

Bożena DIDY CZ<sup>1</sup>  
Dorota LEMAŃSKA<sup>2</sup>  
Aleksandra SŁUSZNI AK<sup>2</sup>

## Czy zmiana techniki badań przesiewowych wpłynęła na poprawę wiarygodności testu w rozpoznawaniu i diagnostyce różnicowej hiperfenyloalaninemii?

<sup>1</sup>Klinika Chorób Dzieci Katedry Pediatrii  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medium  
w Krakowie  
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. Jacek J. Pietrzyk

<sup>2</sup>Pracownia Badań Przesiewowych  
i Błędów Metabolicznych  
Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

### Dodatkowe słowa kluczowe:

fenyloketonuria (PKU)  
hiperfenyloalaninemia (HPA)  
fenyloketonuria matczyzna (PKU matczyzna)  
fenyloalanina (Phe)  
test Guthrie  
metoda fluorymetryczna  
metoda kolorymetryczna

### Additional key words:

phenylketonuria (PKU)  
hyperphenylalaninemia (HPA)  
maternal phenylketonuria (MPKU)  
phenylalanine (Phe)  
Guthrie test  
fluorimetric method  
colorimetric method

Fenyloketonuria (PKU)/hiperfenyloalaninemia (HPA) jest najczęstszym wrodzonym, genetycznie uwarunkowanym błędem metabolizmu aminokwasów. Występowanie w populacji polskiej szacuje się na poziomie 1:7 000 - 8 500. Opisana po raz pierwszy w roku 1934 przez A. Föllinga. Rozpoznawana jest we wczesnym okresie noworodkowym dzięki badaniom przesiewowym, które były wdrożone w 1963 roku przez R. Guthrie. Materiał: od 1985 roku do 2007 w Pracowni Badań Przesiewowych i Błędów Metabolicznych w Krakowie przebadano 1 172 310 noworodków. Metody: w latach 1985-1998 fenyloalaninę w kropli krwi na bibule oznaczano półilościową metodą Guthrie. Natomiast od roku 1999 wdrożono metodę ilościową z kolorymetrycznym pomiarem stężenia fenyloalaniny we krwi włośniczkowej. Od roku 2004 prawidłową wartość fenyloalaniny w kropli krwi na bibule w badaniu przesiewowym ustalono na poziomie <3 mg/dl (do roku 2003 < 4mg/dl). Krew włośniczkowa pobierana jest od każdego noworodka na bibułę numer S&S 903 między trzecią a siódmą dobą życia dziecka. Weryfikację rozpoznania w latach 1985-1988 prowadzono stosując test Guthrie, 1989-2006 fluorymetryczną metodę McCaman i Robins, a od roku 2007 metodę kolorymetryczną. Wyniki: w latach 1985-1998 wyodrębniono grupę 137 noworodków (1:4204), z czego klasyczną PKU rozpoznano u 96 (1:5999), a w kolejnych latach (po zmianie metody) 186 (1:4788), postać klasyczną rozpoznano u 94 (1:5236) noworodków. Obniżenie punktu odcięcia wpłynęło na częstość rozpoznawania HPA łagodnej, która wzrosła dwukrotnie z 1:25909 do 1:12720. W 2001 roku zeweryfikowano rozpoznania u 51 z 93 pacjentek (dane pozyskano z archiwum Poradni), które były wyłonione w przesiewie noworodkowym w latach 1985-

The phenylketonuria (PKU)/hyperphenylalaninemia (HPA) it is the most frequent inborn genetically conditioned error of metabolism of amino acids. It's occurrence in Polish population was estimated on the level 1:7.000 - 8.500. A. Fölling was the first who described the phenylketonuria in 1934. It's diagnosed by neonatal screening, which was initiated in 1963 by prof. R. Guthrie. Material: since 1985 till 2007 1 172 310 newborns investigated by the neonatal screening proceeding by the Laboratory of Screening and Inborn Errors of Metabolism in Cracow. Method: in the years 1985-1998 the phenylalanine concentration in drop of blood on the blotting-paper was measured with half-quantitative Guthrie method. However after 1999 the colorimetric quantitative method measurement of phenylalanine concentration in capilar blood was introduced. It 2004 the cut-off value of phenylalanine in drop of blood on filter paper in neonatal screening investigation has was established below 3 mg/dl (till 2003 it was below 4mg/dl). The blood had been taken from every newborn on filter paper Standard 903 between third and seventh day of the child's life. The verification of recognition in 1985-1988 was applied by Guthrie test, in 1989-2006 by the fluorimetric McCaman and Robins method, and since 2007 by colorimetric method. Results: in 1985-1998 the group of 137 newborns was distinguished due to the newborn screening (1:4.204), the classic PKU was recognized at 96 (1:5.999), however in next years (after change of method) due to screening 186 (1:4.788) newborns were distinguished, the classic PKU was recognized at 94 (1:5.236) newborn children. The lowering the point of cut-off influenced on frequency recognizing mild HPA, which grew up from 1:25.909 to

