

FENILCETONÚRIA E SUAS VARIANTES: REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Joana Machado

Aluna da licenciatura em Análises Clínicas e Saúde Pública
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP
13696@ufp.pt

Inês Lopes Cardoso

Professora Associada
Faculdade de Ciências da Saúde - UFP
mic@ufp.pt

RESUMO

A fenilcetonúria representa o erro do metabolismo dos aminoácidos mais comum na população caucasiana, atingindo 1/10.000 nascimentos. Esta doença, de transmissão autossômica recessiva, resulta da deficiência em fenilalanina hidroxilase ou de erros no metabolismo da tetrahydrobiopterina.

O diagnóstico precoce é extremamente importante, pois dele depende o tratamento que consiste na restrição alimentar de fenilalanina e proteínas naturais. Quando não tratada pode resultar em complicações neurológicas irreversíveis.

PALAVRAS-CHAVE: fenilalanina; fenilalanina hidroxilase; fenilcetonúria; diagnóstico; tratamento.

ABSTRACT

Phenylketonuria represents the most common defect of aminoacid metabolism in Caucasian population, with a prevalence of 1/10.000 births. This disease, with autossomic recessive transmission, results from phenylalanine hydroxylase deficiency or defects on tetrahydrobiopterin metabolism.

The early diagnosis is extremely important, since it will influence treatment, which consists of phenylalanine and natural proteins intake restriction. If not treated, it may lead to irreversible neurological complications.

KEY-WORDS: phenylalanine; phenylalanine hydroxylase; phenylketonuria; diagnosis; treatment.

1. INTRODUÇÃO

A fenilcetonúria (PKU) é uma desordem do metabolismo dos aminoácidos causada, na maioria dos casos, pela deficiente actividade da enzima hepática, fenilalanina hidroxilase (PAH) (National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001; Rupp A *et al.*, 2001). Nestas condições, a fenilalanina é incapaz de se converter em tirosina, sendo o seu excesso convertido, através de vias metabólicas secundárias, em fenilpiruvato que se acumula no sangue e noutros tecidos, levando a danos irreversíveis no sistema nervoso central (Zschocke J, 2003).

A doença constitui uma forma de hiperfenilalaninemia (HPA) persistente (Guldberg P *et al.*, 1998; National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001).

O seu tratamento é difícil de implementar e consiste numa dieta com restrição de fenilalanina durante toda a vida. Quando não tratada, a PKU apresenta-se como uma doença lentamente progressiva, com graves efeitos ao nível do desenvolvimento cognitivo (Matalon KM, 2001).

Uma pequena percentagem dos casos de PKU é originada por defeitos no metabolismo da tetrahydrobiopterina (BH4) (Zurflu MR *et al.*, 2008).

2. MARCOS IMPORTANTES NA HISTÓRIA DA FENILCETONÚRIA

Em 1934 Asbjörn Fölling recebeu no seu laboratório amostras de urina de dois irmãos com atraso mental e um odor corporal estranho, conseguindo relacionar o atraso mental característico da doença, com um erro congénito do metabolismo. Designou a condição de "oligofrenia fenilpirúvica", devido à substância encontrada nas amostras de urina, o ácido fenilpirúvico. Anos mais tarde foi renomeada fenilcetonúria (Centerwall SA e Centerwall WR, 2000; Scriver CR, 2007).

Em 1935 foi determinado o tipo de herança autossómica recessiva, e cerca de 20 anos mais tarde, demonstrou-se que a actividade hepática da PAH estava deficiente em doentes fenilcetonúricos (Scriver CR, 2007).

Ainda na década de 50, constatou-se que uma alimentação com restrição de fenilalanina promovia uma marcada redução na concentração plasmática de fenilalanina e melhorias a nível comportamental (Centerwall SA e Centerwall WR, 2000; Levy HL, 1999).

Guthrie desenvolveu em 1961 um teste laboratorial simples de rastreio do nível de fenilalanina plasmática, o teste de inibição bacteriana de Guthrie (Matalon KM, 2001). Nos anos 70, os programas de triagem neonatal da fenilcetonúria eram rotina na maioria dos países desenvolvidos (Levy HL, 1999). Por essa altura, foram identificados indivíduos com desordens na síntese ou regeneração da tetrahydrobiopterina, uma condição estranha chamada HPA maligna (Centerwall SA e Centerwall WR, 2000).

