

Modelo de atención inicial de la fenilcetonuria y otras hiperfenilalaninemias en el Instituto Nacional de Pediatría

Dra. Marcela Vela-Amieva,¹ M en C Isabel Ibarra-González,² Dra. Susana Monroy-Santoyo,¹ QFB Cynthia Fernández-Laínez,¹ LN Sara Guillén-López,¹ Dra. Leticia Belmont-Martínez,¹ QFB Aída Hernández-Montiel,¹ Dra. Ariadna González-del Angel,³ Dra. Matilde Ruiz-García,⁴ Dra. María del Carmen Sánchez-Pérez,⁵ Dr. Jesús Mejía-Navarro,⁶ Dra. Ma. de la Luz Iracheta-Gerez⁶

RESUMEN

La hiperfenilalaninemia constituye un grupo de padecimientos hereditarios de carácter autosómico recesivo producidos en el 98% de los casos por deficiencias en la actividad de la fenilalanina hidroxilasa (PAH). Los fenotipos asociados varían en severidad desde la fenilcetonuria clásica (OMIM 261600, CIE-10 E090), a la hiperfenilalaninemia leve. La hiperfenilalaninemia produce una encefalopatía crónica en los niños, cuya historia natural se caracteriza por vómito, rechazo al alimento, irritabilidad, hipopigmentación cutánea y capilar, eczema, mioclonías, crisis convulsivas y retraso global del desarrollo cuya consecuencia final suele ser el retraso mental severo irreversible. Desde hace casi 50 años se sabe que el tratamiento temprano de estos padecimientos atenúa considerablemente el daño encefalopático y puede prevenir la discapacidad intelectual y motora. En el Instituto Nacional de Pediatría (INP) las hiperfenilalaninemias son los trastornos del metabolismo de aminoácidos que se detectan con más frecuencia. Esta Institución cuenta con una larga y documentada experiencia en el área; es un centro de referencia que cuenta con un equipo interdisciplinario, con tecnología de primer nivel para el diagnóstico y el seguimiento de estos casos. El objetivo de este escrito es mostrar los algoritmos de acción en pacientes con sospecha de hiperfenilalaninemia que solicitan los servicios del INP, desde su llegada a la Consulta Externa hasta el establecimiento del diagnóstico, para que su atención sea expedita.

Palabras clave: Fenilalanina, fenilcetonuria, hiperfenilalaninemia, errores innatos del metabolismo, tamiz neonatal, retraso mental.

ABSTRACT

Hyperphenylalaninemias are a group of autosomal recessive diseases produced in 98% of the cases by impaired activity of phenylalanine hydroxylase (PAH). The phenotype ranges from classic phenylketonuria (OMIM 261600, CIE-10 E090) to mild hyperphenylalaninemia. A high blood level of phenylalanine produces chronic encephalopathy in children, characterized by vomit, refusal to eat, irritability, skin and hair hypopigmentation, eczema, myoclonus, seizures and delay in developmental milestones whose final consequence is usually severe and irreversible mental retardation. For almost 50 years it has been known that early treatment of these conditions attenuates brain damage and can prevent intellectual and motor disabilities. Hyperphenylalaninemia is the most common aminoacid metabolic disorder diagnosed at the Instituto Nacional de Pediatría (INP). This Institute has a long and well documented experience in this disease; it is a referral centre with a multidisciplinary team, advanced technology for the diagnosis and follow-up of patients. The objective of this paper is to show the workshop algorithms for patients suspected of hyperphenylalaninemia seen at the INP, from their first visit at the outpatient clinic to the final diagnosis, in order to provide timely management.

Key words: Phenylalanine, phenylketonuria, hyperphenylalaninemia, phenylketonuria (PKU), inborn errors of metabolism, newborn screening, mental retardation.

¹ Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz del Instituto Nacional de Pediatría,

² Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Biomédicas.,

³ Laboratorio de Biología Molecular,

⁴ Servicio de Neurología,

⁵ Laboratorio de Neurodesarrollo

⁶ Consulta Externa del Instituto Nacional de Pediatría de México,

Pediatria. Av. Iman núm. 1, Piso 9, Colonia Insurgentes-Cuicuilco, Delegación Coyoacán, CP 04539, México, D.F. Tel. 56-06-32-31, correo: dravelaamieva@yahoo.com

Recibido: junio, 2010. Aceptado: agosto, 2010.

Este artículo debe citarse como: Vela-Amieva M, Ibarra-González I, Monroy-Santoyo S, Fernández-Laínez C y col. Modelo de atención inicial de la fenilcetonuria y otras hiperfenilalaninemias en el Instituto Nacional de Pediatría. Acta Pediatr Mex 2010;31(6):297-303.

