OMIN 261600) is one of the most common inborn metabolic disorders, with an incidence varying between 1:3000 and 1:30000 across Europe.¹ It is caused by a deficient activity of phenylalanine hydroxylase (EC 1.14.16.1) in most tissues, predominantly in the liver. Children with untreated PKU suffer from severe physical and mental disability. Postnatal diagnosis by newborn screening, immediate initiation of a lifelong phenylalanine (Phe) restricted diet and supplementation of a Phe-free amino-acid mixture (AAM) result in a normal cognitive development. The individual daily Phe tolerance depends on residual phenylalanine hydroxylase activity and varies significantly between patients.² The necessary AAM dosage depends on the individual Phe tolerance, age and body weight. To account for metabolic imbalances and potential absorption deficiencies of amino acids from the AAM, it is generally suggested to provide an additional surplus of about 20% of the recommended protein supply.³ To avoid micronutrient deficiencies, as the patients' choice of natural food is extremely limited, the AAM contain significant amounts of vitamins, minerals and trace elements.⁴ Patients with a mild course of the disease who follow a relaxed diet require only a small amount of AAM. Consequently, these patients might be at risk of insufficient micronutrient supply.

PATIENTS AND METHODS

Study design

The study was planned and carried out as an open multicenter cross-sectional investigation in patients with PKU with a Phe tolerance above

600 mg/day. The trial was performed in accordance with the Declaration of Helsinki/Somerset West and followed ICH-GCP guidelines. The protocol was reviewed and approved by the ethics committee of the University of Leipzig, Germany (registration number: 035-11-24012011), and has been registered with Deutsches Register Klinischer Studien at the International Clinical Trials Registry Platform (DRKS00004768). Patients and/or guardians were informed of the study in writing and gave their written consent.

Subjects and Methods

Inclusion was restricted to patients with PKU older than 6 years with a Phe tolerance above 600 mg/day. Patients were excluded who had additional diseases, abnormal results from the general or neurological examination, a need for concomitant medication except the Phe-free AAM, other dietary restrictions, or an existing or planned pregnancy. Anthropometric data (weight, height, body mass index) of the patients were collected at the clinic visit. Seventy-two patients were willing to join the study and sixty-seven met the inclusion criteria. All patients already participated in regular follow-up in a specialized outpatient center for inborn metabolic diseases (University Hospitals in Erlangen, Hamburg, Leipzig or Münster, all in Germany).

The patients were asked to provide a detailed 3-day diet record including all food, beverages and the AAM. From the records, the intake of Phe, energy, protein, carbohydrate, fat, essential amino acids, calcium, iron, zinc, iodine, vitamins B1, B2, B12, C, D and folic acid was calculated. Nutritional analysis was performed using the Food and Control Management System 'Diät-2000' based on the updated version of the German nutrient data base (Bundeslebensmittelschlüssel).⁵ Additional information provided by the manufacturers about low-protein food as well as pre-processed foods and the composition of the specific AAMs was

¹Hospital for Children and Adolescents, Centre of Paediatric Research (CPL), Department of Women and Child Health, University Hospitals, University of Leipzig, Leipzig, Germany;

²Department of Pediatrics, University Hospital, University of Münster, Münster, Germany; ³Nutricia GmbH, Heilbronn, Germany; ⁴Department of Internal Medicine, University Hospitals, University of Leipzig, Leipzig, Germany; ⁵Center for Obstetrics and Paediatrics, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg-Eppendorf, Germany;

⁶Department of Paediatrics and Adolescent Medicine, University Erlangen, Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen, Germany and ⁷Institute of Agricultural and Nutritional Sciences, Martin-Luther-University, Halle-Wittenberg, Germany. Correspondence: Dr MS Beblo, Hospital for Children and Adolescents, Centre of Paediatric Research (CPL), Department of Women and Child Health, University Hospitals, University of Leipzig, Liebigstraße 20, Leipzig 04103, Germany.

E-mail: Skadi.Beblo@medizin.uni-leipzig.de

Received 13 May 2013; revised 19 September 2013; accepted 22 September 2013



added to the database. Intake of all macro- and micronutrients investigated was converted into a percentage of the recommendations issued by the German Society of Nutrition, according to age, body weight and gender.⁴

To evaluate the intake of essential amino acids, in addition to total protein, the American recommendations⁶ were used as reference values, as no German or European recommendations are currently available.

To retrieve comparable data for the healthy population, the data of two studies were used: EsKiMo⁷ for the age group 6–17 years and the NVS II⁸ for the age group above 17 years.

To analyze micronutrient intake, the patients were divided into two groups: group 1 represents patients who do not use an AAM, whereas group 2 represents patients receiving any AAM. Group 2 was further divided into two subgroups according to their total protein intake (group 2a with more and group 2b with less than 120% protein intake of the recommendations, Table 2). Yet another subdivision was done by the amount of protein from AAM. One group includes all patients with a protein intake from AAM less than 0.5 g per kg body weight ($n = 20$) and the other group more than 0.5 g per kg body weight ($n = 34$).

Statistical analyses

All statistical procedures were performed using SPSS for Windows 17 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). In order to reduce the number of variables, the mean of the three diet records was calculated for each variable and used for analyses. As data did not follow normal distribution, Mann-Whitney *U*-test was used to compare patient groups. If more than two groups were compared Kruskal-Wallis test was applied. To compare the patient's nutrient intake with the current recommendations,⁴ the Wilcoxon test was used. A nominal level of $P < 0.05$ was regarded as statistically significant.

RESULTS

Diet records from 67 patients were included into the analyses. Patients' characteristics are shown in Table 1.

Of the 13 patients not using any AAM, 8 patients are under sapropterin therapy (Phe intake in mg: 1982, range 1205–2552). The other five patients are patients with mild hyperphenylalaninaemia and a relatively high residential enzyme activity (Phe intake in mg: mean 2473, range 1460–3626). All 13 are under continuous care in a specialized outpatient clinic. In patient group 2, 13 patients received sapropterin (Phe intake in mg, mean: 1442, range: 615–2606). The other 41 do not receive sapropterin. As in group 1, all patients in group 2 are under continuous care in a specialized outpatient clinic.

Almost all included patients show Phe concentrations within their age-specific target ranges, according to the German guidelines.

Intake of protein, Phe and essential amino acids

The protein and Phe intake of the different groups are shown in Table 2. Total protein intake was not significantly different for groups 1 and 2. However, Phe intake was significantly ($P = 0.006$) lower in group 2, illustrating the patients' need for protein supply with AAM. The intake of essential amino acids exceeded the current recommendations in all patients (Figure 1), whether receiving an AAM (group 2) or not (group 1).

The general recommendations for amino-acid intake do not distinguish between Phe and tyrosine, as healthy individuals convert sufficient amounts of Phe to tyrosine. This is not true for

Table 1. Patient characteristics

	All included patients	Group 1 (no AAM)	Group 2 (AAM)	Group 2a AAM total protein > 120%	Group 2b AAM total protein < 120%
All subjects (n)	67	13	54	44	10
Children 6–17 years (n)	33	12	21	17	4
Mean BMI/SDS (kg/m ²)	19.4/0.20	14.8/0.11	19.9/0.25	20.4/0.52	17.9/–0.83
Adults 18–45 years (n)	34	1	33	27	6
Mean body weight (kg ± s.d.)	72.7 ± 16	77	72.5 ± 16.2	74.2 ± 17.2	64.9 ± 6.5
Mean BMI (kg/m ² ± s.d.)	25.1 ± 6.6	25.4	25.1 ± 6.7	26.1 ± 7.0	20.8 ± 1.7

Abbreviations: AMM, amino-acid mixture; BMI, body mass index; SDS, standard deviation score. Anthropometric data of all included patients, grouping according to protein- and AAM intake. Group 1: patients without any AAM supply. Group 2: patients with AAM supply. Group 2a: patients with AAM supply and a total protein supply > 120% of the recommendations. Group 2b: patients with AAM supply and a total protein supply < 120% of the recommendations. All data are given as mean ± s.d.

Table 2. Protein and Phe supply

		Group 1 no AAM	Group 2 AAM	Group 2a AAM protein > 120%	Group 2b AAM protein < 120%	<i>P</i>
Protein intake (% of the recommendations)	Mean s.d.	154 ± 69	156 ± 44	170 ± 33	93 ± 21	0.468
	Median	132	156	168	101	
	range	72–297	50–258	124–258	50–113	
Phe intake (mg/day)	Mean s.d.	2117 ± 771	1447 ± 702	1523 ± 741	1112 ± 440	1 vs 2a: 0.023 1 vs 2b: 0.001
	Median	2230	1235	1358	1019	
	range	1205–3626	615–3055	615–3055	619–1677	
Protein from AAM (g per kg body weight)	Mean s.d.	0	0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.4 ± 0.3	2a vs 2b: 0.013
	Median	0	0.6	0.7	0.4	
	range	0	0.1–1.3	0.3–1.3	0.1–0.8	

Abbreviations: AMM, amino-acid mixture; Phe, phenylalanine; PKU, phenylketonuria. Protein and Phe supply of PKU patients on a relaxed diet, grouping according to total protein supply and AAM intake. Group 1: patients without any AAM supply. Group 2: patients with AAM supply. Group 2a: patients with AAM supply and a total protein supply > 120% of the recommendations. Group 2b: patients with AAM supply and a total protein supply < 120% of the recommendations. Kruskal-Wallis test was used for comparison between groups. When significant differences were yielded, Mann-Whitney *U*-test was applied to identify the significantly different subgroups.

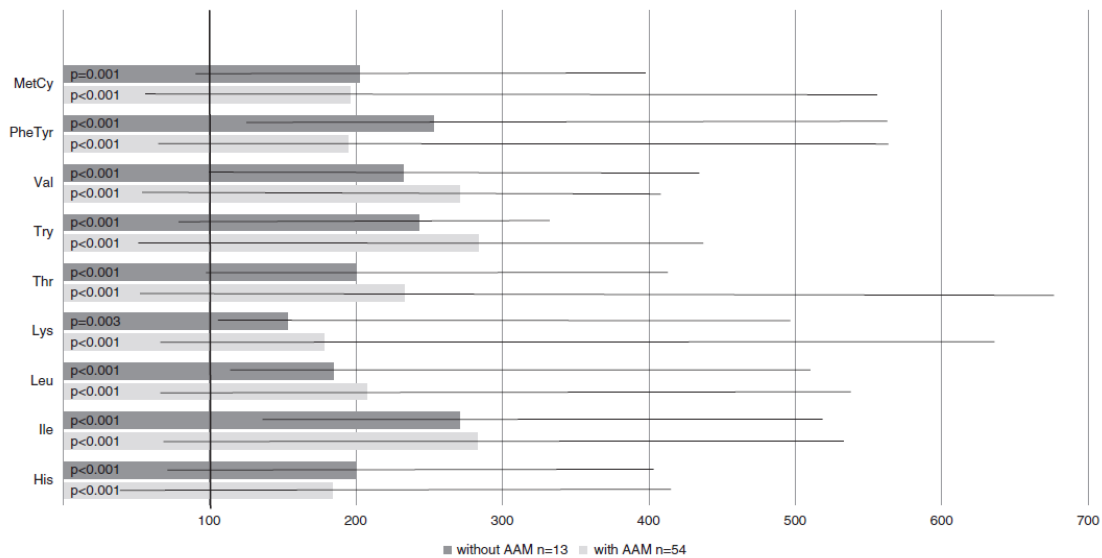


Figure 1. Median intake of essential amino acids in % of the recommendations ($P < 0.05$ was recognized as significant). His, histidine; Ile, isoleucine; Leu, leucine; Lys, lysine; MetCys, methionine and cysteine; PheTyr, phenylalanine and tyrosine; Try, tryptophan; Thr, threonine; Val, valine.

PKU patients and therefore the supply with tyrosine was calculated and compared with the combined Phe/tyrosine recommendation. Tyrosine supply alone exceeded the combined Phe/tyrosine recommendation in all groups (details not shown). In addition, we assume that Phe supply was at least sufficient, because the patients' plasma Phe concentrations were not below the reference values (data not shown).

Intake of micronutrients

Despite a sufficient supply of protein and essential amino acids, group 1 (no AAM supply) showed an insufficient supply with all investigated micronutrients, as compared with the current recommendations,⁴ except for vitamin B₁₂ (Figure 2). Even in comparison to the healthy population, patients in group 1 consumed smaller amounts of all micronutrients (Figure 2). In group 2 (any AAM supply), the intake of most micronutrients exceeded the current recommendations. For further analysis, group 2 was divided according to their total protein supply (2a > 120%, 2b < 120% of the recommendations). Group 2a was sufficiently provided with all micronutrients (Figure 2). Differences between children and adults could not be detected. Micronutrient supply correlated with the intake of protein from AAM in g per kg body weight (vitamin D: $r = 0.550$, $P < 0.001$; Ca: $r = 0.464$, $P = 0.002$; J: $r = 0.668$, $P < 0.001$; folic acid: $r = 0.492$, $P = 0.001$; vitamin B₂: $r = 0.446$, $P = 0.002$; vitamin B₁₂: $r = 0.352$, $P = 0.037$).