Nos anos 80, o gene codificante da PAH foi localizado no cromossoma 12. Na década de 90, foram dados avanços na compreensão molecular da fenilcetonúria possibilitando o desenvolvimento de novas terapêuticas (Matalon KM, 2001).

3. METABOLISMO DA FENILALANINA

A fenilalanina é um aminoácido aromático essencial, metabolizado principalmente, no fígado. A fenilalanina que não é necessária para o anabolismo proteico, é hidroxilada a tirosina, pela fenilalanina hidroxilase. Esta, tem uma estrutura quaternária, possuindo quatro cadeias polipeptídicas, cada uma ligada a um átomo de ferro, que liga oxigénio, de modo a formar tirosina (Murray RK *et al.*, 1996).

Para a conversão de fenilalanina a tirosina, a enzima requer a presença do cofactor tetrahydrobiopterina. Quando a tirosina se forma, a BH4 é oxidada a dihidropteridina quinóide (qBH₂) que, por sua vez, é reduzida pela dihidropteridina redutase (DHPR), sendo a fenilalanina hidroxilase activada novamente (Figura 1). Pelo facto de 70 a 90% da fenilalanina ser, normalmente, convertida em tirosina, esta passa a ser um aminoácido essencial em indivíduos com PKU (Zschocke J, 2003).

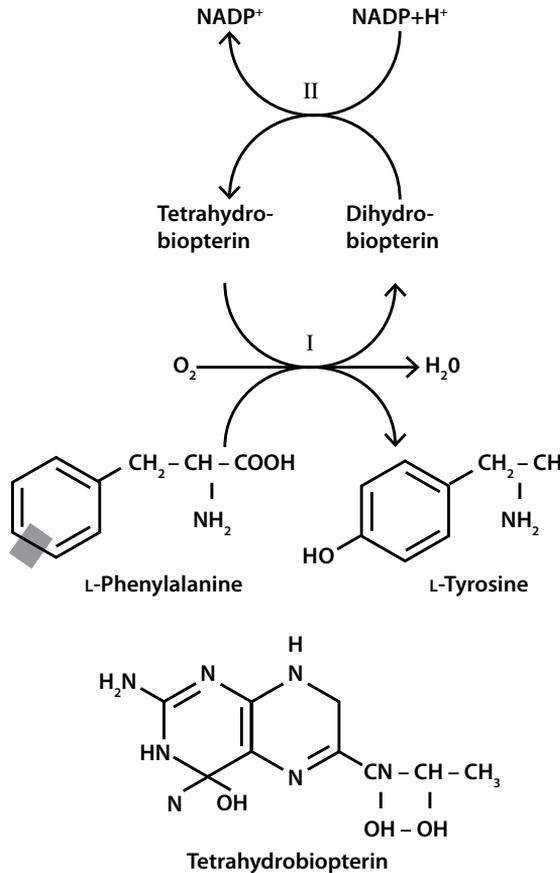


Figura 1. Hidroxilação da fenilalanina, na qual estão envolvidas duas reacções enzimáticas: I – redução de O₂ a H₂O e de fenilalanina a tirosina; II – redução de dihidrobiopterina pelo NADPH. (Adaptada de Murray RK *et al.*, (1996).

Esta reacção encontra-se deficiente ou ausente nos fenilcetonúricos. Consequentemente, a concentração plasmática de fenilalanina aumenta, activando vias de degradação alternativas que levam à formação dos produtos ácido fenilpirúvico, ácido fenilactico e ácido fenilacético que passam a ser detectados na urina (Zschocke J, 2003).

4. FENILCETONÚRIA ORIGINADA POR DEFICIÊNCIA EM FENILALANINA HIDROXILASE

4.1. ASPECTOS CLÍNICOS

Os fenilcetonúricos apresentam-se clinicamente normais à nascença, começando a manifestar atrasos no desenvolvimento por volta dos 6 meses de idade, juntamente com espasmos, hipotonia e erupções da pele. Apresentam diminuição na pigmentação, microcefalia e epilepsia. A excreção de fenilcetonas fornece à urina um odor característico (Matalon KM 2001).

Os doentes não tratados ou os que abandonam o tratamento, apresentam danos a nível mental, comportamental, neurológico e físico. O atraso psicomotor é, habitualmente, profundo, e a maioria apresenta um coeficiente de inteligência (QI) baixo, agressividade e ansiedade (Walter JH *et al.*, 2006). Na fase de adolescência, estes doentes revelam comportamentos autistas e hiperactividade (Matalon KM, 2001).