Correspondencia: Dra. Marcela Vela-Amieva, Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz del Instituto Nacional de

La hiperfenilalaninemia (HPA, por sus siglas en inglés hyperphenylalaninemia, CIE-10 E70.1) constituye un grupo de padecimientos hereditarios de carácter autosómico recesivo producidos en el 98% de los casos por deficiencia en la actividad de la fenilalanina hidroxilasa (PAH, EC 1.14.16.1), enzima citosólica que cataliza la hidroxilación de fenilalanina (PHE, por sus siglas en inglés Phenylalanine) en tirosina (TYR, por sus siglas en inglés Tyrosine) en presencia de su cofactor, la tetrahidrobioptерина (BH4).^{1,2}

Los fenotipos asociados varían en severidad desde la fenilcetonuria clásica (PKU por sus siglas en inglés Phenylketonuria, OMIM 261600, CIE-10 E70.0), a la HPA leve. Sólo 1 a 2% restante de la HPA se debe a un bloqueo en el metabolismo del cofactor tetrahidrobioptерина (BH4).³

Las enzimas involucradas en la síntesis de la BH₄ son la GTP-ciclohidrolasa I (GTPCH) y la 6-piruvaltetrahydropterina sintetasa (6-PTPS). Las enzimas que regeneran la BH₄ son la dihidropteridina reductasa (DHPR) y la pterin-4- α -carbinolamina dehidratasa (PCD).^{2,4,5}

La frecuencia de esta enfermedad por deficiencia de PAH varía de acuerdo a la población estudiada: 1:2,600 recién nacidos vivos en Turquía; 1:5,200 en Escocia; 1:10,000 en Alemania; 1:13,300 en Francia; 1:125,000 en Japón, y 1:10,000 en población caucásica.^{2,6}

La HPA es una patología muy heterogénea con gran variabilidad fenotípica. El término “fenilcetonuria” se reserva a la forma más severa de la enfermedad. La forma clásica es la encefalopatía progresiva en niños aparentemente sanos durante los primeros meses de vida. Otros síntomas son convulsiones con registros electroencefalográficos anormales, trastornos del comportamiento e hiperactividad, síntomas del espectro autista o psicosis, eczema, hipopigmentación cutánea y capilar, así como olor corporal que semeja a la humedad (“ratón mojado”).

Por lo anterior el diagnóstico y el tratamiento temprano (antes del mes de vida) son muy importantes para prevenir la discapacidad de estos niños.^{2,7} Los biomarcadores descritos para el diagnóstico de las HPA son las concentraciones de PHE y TYR en sangre. Hay otros indicadores, como los ácidos fenilpirúvico, fenil-láctico e hidroxi-fenilpirúvico urinarios, pero tienen poca aplicación práctica.

Uno de los métodos para la detección y cuantificación de PHE, es la prueba semicuantitativa de Guthrie, que da falsos positivos en una proporción aproximada de 5%; además, su exactitud puede afectarse por múltiples

factores. También se ha utilizado la prueba fluorométrica de microplacas pero da aproximadamente 0.6% de casos falsos positivos y su sensibilidad es de 30 μ M.⁸ En contraste, la sensibilidad de la espectrometría de masas en tandem es de 3 μ M para la PHE, con la ventaja de que simultáneamente proporciona la concentración de TYR y el tiempo del estudio es más corto.

La técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC por sus siglas en inglés *High Performance Liquid Chromatography*) es el estándar de referencia para realizar el diagnóstico confirmatorio de las HPA; tiene alta sensibilidad (se pueden detectar concentraciones < 10 μ M de PHE) y especificidad, además utiliza pequeños volúmenes de muestra (microlitros).⁹⁻¹¹

La actividad de la PAH sólo se expresa en hígado, riñón y páncreas. El gen PAH ha sido clonado en el humano y se localiza en el cromosoma 12q22-q24.1; está constituido por 1356 pb distribuidas en 13 exones. Se han descrito más de 540 mutaciones en PAH. La frecuencia de dichas mutaciones varía entre poblaciones. Debido al gran número de mutaciones, la mayoría de los pacientes con HPA son heterocigotos compuestos, lo que explica en parte, la gran variabilidad fenotípica del padecimiento. La determinación del genotipo en cada paciente puede ayudar a predecir la severidad de la enfermedad y su posible respuesta a la administración de cofactor. Las frecuencias y mutaciones no han sido bien establecidas en población mexicana; sin embargo, se pueden reconocer los patrones de migración y mestizaje. Los efectos de la expansión europea durante los últimos cinco siglos se observan en la distribución de los alelos de PAH en algunos países de América. Algunos usos y costumbres de nuestra población, como la endogamia, pueden incrementar la prevalencia de ciertos alelos en determinadas regiones y comunidades. En población hispana las más predominantes son la V388M y la IVS10-11G>A.¹²⁻¹⁵