In contrast, group 2b (total protein supply below 120% of recommendation) had an insufficient supply of most micronutrients (Figure 2). However, the differences were not statistically significant except for vitamin B₂ ($P = 0.019$) when compared with the recommendations.⁴ There were no differences between children and adults. A positive correlation between the intake of protein from AAM in g per kg body weight and the intake of micronutrients could be detected for most micronutrients (vitamin D: $r = 0.677$, $P = 0.032$; Ca: $r = 0.877$, $P = 0.001$; Fe: $r = 0.731$, $P = 0.016$; Zn: $r = 0.803$, $P = 0.005$; folic acid: $r = 0.705$, $P = 0.023$; vitamin B₁: $r = 0.751$, $P = 0.012$; vitamin B₂: $r = 0.776$, $P = 0.008$). Comparing groups 2a and 2b, the intake of all micronutrients was

higher in group 2a, except for vitamin C and zinc (Figure 2). This was significant for vitamin D ($P < 0.001$), calcium ($P < 0.001$), iron ($P < 0.001$), iodine ($P < 0.001$), folic acid ($P < 0.001$), vitamin B₁ ($P = 0.002$), B₂ ($P = 0.001$) and B₁₂ ($P < 0.001$).

Modeling a strategy for sufficient micronutrient supply

When analyzing the data, patients with sufficient micronutrient supply appeared to consume protein from an AAM at a dose of 0.5 g per kg body weight or more. In order to test this hypothesis, we calculated the supply with micronutrients according to this threshold. Indeed, patients with a protein intake from AAM of at least 0.5 g per kg body weight ($n = 34$, mean 0.8 ± 0.2 g protein per kg) showed significantly higher intake of vitamin D ($P < 0.001$), calcium ($P < 0.001$), iron ($P < 0.001$), iodine ($P < 0.001$), folic acid ($P < 0.001$), vitamin B₁ ($P = 0.004$), vitamin B₂ ($P < 0.001$) and vitamin B₁₂ ($P < 0.001$) than those patients with a protein intake of less than 0.5 g from AAM per kg body weight ($n = 20$, mean 0.3 ± 0.1). Moreover, the supply of all micronutrients exceeded the recommendations in those patients with at least 0.5 g protein per kg body weight from AAM: Vitamin C: 139% ($P = 0.022$), vitamin D: 150% ($P < 0.001$), vitamin B₁: 143% ($P < 0.001$), vitamin B₂: 146% ($P < 0.001$), vitamin B₁₂: 179% ($P < 0.001$), folic acid: 155% ($P = 0.001$), calcium: 151% ($P < 0.001$), iron: 182% ($P < 0.001$), zinc: 126% ($P = 0.166$), iodine: 130% ($P < 0.001$). Accordingly, the group with a protein intake from AAM of less than 0.5 g protein per kg body weight did not reach the recommendations for some micronutrients, especially folic acid (77%, $P = 0.006$) and iodine (79%, $P = 0.007$). However, these patients showed a significantly better supply of micronutrients compared with patients not consuming any AAM (vitamin D: $P < 0.001$, vitamin B₁: $P = 0.004$, folic acid: $P < 0.001$, calcium: $P < 0.001$, iron: $P < 0.001$, iodine: $P < 0.001$).

DISCUSSION

To investigate the micronutrient supply in PKU patients with a high Phe tolerance (≥ 600 mg/day), 69 patients from different metabolic centers in Germany were recruited. Diet records from



Micronutrient deficiencies in PKU on a relaxed diet
C Rohde et al

4

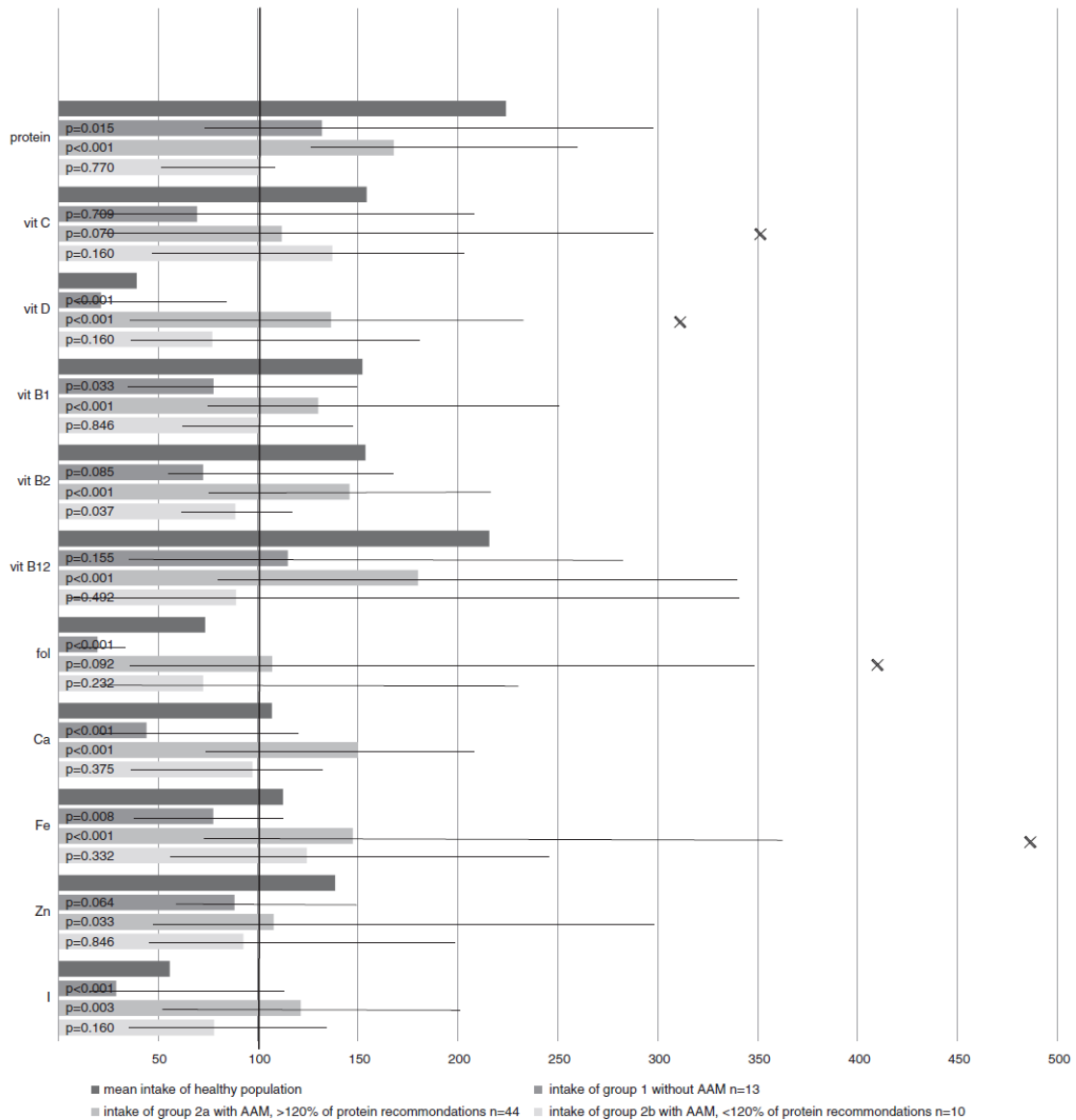


Figure 2. Median intake of micronutrients in % of the recommendations. Significant differences ($P < 0.05$) could be revealed in comparison to the recommendations in group 1 for vitamin D, vitamin B₁, folic acid, calcium, iron and iodine and in group 2b for vitamin B₂, Ca, calcium; Fe, iron; fol, folic acid; I, iodine; Vit C, vitamin C; vit D, vitamin D; vit B₁, vitamin B₁; vit B₂, vitamin B₂; vit B₁₂, vitamin B₁₂; Zn, zinc.

three consecutive days were analyzed to evaluate the mean supply of protein, essential amino acids and several micronutrients. The intake of essential amino acids exceeded the current recommendations in all recruited patients. This was independent from the intake of any AAM. In contrast, supply of micronutrient was determined by the dietary regime.

It is common use in PKU treatment to provide 120% of the protein supply recommended for healthy children,³ in order to avoid potential metabolic imbalances. We therefore analyzed if application of this rule provides a sufficient supply of

micronutrients. According to our analysis, this is clearly not the case. Patients not consuming any AAM were insufficiently supplied with micronutrients despite a median protein supply of over 150% of the recommendations. Patients receiving less than 120% of the recommended protein intake and less than 0.5 g protein per kg body weight from AAM are still at risk of micronutrient deficiencies. Micronutrient supply was sufficient only in the group with a total protein intake above 120% and more than 0.5 g protein per kg body weight from AAM. It can be expected that the number of PKU patients on a relaxed diet

without AAM supplement will increase in the coming years because of the relatively new and successful cofactor therapy with tetrahydrobiopterin (BH₄) in patients with BH₄-sensitive PKU.^{9,10} These patients are at risk of continuous micronutrient deficiencies with all known long-term consequences.^{11–13} In general, basic eating habits develop during early childhood and remain stable throughout life.¹⁴ In a previous study, we could show that patients who could relax their diet because of BH₄ sensitivity had difficulties to consume adequate amounts of meat and dairy products.¹⁰ In this respect, ending the AAM supplementation in any PKU patient needs careful consideration, dedicated dietary counseling and close follow-up. It might be useful to provide these PKU patients with a specialized micronutrient mixture to bridge the time until their eating habits normalize toward sufficient micronutrient supply from natural sources. In this respect, the role of specialized dieticians in the care for PKU patients becomes ever more important.

Our data provide a good example of the persistence of unfavorable eating habits in PKU on a relaxed diet without AAM supply: the supply with vitamin C was lower than the DACH-recommendations and lower than the supply of the healthy population. This may be unexpected, as the main source of vitamin C is fruits and vegetables, which are low in protein and therefore appropriate for the PKU diet. Patients on a classical diet consume larger amounts of fruits and vegetables than their healthy peers.¹⁵ However, this seems not to be true for patients with a high Phe tolerance: relaxing the diet because of increased Phe tolerance by addition of BH₄ led to decreased consumption of fruits and vegetables and consequently vitamin C supply.¹⁰

Of concern, the intake of calcium and vitamin D is far below the recommendations, confirming earlier studies.¹⁶ In a subgroup of 12 patients for whom plasma 25-OH-vitamin D was available, 9 showed concentrations at or below the lower limit of normal (mean = 19 ng/ml; range = 7.9–29.7), underlining the insufficient vitamin D supply. A clear relation to the intake of an AAM could not be found. Unfortunately, the sample size is too small to allow any further interpretation. A systematic evaluation of vitamin D intake and plasma concentrations with respect to amino-acid intake should be performed as a next step, and should include other factors contributing to vitamin D metabolism, such as latitude, habits influencing exposure to sunlight, skin color, use of sunscreen, etc. In the healthy population, bone density in adulthood is closely related to calcium and vitamin D consumption through cow's milk during childhood.^{17–19} To account for the potential calcium and vitamin D deficiency in PKU because of the dietary restrictions, the currently available AAM contain calcium and vitamin D. This appears appropriate as long as patients consume enough AAM. Previous studies indicate reduced bone density in early and continuously treated classical PKU, even though these patients received both vitamin D and calcium in adequate amounts from AAM.^{20,21} There is only limited data on bone mineral density and metabolism in adult PKU and in particular those on a relaxed diet may be at increased risk of osteoporosis. As clinical monitoring of osteoporosis is difficult, bone densitometry may be an appropriate screening procedure in PKU, at least once in early adulthood.²²

Interestingly, irrespective of the group, vitamin B₁₂ was the only adequately consumed micronutrient. This is in contrast to previous studies which had shown that the supply with vitamin B₁₂ is critical in PKU patients, in particular in those patients following a relaxed PKU diet.^{23–25} Vitamin B₁₂ and folate plasma concentrations were available from 23 patients, and all were within or above the normal range, irrespective of any AAM intake (vitamin B₁₂: mean 390 pmol/l; range: 162–780 pmol/l; reference range: 141–489 pmol/l. Folate: >45.4 nmol/ml in all patients). However, despite our data, regular assessment of vitamin B₁₂ and folate supply is recommended²⁶ as the clinical signs of vitamin B₁₂ or folate deficiency are unreliable indicators.^{23,25}

Although the assessment of the supply of micronutrients usually proves to be difficult,^{27,28} we are confident that the detailed records provided by our patients reliably reflect true supply: PKU patients and their guardians are trained from the time of diagnosis to exactly weigh and document all food intake.²⁹ They are instructed to do so during the daily routine and monitored for it during the follow-up visits at the outpatient clinic. Those records do not show major differences over the year. In spite of accuracy of food documentation, the small amount of dietary records per patient is a limitation to the study.

In conclusion, a sufficient micronutrient supply in PKU patients with a protein supply below 120% of the recommendations is doubtful. The largely applied surplus of 20% of protein supply in the German speaking countries as well as the even higher protein supply for PKU patients in the United Kingdom²⁹ proves to guarantee a sufficient micronutrient supply, provided at least 0.5 g of protein per kg body weight derive from AAM. In those patients who do not require an AAM, we recommend to monitor micronutrient supply, to include the discussion about micronutrients in nutritional counseling and to supplement deficient components at least temporarily.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the patients and their parents for their participation and efforts to meet the protocol requirements. The unrestricted financial support by Nutricia GmbH, Erlangen, is greatly appreciated. Evelyn Pense and Andrea Grieser were a big help in creating the data base.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

The trial was designed and submitted to authorities by SB and CR with substantial consultation by CK and WK; patients were recruited and examined by CR, AGT, MA, UM, CB, ATH, SS, CH and SB, dietary records were analyzed by CR; data management was maintained by CR, JG and SB; statistical analyses were performed by CR and SB, with valuable advice from JG; results were discussed and conclusions drawn by all contributing authors, especially CR, SB, AGT, AS, M, CR and SB drafted the manuscript and incorporated comments by all co-authors.