4.2. ASPECTOS GENÉTICOS

Desde o início do rastreio neonatal da fenilcetonúria até ao final de 2006, Portugal apresentava um total de 248 casos de fenilcetonúria (Programa Nacional de Diagnóstico Precoce, 2006). Esta desordem é transmitida de forma autossómica recessiva (National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001).

Estão identificadas e descritas mais de 500 mutações diferentes, causadoras de defeitos com diferentes graus de gravidade na actividade da PAH (www.pahdb.mcgill.ca; Matalon KM, 2001). O seu gene está localizado entre as bandas 2 e 4 da região 2 no braço longo do cromossoma 12 (12q22-q24.1) (Hendriksz CJ e Walter JH, 2004).

Algumas mutações causam a completa destruição da função da fenilalanina hidroxilase, outras estão associadas com actividade residual da enzima (Guldberg P *et al.*, 1998).

A maioria dos fenilcetonúricos é heterozigótico contendo duas mutações diferentes, o que contribui para a heterogeneidade bioquímica e clínica da doença (National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001).

Em Portugal, as mutações mais frequentes são: IVS10-11G>A, uma mutação “splice junction” característica dos países mediterrânicos, e as mutações “missense” R261Q e V388M, ambas associadas a fenótipos moderados (Desviat LR *et al.*, 1995; Zschocke J, 2003; www.pahdb.mcgill.ca).

4.3. DIAGNÓSTICO DA FENILCETONÚRIA

Em Portugal, o rastreio neonatal da fenilcetonúria é efectuado a todos os recém-nascidos através do teste de inibição bacteriana de Guthrie (teste do pezinho), realizado entre o 3º e o 6º dia de vida (Vilarinho L *et al.*, 2006). É um teste relativamente rápido e pouco dispendioso. No entanto, é semi-quantitativo, detectando apenas a presença, e não a exacta concentração de fenilalanina; não pode ser usado em recém-nascidos sujeitos a antibioterapia (Vilarinho L *et al.*, 2006), e verificam-se alguns falso-positivos, devido ao uso do inibidor β -2-tiofenilalanina (National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001; Vallian S e Moeini H, 2006).

Dependendo da concentração de fenilalanina plasmática, durante uma dieta normal, a deficiência em fenilalanina hidroxilase pode ser classificada em hiperfenilalaninemia não-fenilcetonúrica (fenilalanina entre 3-6 mg/dl), fenilcetonúria moderada ou suave (fenilalanina entre 6-20 mg/dl), e fenilcetonúria clássica se a fenilalanina for superior a 20 mg/dl (Vallian S e Moeini H, 2006; Zschocke J, 2003; Zurflu MR *et al.*, 2008). A razão fenilalanina/tirosina encontrada é, normalmente, superior a 3 (Walter JH *et al.*, 2006).

O crescente uso e aplicação da espectroscopia de massa em “tandem” na triagem neonatal parece ser altamente justificado, já que este método permite o diagnóstico da fenilcetonúria com um baixo número de falsos-positivos e elevada precisão e exactidão. Este método possibilita, ainda, obter os níveis de tirosina, interpretar os níveis de fenilalanina, e identificar outras desordens metabólicas numa única amostra (Matalon KM, 2001; National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001).

4.4. TRATAMENTO

4.4.1. PRINCÍPIOS GERAIS

O tratamento baseia-se na redução dos níveis plasmáticos de fenilalanina, de forma a evitar os efeitos neuropatológicos da doença (Matalon KM, 2001). Para isso é adoptada uma dieta hipoproteica e pobre em fenilalanina, suplementada com substitutos proteicos e tirosina (Santos LL *et al.*, 2006). O leite materno e as fórmulas comerciais infantis fornecem quantidades adequadas de fenilalanina essencial (Matalon KM, 2001).

A dieta deve ser iniciada logo após a confirmação da doença, devendo os níveis plasmáticos de fenilalanina ser mantidos entre 2 e 6 mg/dl (Matalon KM, 2001; Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas (SPDM), 2007).

Crianças fenilcetonúricas com controlo rigoroso da dieta desde as primeiras semanas de vida, apresentam um grau de inteligência e funções neurológicas normais, boa capacidade de leitura e fala, não exibindo desajustes emocionais nem de conduta (Mira NVM e Marquez UML, 2000).