Para la determinación de mutaciones en pacientes con HPA, se han utilizado varios métodos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) complementada con el análisis de polimorfismos de fragmentos de longitud variable mediante enzimas de restricción (PCR-RFLP)¹⁶ análisis de conformaciones de polimorfismos de cadenas sencillas (SSCP) y secuenciación directa,¹³ o secuenciación directa de los exones del gen.

Las HPA son enfermedades raras, sólo afectan a una pequeña proporción de la población (1 de cada 2,500 o

menos); sin embargo, causan gran morbilidad que conduce a una discapacidad severa permanente, por lo que deben ser atendidas de forma oportuna y apropiada.

CONVENIENCIA DE ATENDER A LOS PACIENTES CON PKU Y HPA EN CENTROS DE REFERENCIA

Existen evidencias sólidas de que los pacientes con enfermedades raras, tales como la PKU, tienen mejor evolución y pronóstico cuando son atendidos y tratados en centros de referencia que cuenten con experiencia para diagnosticar, hacer seguimiento y tratar a pacientes.¹⁷⁻²¹

Los centros de referencia deben tener la capacidad para proporcionar asesoría por expertos en el diagnóstico y cuidados de la PKU, así como para generar y adherirse a buenas prácticas e implementar medidas de control de calidad de resultados. Deben contar con una estrategia multidisciplinaria, así como con un elevado nivel de calificación y experiencia documentada mediante publicaciones y proyectos de investigación.¹⁷

La relación y cooperación debe ser estrecha con otros centros expertos a nivel nacional e internacional y trabajar con asociaciones de pacientes.²²

Los pacientes con HPA requieren para su adecuada atención, que los profesionales que los atiendan tengan un elevado nivel de especialización, que incluya tecnologías diagnósticas y de monitorización tales como la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), espectrometría de masas en tandem (MS/MS por sus siglas en inglés *Mass Spectrometry*), así como estudios de imagen como la resonancia magnética.²³

Para que los centros de referencia mantengan su calidad, deben tener un flujo constante de pacientes que asegure un número amplio de casos por periodo, para que el costo se reduzca y la eficacia aumente.^{17,18}

La PKU dada su baja prevalencia, requiere la concentración de los casos para su adecuada atención; esto no implica atención continua del paciente en el centro de referencia, sino que éste actúe como apoyo para confirmación diagnóstica, definición de las estrategias terapéuticas, de seguimiento y como consultor para las unidades clínicas que detectan a estos pacientes. Un Centro Experto de Referencia es un centro sanitario que se dedica fundamentalmente a la atención de patologías raras.¹⁸

El Instituto Nacional de Pediatría fue designado en 1995 como Centro Nacional de Referencia de Errores In-

natos del Metabolismo y en la actualidad es la institución nacional que cuenta con una mayor cohorte de pacientes con PKU/HPA; por ende, tiene la mayor experiencia en esta área en México.

En el presente documento se plantea el Modelo de Atención de las PKU/HPA de nuestra Institución, que ha sido desarrollado de forma multidisciplinaria, acatando la mayor cantidad de apreciaciones y sugerencias para su aplicabilidad y basado en evidencias científicas. Como todo modelo, no está concebido como un modelo rígido y concluido; por el contrario, busca combinar las nuevas propuestas que han surgido, especialmente sobre diagnóstico y tratamiento.

Nuestro modelo pretende satisfacer las necesidades de los pacientes que acuden al INP, integrando factores determinantes de la atención especializada, así como las necesidades de información, centrado en la valoración integral del niño y su familia. Toma en cuenta el control de la sintomatología, la rehabilitación, la calidad de vida y el trabajo en equipo para lograr un abordaje interdisciplinario.

La misión del Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz del INP como Centro Nacional de Referencia de PKU y otras enfermedades raras es:

- Servir de apoyo para la confirmación diagnóstica, definición de las estrategias terapéuticas, seguimiento y como consultor para las unidades clínicas que lo soliciten.
- Definir y difundir protocolos de atención.
- Coordinar la investigación y participar en la vigilancia epidemiológica.
- Participar en las iniciativas de formación e información para profesionales de la salud, enfermos y sus familiares.
- Coordinar las redes de proveedores de cuidados sanitarios y médico-sociales.
- Asesorar a los tomadores de decisiones de Salud Pública en lo referente a las políticas sobre PKU y otras enfermedades raras.