This study was supported by unrestricted research grant from Nutricia GmbH, Heilbronn, Germany

REFERENCES

- Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *J Inher Metab Dis* 2007; **30**: 430–438.
- Scriver CR, Kaufmann S, Eisensmith RC, Woo SL. The hyperphenylalaninemias. In: Scriver RC, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. McGraw-Hill: New York, NY, USA, 1998, pp 1015–1075.
- Mönch E, Link R. *Diagnostik und Therapie bei angeborenen Stoffwechselstörungen*, 2nd edn. SPS Publications: Heilbronn, Germany, 2006.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE) ÖGfEÖSGfESSVfE. Referenzwerte fuer die Nährstoffzufuhr. Umschau-Braus: Frankfurt am Main, Germany, 2000.
- Hartmann B. *Bundeslebensmittelschlüssel*. Max-Rubner-Institut: Karlsruhe, Germany, 2009.
- Institute of Medicine of the National Academies. *Dietary Reference Intakes for Energy, Carbohydrates, Fat, Fatty Acids, Cholesterol, Protein, and Amino Acids*. The National Academies Press: Washington, DC, USA, 2002.
- Mensink GB, Bauch A, Vohmann C, Stahl A, Six J, Kohler S *et al*. [EsKiMo - the nutrition module in the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2007; **50**: 902–908.
- Hoffmann I. *National nutrition Survey II*. Max Rubner-Institute (MRI), Federal Research Institute For Nutrition and Food: Karlsruhe, Germany, 2008.
- Muntau AC, Roschinger W, Habich M, Demmelmair H, Hoffmann B, Sommerhoff CP *et al*. Tetrahydrobiopterin as an alternative treatment for mild phenylketonuria. *N Engl J Med* 2002; **347**: 2122–2132.



- 10 Thiele AG, Weigel JF, Ziesch B, Rohde C, Mutze U, Ceglarek U *et al*. Nutritional changes and micronutrient supply in patients with phenylketonuria under therapy with tetrahydrobiopterin (BH(4)). *JIMD Rep* 2012; **9**: 31–40.
- 11 Murray TM. Prevention and management of osteoporosis: consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada. 4. Calcium nutrition and osteoporosis. *CMAJ* 1996; **155**: 935–939.
- 12 Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006; **5**: 949–960.
- 13 Matkovic V, Kostial K, Simonovic I, Buzina R, Brodarec A, Nordin BE. Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia. *Am J Clin Nutr* 1979; **32**: 540–549.
- 14 Beauchamp GK, Mennella JA. Early flavor learning and its impact on later feeding behavior. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; **48**(Suppl 1): S25–S30.
- 15 Rohde C, Mutze U, Weigel JF, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W *et al*. Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control. *Eur J Clin Nutr* 2012; **66**: 633–638.
- 16 Mendes AB, Martins FF, Cruz WM, da Silva LE, Abadesso CB, Boaventura GT. Bone development in children and adolescents with PKU. *J Inherit Metab Dis* 2012; **35**: 425–430.
- 17 Zhou Y, Hu Y, Ma Z, Zhao X, Yin S. [Relation of long-term consumption of school milk to bone density in children]. *Wei Sheng Yan Jiu* 2011; **40**: 65–67.
- 18 Du X, Zhu K, Trube A, Zhang Q, Ma G, Hu X *et al*. School-milk intervention trial enhances growth and bone mineral accretion in Chinese girls aged 10–12 years in Beijing. *Br J Nutr* 2004; **92**: 159–168.
- 19 Kalkwarf HJ, Specker BL, Heubi JE, Vieira NE, Yergey AL. Intestinal calcium absorption of women during lactation and after weaning. *Am J Clin Nutr* 1996; **63**: 526–531.
- 20 Allen JR, Humphries IR, Waters DL, Roberts DC, Lipson AH, Howman-Giles RG *et al*. Decreased bone mineral density in children with phenylketonuria. *Am J Clin Nutr* 1994; **59**: 419–422.
- 21 Nagasaka H, Tsukahara H, Takatani T, Sanayama Y, Takayanagi M, Ohura T *et al*. Cross-sectional study of bone metabolism with nutrition in adult classical phenylketonuric patients diagnosed by neonatal screening. *J Bone Miner Metab* 2011; **29**: 737–743.
- 22 Roth J, Bechtold S, Borte G, Dressler F, Girschick HJ, Borte M. Osteoporosis in juvenile idiopathic arthritis—a practical approach to diagnosis and therapy. *Eur J Pediatr* 2007; **166**: 775–784.
- 23 Walter JH. Vitamin B12 deficiency and phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; **104**: Suppl: S52–S54.
- 24 Robinson M, White FJ, Cleary MA, Wraith E, Lam WK, Walter JH. Increased risk of vitamin B12 deficiency in patients with phenylketonuria on an unrestricted or relaxed diet. *J Pediatr* 2000; **136**: 545–547.
- 25 Hvas AM, Nexø E, Nielsen JB. Vitamin B12 and vitamin B6 supplementation is needed among adults with phenylketonuria (PKU). *J Inherit Metab Dis* 2006; **29**: 47–53.
- 26 MacDonald A, Rocha JC, van RM, Feillet F. Nutrition in phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; **104**: Suppl: S10–S18.
- 27 Yen J, Zoumas-Morse C, Pakiz B, Rock CL. Folate intake assessment: validation of a new approach. *J Am Diet Assoc* 2003; **103**: 991–1000.
- 28 Sutor CJ, Gardner J, Willett WC. A comparison of food frequency and diet recall methods in studies of nutrient intake of low-income pregnant women. *J Am Diet Assoc* 1989; **89**: 1786–1794.
- 29 Ahring K, Belanger-Quintana A, Dokoupil K, Gokmen OH, Lammardo AM, MacDonald A *et al*. Dietary management practices in phenylketonuria across European centres. *Clin Nutr* 2009; **28**: 231–236.

4 Diskussion

Die in den 1960er Jahren etablierte diätetische Therapie bei klassischer PKU ist trotz der nachfolgenden Entwicklung alternativer Therapieoptionen die Therapie der Wahl. An der Enzyersatztherapie (Blau, 2010; Belanger-Quintana et al., 2011; Sarkissian et al., 2011) und der Gentherapie (Ding et al., 2006; Thony, 2010; Belanger-Quintana et al., 2011) wird intensiv gearbeitet. Die Therapie mit dem Cofaktor Sapropterindihydrochlorid ist nur für eine kleine Gruppe von BH_4 -sensitiven PKU-Patienten möglich (Lambruschini et al., 2005; Burnett, 2007; Thiele et al., 2013). Für viele dieser Patienten ist die Cofaktorgabe eine adjuvante Therapie zur gelockerten Phe-restriktiven Diät (Fiege and Blau, 2007; Hennermann et al., 2005; Trefz et al., 2009). Somit kommt der Verbesserung der diätetischen Therapie ein besonderer Stellenwert zu. Ein großer Fortschritt wurde in den letzten Jahrzehnten im Hinblick auf die Auswahl der eiweißarmen Lebensmittel und der Aminosäuremischungen erzielt (Wachtel, 2004). Nichtsdestotrotz ist die strikte Einhaltung der Diät und das Erreichen, bzw. Halten optimaler Phe-Konzentrationen im Plasma für viele Patienten schwierig (MacDonald et al., 2010). Dies ist jedoch für eine normale geistige und körperliche Entwicklung sowie einen optimalen Langzeitverlauf unabdingbar. Unter diesem Aspekt und in Bezug auf die seit einigen Jahren ausgesprochene Empfehlung, die Phe-arme Diät Therapie lebenslang einzuhalten (Burton and Leviton, 2010; Trefz et al., 2011), ist es von größter Bedeutung, die Patienten zu motivieren, ihre Therapie konsequent durchzuführen.

Aufgrund dessen ist es dringend erforderlich, das Ernährungsregime weiter zu verbessern, bzw. Möglichkeiten zur Vereinfachung zu finden. Verschiedene Aspekte sind hierbei zu beachten: Die praktische Durchführbarkeit der Diät, die Einhaltung der Phe-Restriktion, die Auswahl und Finanzierbarkeit von Speziallebensmitteln und nicht zuletzt die psychische Entlastung der Patienten. Gleichzeitig muss eine optimale Versorgung der Patienten mit Energie sowie allen Makro- und Mikronährstoffen gewährleistet sein.

Die ersten beiden der vorliegenden Arbeiten untersuchten die Vereinfachung der Diätführung bei klassischer PKU in Hinblick auf den Verzehr von Obst und Gemüse. Die dritte Arbeit setzte sich mit der optimalen Versorgung von Mikronährstoffen bei Patienten mit hoher Phe-Toleranz auseinander. Alle drei Arbeiten konnten hier das Wissen um die

bestehenden Therapiemöglichkeiten erweitern und weisen neue Therapievarianten auf, die den Patienten langfristig zugutekommen.

4.1 Interventionsstudie zur Freigabe von Obst und Gemüse in der Diät bei klassischer Phenylketonurie

Mit dieser offenen, kontrollierten Studie konnte gezeigt werden, dass sich bei Kindern im Alter von 2-10 Jahren mit klassischer PKU unter uneingeschränktem und nicht berechnetem Verzehr von Obst und Gemüse die metabolische Einstellung nicht verschlechtert. Zur Beurteilung wurden die durchschnittliche Höhe der Phe-Konzentrationen im Plasma sowie die Anzahl der Werte oberhalb des therapeutischen Bereichs betrachtet. Während der Studie konnten die Patienten durch die Freigabe und damit Nichtberechnung von Obst und Gemüse ihre Phe-Zufuhr um durchschnittlich 58 mg/Tag erhöhen. Das entsprach einer knapp 20%igen Steigerung der täglichen Zufuhr an natürlichem Protein.

Dabei führte diese zusätzliche Aufnahme von Phe durch Obst- und Gemüsefreigabe nicht zu erhöhten Phe-Konzentrationen im Trockenblut. Bei der Berechnung der täglichen Phe-Zufuhr wird üblicherweise nicht unterschieden, ob das Protein bzw. das Phe tierischer oder pflanzlicher Herkunft ist. Der Phe-Gehalt aus den verschiedenen Lebensmittelgruppen gemessen an Phe pro Gramm Eiweiß ist allerdings sehr unterschiedlich, z.B. enthält Rindfleisch 48 mg, Eiklar 69 mg, Milchprodukte 51 mg, Brot 58 mg, Obst 27 mg, Gemüse 35 mg pro Gramm Protein (Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Diätetik, 2009). Die Resorptionsrate von Protein aus dem Darm hängt stark vom Ballaststoffgehalt des entsprechenden Lebensmittels und dem Ballaststoffgehalt der gesamten Nahrung ab. Ein höherer Ballaststoffgehalt, wie er z.B. in Gemüse und Obst vorkommt, führt zu einer verminderten Resorption von Protein (Gilani and Ratnayake, 2004). Entsprechend ist eine niedrige Resorptionsrate mit einer höheren Stickstoffausscheidung über die Fäzes verbunden (Popkins, 1981; Eggum, 1995). Somit ist es denkbar, dass aufgrund der schlechten Proteinresorption in Gegenwart von Ballaststoffen die Zufuhr von großen Mengen an Obst und Gemüse eine höhere Phe-Toleranz zulässt. Um dies überprüfen zu können, müssten Daten zum Ballaststoffgehalt von Fertigprodukten und Speziallebensmittel der PKU-Diät von den Herstellern mitgeteilt werden.

Wider Erwarten haben unsere Patienten bei der Freigabe nicht mehr Obst und Gemüse verzehrt, als in den Wochen der Obst- und Gemüsebilanzierung. Die zusätzlich gewonnene Freiheit der Patienten wurde genutzt, um mehr von anderen, natürlichen Lebensmitteln, zu verzehren. Dies führte zu keinen signifikanten Änderungen der Gesamtkohlenhydrat- und Fettzufuhr, da jeweils nur kleine Mengen aufgenommen wurden. Folgende zusätzliche Nahrungsmittel wurden beispielsweise verzehrt: eine viertel Scheibe Graubrot (30 mg Phe), die 4 g Kohlenhydrate und kaum Fett enthält und 3 g Gouda oder Rindfleisch (30 mg Phe) die keine Kohlenhydrate und weniger als 1 g Fett enthalten (Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Diätetik, 2009).