As mulheres fenilcetonúricas devem ter especial atenção à dieta durante a idade reprodutiva e gravidez, de modo a prevenir a síndrome da fenilcetonúria materna.

Devem ser efectuadas periodicamente análises hematológicas, bioquímicas e de crescimento ósseo, e monitorizar regularmente os níveis plasmáticos de fenilalanina (Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas (SPDM), 2007).

A adesão ao exigente tratamento diminui à medida que os doentes envelhecem, ocorrendo frequentes abandonos na adolescência (Santos LL *et al.*, 2006).

4.5. ABORDAGENS TERAPÊUTICAS ALTERNATIVAS

4.5.1. TERAPIA GÉNICA

Tem sido estudada uma estratégia de terapia génica para o tratamento de fenilcetonúria que envolve a introdução de material genético estranho na célula, de modo a recuperar a função do gene mutado, podendo o gene normal ser introduzido nas células afectadas através de, por exemplo, adenovírus ou retrovírus. As células que recebem o gene irão conter, tanto o gene mutado, como o exógeno (Murray RK *et al.*, 1996).

Estudos demonstram que vectores derivados de um retrovírus recombinante permitem a transfecção eficiente de hepatócitos com o cDNA codificante de fenilalanina hidroxilase, *in vitro* (Santos LL *et al.*, 2006).

Vectores derivados de um adenovírus recombinante expressando o cDNA, foram colocados na circulação portal de ratinhos com deficiência em PAH, permitindo a recuperação de grande parte da actividade da enzima, normalizando os níveis plasmáticos de fenilalanina. A produção de anticorpos contra o vector por parte do doente tem sido um grande obstáculo a esta estratégia, mas a utilização deste tipo de vectores induz mínima resposta imune e conduz a efeitos terapêuticos mais prolongados (Matalon KM, 2001).

4.5.2. SUPLEMENTOS DE AMINOÁCIDOS NEUTROS

Os elevados níveis de fenilalanina observados em fenilcetonúricos, reduzem o transporte de outros aminoácidos neutros para o cérebro. Alguns destes, como a tirosina e o triptofano, são precursores de neurotransmissores, tendo sido sugerido que a síntese deficiente de neurotransmissores, é um factor que contribui para a disfunção cognitiva observada na PKU (Matalon R *et al.*, 2003).

Foi então introduzida uma nova estratégia terapêutica que tem tido boa aceitação. Baseia-se na ingestão proteica moderada, combinada com suplementos de aminoácidos neutros isentos de fenilalanina (Matalon R *et al.*, 2003).

4.5.3. TERAPIA ENZIMÁTICA COM FENILALANINA AMÓNIA LIASE

Outros estudos no tratamento da PKU envolvem a administração oral de fenilalanina amónia liase, enzima que degrada a fenilalanina no lúmen intestinal, evitando a sua absorção. No entanto, a sua purificação convencional tem elevados custos, não proporciona uma redução significativa das concentrações plasmáticas de fenilalanina, e não origina a produção de tirosina. A inactivação enzimática pelas enzimas digestivas é evitada recorrendo-se à imobilização enzimática em microcápsulas semi-permeáveis (Blau N e Scriver CR, 2004; Levy HL, 1999; Matalon KM, 2001; Santos LL *et al.*, 2006).

4.5.4. SUPLEMENTOS DE TETRAHIDROBIOPTERINA

Uma alternativa real à dieta com restrição de fenilalanina foi assinalada em diversos estudos pela observação de fenilcetonúricos cujos níveis de fenilalanina plasmática diminuíram após a administração oral de suplementos de tetrahydrobiopterina (BH4), especialmente nas formas mais brandas da doença

(Matalon KM, 2001; Santos LL *et al.*, 2006). Alguns argumentos têm sido propostos para explicar a resposta à BH4: o aumento da afinidade de ligação da PAH mutante para a BH4; a protecção do tetrâmero activo contra degradação; o aumento da biossíntese de BH4; e a regulação da expressão génica da PAH (Santos LL *et al.*, 2006).

A maior desvantagem do uso do cofactor no tratamento da PKU é o seu elevado custo (Levy HL, 1999).