ALGORITMOS DE ATENCIÓN INICIAL DE LOS PACIENTES CON FENILCETONURIA Y OTRAS HIPERFENILALANINEMIAS EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

Los algoritmos de acción que contemplan los tres escenarios distintos por los que un niño puede llegar al INP

solicitando atención médica se muestran en las Figuras 1 a 3. El primer algoritmo (Figura 1) se refiere a recién nacidos (menores de 30 días), que llegan a nuestra institución con un resultado anormal de tamiz neonatal: un nivel elevado de PHE. Dicha elevación debe confirmarse de inmediato, de preferencia el mismo día, puesto que cada incremento de 100 µmol/L (0.6mg%) de PHE sobre el valor normal, reduce el IQ de 1.9 a 4.1 puntos.²⁴

Para realizar la confirmación, el niño debe ser enviado (incluso antes de la apertura del folio o del expediente) al Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz ubicado en el Piso 9 de la Torre de Investigación del INP, de lunes a viernes, de 8:00 a 15:00 h. **No es necesario hacer cita previa.** En el laboratorio, se procederá a extraer 1mL de sangre venosa para cuantificar aminoácidos plasmáticos mediante HPLC y/o MS2. Se tomará una muestra

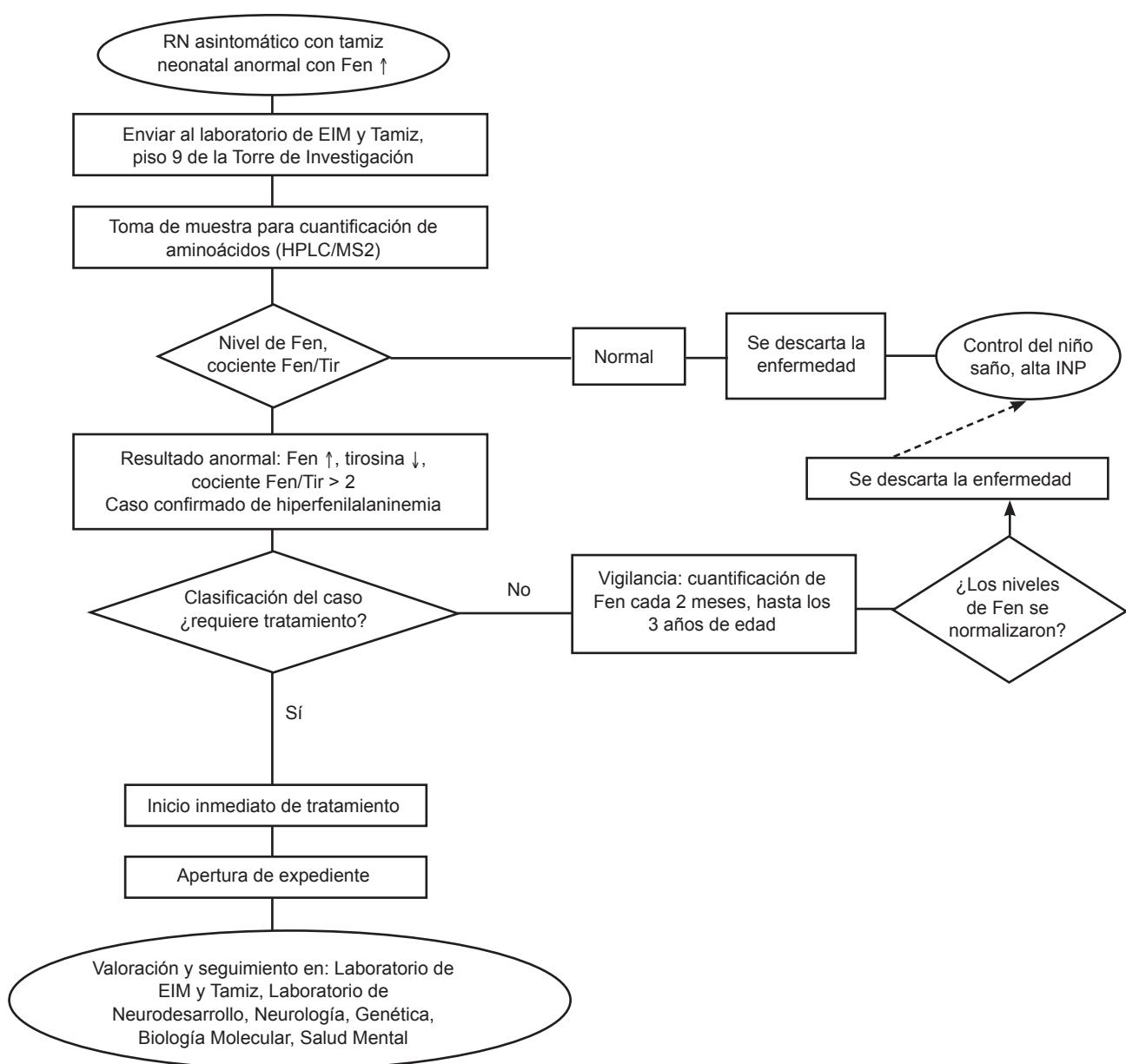


Figura 1. Algoritmo para la atención del recién nacido asintomático con resultado alterado de tamiz neonatal.

de orina que se congelará para la determinación posterior de pterinas, a fin de descartar trastornos de BH4.