Die wünschenswerte Erhöhung des Gesamtverzehr von Obst und Gemüse durch die Freigabe dieser Lebensmittelgruppe ist nicht eingetroffen. Im Vergleich zur Ernährung gesunder Kinder in Deutschland zeigt sich jedoch, dass die PKU Patienten zwar weniger Obst und Gemüse verzehren als empfohlen, aber bereits weit mehr als die gesunde Vergleichsbevölkerung (Heseker, 2008). Die VELS-Studie (Banasiak et al., 2005), die den Lebensmittelverzehr von Kindern im Alter von sechs Monaten bis vier Jahren untersuchte und die EsKiMo-Studie (Heseker, 2008) als Modul der KIGGS-Studie, die den Lebensmittelverzehr von 6- bis 11-jährigen gesunden Kindern in der Bundesrepublik untersuchte, zeigen, dass nur etwa 50% der empfohlenen Mengen an Obst und Gemüse verzehrt werden. In einer anderen Studie bei 2- bis 18-Jährigen, die im Krankenhaus die Bestellmengen der unterschiedlichen Lebensmittelgruppen erfasste (Kapellen et al., 2006) zeigte sich, dass von Kindern aller Altersgruppen weniger Obst und Gemüse bestellt wird, als es den Verzehrsempfehlungen (Forschungsinstitut für Kinderernährung, 2007) entspricht. Daraufhin wurden ernährungserzieherische Interventionen unternommen, mit dem Ziel das Ernährungsverhalten zu verbessern, unter anderem hinsichtlich des Obst- und Gemüseverzehr: Erweiterung des Auswahlangebot mit zusätzlichen Menükomponenten von Obst und Gemüse und positiver Bewertung von Obst und Gemüse auf der Bestellliste. Diese wenig direktiven Interventionen brachten keine Änderung des Verhaltens mit sich (Rohde et al., 2008). Die PKU-Patienten unserer Studie nahmen hingegen bereits ca. 80% der empfohlenen (Forschungsinstitut für Kinderernährung, 2007) Obst- und Gemüsemenge zu sich. Dies ist auf den vegetarischen Charakter der Ernährungsweise bei PKU zurückzuführen. Darüber hinaus ist ganz allgemein die Höhe des Obst- und Gemüseverzehr von

verschiedenen Faktoren abhängig. Hier spielen das elterliche Vorbild (Kremers et al., 2003; Young et al., 2004; Zabinski et al., 2006; De Bourdeauhuij, I et al., 2008), der Erziehungsstil (Kremers et al., 2003; Young et al., 2004; Zabinski et al., 2006; De Bourdeauhuij, I et al., 2008) und auch die Kenntnis der Ernährungsempfehlungen der Fachgesellschaften (Kremers et al., 2003; Young et al., 2004; Zabinski et al., 2006; De Bourdeauhuij, I et al., 2008) eine Rolle. Eine deutliche Veränderung des Ernährungsverhaltens innerhalb der Studiendauer von nur wenigen Wochen war daher hier kaum zu erwarten.

Auch wenn die Freigabe von Obst und Gemüse deren Verzehr zwar nicht steigern konnte, so konnte eine Lebensmittelgruppe identifiziert werden, die bezüglich ihres Phe-Gehaltes in der Diät bei PKU nicht bilanziert werden muss. Das bietet Patienten und insbesondere Kindern mit PKU einen neuen Freiraum beim Essen. Das Abwiegen und Berechnen des Phe-Gehaltes entfällt. Kinder mit PKU müssen vor dem Verzehr von Obst und Gemüse nicht um Erlaubnis hinsichtlich des Diätplans fragen. Auch die freie Teilnahme an Obst Mahlzeiten in Kindergarten und Schule ist damit möglich. Eine derartige Vereinfachung der Diätführung könnte Essstörungen vorbeugen, die chronische Erkrankungen häufig mit sich bringen und die auch bei PKU beobachtet wurden (Antisdell and Chrisler, 2000).

4.2 Langzeitbeobachtung zur Freigabe von Obst und Gemüse in der Diät bei klassischer Phenylketonurie

Im Anschluss an die Interventionsstudie (Rohde et al., 2012) wurde eine Langzeitbeobachtung über ein Jahr zur Freigabe von Obst und Gemüse in der Diät bei klassischer PKU durchgeführt. Wie bereits in der initialen Interventionsstudie wurde hier die durchschnittliche Höhe der Phe-Konzentrationen im Plasma sowie die Anzahl der Werte oberhalb des therapeutischen Bereichs beurteilt. Die einjährige Freigabe von Obst und Gemüse führte in beiderlei Hinsicht zu keinerlei Therapieverschlechterung im Vergleich zur klassischen Therapie. Die während der kurzzeitigen Interventionsstudie beobachtete höhere Anzahl von Phe-Konzentrationen im Trockenblut oberhalb des therapeutischen Bereiches (Rohde et al., 2012) ließ sich in der Langzeitbeobachtung nicht mehr nachweisen. Vielmehr zeigte sich ein Trend zur Verbesserung der metabolischen Einstellung der Patienten ein Jahr nach Beginn der Freigabe von Obst- und Gemüse. Ähnliche Ergebnisse ergaben zwei Studien anderer Arbeitsgruppen. Die erste Studie (MacDonald et al., 2003) wurde während eines

stationären Aufenthaltes der Patienten unter Verwendung standardisierter Mahlzeiten durchgeführt. Die gewonnenen Erkenntnisse sind jedoch im Vergleich zu unserer Studie damit nur eingeschränkt auf den Alltag der Patienten übertragbar. In der Studie von Zimmermann et al., 2012 wurde Kindern und Erwachsenen mit klassischer PKU sowie mit Hyperphenylalaninämien eine vereinfachte Form der Diätführung angeboten, bei der alle Lebensmittel gruppenweise als Pauschale berechnet wurden. Auch der gesamte Obst- und Gemüseverzehr geht als Pauschale in die tägliche Berechnung ein. In dieser Untersuchung wurden ebenfalls keine Therapieeinbußen verzeichnet. Als Nachteil dieser Studie ist jedoch anzumerken, dass Obst und Gemüse zwar nicht gewogen werden mussten, aber nicht zusätzlich zur bisher eingehaltenen Phe-Toleranz verzehrt werden konnten, wie es in unserer Studie der Fall war. Zudem wurde die Studie nicht getrennt für Kinder und Erwachsene ausgewertet, so dass nicht ersichtlich ist, wie die vulnerable Patientengruppe der Kinder unter zehn Jahren auf die Diätmodifizierung reagiert hat (Zimmermann et al., 2012).

Auch über den Zeitraum von einem Jahr kam es durch den zusätzlich gewonnenen Freiraum durch Obst- und Gemüsefreigabe nicht zur Steigerung des Obst- und Gemüseverzehrs. Die eingesparte tägliche Phe-Zufuhr wurde wie bereits in der Interventionsstudie für den Verzehr anderer proteinhaltiger und damit berechnungspflichtiger Lebensmittel genutzt. Die bei den Studienpatienten nach einem Jahr festgestellte erhöhte Phe-Zufuhr von durchschnittlich 68 mg/Tag entspricht einer Steigerung der täglichen Phe-Toleranz um 28%. 68 mg Phe erscheinen in der Ernährung gesunder Personen unerheblich, bieten aber für ein Kind mit PKU einen bedeutenden Spielraum, indem es z.B. 1 kleine Portion (70 g) Softeis oder 10 g feine Leberwurst (Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Diätetik, 2009) zusätzlich verzehren kann. Den größten Gewinn haben die Patienten allerdings in dem neu gewonnenen Freiraum Obst und Gemüse verzehren zu können, ohne wiegen und berechnen zu müssen.

4.3 Mikronährstoffversorgung von Patienten mit Phenylketonurie mit hoher Phenylalanintoleranz

Aufgrund der stark reglementierten Diät von PKU-Patienten mit eingeschränkter Lebensmittelauswahl und Supplementierung Phe-freier Aminosäuremischungen wurde und wird die Nährstoffversorgung der Patienten intensiv untersucht (MacDonald et al., 2011).

Dabei ist insbesondere ist die Protein- und die Mikronährstoffversorgung der Patienten Gegenstand verschiedener Untersuchungen. Die Proteinzufuhr wird vor allem mit dem Wachstum der Patienten in Verbindung gebracht (Schulz and Bremer, 1995; Hoeksma et al., 2005; Fisberg et al., 1999; Dobbelaere et al., 2003). Zur Bewertung der Mikronährstoffversorgung wurde die Zufuhr erfasst oder die Plasmakonzentrationen einzelner Mikronährstoffe bestimmt. Oftmals wurden jedoch nur ausgewählte, als besonders kritisch in der Ernährung der PKU-Patienten angesehene Mikronährstoffe untersucht. Dazu zählen Eisen (Acosta, 1996; Arnold et al., 2001; Bodley et al., 1993; Schulpis et al., 2010), Zink (Acosta, 1996; Barretto et al., 2008; Dobbelaere et al., 2003; Fisberg et al., 1999), Vitamin B12 (Aung et al., 1997; Hanley et al., 1996; Robinson et al., 2000; Strisciuglio et al., 1995; Vugteveen et al., 2011), Vitamin D (de Groot et al., 2012; Modan-Moses et al., 2007; Nagasaka et al., 2011) und Kalzium (Murray, 1996; Mendes et al., 2008; Allen et al., 1994; Mendes et al., 2012). Die Versorgung mit Vitamin D und Kalzium wurde besonders im Hinblick auf die Knochendichte der PKU-Patienten begutachtet (Nagasaka et al., 2011; Allen et al., 1994).

Die Frage der Mikronährstoffversorgung ist insbesondere für Patienten mit höherer Phe-Toleranz relevant. Für die Zusammensetzung der Aminosäuremischungen bezüglich ihres Gehalts an Mikronährstoffen gibt es keine internationalen Standards (MacDonald et al., 2011). Während einige Aminosäuremischungen den Tagesbedarf an Mikronährstoffen vollständig decken, liefern andere nur anteilige Mengen. Bisher ist nicht geklärt, ob Patienten mit hoher Phe-Toleranz ausreichend mit Mikronährstoffen versorgt werden. Sie erhalten in der Regel geringere Mengen der Aminosäuremischung. Es gibt keine verfügbaren zuverlässigen Daten über die Höhe der Mikronährstoffzufuhr aus ihrer natürlichen Nahrung. Diese Fragestellung betrifft insbesondere folgende Patientengruppen: Patienten mit (milden) Hyperphenylalaninämien, Jugendliche und Erwachsene, die gegebenenfalls eine höhere Toleranz aufweisen als im Kindesalter und BH_4 -sensitive Patienten, die Sapropterindihydrochlorid als Ergänzung zur diätetischen Therapie bekommen. Diese Patienten benötigen auf ihr Alter und Körpergewicht bezogen eine geringere Menge an Protein aus der Aminosäuremischung, da die Proteinzufuhr aus der natürlichen Nahrung deutlich höher ist. Die Frage nach der Mikronährstoffversorgung ist bislang auch nicht für die relativ neue Gruppe der BH_4 -sensitiven Patientenausreichend beantwortet.

Die tatsächlich aufgenommenen Mengen an Nährstoffen zu erfassen bereitet in der Regel große Schwierigkeiten (Yen et al., 2003; Sutor et al., 1989). Im Gegensatz zur gesunden Bevölkerung sind PKU-Patienten, bzw. ihre Eltern, jedoch von Geburt an geschult, genaue Lebensmittelverzehrsmengen zu dokumentieren (Ahring et al., 2009). Damit ist es möglich, zuverlässige Daten aus repräsentativen (Wiege-) Nahrungsprotokollen zu erhalten.

In der hier vorgestellten Studie wurde neben der Mikronährstoffzufuhr auch die Zufuhr essentieller Aminosäuren unter hoher Phe-Toleranz untersucht.

Abhängig von der Höhe der Proteinzufuhr aus der natürlichen Nahrung und der Zufuhr an Aminosäuremischung, erfolgte in unsere Studie die Einteilung der Patienten in Gruppen. Zunächst wurden zwei Gruppen gebildet, eine bestehend aus Patienten, die keine Aminosäuremischung einnehmen und eine bestehend aus Patienten, die eine Aminosäuremischung benötigen. Aus der letzteren wurden zwei Untergruppen gebildet, je nach Gesamtproteinzufuhr von über oder unter 120% der Empfehlungen. Bezüglich der Proteinversorgung von PKU-Patienten mit hoher Phe-Toleranz finden sich in der Literatur bisher nur Aussagen zur Gesamtproteinversorgung und keine zur Versorgung mit essentiellen Aminosäuren. Die Proteinversorgung wird als ausreichend dargestellt (Schulz and Bremer, 1995; Hoeksma et al., 2005; Fisberg et al., 1999; Dobbelaere et al., 2003). Dies ist in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der hier vorgestellten Studie. Sowohl die Proteinzufuhr, als auch die Zufuhr aller essentiellen Aminosäuren lag bei der Patientengruppe mit und der Gruppe ohne Einnahme einer Aminosäuremischung signifikant über den Empfehlungen.

Die Versorgung mit Mikronährstoffen ist hingegen stark vom Regime der Diätführung abhängig. Da die Empfehlung für die Proteinzufuhr bei PKU-Patienten (Mönch and Link, 2006) ca. 20 % über den Empfehlungen für die gesunde Bevölkerung liegt, untersuchten wir, ob auch bei einer Proteinzufuhr von über 120% der Empfehlungen die Mikronährstoffzufuhr ausreichend ist. Obwohl die Proteinzufuhr der Patienten, die keine Aminosäuremischung nahmen im Median bei 150% der Empfehlungen lag, war die Mikronährstoffversorgung hier nicht ausreichend. Patienten, die eine Aminosäuremischung nahmen, aber mit der Gesamtproteinzufuhr unter 120% lagen und weniger als 0,5 g Protein pro kg Körpergewicht aus der Aminosäuremischung zuführten, waren ebenfalls dem Risiko einer Mikronährstoffunterversorgung ausgesetzt. Adäquat versorgt waren nur die Patienten,

deren Proteinzufuhr über 120% der Empfehlungen lag und die mindestens 0,5 g Protein pro kg Körpergewicht aus der Aminosäuremischung aufnahmen.