Adres do korespondencji:  
Lek. med. Bożena Didycz  
Klinika Chorób Dzieci Katedry Pediatrii  
Uniwersytet Jagielloński Collegium Medium  
Kraków 30-663, ul. Wielicka 265  
Tel.: 012 658 20 11 wewn. 1236  
Fax: 012 658 44 46  
e-mail: bozenadidycz@wp.pl

Dr n. biol. Dorota Lemańska  
Pracownia Badań Przesiewowych i Błędów  
Metabolicznych  
Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie  
Kraków 30-663, ul. Wielicka 265  
Tel./Fax (0-12) 658-14-60  
e-mail: milemans@cyf-kr.edu.pl

1998, a wobec obserwowanych u nich wartości fenyloalaniny <10mg/dl (HPA łagodna) nie wymagały leczenia dietetycznego i stopniowo rezygnowały z opieki lekarskiej. Ze względu na możliwość wystąpienia zespołu PKU matczynej u ich potomstwa ponownie wezwano 45 pacjentek, ale z różnych powodów zgłosiło się tylko 36, u 28 z nich stwierdzono podwyższone stężenie fenyloalaniny: 2-4 mg/dl – 1 pacjentka; 4-6 mg/dl – 6 pacjentek; 6-10mg/dl – 11 pacjentek; 10-20 mg/dl – 12 pacjentek. Z tego powodu u 19 pacjentek wdrożono postępowanie lecznicze. Wnioski: 1. Stosowanie testu Guthriego ograniczało diagnostykę różnicową poszczególnych postaci HPA, co prowadziło do zaniechania obserwacji lekarskiej, zwłaszcza dziewczynek i kobiet, skutkiem czego niejednokrotnie mogło być urodzenie dziecka z zespołem PKU matczynej. 2. Wprowadzenie metody kolorymetrycznej znacznie usprawniło wykrywanie łagodnych postaci PKU i hiperfenyloalaninemi.

## Wstęp

Szybki rozwój medycyny pociąga za sobą konieczność postępu w diagnostyce klinicznej, która jest często niezbędnym elementem prawidłowego rozpoznania choroby. Szczególną rolę w diagnostyce wrodzonych chorób metabolicznych u niemowląt odgrywają badania przesiewowe, które pozwalają na wykrywanie choroby w okresie bezobjawowym. Najczęstszym wrodzonym błędem metabolizmu aminokwasów jest fenyloketonuria. Defekt metaboliczny jest spowodowany mutacją genu hydroksylazy fenyloalaniny (PAH), a efektem zmiany jest blok hydroksylacji fenyloalaniny do tyrozyny [2,6].

Historia fenyloketonurii (PKU) sięga roku 1934, kiedy to norweski lekarz i biochemik A. Fölling odkrył przyczynę ciężkiego opóźnienia umysłowego u dwojga dzieci w Norwegii. Od tego czasu wydarzenia toczyły się wolno: w 1953 roku prof. H. Bickel po raz pierwszy w historii wprowadził leczenie dietetyczne u dziewczynki chorej na fenyloketonurię, czemu towarzyszyła ewidentna poprawa motoryki i stanu umysłowego dziewczynki. Obserwacje te stworzyły podstawę do skutecznego stosowania diety niskofenyloalaninowej u chorych na fenyloketonurię [3]. Ale do początku lat 60-tych leczenie dietetyczne stosowane było u osób chorych z zaawansowanymi objawami PKU nieleczonych, co w nieznanym stopniu poprawiało ich funkcjonowanie społeczne.

Poszukiwania możliwości wczesnej diagnostyki fenyloketonurii zakończyły się sukcesem w 1962 roku, gdy w Stanach Zjednoczonych Guthrie i Susi opracowali mikrobiologiczny test bibułowy przeznaczony do oznaczania stężenia fenyloalaniny (Phe) we krwi włośniczkowej pacjentów z PKU, który to w 1963 roku po raz pierwszy zastosowany u noworodków zapoczątkował epokę badań przesiewowych noworodków (test Guthriego), umożliwiającą rozpoznanie choroby w okresie klinicznie bezobjawowym [12,16].