4.6. COMPLICAÇÕES NA FASE ADULTA

4.6.1. COMPLICAÇÕES NEUROLÓGICAS

Uma hipótese explicativa do mecanismo que origina o atraso mental resultante de HPA é a de que, a elevada quantidade de fenilalanina cerebral reduz a concentração de aminoácidos intraneurais, dificultando o seu transporte para o cérebro, e inibe competitivamente a hidroxilação da tirosina e do triptofano. Por conseguinte, a síntese proteica diminui, afectando a proliferação dendrítica e a mielinização. A "reciclagem" de mielina aumenta e a síntese de neurotransmissores é inibida (Krause W *et al.*, 1985; National Institutes of Health Consensus Development Panel, 2001; Pietz J *et al.*, 1999).

Alguns adolescentes e adultos fenilcetonúricos com fraco controlo alimentar durante a infância desenvolveram doença neurológica após atenuação da restrição dietética, tendo melhorado com o retorno ao tratamento (Walter JH *et al.*, 2006).

4.6.2. DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS

Os doentes que cumprem a dieta com restrição de fenilalanina e que não tomam os devidos suplementos nutricionais, podem ter deficiência em vitaminas e minerais. No entanto, não se conhece o seu significado clínico (Walter JH *et al.*, 2006).

Estudos parecem atestar que crianças hiperfenilalaninémicas apresentam níveis deficientes de ácidos gordos poliinsaturados de cadeia longa, nomeadamente, ácido docosahexanóico (DHA) e ácido araquidónico, o que pode contribuir para o fraco desenvolvimento dos doentes. Ao fim de 12 meses de tratamento com suplementos alimentares destes ácidos gordos verificou-se um aumento dos níveis de DHA nos lípidos circulantes, desconhecendo-se se os efeitos bioquímicos e/ou funcionais da dieta persistem para além desse período (Agostoni C *et al.*, 2003).

5. DESORDENS DO METABOLISMO DA TETRAHIDROBIOPTERINA ASSOCIADAS COM HIPERFENILALANINEMIA

5.1. METABOLISMO DA TETRAHIDROBIOPTERINA

A tetrahydrobiopterina (BH4) é o cofactor necessário na hidroxilação da fenilalanina a tirosina; da tirosina a L-dopa, que subsequentemente origina dopamina; e na hidroxilação do triptofano a 5-hidroxitriptofano, essencial na síntese de serotonina (Hendriksz CJ e Walter JH, 2004; Restrepo S *et al.*, 1999). Consequentemente, a ausência ou deficiência de BH4 compromete a síntese de neurotransmissores (Restrepo S *et al.*, 1999).

A BH4 é sintetizada a partir de guanosina trifosfato (GTP) pela acção de três enzimas: guanosinatrifosfato ciclohidrolase I (GTPCH I), 6-piruvil tetrahydrobiopterina sintase (PTPS) e sepiapterina redutase (SR) (Figura 2) (Erlandsen H *et al.*, 2004; www.bh4.org).

A monoxigenação dos aminoácidos aromáticos é concomitante com a oxigenação de BH4 a pterina-4a-carbinolamina. Esta é desidratada a dihidropteridina quinóide (qBH2) e água, pela enzima pterina carbinolamina-4-desidratase (PCD) (Erlandsen H *et al.*, 2004; www.bh4.org).