Vitamin B₁₂ war der einzige Mikronährstoff in unserer Studie, der gruppenunabhängig in ausreichender Menge aufgenommen wurde. Die Ergebnisse anderer Studien zeigen jedoch das Risiko einer Vitamin B₁₂-Unterversorgung auf, insbesondere bei Patienten, die keine Aminosäuremischung nehmen (Walter, 2011). In einer Studie konnten erwachsene PKU-Patienten, die keine Aminosäuremischung mehr einnahmen, aber mit langkettigen neutralen Aminosäuren behandelt wurden mehr natürliches Protein zu sich nehmen. Ihre Esstagebuchaufzeichnungen zeigten, dass dennoch die Vitamin B₁₂-Zufuhr nicht ausreichend ist (Hvas et al., 2006). Eine andere Studie fand bei Patienten mit unbegrenzter oder hoher Phe-Toleranz, die keine oder nur kleine Mengen Aminosäuremischung eingenommen haben, Vitamin B₁₂-Plasmaspiegel unter den Normwerten (Robinson et al., 2000). In unserer Studie haben wir die Vitamin B₁₂-Plasmaspiegel für eine Untergruppe von 23 Patienten erhoben. Sie lagen alle im Normbereich oder darüber, unabhängig davon, ob eine Aminosäuremischung genommen wurde oder nicht. Trotz dieses erfreulichen Ergebnisses unserer Studie sollten regelmäßige Kontrollen der Vitamin B₁₂-Versorgung durchgeführt werden (MacDonald et al., 2011), insbesondere mit Patienten, die keine Aminosäuremischung nehmen. Aufgrund der begrenzten Aussagekraft der Vitamin B₁₂-Plasmaspiegel empfehlen wir außerdem die Bestimmung der Methylmalonsäure im Urin, die bei Vitamin B₁₂-Unterversorgung ansteigt (Hvas et al., 2006; Walter, 2011).

Unsere Studienpatienten wiesen insbesondere eine unter den Empfehlungen und unter der, der gesunden Bevölkerung liegende Vitamin C-Zufuhr auf. Das widersprach den Erwartungen, denn die Hauptlieferanten für Vitamin C sind Obst und Gemüse, die wenig Protein enthalten und damit einen bedeutenden Anteil an der PKU-Diät ausmachen. Wir konnten zeigen, dass Patienten mit klassischer PKU mehr Obst und Gemüse zu sich nehmen, als Gesunde im gleichen Alter (Rohde et al., 2012). Im Gegensatz dazu wurde beobachtet, dass die Lockerung der Diät aufgrund von BH₄-Sensitivität und gesteigener Phe-Toleranz hinsichtlich Obst und Gemüse zu einer Verschlechterung der Nahrungsauswahl geführt hat (Thiele et al., 2013) und sich den Ernährungsgewohnheiten Gesunder angepasst hat. Der Verzehr ging zurück und führte folglich auch zu einer geringeren Vitamin C-Aufnahme.

Auch die Eisenzufuhr liegt bei den Patienten ohne Aminosäuremischung unter den Empfehlungen und unter der Zufuhr bei der gesunden Bevölkerung. Dies wurde auch bei Patienten beobachtet, die keine Diät mehr einhalten (Schulpis et al., 2010). Bei anderen Untersuchungen zeigte sich trotz einer ausreichenden Eisenzufuhr zu niedrige Ferritinspiegel (Bodley et al., 1993; Acosta, 1996; Miranda da Cruz et al., 1993) und eine Anämie (Arnold et al., 2001). Zur Erklärung werden folgende Ursachen diskutiert: Einerseits könnten Ballaststoffe die Resorption von Eisen aus dem Darm beeinträchtigen (Acosta, 1996). Andererseits könnten zweiwertige Kationen wie Kalzium und Zink, die ebenfalls Bestandteile der Aminosäuremischungen sind, die Resorption von Eisen kompetitiv hemmen (Acosta, 1996). Aufgrund der in einigen Studien dargestellten Eisenmangelversorgung bei PKU Patienten, sollte ein besonderes Augenmerk darauf gesetzt werden, die Versorgung zu gewährleisten, um eine Unterversorgung und deren Langzeitfolgen zu vermeiden. Gegebenenfalls sollten die Supplementation von Eisen unabhängig und zeitversetzt zur Zufuhr einer Aminosäuremischung erfolgen.

Die Zinkzufuhr unserer Patienten ohne Aminosäuremischung und der Patienten mit einer Gesamtproteinzufuhr unter 120% der Empfehlungen lag grenzwertig, aber nicht signifikant unterhalb den Empfehlungen. Andere Studien konnten Zinkdefizite bei PKU-Patienten anhand von Messungen der Zinkkonzentration in Erythrozyten (Barretto et al., 2008) und Haaren (Taylor et al., 1984) feststellen. Auch bei Patienten mit klassischer PKU, die ab dem Neonatalalter behandelt worden sind, konnten bereits Zinkdefizite nachgewiesen werden (Acosta, 1996; Fisberg et al., 1999). Eine Unterversorgung u.a. mit Zink kann mit einem verminderten Längenwachstum einhergehen (Fisberg et al., 1999; Thiele et al., 2013; Ozmen et al., 2013). Außerdem kann sie das Risiko erhöhen, im späteren Verlauf des Lebens eine Herz-Kreislaufkrankung zu entwickeln (Rocha and Martins, 2012). Ob PKU-Patienten dafür ein höheres Risiko tragen, kann noch nicht abgeschätzt werden, da sich Komorbiditäten oft erst Jahrzehnte später einstellen. Die PKU-Diät wurde erst vor 40 Jahren etabliert. Selbst die ältesten PKU-Patienten, die frühzeitig und konsequent therapiert wurden sind noch zu jung, um die Situation abschließend beurteilen zu können.

Besorgniserregend ist die unter den Empfehlungen liegende Kalzium- und Vitamin D-Aufnahme bei Patienten, die keine Aminosäuremischung einnehmen. Eine niedrige Kalzium- und Vitamin D-Zufuhr zeigte sich auch in einer anderen Studie (Mendes et al., 2012). Um

eine ausreichende Kalzium- und Vitamin D-Zufuhr zu gewährleisten, sind die Aminosäuremischungen damit angereichert. Sobald die Patienten keine oder nur wenig Aminosäuremischung einnehmen, ist die Kalzium- und Vitamin D- Zufuhr zu gering und eine zusätzliche Supplementierung muss in Erwägung gezogen werden. In Untersuchungen an Gesunden steht die Knochendichte in engem Zusammenhang mit der Kalziumaufnahme während der Kindheit (Zhou et al., 2011; Du et al., 2004; Kalkwarf et al., 2003). Studien an PKU-Patienten konnten eine reduzierte Knochenmasse aufzeigen, trotz frühzeitig begonnener und kontinuierlicher Behandlung und ausreichender Zufuhr von Kalzium und Vitamin D über die Aminosäuremischung (Allen et al., 1994; Nagasaka et al., 2011). Andere Untersucher können bei PKU-Patienten keinen Zusammenhang zwischen der Kalzium- und Vitamin D-Aufnahme und einer verminderten Knochendichte feststellen (Koura et al., 2011; Modan-Moses et al., 2007). Es gibt bislang nur wenige Daten zur Knochendichte von erwachsenen PKU-Patienten, insbesondere von denen, mit hoher Phe-Toleranz.

Insgesamt muss aufgrund der vorliegenden Daten eine ausreichende Mikronährstoffzufuhr bei PKU-Patienten mit hoher Phe-Toleranz und einer Proteinzufuhr unter 120% der Empfehlungen deutlich in Frage gestellt werden. Die in Deutschland übliche Empfehlung zur Proteinzufuhr von 120 % und der noch höheren Empfehlung in Großbritannien (Ahring et al., 2009) ist sicher ein brauchbares Mittel zur Gewährleistung einer ausreichenden Versorgung, vorausgesetzt die PKU-Patienten erhalten mindestens 0,5 g Protein pro kg Körpergewicht aus der Aminosäuremischung. Damit kann vermutlich auch eine ausreichende Mikronährstoffversorgung gewährleistet werden.

Die Anzahl der Patienten mit einer hohen Phe-Toleranz wird aufgrund der erfolgversprechenden Cofaktortherapie mit Sapropterindihydrochlorid weiter zunehmen (Muntau et al., 2002; Thiele et al., 2013). Da diese Therapie derzeit nicht von Geburt an möglich ist, werden Patienten ihre Ernährungsgewohnheiten mit Therapieumstellung verändern müssen. Da Ernährungsgewohnheiten im Allgemeinen im Kindesalter geprägt werden und sich im Lauf des Lebens kaum verändern (Beauchamp and Mennella, 2009), erscheint es um so wichtiger, die Nährstoffversorgung der Patienten mit hoher Phe-Toleranz kontinuierlich zu überprüfen und anzupassen. Zusätzlich könnte ein Mikronährstoffpräparat für PKU-Patienten entwickelt werden, welches unabhängig von der Aminosäuremischung

verabreicht werden kann. Damit könnte die PKU-Diät deutlich individueller gestaltet werden, wovon die Patienten langfristig profitieren würden.

4.4 Schlussfolgerungen

Die Vereinfachung der Diätführung bei PKU, in der Obst und Gemüse nicht berechnet werden müssen, bietet den Patienten ab dem dritten Lebensjahr in zweifacher Hinsicht mehr Freiraum. Einerseits wird die Phe-Zufuhr erhöht und andererseits kann der Patient eine große Lebensmittelgruppe verzehren, ohne dass er wiegen und berechnen muss. Weiterführende Studien, die folgende Fragestellungen untersuchen, wären in mehrfacher Hinsicht wünschenswert: Kann Obst und Gemüse schon während der Beikosteinführung ohne Berechnung verzehrt werden? Können diese Ergebnisse auf andere Proteinstoffwechselerkrankungen übertragen werden? Gibt es weitere Möglichkeiten zur Vereinfachung der Diätführung, eventuell das Nichtberechnen von eiweißarmen Lebensmitteln?

Eine ausreichende Versorgung mit Mikronährstoffen bei Patienten mit hoher Phe-Toleranz, die eine Proteinzufuhr von 120% der Empfehlungen nicht erreichen oder weniger als 0,5 g Protein pro kg Körpergewicht aus einer Aminosäuremischung zu sich nehmen ist nicht gesichert. Unter diesem Gesichtspunkt ist es unabdingbar, diese Patienten in diätetischer Hinsicht kontinuierlich zu begleiten und zu betreuen. Die Entwicklung eines speziell zusammengestellten Mikronährstoffpräperates für diese Patientengruppe erscheint hier sinnvoll.

5 Zusammenfassung

Die PKU ist eine der häufigsten angeborenen Stoffwechselerkrankungen. Aufgrund der verminderten Phenylalaninhydroxylaseaktivität der Leber kann die Aminosäure Phe nicht zu Tyrosin metabolisiert werden. Unbehandelt führt die Erkrankung zu schwerster psychomotorischer Retardierung. Durch Einführung des Neugeborenen Screenings können die Patienten direkt nach der Geburt identifiziert werden bevor schwerwiegende Symptome der Erkrankung auftreten. Dadurch kann frühzeitig (präsymptomatisch) mit einer lebenslangen Phe-armen Diät begonnen werden. Dies ermöglicht eine normale mentale und physische Entwicklung der betroffenen Patienten. Die diätetische Therapie erfordert die Einnahme einer Aminosäuremischung, die auch Vitamine und Mineralstoffe enthält.

Um zu untersuchen, ob Obst und Gemüse in der Diät berechnet werden müssen, wurde eine offene cross-over Studie und eine Langzeitbeobachtung (**Publikation 1 und 2**) durchgeführt. Insgesamt haben 19 Kinder mit PKU im Alter von 2-10 Jahren, die ein halbes Jahr vor Studienbeginn eine gute metabolische Einstellung aufgewiesen hatten, daran teilgenommen. Sie haben jeweils zwei Wochen lang die Diät mit bzw. ohne Berechnung von Obst und Gemüse durchgeführt. Nach Auswertung der Daten wurde Obst und Gemüse nicht berechnet. Während der ersten beiden Studienphasen und nach sechs und zwölf Monaten haben die Patienten Esstagebücher geschrieben und jeweils am Folgetag Trockenblutkarten getropft, um die die Obst- und Gemüsezufuhr, die Nährstoffaufnahme und die metabolische Einstellung bestimmen zu können.

Während der ersten beiden Studienphasen ist die Phe-Zufuhr signifikant um 65 mg pro Tag angestiegen. Nach sechs Monaten stieg sie pro Tag um 68 mg und nach zwölf Monaten um 70 mg. Die Phe-Werte aus dem Plasma hingegen sind über alle Studienphasen hinweg stabil geblieben. Die Anzahl der Phe-Konzentrationen über dem therapeutischen Zielbereich blieb ebenfalls unverändert. Interessanter Weise wurde über die Studiendauer von einem Jahr trotz der größeren Flexibilität in der Diätführung nicht mehr Obst und Gemüse verzehrt.