W Polsce badania przesiewowe w kierunku fenyloketonurii rozpoczął Instytut Matki i Dziecka w Warszawie w 1964 roku [5,20]. Od tego okresu test Guthriego był sukcesywnie wprowadzany jako obowiązkowy także w innych ośrodkach, by w 1986 r. ob-

jęć cały kraj. W 1998 r. przeprowadzono reorganizację badań przesiewowych dostosowaną do nowego podziału administracyjnego kraju. Obecnie w Polsce istnieje osiem pracowni zajmujących się przesiewem noworodków w kierunku fenyloketonurii, a także wrodzonej niedoczynności tarczycy. Pracownia Badań Przesiewowych i Błędów Metabolicznych w Krakowie wykonuje badania dla Polski południowo-wschodniej obejmując województwa: małopolskie, podkarpackie oraz świętokrzyskie [21].

Celem pracy jest potwierdzenie pozytywnego wpływu zmian, jakie miały miejsce w metodycie badań przesiewowych noworodków w kierunku wykrywania oraz monitorowania hiperfenyloalaninemii.

## Materiał i metody

Materiałem do badań przesiewowych była krew włośniczkowa pobierana z pięty od każdego noworodka, będącego na pełnym żywieniu doustnym, na bibułę filtracyjną Standard 903 między trzecią a siódmą dobą życia w okresie od 1 stycznia 1985 r. do 31 grudnia 2007 r. W tym okresie w Pracowni Badań Przesiewowych i Błędów Metabolicznych Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie przebadano 1 172 310 noworodków.

W latach 1985-1998 do oznaczania fenyloalaniny w kropli krwi na bibule stosowano półilościowy test mikrobiologiczny Guthriego. Zasada tego testu polegała na hamowaniu wzrostu szczepu *Bacillus subtilis* poprzez antymetabolit β-2-thieryloalaninę i odwróceniu tego hamowania u obecności wysokich stężeń fenyloalaniny.

Od 1999 roku w badaniach przesiewowych do oznaczania fenyloalaniny stosowany jest test ilościowy z pomiarem kolorymetrycznym. Test ten opiera się na reakcji deaminowania utleniającego fenyloalaninę katalizowaną przez dehydrogenazę fenyloalaninową wobec NAD do kwasu fenylopirogroonowego i amoniaku. Powstający NADH, po reakcji z solą tetrazoliową, będącą akceptorem elektronów, jest mierzony kolorymetrycznie. Pomiar absorbancji wykonuje się przy długości fali 570 nm i 690 nm (aparatury Mulliscan RC, Labsystem). W rutynowym prowadzeniu badań przesiewowych noworodków w Polsce stosowane są odczynniki IBL Gesellschaft für Immunchemie und Immunobiologie mbH [20]. Weryfikacja wyniku podwyższonego odbywała się do roku 2006 metodą fluorymetryczną w surowicy krwi [18]. Obecnie zaś do tego celu, jak również do monitorowania leczenia, wykorzystywana jest w pełni ilościowa metoda z pomiarem kolorymetrycznym.

W latach 1985-2003 punkt odcięcia dla badania przesiewowego wynosił < 4,0 mg/dl fenyloalaniny w kropli krwi na bibule, a od roku 2004 wartość tę obniżono do poziomu < 3,0 mg/dl.

## Wyniki

W latach 1985-1998 w przesiewie noworodkowym wyloniono 137 noworodków i niemowląt, u których częstość wartości podwyższonej Phe (hiperfenyloalaninemia) w przesiewie wynosiła 1:4204. Spośród wezwanych noworodków fenyloketonurię (klasyczną i łagodną) rozpoznano u 96 pacjentów (częstość 1:5999), hiperfenyloalaninemię łagodną – u 25 dzieci (częstość 1:25909). W latach 1999-2007 po zmianie metody do diagnostyki różnicowej i weryfikacji rozpoznania wezwano 186 noworodków i w grupie tej fenyloketonurię (klasyczną i łagodną, które wymagają interwencji dietetycznej) zdiagnozowano u 94 pacjentów (1:5236), natomiast hiperfenyloalaninemię u 35 noworodków (częstość 1:12720). Po obniżeniu punktu odcięcia w badaniu przesiewowym częstość hiperfenyloalaninemii łagodnej wzrosła z 1:25909 do 1:12720.