En condiciones habituales (dependiendo de la hora a la que llega el recién nacido), el resultado de la determinación se tiene el mismo día, por lo que el diagnóstico se puede confirmar de inmediato. Si el resultado señala una PHE elevada, TYR baja y cociente PHE/TYR mayor de 2, se considera un caso confirmado de HPA; enseguida se procede, según el nivel de la elevación de PHE a clasificar de manera inicial el caso y a iniciar el tratamiento de manera urgente e inmediata, con una dieta especial libre o baja en PHE. Durante este proceso, es fundamental acompañar profesionalmente a los padres, y asesoramiento genético profesional.

Los pediatras, los nutriólogos, neurólogos y el resto del equipo involucrado deben mantener una misma línea de acción reforzando la importancia del inicio urgente del tratamiento y la necesidad de darle seguimiento permanente a la enfermedad. De ser posible, se debe iniciar simultáneamente la apertura del expediente en la Consulta Externa y se deben programar las valoraciones específicas en los servicios de Neurología (evaluación clínica del estado neurológico inicial, programará el EEG y los estudios de imagen), Neurodesarrollo (valoración neuropsicomotora del desarrollo), Genética y Biología Molecular (para asesoramiento profesional y cita para estudio molecular de las mutaciones de la PHA) y Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz (para vigilancia de la dieta,