Aus diesen Studien kann gefolgert werden, dass die Lockerung der Diät hinsichtlich der Nichtberechnung von Obst und Gemüse als unbedenklich angesehen werden kann. Die Mehraufnahme von 70 mg Phe ist für einen Gesunden unerheblich, bringt aber einem Kind mit klassischer PKU einen erheblichen Vorteil. Mehr als die zusätzlich zu verzehrende Menge

an Phe bietet sich den Patienten eine neue Freiheit in der Diätführung in Bezug auf eine wichtige Lebensmittelgruppe.

Um einer Unterversorgung mit Mikronährstoffen vorzubeugen, erhalten Patienten mit klassischer PKU Aminosäuremischungen, die mit Mikronährstoffen angereichert sind. Die Beimischung ist auf den Proteinbedarf bei klassischer PKU abgestimmt. Um die Zufuhr der essentiellen Aminosäuren und der Mikronährstoffe bei Patienten mit hoher Phe-Toleranz zu untersuchen (**Publikation 3**) wurden von 67 Kindern und Erwachsenen, deren tägliche Phe-Toleranz über 600 mg lag, 3-tägige Esstagebücher mit Aufzeichnungen über alle verzehrten Lebensmittel, Getränke und der Aminosäuremischung ausgewertet.

Es konnte gezeigt werden, dass alle Patienten ausreichende Mengen an essentiellen Aminosäuren zu sich nehmen, unabhängig davon ob sie eine Aminosäuremischung einnehmen oder nicht. Die Mikronährstoffzufuhr hingegen ist abhängig vom Diätregime. Patienten, deren Proteinzufuhr über 120% der Empfehlungen lag und bei denen mindestens 0,5 g Protein pro Kilogramm Körpergewicht aus einer Aminosäuremischung stammt, wurden ausreichend mit allen untersuchten Mikronährstoffen versorgt. Alle Patienten, die keine Aminosäuremischung nahmen, zeigten starke Defizite in der Mikronährstoffzufuhr.

Eine engmaschige Begleitung, individuelle Ernährungsberatung und eventuelle Supplementierung von fehlenden Mikronährstoffen ist dringend empfohlen, um einem Nährstoffmangel vorzubeugen.

Die vorliegenden Arbeiten zeigen wertvolle und wichtige Verbesserungen der Diät für PKU-Patienten auf. Sie tragen zum Schutz vor Unterversorgung und zur Vereinfachung eines sehr strengen Diätregimes bei. Damit sind die Ergebnisse der Studien nicht nur klinisch-wissenschaftlich interessant sondern vor allem für den Alltag unserer Patienten relevant. Nicht zuletzt dient hier die PKU auch als Modellerkrankung für andere angeborene Stoffwechselerkrankungen, die einer eiweißarmen Diät bedürfen. Die Übertragbarkeit unserer Ergebnisse auf andere Patientengruppen ist derzeit Gegenstand weiterer Untersuchungen.

6 Summary

Phenylketonuria is one of the most common inborn metabolic diseases. The amino acid phenylalanine cannot be metabolized to tyrosine because of deficient activity of phenylalaninedehydroxylase in the liver. Untreated patients suffer from severe mental and physical disability. Since the introduction of newborn screening patients can be identified presymptomatically and early dietary treatment is possible. The diet allows normal physical and mental development. To avoid malnutrition the substitution of a Phe free amino acid mixture containing also micronutrients is necessary.

To provide sufficient amounts of micronutrients, these are added to the currently available amino acid mixtures. The micronutrient concentration respects the needs of patients with classical PKU, receiving the vast majority of daily protein by amino acid mixtures. To investigate whether fruits and vegetables have to be taken into account of the diet (**study 1 and 2**), an open cross-over study with a long term follow up was designed. All in all 19 children, aged two to ten years, with classical PKU under good metabolic control were included. Metabolic control and dietary habits of two periods (restricted fruit and vegetable intake versus free fruit and vegetable intake) were compared. As no impact of metabolic control during the unrestricted fruit and vegetable consumption occurred, the diet was liberalized accordingly. Dried blood Phe-concentrations were monitored regularly and recorded after two weeks, four weeks, six and twelve month and nutrient intake was analysed from diet diaries. Even after six and twelve month metabolic control was unchanged, despite a mean gain of Phe-tolerance of 70 mg daily. Interestingly, despite increased diet flexibility, basic eating habits and total fruit and vegetable intake remained unchanged.

In conclusion, it can be stated that diet liberalisation for fruits and vegetables seems unproblematic. The increase of 70 mg of phenylalanine would be irrelevant for a healthy subject, but it offers a considerable gain in quality of life to a child with classical PKU.

To investigate the supply of essential amino acids and micronutrients 67 children and adults with a daily phenylalanine tolerance > 600 mg were asked to write a three day diet record (**study 3**). According to our data, all patients were sufficiently supplied of protein and all essential amino acids.

In contrast the supply of micronutrients depended on the dietary regime. Patients with a total protein supply of 120% or more of the recommended amount and at least 0.5 g protein per kilogram body weight from amino acid mixture were sufficiently supplied with all investigated micronutrients. All patients without amino acid mixture supplement showed severe micronutrient deficiencies in their diet records.

Therefore, close monitoring, specific dietary counselling and potential supplementation is mandatory to prevent micronutrient deficiencies in PKU patients with a high phenylalanine tolerance.

The presented studies show valuable and important improvements in the diet for PKU-patients. They help to prevent malnutrition and to simplify a very strict diet. Therefore these data are not only of significant scientific value, they are at least as valuable for the daily life of our PKU-patients. Moreover, PKU as one of the more frequent diagnosis among inborn metabolic diseases can be used as a model for other even rarer conditions.

7 Literaturverzeichnis

- Acosta P B. Nutrition studies in treated infants and children with phenylketonuria: vitamins, minerals, trace elements. *Eur J Pediatr* 1996; 155 Suppl 1: S136-S139.
- Ahring K, Belanger-Quintana A, Dokoupil K, Gokmen O H, Lammardo A M, MacDonald A, Motzfeldt K, Nowacka M, Robert M, van R M. Dietary management practices in phenylketonuria across European centres. *Clin Nutr* 2009; 28(3): 231-236.
- Allen J R, Humphries I R, Waters D L, Roberts D C, Lipson A H, Howman-Giles R G, Gaskin K J. Decreased bone mineral density in children with phenylketonuria. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(2): 419-422.
- Andersen A E, Avins L. Lowering brain phenylalanine levels by giving other large neutral amino acids. A new experimental therapeutic approach to phenylketonuria. *Arch Neurol* 1976; 33(10): 684-686.
- Antisdell J E, Chrisler J C. Comparison of eating attitudes and behaviors among adolescent and young women with type 1 diabetes mellitus and phenylketonuria. *J Dev Behav Pediatr* 2000; 21(2): 81-86.
- Arbeitsgemeinschaft pädiatrische Diätetik. Nährwerttabelle für die Ernährung bei angeborenen Störungen des Aminosäurestoffwechsels. 2009.
- Arnold G L, Kirby R, Preston C, Blakely E. Iron and protein sufficiency and red cell indices in phenylketonuria. *J Am Coll Nutr* 2001; 20(1): 65-70.
- Aung T T, Klieber A, McGinn J, McGinn T. Vitamin B12 deficiency in an adult phenylketonuric patient. *J Inher Metab Dis* 1997; 20(4): 603-604.
- Banasiak U, Heseher H, Sieke C, Sommerfeld C, Vohmann C. Abschätzung der Aufnahme von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in der Nahrung mit neuen Verzehrsmengen für Kinder. *Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch - Gesundheitsschutz* 2005; 48: 84-98.
- Barretto J R, Silva L R, Leite M E, Boa-Sorte N, Pimentel H, Purificacao A C, Carvalho G, Fontes M I, Amorim T. Poor zinc and selenium status in phenylketonuric children and adolescents in Brazil. *Nutr Res* 2008; 28(3): 208-211.
- Beauchamp G K, Mennella J A. Early flavor learning and its impact on later feeding behavior. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2009; 48 Suppl 1: S25-S30.
- Belanger-Quintana A, Burlina A, Harding C O, Muntau A C. Up to date knowledge on different treatment strategies for phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; 104 Suppl: S19-S25.
- Bickel H, Gerhard J, Hickmans E M. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. *Lancet* 1953; 265(6790): 812-813.

- Bickel H, Gerhard J, Hickmans E M. The influence of phenylalanine intake on the chemistry and behaviour of a phenyl-ketonuric child. *Acta Paediatr* 1954; 43(1): 64-77.
- Bilginsoy C, Waitzman N, Leonard C O, Ernst S L. Living with phenylketonuria: perspectives of patients and their families. *J Inherit Metab Dis* 2005; 28(5): 639-649.
- Blau N. Phenylketonuria and BH4 Deficiencies. Burton, B. K., Thöny, B., van Spronsen, F. J., and Waisbren, S. 2010. Bremen, London, Boston, UNI-MED Verlag AG.
- Bodley J L, Austin V J, Hanley W B, Clarke J T, Zlotkin S. Low iron stores in infants and children with treated phenylketonuria: a population at risk for iron-deficiency anaemia and associated cognitive deficits. *Eur J Pediatr* 1993; 152(2): 140-143.
- Burgard P, Armbruster M, Schmidt E, Rupp A. Psychopathology of patients treated early for phenylketonuria: results of the German collaborative study of phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl* 1994; 407: 108-110.
- Burgard P, Bremer H J, Buhrdel P, Clemens P C, Monch E, Przyrembel H, Trefz F K, Ullrich K. Rationale for the German recommendations for phenylalanine level control in phenylketonuria 1997. *Eur J Pediatr* 1999; 158(1): 46-54.
- Burlina A, Blau N. Effect of BH(4) supplementation on phenylalanine tolerance. *J Inherit Metab Dis* 2009; 32(1): 40-45.
- Burnett J R. Sapropterin dihydrochloride (Kuvan/phenoptin), an orally active synthetic form of BH4 for the treatment of phenylketonuria. *IDrugs* 2007; 10(11): 805-813.
- Burton B K, Leviton L. Reaching out to the lost generation of adults with early-treated phenylketonuria (PKU). *Mol Genet Metab* 2010; 101(2-3): 146-148.
- Ceglarek U, Muller P, Stach B, Buhrdel P, Thiery J, Kiess W. Validation of the phenylalanine/tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry: sensitive newborn screening for phenylketonuria. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40(7): 693-697.
- Chace D H, Sherwin J E, Hillman S L, Lorey F, Cunningham G C. Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours. *Clin Chem* 1998; 44(12): 2405-2409.
- Christ S E. Asbjorn Folling and the discovery of phenylketonuria. *J Hist Neurosci* 2003; 12(1): 44-54.
- Cotugno G, Nicolo R, Cappelletti S, Goffredo B M, Dionisi V C, Di C, V. Adherence to diet and quality of life in patients with phenylketonuria. *Acta Paediatr* 2011; 100(8): 1144-1149.
- de Groot M J, Hoeksma M, Van R M, Slart R H, van Spronsen F J. Relationships between lumbar bone mineral density and biochemical parameters in phenylketonuria patients. *Mol Genet Metab* 2012; 105(4): 566-570.

- De Bourdeauhuij, I, te V S, Brug J, Due P, Wind M, Sandvik C, Maes L, Wolf A, Perez R C, Yngve A, Thorsdottir I, Rasmussen M, Elmadfa I, Franchini B, Klepp K I. Personal, social and environmental predictors of daily fruit and vegetable intake in 11-year-old children in nine European countries. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62(7): 834-841.
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.(DGE) ÖGfE, ÖSGfE, SSVfE. Referenzwerte fuer die Naehrstoffzufuhr. 2000. Frankfurt/Main, Umschau/Braus.
- DGE. Vollwertig essen und trinken nach den 10 Regeln der DGE. 2011. Deutsche Gesellschaft für Ernährung.
- Ding Z, Georgiev P, Thony B. Administration-route and gender-independent long-term therapeutic correction of phenylketonuria (PKU) in a mouse model by recombinant adeno-associated virus 8 pseudotyped vector-mediated gene transfer. *Gene Ther* 2006; 13(7): 587-593.
- Ding Z, Harding C O, Thony B. State-of-the-art 2003 on PKU gene therapy. *Mol Genet Metab* 2004; 81(1): 3-8.
- Dobbelaere D, Michaud L, Debrabander A, Vanderbecken S, Gottrand F, Turck D, Farriaux J P. Evaluation of nutritional status and pathophysiology of growth retardation in patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26(1): 1-11.
- Du X, Zhu K, Trube A, Zhang Q, Ma G, Hu X, Fraser D R, Greenfield H. School-milk intervention trial enhances growth and bone mineral accretion in Chinese girls aged 10-12 years in Beijing. *Br J Nutr* 2004; 92(1): 159-168.
- Eggum B O. The influence of dietary fibre on protein digestion and utilization in monogastrics. *Arch Tierernahr* 1995; 48(1-2): 89-95.
- Elmatfa I, Leitzmann C. Ernährung des Menschen. 155-158. 1988. Stuttgart, Ulmer.
- Enns G M, Koch R, Brumm V, Blakely E, Suter R, Jurecki E. Suboptimal outcomes in patients with PKU treated early with diet alone: revisiting the evidence. *Mol Genet Metab* 2010; 101(2-3): 99-109.
- Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G., Walter J.H. Inborn Metabolic Diseases. Diagnoses an Treatment. 2006. Heidelberg, Springer.
- Fiege B, Blau N. Assessment of tetrahydrobiopterin (BH4) responsiveness in phenylketonuria. *J Pediatr* 2007; 150(6): 627-630.
- Fisberg R M, da Silva-Fernandes M E, Schmidt B J, Fisberg M. Nutritional evaluation of children with phenylketonuria. *Sao Paulo Med J* 1999; 117(5): 185-191.
- Folling A. Über Ausscheidung von Phenylbrenztraubensäure in den Harn als Stoffwechselanomalie in Verbindung mit Imbezillität. *Hoppe-Seylers Z Physiol Chem* 227, 169-176. 1934.