W roku 2001 przeanalizowano dane 93 pacjentek, wylonionych z badań przesiewowych noworodków w latach 1985-1998, pochodzące z archiwum Gabinetu Fenyloketonurii Poradni Chorób Metabolicznych Uniwersyteckiego Szpitala Dziecięcego w Krakowie. Analizę taką wykonano ze względu na fakt, że 51 z nich prezentowały w okresie niemowlęctwa i dzieciństwa objawy hiperfenyloalaninemii łagodnej i pozostawały bez interwencji dietetycznej, co spowodowało, że stopniowo rezygnowały z regularnej opieki ambulatoryjnej. Wobec możliwości wystąpienia u ich potomstwa zespołu fenyloketonurii matczynej podjęto decyzję o weryfikacji wcześniejszych rozpoznań. Z powodu braku możliwości ustalenia wszystkich aktualnych adresów tylko do 45 z 51 pacjentek wysłano listy z prośbą o pobranie próbki krwi na załączoną bibułę celem oznaczenia stężenia Phe w krwi włośniczkowej. Otrzymano 36 odpowiedzi wraz z próbkami i u 28/36 (77,7%) pacjentek stwierdzono podwyższone wartości Phe: 2-4 mg/dl u 1 pacjentki; 4-6 mg/dl (HPA) u 6 pacjentek, 6-10 mg/dl (HPA łagodna) w 11/28 (39,3%) przypadkach, a u 12/28 (42,9%) pacjentek wartości między 10 a 20 mg/dl (PKU łagodna i klasyczna). Zaobserwowano przejście od łagodnej postaci hiperfenyloalaninemii w

wcześniejszych badaniach do PKU łagodnej i klasycznej. To spowodowało, że 19 dziewczynkom wdrożono leczenie dietetyczne, co pozwoliło zapobiec występowaniu zespołu PKU matczynej u trzech z nich, które urodziły zdrowe potomstwo. Natomiast, mimo prowadzonej rzetelnej edukacji i początkowo terapii dietetycznej, jedna pacjentka urodziła dziecko z małogłowie i wadą wrodzoną serca o typie ubytku przegrody międzykomorowej.

## Dyskusja

Postęp w medycynie i diagnostyce laboratoryjnej pozwolił na bliższe poznanie omawianego schorzenia, co zweryfikowało nazewnictwo i rodzaje rozpoznania. Zmiana metody diagnostycznej z półilościowej na ilościową pozwoliła na uniknięcie szeregu wad, którymi był obarczony test *Guthriego*. Bardzo istotne było wyeliminowanie subiektywnej oceny wzrostu bakterii wokół próbki badanej w porównaniu ze wzorcem, co przy błędnym odczycie mogło prowadzić do nie wykrycia wartości podwyższonej w przesiewie i braku weryfikacji wyniku u dziecka (wynik fałszywie ujemny). Ponadto ręczne układanie próbek na tacce, co mogło powodować pomyłki przy identyfikacji danych pacjenta oraz konieczność dodatkowego przygotowania próbki do oznaczenia fenyloalaniny wydłużały czas otrzymania wyniku. Wynik ten mógł być również fałszywie ujemny w przypadku, gdy próbka krwi zawierała antybiotyki, którymi leczone było dziecko (dla minimalizacji, ale nie całkowitej eliminacji tego efektu próbki były autoklawowane) [6]. Tak więc wady, jakimi opatrzone był test *Guthriego* ograniczały diagnostykę różnicową hiperfenyloalaninemii i nie pozwalały na jego stosowanie w monitorowaniu prowadzonej diety.

Testy ilościowe wykonywane na czytnikach mikropłytek pozwalają na automatyzację procesu, skrócenie czasu uzyskania wyniku (wynik otrzymywany jest w dniu otrzymania próbki) oraz eliminację subiektywnej oceny wielkości poziomu fenyloalaniny. Co ważne, wysoka czułość testu pozwala na jego zastosowanie zarówno w weryfikacji wyniku, jak i monitorowaniu leczenia [23].