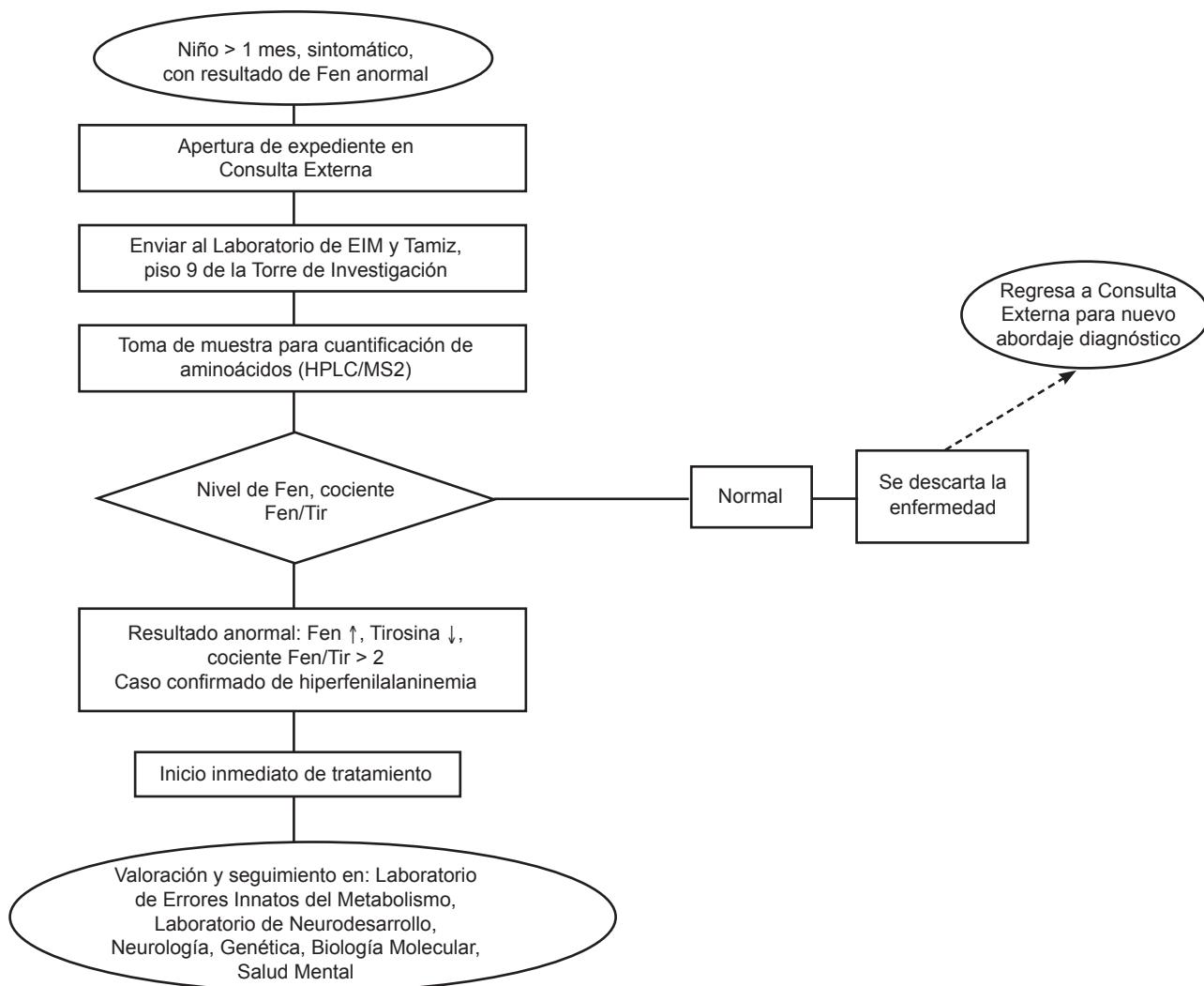


Figura 2. Algoritmo para niñas y niños mayores de 1 mes, con sintomatología sugestiva de fenilcetonuria y resultado de estudio metabólico elevado para fenilalanina, realizado fuera del INP.

crecimiento y desarrollo). Cada uno de estos servicios debe ofrecer información específica sobre PKU, orientada a educar y a informar a la familia la importancia del tratamiento a largo plazo. También es necesario referirlos a Salud Mental para ayudar en el duelo de los padres y reforzar la importancia del apego al tratamiento.

Si se documenta una HPA “benigna” esto es, entre 120 uM y 240 uM, no se iniciará tratamiento, pero se harán determinaciones periódicas de los niveles de PHE hasta los tres años de edad. Si ocurre un cambio (aumento) de la PHE o sintomatología neurológica, se procederá a iniciar tratamiento.

Las Figuras 2 y 3 ilustran los algoritmos de atención inicial para niños mayores de un mes, con sintomatología sugestiva de encefalopatía por HPA (vómito, rechazo al

alimento, olor a “ratón mojado”, irritabilidad, agresividad, eczema, letargo retraso global del desarrollo, mioclonías, pelo rubio o más claro que el de los familiares, crisis convulsivas, retraso mental, etc) y acuden al INP solicitando que se descarte o confirme el diagnóstico de HPA/PKU. En algunos de estos casos, los pacientes llegan con estudios metabólicos previos (Algoritmo 2) o llegan por sospecha clínica (Algoritmo 3). En ambos casos, se abre expediente en la Consulta Externa y simultáneamente se envían al Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz del piso 9 de la Torre de Investigación, para realizar cuantificación de aminoácidos en plasma. Si el resultado, muestra elevación de la PHE, se iniciará de inmediato el tratamiento; se valorarán y programarán los estudios en