Forschungsinstitut für Kinderernährung. OptimiX: Empfehlungen für die Ernährung von Kindern und Jugendlichen. 2007. Dortmund, Forschungsinstitut für Kinderernährung.

Gentile J K, Ten Hoedt A E, Bosch A M. Psychosocial aspects of PKU: hidden disabilities--a review. *Mol Genet Metab* 2010; 99 Suppl 1: S64-S67.

Gersting S W, Lagler F B, Eichinger A, Kemter K F, Danecka M K, Messing D D, Staudigl M, Domdey K A, Zsifkovits C, Fingerhut R, Glossmann H, Roscher A A, Muntau A C. Pahenu1 is a mouse model for tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency and promotes analysis of the pharmacological chaperone mechanism in vivo. *Hum Mol Genet* 2010; 19(10): 2039-2049.

Gilani G S, Ratnayake W M. Re: Effect of dietary protein and CLA interaction on lipid metabolism in rats. *Lipids* 2004; 39(6): 601-602.

Greve L C, Wheeler M D, Green-Burgeson D K, Zorn E M. Breast-feeding in the management of the newborn with phenylketonuria: a practical approach to dietary therapy. *J Am Diet Assoc* 1994; 94(3): 305-309.

Gropper S S, Acosta P B. Effect of simultaneous ingestion of L-amino acids and whole protein on plasma amino acid and urea nitrogen concentrations in humans. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1991; 15(1): 48-53.

Hanley W B, Feigenbaum A S, Clarke J T, Schoonheydt W E, Austin V J. Vitamin B12 deficiency in adolescents and young adults with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996; 155 Suppl 1: S145-S147.

Harding C. Progress toward cell-directed therapy for phenylketonuria. *Clin Genet* 2008; 74(2): 97-104.

Hennermann J B, Bührer C, Blau N, Vetter B, Monch E. Long-term treatment with tetrahydrobiopterin increases phenylalanine tolerance in children with severe phenotype of phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2005; 86 Suppl 1: S86-S90.

Herrmann M E, Brosicke H G, Keller M, Monch E, Helge H. Dependence of the utilization of a phenylalanine-free amino acid mixture on different amounts of single dose ingested. A case report. *Eur J Pediatr* 1994; 153(7): 501-503.

Heseker H. Nutrition Report 2008. Ernährungssituation in Deutschland. 49-92. 2008. Frankfurt/M, Deutsche Gesellschaft für Ernährung, ÖGfE, SGfE und SVfE. Umschau Braus.

Hoeksma M, Van R M, Verkerk P H, Bosch A M, Mulder M F, de Klerk J B, de Koning T J, Rubio-Gozalbo E, de V M, Sauer P J, van Spronsen F J. The intake of total protein, natural protein and protein substitute and growth of height and head circumference in Dutch infants with phenylketonuria. *J Inher Metab Dis* 2005; 28(6): 845-854.

Hvas A M, Nexø E, Nielsen J B. Vitamin B12 and vitamin B6 supplementation is needed among adults with phenylketonuria (PKU). *J Inher Metab Dis* 2006; 29(1): 47-53.

- Kalkwarf H J, Khoury J C, Lanphear B P. Milk intake during childhood and adolescence, adult bone density, and osteoporotic fractures in US women. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(1): 257-265.
- Kapellen S, Kapellen T, Zeidler A, Sachse U, Kiess W. Nahrungsangebote für Kinder und Jugendliche im Krankenhaus. 1, B1-B4. 2006. *Ernährungsumschau: Ernährungslehre praxis*.
- Koch R, Levy H L, Matalon R, Rouse B, Hanley W, Azen C. The North American Collaborative Study of Maternal Phenylketonuria. Status report 1993. *Am J Dis Child* 1993; 147(11): 1224-1230.
- Koch R, Moseley K D, Yano S, Nelson M, Jr., Moats R A. Large neutral amino acid therapy and phenylketonuria: a promising approach to treatment. *Mol Genet Metab* 2003; 79(2): 110-113.
- Koura H M, Abdallah I N, Kamel A F, Ahmed A M, Saad-Hussein A, Effat L K. A long-term study of bone mineral density in patients with phenylketonuria under diet therapy. *Arch Med Sci* 2011; 7(3): 493-500.
- Kremers S P, Brug J, de V H, Engels R C. Parenting style and adolescent fruit consumption. *Appetite* 2003; 41(1): 43-50.
- Lambruschini N, Perez-Duenas B, Vilaseca M A, Mas A, Artuch R, Gassio R, Gomez L, Gutierrez A, Campistol J. Clinical and nutritional evaluation of phenylketonuric patients on tetrahydrobiopterin monotherapy. *Mol Genet Metab* 2005; 86 Suppl 1: S54-S60.
- Lee P, Treacy E P, Crombez E, Wasserstein M, Waber L, Wolff J, Wendel U, Dorenbaum A, Bechuk J, Christ-Schmidt H, Seashore M, Giovannini M, Burton B K, Morris A A. Safety and efficacy of 22 weeks of treatment with sapropterin dihydrochloride in patients with phenylketonuria. *Am J Med Genet A* 2008; 146A(22): 2851-2859.
- Loeber J G. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30(4): 430-438.
- MacDonald A, Gokmen-Ozel H, van R M, Burgard P. The reality of dietary compliance in the management of phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33(6): 665-670.
- MacDonald A, Rocha J C, van R M, Feillet F. Nutrition in phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; 104 Suppl: S10-S18.
- MacDonald A, Rylance G, Davies P, Asplin D, Hall S K, Booth I W. Free use of fruits and vegetables in phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2003; 26(4): 327-338.
- Matalon R, Michals-Matalon K, Bhatia G, Burlina A B, Burlina A P, Braga C, Fiori L, Giovannini M, Grechanina E, Novikov P, Grady J, Tying S K, Guttler F. Double blind placebo control trial of large neutral amino acids in treatment of PKU: effect on blood phenylalanine. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30(2): 153-158.

- Matalon R, Surendran S, Matalon K M, Tying S, Quast M, Jinga W, Ezell E, Szucs S. Future role of large neutral amino acids in transport of phenylalanine into the brain. *Pediatrics* 2003; 112(6 Pt 2): 1570-1574.
- Mendes A B, Martins F F, Cruz W M, da Silva L E, Abadesso C B, Boaventura G T. Bone development in children and adolescents with PKU. *J Inherit Metab Dis* 2008; 35(3): 425-430.
- Mendes A B, Martins F F, Cruz W M, da Silva L E, Abadesso C B, Boaventura G T. Bone development in children and adolescents with PKU. *J Inherit Metab Dis* 2012; 35(3): 425-430.
- Mensink G B, Bauch A, Vohmann C, Stahl A, Six J, Kohler S, Fischer J, Hesecker H. [EsKiMo - the nutrition module in the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2007; 50(5-6): 902-908.
- Merck Serono.
<http://www.medicines.org.uk/emc/medicine/21362/SPC/Kuvan+100+mg+soluble+tablets/>. 2013.
- Miranda da Cruz B D, Seidler H, Widhalm K. Iron status and iron supplementation in children with classical phenylketonuria. *J Am Coll Nutr* 1993; 12(5): 531-536.
- Moats R A, Moseley K D, Koch R, Nelson M, Jr. Brain phenylalanine concentrations in phenylketonuria: research and treatment of adults. *Pediatrics* 2003; 112(6 Pt 2): 1575-1579.
- Modan-Moses D, Vered I, Schwartz G, Anikster Y, Abraham S, Segev R, Efrati O. Peak bone mass in patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30(2): 202-208.
- Mönch E, Link R. Diagnostik und Therapie bei angeborenen Stoffwechselstörungen . [2nd edition]. 2006. SPS publications.
- Monch E, Herrmann M E, Brosicke H, Schoffer A, Keller M. Utilisation of amino acid mixtures in adolescents with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1996; 155 Suppl 1: S115-S120.
- Motzfeldt K, Lilje R, Nylander G. Breastfeeding in phenylketonuria. *Acta Paediatr Suppl* 1999; 88(432): 25-27.
- Müller E. Praktische Diätetik in der Pädiatrie. Grundlagen für die Ernährungstherapie. 2003. Heilbronn, SPS Verlagsgesellschaft mbH.
- Muntau A C, Roschinger W, Habich M, Demmelmair H, Hoffmann B, Sommerhoff C P, Roscher A A. Tetrahydrobiopterin as an alternative treatment for mild phenylketonuria. *N Engl J Med* 2002; 347(26): 2122-2132.

- Murray T M. Prevention and management of osteoporosis: consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada. 4. Calcium nutrition and osteoporosis. *CMAJ* 1996; 155(7): 935-939.
- Mutze U, Roth A, Weigel J F, Beblo S, Baerwald C G, Buhrdel P, Kiess W. Transition of young adults with phenylketonuria from pediatric to adult care. *J Inherit Metab Dis* 2011; 34(3): 701-709.
- Nagasaka H, Tsukahara H, Takatani T, Sanayama Y, Takayanagi M, Ohura T, Sakamoto O, Ito T, Wada M, Yoshino M, Ohtake A, Yorifuji T, Hirayama S, Miida T, Fujimoto H, Mochizuki H, Hattori T, Okano Y. Cross-sectional study of bone metabolism with nutrition in adult classical phenylketonuric patients diagnosed by neonatal screening. *J Bone Miner Metab* 2011; 29(6): 737-743.
- National Institutes of Health. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. *Pediatrics* 2001; 108(4): 972-982.
- Nennstiel-Ratzel U, Genzel-Boroviczény O, Böhles H, Fusch C, Grüters-Kieslich A, Mohnike K, Rossi R, Ensenauer R, Odenwald B, Hoffmann G. Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien. 2011.
- Ozmen H, Akarsu S, Polat F, Cukurovali A. The levels of calcium and magnesium, and of selected trace elements, in whole blood and scalp hair of children with growth retardation. *Iran J Pediatr* 2013; 23(2): 125-130.
- Pardridge W M, Wu D, Sakane T. Combined use of carboxyl-directed protein pegylation and vector-mediated blood-brain barrier drug delivery system optimizes brain uptake of brain-derived neurotrophic factor following intravenous administration. *Pharm Res* 1998; 15(4): 576-582.
- Peng H, Peck D, White D A, Christ S E. Tract-based evaluation of white matter damage in individuals with early-treated phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2013.
- Pietz J, Fatkenheuer B, Burgard P, Armbruster M, Esser G, Schmidt H. Psychiatric disorders in adult patients with early-treated phenylketonuria. *Pediatrics* 1997; 99(3): 345-350.
- Pietz J, Kreis R, Rupp A, Mayatepek E, Rating D, Boesch C, Bremer H J. Large neutral amino acids block phenylalanine transport into brain tissue in patients with phenylketonuria. *J Clin Invest* 1999; 103(8): 1169-1178.
- Popkins D. Effects of variations in protein digestibility. *Protein Quality in Humans: Assessment and In Vitro Estimation*. 178-181. 1981. Westport, AVI Publisher.
- Robinson M, White F J, Cleary M A, Wraith E, Lam W K, Walter J H. Increased risk of vitamin B12 deficiency in patients with phenylketonuria on an unrestricted or relaxed diet. *J Pediatr* 2000; 136(4): 545-547.