Obecnie przyjmuje się następującą klasyfikację stanów hiperfenyloalaninemii: fenylketonuria klasyczna (PKU klas.), w przebiegu której stężenia fenyloalaniny bez leczenia dietetycznego przekracza 20 mg/dl; fenylketonuria łagodna (PKU łag.) z stężeniem fenyloalaniny 10-20mg/dl; hiperfenyloalaninemia łagodna (HPA łag.) stężenie Phe 6-10 mg/dl, hiperfenyloalaninemię (HPA) – 4-6 mg/dl i hiperfenyloalaninemię przejściową (HPA przej.) oraz nietypową postać fenylketonurii. U podłoża wszystkich wyżej wymienionych hiperfenyloalaninemii leży defekt hydroksylacji fenyloalaniny, a stopień obniżenia aktywności enzymatycznej PAH decyduje o nasileniu choroby [11,17]. Nietypowa PKU jest spowodowana defektem poszczególnych enzymów szlaku przemiany pteryń.

Fenylketonuria klasyczna jest najcięższą postacią schorzenia, nie rozpoznana, rozpoznana późno lub leczona niewystarczająco jest przyczyną najcięższych ubytków

w OUN. W tej postaci aktywność hydroksylazy fenyloalaninowej w wątrobie nie przekracza 1% aktywności osób zdrowych. Fenylketonuria łagodna charakteryzuje się wyższą resztkową aktywnością hydroksylazy fenyloalaniny w wątrobie, stąd też tolerancja większych ilości fenyloalaniny w diecie. Im wyższa jest resztkowa aktywność PAH, tym łagodniejsza jest postać hiperfenyloalaninemii.

W populacji polskiej częstość występowania fenylketonurii wynosi około 1:8000 noworodków, jednak widoczne jest zróżnicowanie regionalne. W Polsce południowo-wschodniej częstość występowania fenylketonurii (klasycznej i łagodnej) wynosiła w latach 1985-2000 1:6360, natomiast w Wielkopolsce, jak podają dane z roku 1989 kształtuje się na poziomie 1:10 000 [13,22].

W północnej Europie występowanie fenylketonurii to 1:10000 noworodków, w Irlandii 1:4500, w Szwajcarii 1:16000 urodzonych dzieci. We Włoszech częstość fenylketonurii waha się pomiędzy 1:15595 a 1:17815 noworodków z przewagą łagodnych HPA [8,10]. A. Boneh i wsp. określili częstość występowania hiperfenyloalaninemii (włączając w to również PKU) w stanie Victoria (USA), na podstawie wyników badań z lat 2000-2004 na poziomie 1 : 11 226 żywo urodzonych noworodków [4]. Również w Stanach Zjednoczonych *Mabry* i wsp. opisywali grupę 17 noworodków przyjętych do diagnostyki różnicowej, w przebiegu której u jednego dziecka stwierdzono zaburzenia w syntezie biopertyny, u pięciorga łagodną hiperfenyloalaninemię nie wymagającą stosowania diety niskofenyloalaninowej, zaś u jedenaścioro hiperfenyloalaninemii bądź klasyczną fenylketonurię [16].

Analiza własnego materiału potwierdziła, że obniżenie punktu odciążenia w badaniu przesiewowym pozwoliło na wykrywanie i monitorowanie najcięższych postaci hiperfenyloalaninemii. W okresie od 1985 do 1998 roku spora grupa pacjentek z HPA łagodną, wobec braku potrzeby interwencji dietetycznej, bardzo szybko rezygnowała z przewlekłego monitorowania stężeń Phe i w konsekwencji zaniedbała dalszej opieki w Poradni. Podjęta w 2001 roku próba weryfikacji rozpoznań, ustalonych w oparciu o dostępny w tych latach test *Guthriego*, wykazała tendencję do transformacji ogółem łagodnej HPA do cięższej postaci choroby – PKU łagodnej. Wobec tego 19 z 28 pacjentek, wcześniej nie leczonych, wymagało natychmiastowej interwencji dietetycznej, co było niełatwe uwzględniając wiek dzieci (niekiedy już nastolatki), a także intensywnej edukacji pacjentek i członków ich rodzin. Efekt naszej pracy wydaje się szczególnie ważny w przypadku dziewcząt, gdyż wchodząc w wiek prokreacji powinny one wiedzieć o konieczności planowania ciąży i rozpoczęcia, w razie konieczności, stosowania diety niskofenyloalaninowej bardziej restrykcyjnej w okresie pre- i postkonceptyjnym, co pozwoli skutecznie zapobiec występowaniu zespołu fenylketonurii matczynej u ich potomstwa.