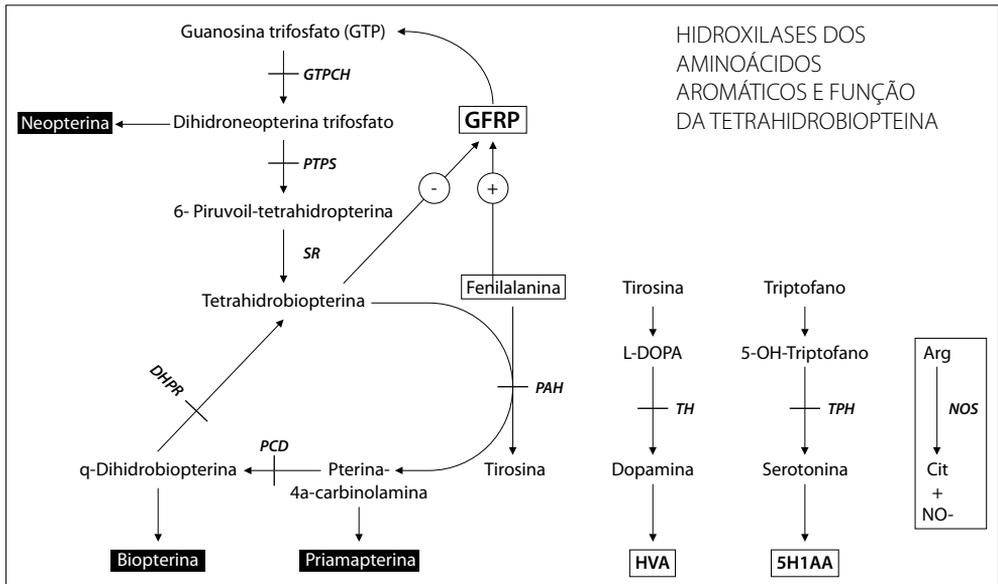


Figura 2. Esquema representativo da síntese de BH4. (Adaptada de Blau, N [2005]).

Na última fase da regeneração da BH4, qBH2 é reduzida a BH4 pela dihidropteridina redutase (DHPR), dependente de NADH (Erlandsen H *et al.*, 2004).

5.2. DESORDENS DO METABOLISMO DA TETRAHIDROBIOPTERINA

As desordens no metabolismo da BH4 também podem ser causa, embora pouco comum, de fenilcetonúria, devendo ser analisadas como diagnóstico diferencial de hiperfenilalaninemias. Promovem a progressiva deterioração da função neurológica, não podendo esta ser evitada com a dieta restritiva em fenilalanina (Restrepo S *et al.*, 1999). Estas desordens podem ocorrer na biossíntese do cofactor ou na sua regeneração e são designadas, actualmente, de acordo com a deficiência enzimática subjacente (Hendriksz CJ e Walter JH, 2004).

O diagnóstico baseia-se na baixa razão biopterina:neopterina na urina; em concentrações baixas ou normais de biopterina e neopterina na urina; na medição dos níveis séricos de biopterina; na determinação da actividade da DHPR no sangue, e de neurotransmissores no líquido cefaloraquidiano (Hendriksz CJ e Walter JH, 2004; Restrepo S *et al.*, 1999).

O seu tratamento inclui a administração de BH4, de L-dopa, L-5-hidroxitriptofano e carbidopa, que irão permitir a entrada de BH4 no sistema nervoso central e a correcção da biossíntese dos neurotransmissores (Matalon KM, 2001; Restrepo S *et al.*, 1999).

6. CONCLUSÃO

Mais de 70 anos passaram desde que Fölling descobriu a fenilcetonúria. A sua identificação como causa de atraso mental, o desenvolvimento de uma terapia efectiva e segura, e a introdução de programas de rastreio neonatal da fenilcetonúria, que possibilitam o diagnóstico precoce, foram grandes avanços para a área da saúde.

Novas estratégias terapêuticas têm sido desenvolvidas, sendo possível que nos próximos anos, os doentes passem a ser tratados com uma dieta menos restritiva e exigente, combinada com suplementos de aminoácidos isentos de fenilalanina com mais sabor, mais aminoácidos neutros e mais BH4. Além disso, alterar a terapia à medida que a idade avança é uma possibilidade atractiva.