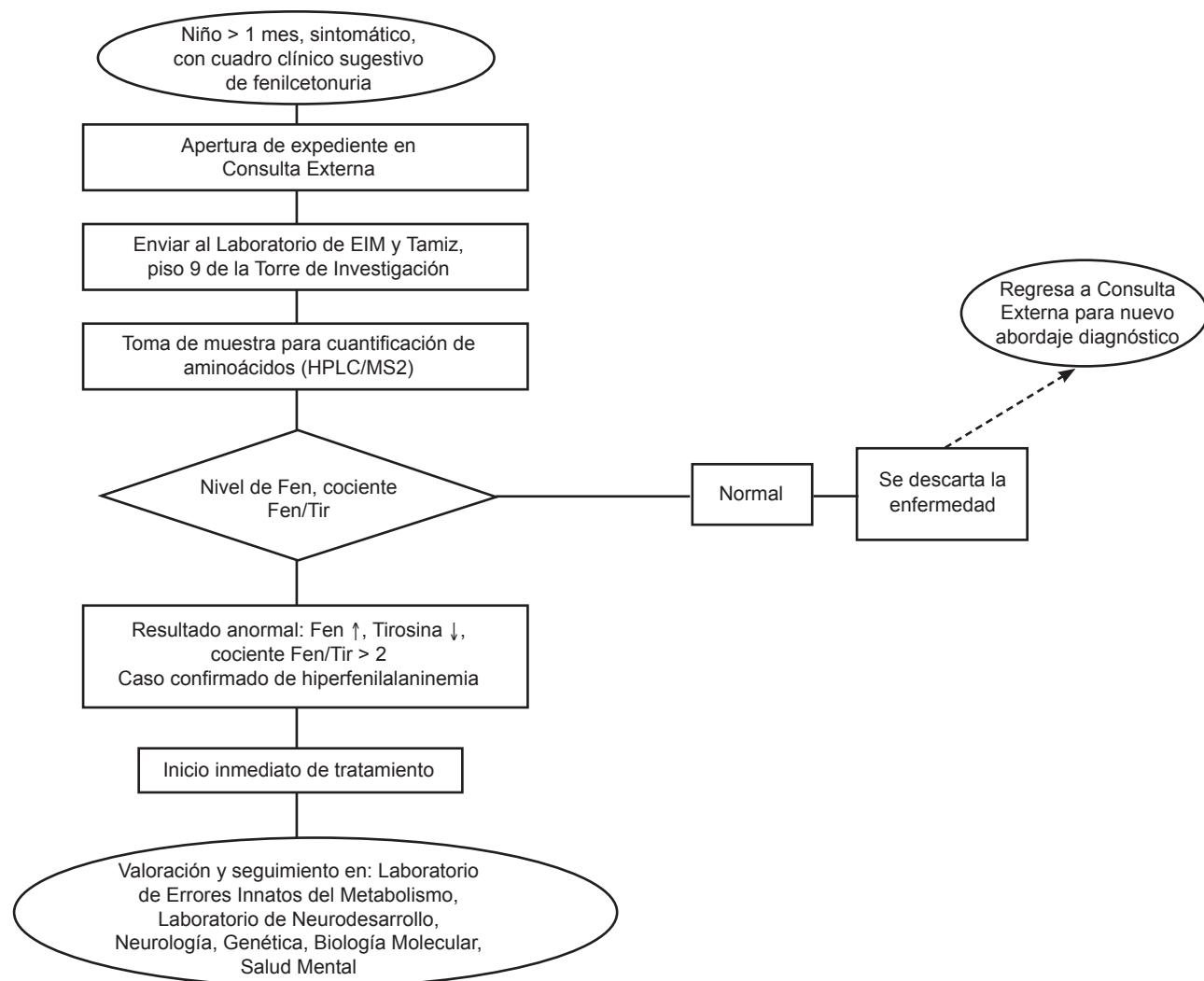


Figura 3. Algoritmo para niños mayores de un mes, con sintomatología sugerativa y sin estudio metabólico previo.

todas las especialidades involucradas: Genética/Biología molecular, Neurología, Neurodesarrollo, Laboratorio de Errores Innatos de Metabolismo y Salud Mental. En los pacientes en quienes no se documenten anomalías en la PHE, se descartará el diagnóstico de PKU; se les enviará a los servicios conducentes para que continúen su abordaje diagnóstico.