- Rocha J C, Martins M J. Oxidative stress in phenylketonuria: future directions. *J Inherit Metab Dis* 2012; 35(3): 381-398.
- Rohde C, Kapellen S, Schmidt K, Körner A, Till H, Sachse UKW. Choice of food for children and teenagers in a hospital setting. *Ernährungsumschau* 3, 144-150. 2008.
- Rohde C, Mutze U, Weigel J F, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W, Beblo S. Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control. *Eur J Clin Nutr* 2012; 66(5): 633-638.
- Sarkissian C N, Kang T S, Gamez A, Scriver C R, Stevens R C. Evaluation of orally administered PEGylated phenylalanine ammonia lyase in mice for the treatment of Phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; 104(3): 249-254.
- Schindeler S, Ghosh-Jerath S, Thompson S, Rocca A, Joy P, Kemp A, Rae C, Green K, Wilcken B, Christodoulou J. The effects of large neutral amino acid supplements in PKU: an MRS and neuropsychological study. *Mol Genet Metab* 2007; 91(1): 48-54.
- Schulpis K H, Papastamataki M, Stamou H, Papassotiriou I, Margeli A. The effect of diet on total antioxidant status, ceruloplasmin, transferrin and ferritin serum levels in phenylketonuric children. *Acta Paediatr* 2010; 99(10): 1565-1570.
- Schulz B, Bremer H J. Nutrient intake and food consumption of adolescents and young adults with phenylketonuria. *Acta Paediatr* 1995; 84(7): 743-748.
- Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. Scriver, C. R. and Kaufman, S. Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. 2. 2001. New York, The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Smith B A, Waisman H A. Adequate phenylalanine intake for optimum growth and development in the treatment of phenylketonuria. *Am J Clin Nutr* 1971; 24(4): 423-431.
- Smith I, Beasley M G, Ades A E. Intelligence and quality of dietary treatment in phenylketonuria. *Arch Dis Child* 1990; 65(5): 472-478.
- Strisciuglio P, Concolino D, Moricca M T, Rivalta L, Parlato G. Normal serum levels of vitamin B12 and folic acid in children with phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 1995; 154(10): 866.
- Suitor C J, Gardner J, Willett W C. A comparison of food frequency and diet recall methods in studies of nutrient intake of low-income pregnant women. *J Am Diet Assoc* 1989; 89(12): 1786-1794.
- Surtees R, Blau N. The neurochemistry of phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 2000; 159 Suppl 2: S109-S113.
- Taylor C J, Moore G, Davidson D C. The effect of treatment on zinc, copper and calcium status in children with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 1984; 7(4): 160-164.
- Thiele AG, Gausche R, Vogel M, Lindenberg C, Mütze U, Arelin M, Rohde C, Keller E, Pfäffle R, Mohnike K, Kiess W, Beblo S. Low initial growth rate leaves phenylketonuria patients

- (PKU) shorter throughout childhood: longitudinal analysis using the CrescNet database. Poster SSIEM 2013 . 9013.
- Thiele A G, Weigel J F, Ziesch B, Rohde C, Mutze U, Ceglarek U, Thiery J, Muller A S, Kiess W, Beblo S. Nutritional Changes and Micronutrient Supply in Patients with Phenylketonuria Under Therapy with Tetrahydrobiopterin (BH(4)). *JIMD Rep* 2013; 9: 31-40.
- Thony B. Long-term correction of murine phenylketonuria by viral gene transfer: liver versus muscle. *J Inherit Metab Dis* 2010; 33(6): 677-680.
- Trefz F, Maillot F, Motzfeldt K, Schwarz M. Adult phenylketonuria outcome and management. *Mol Genet Metab* 2011; 104 Suppl: S26-S30.
- Trefz F K, Burton B K, Longo N, Casanova M M, Gruskin D J, Dorenbaum A, Kakkis E D, Crombez E A, Grange D K, Harmatz P, Lipson M H, Milanowski A, Randolph L M, Vockley J, Whitley C B, Wolff J A, Bebhuk J, Christ-Schmidt H, Hennermann J B. Efficacy of sapropterin dihydrochloride in increasing phenylalanine tolerance in children with phenylketonuria: a phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Pediatr* 2009; 154(5): 700-707.
- von Schnackenburg K, Zoubeck K. Richtlinien zur Organisation und Durchführung des Neugeborenen Screenings auf angeborene Stoffwechselstörungen und Endokrinopathien in Deutschland. *Monatsschrift für Kinderheilkunde* 150, 1424-1440. 2002.
- Vugteveen I, Hoeksma M, Monsen A L, Fokkema M R, Reijngoud D J, van R M, van Spronsen F J. Serum vitamin B12 concentrations within reference values do not exclude functional vitamin B12 deficiency in PKU patients of various ages. *Mol Genet Metab* 2011; 102(1): 13-17.
- Wachtel U. Ein Modellfall für die Entwicklung der Kinderheilkunde. 2004. Stuttgart, Schattauer Verlag GmbH.
- Walter J H. Vitamin B12 deficiency and phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011; 104 Suppl: S52-S54.
- Walter J H, White F J, Hall S K, MacDonald A, Rylance G, Boneh A, Francis D E, Shortland G J, Schmidt M, Vail A. How practical are recommendations for dietary control in phenylketonuria? *Lancet* 2002; 360(9326): 55-57.
- Weglage J, Fromm J, van Teeffelen-Heithoff A, Moller H E, Koletzko B, Marquardt T, Rutsch F, Feldmann R. Neurocognitive functioning in adults with phenylketonuria: Results of a long term study. *Mol Genet Metab* 2013.
- Weglage J, Grenzebach M, Pietsch M, Feldmann R, Linnenbank R, Denecke J, Koch H G. Behavioural and emotional problems in early-treated adolescents with phenylketonuria in comparison with diabetic patients and healthy controls. *J Inherit Metab Dis* 2000; 23(5): 487-496.

-
- Wendel U, Ullrich K, Schmidt H, Batzler U. Six-year follow up of phenylalanine intakes and plasma phenylalanine concentrations. *Eur J Pediatr* 1990; 149 Suppl 1: S13-S16.
- WHO. Protein and amino acid requirements in human nutrition: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation. WHO technical report series; no.935 . 2002. Geneva, Switzerland.
- Yen J, Zoumas-Morse C, Pakiz B, Rock C L. Folate intake assessment: validation of a new approach. *J Am Diet Assoc* 2003; 103(8): 991-1000.
- Young E M, Fors S W, Hayes D M. Associations between perceived parent behaviors and middle school student fruit and vegetable consumption. *J Nutr Educ Behav* 2004; 36(1): 2-8.
- Zabinski M F, Daly T, Norman G J, Rupp J W, Calfas K J, Sallis J F, Patrick K. Psychosocial correlates of fruit, vegetable, and dietary fat intake among adolescent boys and girls. *J Am Diet Assoc* 2006; 106(6): 814-821.
- Zhou Y, Hu Y, Ma Z, Zhao X, Yin S. [Relation of long-term consumption of school milk to bone density in children]. *Wei Sheng Yan Jiu* 2011; 40(1): 65-67.
- Ziesch B, Weigel J, Thiele A, Mutze U, Rohde C, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W, Beblo S. Tetrahydrobiopterin (BH(4)) in PKU: effect on dietary treatment, metabolic control, and quality of life. *J Inherit Metab Dis* 2012.
- Zimmermann M, Jacobs P, Fingerhut R, Torresani T, Thony B, Blau N, Baumgartner M R, Rohrbach M. Positive effect of a simplified diet on blood phenylalanine control in different phenylketonuria variants, characterized by newborn BH4 loading test and PAH analysis. *Mol Genet Metab* 2012; 106(3): 264-268.

Curriculum Vitae

Persönlich

Geburtsdatum 26. November 1958
Geburtsort Witten
Familienstand verheiratet, 4 Kinder

Schulbildung

1978 Abitur, Städtisches Gymnasium, Gevelsberg

Hochschulstudium

1979-1983 Studium der Haushalts- und Ernährungswissenschaften,
Justus-Liebig-Universität, Gießen
Abschluss: Diplom Oecotrophologie

Berufstätigkeit

1984-1988 Studentenberaterin bei Campus für Christus, Gießen
1988-1998 Erziehungszeit
1998-2007 Fachfrau für Kinderernährung
Ernährungserziehungsprojekt der DGE Sachsen
2004 bis heute Ernährungstherapeutin, Universitätskinderklinik, Leipzig
2008 bis heute wissenschaftliche Mitarbeiterin, Stoffwechszentrum,
Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin,
Leipzig

Fortbildung

2009-2010 Zertifikatskurs: Angeborene Stoffwechselkrankheiten
(Arbeitsgemeinschaft Pädiatrische Diätetik)
2013 Zertifikatskurs: Prüfarzt
(Zentrum für klinische Studien, Leipzig)

Mitarbeit an multizentrischen Projekten

2011-2012 Leitlinienerstellung der AG Adipositas im Kindes- und
Jugendalter (AGA)
2011-2013 Dietary management of urea cycles disorders: European
practice
Ab 2012 Kuvan® Adult Maternal Pediatric European Registry
(KAMPER)

Rohde C, Mütze U, Weigel JF, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W, Beblo S. (2012) Unrestricted consumption of fruits and vegetables in phenylketonuria: no major impact on metabolic control. *Eur J Clin Nutr.* (2012)

Rohde C, Kapellen S, Schmidt K, Körner A, Till H, Sachse U, Kiess W. Nahrungsangebote im Krankenhaus und Auswahlverhalten bei Kindern und Jugendlichen. Was können Interventionen bewirken? *Ernährungs-Umschau* 55 (2008) p 144-150

Coautorenschaften

Adam S, Almeida MF, Assoun M, Baruteau J, Bernabei SM, Bigot S, Champion H, Daly A, Dassy M, Dawson S, Dixon M, Dokoupil K, Dubois S, Dunlop C, Eardley J, Evans S, Eyskens F, Faria A, Favre E, Ferguson C, Goncalves C, Heddrich-Ellerbrok M, Jankowski C, Janssen-Regelink R, Jouault C, Laguerre C, Le Verge S, Link R, Lowry S, Luyten K, MacDonald A, Maritz C, McDowell S, Meyer U, Micciche A, Robert M, Robertson L, Rocha J, **Rohde C**, Saruggia I, Sjoqvist E, Stafford J, Terry A, Thom R, Vande Kerckhove K, van Rijn M, van Teeffelen-Heithoff A, van Wegberg A, van Wyk K, Vasconcelos C, Vestergaard H, Webster D, White FJ, Wildgoose J, Zweers H. Dietary management of urea cycles disorders: European practice. *Mol. Genet. Metab.* (2013)

Thiele A, Weigel J, Ziesch B, **Rohde C**, Mütze U, Ceglarek U, Thiery J, Müller AS, Kiess W, Beblo S. Nutritional changes and micronutrient supply in patients with phenylketonuria under therapy with tetrahydrobiopterin (BH4), *J Inherit Metab Dis* (2012)

Mütze U, Beblo S, Kortz L, Matthies C, Koletzko B, Bruegel M, **Rohde C**, Thiery J, Kiess W, Ceglarek U. , *PLoS One* (2012)

Ziesch B, Weigel J, Thiele A, Mütze U, **Rohde C**, Ceglarek U, Thiery J, Kiess W, Beblo S. Tetrahydrobiopterin (BH(4)) in PKU: effect on dietary treatment, metabolic control, and quality of life, *J Inherit Metab Dis.* (2012)

Blüher S, Münsterer O, Beckert-Zieglschmid C, **Rohde C**, Blüher M, Stumvoll M, von Klitzingen K, Till H, Kiess W. Adipositaschirurgie bei morbid adipösen Jugendlichen; Vorschlag für ein interdisziplinäres Konzept, *Adipositas* (2008)

Abstracts

Thiele AG, Gausche R, Vogel M, Lindenberg C, Mütze U, Arelin M, **Rohde C**, Keller E, Pfäffle R, Mohnike K, Kiess W, Beblo S Low initial growth rate leaves phenylketonuria patients (PKU) shorter throughout childhood: longitudinal analysis using the CrescNet database. (Poster beim 12. International Congress of Inborn Errors of Metabolism (3.-6-9.2013))

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides Statt, dass ich, Carmen Rohde die eingereichte Dissertation „Verbesserung der Ernährungssituation bei Patienten mit Phenylketonurie“ selbstständig angefertigt habe und diese nicht bereits für eine Promotion oder ähnliche Zwecke an einer anderen Universität eingereicht habe. Ich habe bisher keine vergeblichen Promotionsversuche unternommen. Weiterhin versichere ich, dass ich die zu der Erstellung dieser Dissertationsschrift verwendeten wissenschaftlichen Arbeiten genau und vollständig angegeben habe.

Desweiteren erkläre ich, dass keine Strafverfahren gegen mich anhängig sind.

Ort, Datum

Unterschrift

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei allen, die zu der Erstellung dieser Arbeit beigetragen haben, herzlich bedanken.

Mein Dank geht zuerst an Frau Dr. Skadi Beblo, die mir von der Idee des Themas bis hin zur Fertigstellung der vorliegenden Arbeit unermüdlich zur Seite stand und viele Stunden ihrer wertvollen Zeit, oft auch ihrer Freizeit, zur Verfügung gestellt hat. Ihre stets freundliche Betreuung und Unterstützung haben maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Vielen Dank für alle Anregungen, konstruktiven Korrekturen und Herausforderungen, weiter zu denken.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. Andreas Müller für die Ermöglichung der Promotion am Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg. Seine ermutigende und kompetente Beratung, seine ausgesprochen schnellen Rückmeldungen und hilfreichen Korrekturen haben mich sehr vorangebracht.

Herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. Wim Wätjen vom Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften der Martin-Luther-Universität, Halle-Wittenberg, der freundlicher Weise die Weiterbetreuung der Arbeit unkompliziert und kompetent übernommen hat.

Mein Dank geht auch an Herrn Prof. Dr. Wieland Kieß, der es mir ermöglichte, die vorliegenden Studien an der Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche, Leipzig, durchzuführen.

Herzlichen Dank auch an das Stoffwechselteam, alle beteiligten Labormitarbeiter, Statistiker und an alle Co-Autoren, ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht hätte durchgeführt werden können.

Ein großer Dank für die finanzielle Unterstützung der Untersuchungen geht an die Firmen MetaX und Nutricia – SHS.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei allen Patienten bedanken, einerseits für ihre Bereitschaft, an den Studien teilzunehmen und andererseits, die damit verbundene Arbeit auf sich zu nehmen.

Ein spezieller Dank geht an meinen Mann und meine Kinder, die mich in dieser Arbeit ermutigt und unterstützt haben und an Gott, den Vater, der mir das Leben und die Freude an der Arbeit gegeben hat.