BIBLIOGRAFIA

- AGOSTONI C, Verduci E, Massetto N, *et al.* (2003) Long-term effects of long chain polyunsaturated fats in hyperphenylalaninemic children. *Arch Dis Child*; 88: 582-583.
- BLAU, N. (2005). Tetrahydrobiopterin. [Em linha]. Disponível em http://www.bh4.org/biodefimages/Fig_bh-4bio.gif. [Consultado em 03/03/2008].
- BLAU N, Scriver CR. (2004) New approaches to treat PKU: How far are we? *Molecular Genetics Metabolism*; 81:1-2.
- CENTERWALL SA, Centerwall WR.(2000) The discovery of Phenylketonuria: The story of a young couple, two retarded children, and a scientist. *Pediatrics*; 105: 89-103.
- DESVIAT LR, Pérez B, Lucca M, Cornejo V, Schmidt B, Ugarte M. (1995) Evidence in Latin América of recurrence of V388M, a phenylketonuria mutation with high in vitro residual activity. *Am J Hum Genet*; 57 (2): 337-342.
- DIWAN, JJ. (1998). Biochemistry of Metabolism. [Em linha]. Disponível em <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb2/part1/aacarbon.htm>. [Consultado em 05/02/2008].
- ERLANDSEN H, Pey AL, Gámez A *et al.* (2004) Correction of kinetic and stability defects by tetrahydrobiopterin in phenylketonuric patients with certain phenylalanine hydroxylase mutations. *PNAS*; 101 (48): 16903-16908.
- GULDBERG P, Rey F, Zschocke J, *et al.* (1998) A European Multicenter Study of Phenylalanine Hydroxylase Deficiency: Classification of 105 Mutations and a General System for Genotype-Based Prediction of Metabolic Phenotype. *Am J Hum Genet*; 63: 71-79.
- HENDRIKSZ CJ, Walter JH. (2004) Update on phenylketonuria. *Current Paediatrics*; 14: 400-406.
- KRAUSE W, Halminski M, McDonald L, Dembure P, Saho R, Freides D, Elsas L. (1985) Biochemical and Neuropsychological Effects of Elevated Plasma Phenylalanine in Patients with Treated Phenylketonuria: a model for the study of phenylalanine and brain function in man. *J Clin Invest*; 75: 40-48.
- LEVY HL. (1999) Phenylketonuria: old disease, new approach to treatment. *Commentary. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*; 96: 1811-1813.
- MATALON KM. (2001) Developments in Phenylketonuria. *Topics in Clinical Nutrition*; 16(4): 41-50.
- MATALON R, Surendran S, Matalon KM, *et al.* (2003) Future Role of Large Neutral Amino Acids in Transport of Phenylalanine Into the Brain. *Pediatrics*; 112: 1570-1574.
- MIRA NVM, Marquez UML. (2000) Importância do diagnóstico e tratamento da fenilcetonúria. *Revista de Saúde Pública*; 34 (1): 86-96.

- MURRAY RK, Granner DK, Mayes PA et al. (1996) Harper's Biochemistry. 24th edition. United States of America: Pentrice-Hall International, Inc.
- National Institutes of Health Consensus Development Panel.** National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. (2001) Phenylketonuria: Screening and Management. *Pediatrics*; 108: 972-982.
- PIETZ J, Kreis R, Rupp A, et al. (1999) Large neutral amino acids block phenylalanine transport into brain tissue in patients with phenylketonuria. *J Clin Invest*; 103: 1169-78.
- Programa Nacional de Diagnóstico Precoce. Relatório de Atividades de 2006.** Instituto de Genética Médica Jacinto de Magalhães.
- RESTREPO S, Aguero H, Jayakar P, Luís AJ, Alfonso I. (1999) Clinical findings in untreated classic phenylketonuria. *International Pediatrics*; 14 (4): 232-234.
- RUPP A, Kreis R, Zschocke J, et al. (2001) Variability of Blood-Brain Ratios of Phenylalanine in Typical Patients with Phenylketonuria. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*; 21: 276-284.
- SANTOS LL, Magalhães MC, Januário JN, Aguiar MJB, Carvalho MRS. (2006) The time as come: a new scene for PKU treatment. *Online Journal Genetics and Molecular Research*; 5(1): 33-44. Disponível em: www.funpecrp.com.br.
- SCRIVER CR. (2007) The PAH Gene, Phenylketonuria, and a Paradigm Shift. *Human Mutation*; 28 (9): 831-845.
- Sociedade Portuguesa de Doenças Metabólicas (SPDM).** (2007) Consenso para o tratamento nutricional de fenilcetonúria. *Acta Pediátrica Portuguesa*; 38(1): 44-54.
- VALLIAN S, Moeini H. (2006) A quantitative bacterial micro-assay for rapid detection of serum phenylalanine in dry blood-spots: Application in phenylketonuria screening. *J Appl Genet*; 47 (1): 79-83.
- VILARINHO L, Queirós A, Leandro P, Almeida IT, Rivera I. (2006) Fenilcetonúria Revisitada. *Arquivos de Medicina*; 20 (5-6): 161-172.
- WALTER JH, Lee PJ, Burgard P. (2006) Hyperphenylalaninaemia. In: Fernandes, Saudubray, van der Verghe, Walter. *Inborn Metabolic Diseases, Diagnosis and Treatment*. Germany: Springer; pp. 222-232.
- ZSCHOCKE J. (2003) Phenylketonuria mutations in Europe. *Human Mutation*; 21: 345-56.
- ZURFLU MR, Zschocke J, Lindner M, et al. (2008) Molecular Genetics of Tetrahydrobiopterin-Responsive Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. *Human Mutation*; 29 (1): 167-175.