Finalmente, el INP mediante el Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo y Tamiz puede colaborar en el diagnóstico y seguimiento a distancia de pacientes con sospecha de PKU u otra HPA. Para los pacientes foráneos, que no puedan venir a la institución, su médico puede enviar un resumen clínico con cinco gotas de sangre depositada en papel filtro a la siguiente dirección: Laboratorio de Errores Innatos del Metabolismo, Instituto Nacional de Pediatría, Torre de Investigación, Av. Imán núm. 1, piso 9, colonia Insurgentes-Cuicuilco, Delegación Coyoacán, CP 04530. Tel/Fax 56-06-32-31.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Erlandsen H, Pey A, Gámez A, Pérez B, Desviat L, Aguado C, Koch R, Surendran S, Tyring S, Matalon R, Scriver C, Ugarte M, Martínez A and Stevens R. Correction of kinetic and stability defects by tetrahydrobiopterin in phenylketonuria patients with certain phenylalanine hydroxylase mutations. *PNAS*. 2004; 30 (101): 16903-8.
2. Scriver C, Kaufman S. Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine hydroxylase deficiency. In Scriver CR, beaudet AL, Sly WS Valle D. eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed New York: Mc Graw Hill; 2001. p. 1667-724.
3. Cornejo V, Raimann E. Errores innatos del metabolismo de los aminoácidos: Hiperfenilalaninemias, en Colombo M, Cornejo V, Raimann E. *Errores Innatos en el metabolismo del niño*. 1^a edición, Santiago de Chile: 1999. p. 59-65.
4. Blau N, Blaskovics ME. Hyperphenylalaninemia. En: Blau N, Duran M, Blaskovics M (eds): *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases*. Chapman and Hall Medical; 1996. p. 65-78.
5. Longo N. Disorders of biopterin metabolism, *J Inherit Metab Dis* 2009;32(3):333-42.
6. Velázquez A, Bilbao G, González-Trujillo LJ, Hernández D, Pérez-Andrade ME, Vela M, Cicerón I, Loera-Luna A, Cederbaum S and Phoenix B. Apparent higher frequency of phenylketonuria in the Mexican state of Jalisco. *Human Genetics* 1996;97:99-102.
7. Smith I, Philip L. The hyperphenylalaninemias, En: Fernandes J, Saudubray JM, Van den Berghe G (eds): *Inborn Metabolic Diseases, diagnosis and treatment*. 3rd edition, Germany: Springer-Verlag; 2000. p. 171-83.
8. Clague A, Thomas A. Neonatal biochemical screening for disease. *Clin Chim Acta* 2002;315:99.
9. Dale Y, Mackey V, Mushi R, Nyanda A, Maleque M, Ike J. Simultaneous measurement of phenylalanine and tyrosine in phenylketonuric plasma and dried blood by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2003;788(1):1-8.
10. Schwarz EL, Roberts WL, Pasquali M. Analysis of plasma amino acids by HPLC with photodiode array and fluorescence detection. *Clinica Chimica Acta* 2005;354:83-90.
11. Valedo MT, de Frutos M, Diez-Masa JC. On-capillary derivatization and analysis of amino acids in human plasma by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection: Application to diagnosis of aminoacidopathies. *Electrophoresis* 2006;27:3101-7.
12. Perez B, Desviat LR, De Lucca M, Schmidt B., Loghin-Grosso N, Giugliani R, Pires RF, Ugarte M. Mutation analysis of phenylketonuria in South Brazil. *Human Mutation* 1996;8:262-4.
13. Santana da Silva LC, Santos Carvalho T, Britto da Silva F, Morari L, Aguirres Fachel A, Pires R, Farret Refosco L, Desnick RJ, Giugliani R, Saraiwa Pereira ML. Molecular characterization of phenylketonuria in South Brazil *Molecular Genetics and Metabolism* 2003;79:17-24.
14. www.pahdb.mcgill.ca
15. Tighe O, Dunican D, O'Neill C., Bertorelle G, Beattie D, Graham C, et al. Genetic Diversity Within the R408W Phenylketonuria Mutation Lineages in Europe. *Human Mutation* 2003;21:387-93.
16. Vallian S, Barahimi E, Moeini H. Phenylketonuria in Iranian population: a study in institutions for mentally retarded in Isfahan. *Mutation Research* 2003;526:45-52.
17. Camfield CS, Joseph M, Hurley T, Campbell K, Sanderson S, Camfield PR. Optimal management of phenylketonuria: a centralized expert tea mis more successful than a decentralized model of care. *J Pediatr* 2004;145:53-7.
18. Draft recommendations for the development of strategic plan for rare diseases including methodological guidance. 28 October, 2009. Final recommendations available on the EUROPLAN website, www.europlanproject.eu;
19. Godard B, Kääriäinen H, Kristoffersson U, Tranebaerg L, Covello D, Aymé S. Provision of genetic services in Europe: current practices and issues. *Eur J Human Genet* 2003;11(Suppl 2):S13-S48.
20. van Spronsen FJ, Ahring KK, Gizewska M. PKU-what is daily practice in various centres in Europe? Data from a questionnaire by the scientific advisory committee of the European Society of Phenylketonuria and Allied Disorders, *J Inher Metab Dis* 2009;32:58-64.
21. Blau N, Belanger-Quintana A, Demirkol M, Feillet F, Giovannini M, MacDonald A, Trefz FK, van Spronsen FJ. Management of phenylketonuria in Europe: survey results from 19 countries, *Mol Genet Metab* 2009;96:158-63.
22. Penchaszadeh VB, Christianson AL, Giugliani R, Boulyjenkov V, Katz M. Services for the prevention and management of genetic disorders and birth defects in developing countries. *Comm Genet* 1999;2:196-201.
23. National Institutes of Health Consensus Development Panel; National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. *Pediatrics* 2001;108: 972-82.
24. Waisbren SE, Noel K, Fahrbach K, Cella C, Frame D, Dorenbaum A, Levy H. Phenylalanine blood levels and clinical outcomes in phenylketonuria: a systematic literature review and meta-analysis. *Mol Genet Metab* 2007;92(1-2):63-70.