## Wnioski

1. Stosowanie testu *Guthriego*, który był testem półilościowym, ograniczało diagnostykę różnicową poszczególnych postaci

HPA, co prowadziło do zaniechania obserwacji lekarskiej, zwłaszcza dziewczynek i kobiet, skutkiem czego niejednokrotnie mogło być urodzenie dziecka z zespołem PKU matczynej.

2. Wprowadzenie zmodyfikowanej metody kolorymetrycznej, będącej pomiarem w pełni ilościowym, znacznie usprawniło wykrywanie łagodnych postaci PKU i hiperfenyloalaninemii.

## Piśmiennictwo

1. American Academy of Pediatrics: Pediatrics (September) 2006, 118, 3, e956.
2. Berenbaum S.A.: Neuropsychological follow-up neonatal screening: issues, methods and finding. Acta Paediatr 1999 (Suppl.), 432, 83.
3. Bickel H.: The first treatment of PKU. Europ. J. Pediatrics 1999, 155 (Suppl. 1), 2.
4. Bonneh A., Francis E.M.D., Humphrey M. et al.: Three - year audit of the hyperphenylalaninaemia/phenylketonuria spectrum in Victoria. J. Pediatrics and Child Health 2006, 42, 496.
5. Bożkowska K., Cabalska B., Radomska B., Oltarzewski M., Lenartowska I.: Ocena przydatności badań przesiewowych u noworodków w świetle 35 lat doświadczeń własnych. Medycyna Wiekii Rozwojowego 1999, 3, 4, 529.
6. Cabalska B.: Fenylketonuria: wczoraj, dziś, jutro. Ped. Pol. 1997 (Suppl.), 6, 11.
7. DiLella A.G. et al.: Tight linkage between a splicing mutation and a specific DNA haplotype in phenylketonuria, Nature 1986, 322, 6082, 799.
8. Eisensmith R.C., Woo S.L.C.: Somatic gene therapy for phenylketonuria and other hepatic deficiencies. J. Inher. Metabolic Dis. 1996, 19, 412.
9. Hofman K.J.: Phenylketonuria in US blacks: molecular analysis of the phenylketonuria hydroxylase gene. Am. J. Hum. Gen. 1991, 48, 791.
10. Górnicki B., Dębiec B., Baszczyński J.: Padiatria, tom 1, 1995, 572-6.
11. Guthrie R., Susi A.: A simple method for detecting phenylketonuria in large population of newborn infants. Pediatrics 1963, 32, 338.
12. Jaruzelska J.: Analiza genu hydroksylazy fenyloalaniny w diagnostyce fenylketonurii. Postępy biologii komórki 1989, 16, 165.
13. Kubicka K., Kawalec W.: Padiatria, PZWL Wydawnictwo Lekarskie Warszawa 1999, 180-1.
14. Murray R., Granner D., Mayes P., Rodwell V.: Biochemia Harpera, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995.
15. Mabry C., Reid C., Kuhn R.: A Source of Error in Phenylketonuria Screening. AJCP 1988, 90, 279.
16. Mańkowski T., Nowaczewska I., Laskowska-Kita T., Cabalska B.: Fenylketonuria. Rozpoznanie i leczenie nietypowych postaci, Instytut Matki i Dziecka 1992.
17. Mc Caman MW., Robins K.: Fluorimetric method for the determination of phenylalanine in serum. J. Lab. Clin. Metab. 1962, 59, 885.
18. Sarkissian C.N., Shao Z., Blain F. et al.: A different approach to treatment of phenylketonuria: phenylalanine degradation with recombinant phenylalanine ammonia lyase, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 1999, 96, 2339.
19. Shendlowsky A., McDonald D., Dove W.F.: Mouse models of human phenylketonuria. Genetics 1993, 134, 1205.
20. Szymborski J., Oltarzewski M., Sito A.: Zmodyfikowany system badań przesiewowych noworodków w nowym porządku administracyjnym kraju. Ped. Pol.a 1999 (Suppl.) 6,128, XXVI Ogólnopolski Kongres Padiatrów, Mikołajki 6-9.
21. Tylek-Lemańska D., Kostyk E., Słusznik A. i wsp.: Częstość występowania hiperfenyloalaninemii w regionie Polski południowo-wschodniej w latach 1985-2000 na podstawie materiału Pracowni Badań Przesiewowych i Błędów Metabolicznych. Ped. Pol. 2002, LXXVII, 373.
22. Tylek-Lemańska D., Oltarzewski M., Kostyk E.: Measurement of phenylalanine in blood on filter paper as a method of monitoring PKU treatment. J. Med. Screen 2002, 9, 64.