

고페닐알라닌혈증 환아들에게 BH₄ 부하검사 이전에 시행되는 페닐알라닌 부하의 효과에 대한 고찰

순천향대학교병원 소아과학교실

박영천 · 김강인 · 이정호 · 이동환

A Study on Effectiveness of Conventional Phenylalanine Loading before BH₄ Loading Test in Children with Hyperphenylalaninemia

Youngcheon Park, M.D., Kang-in Kim, M.D., Jeongho Lee, M.D., Dong Hwan Lee, M.D.

Department of Pediatrics, Soonchunhyang University Hospital, Seoul, Korea

Purpose: The BH₄ loading test is an important test that distinguishes PKU from BH₄ deficiency and identifies the BH₄ reactivity of PKU patients. Phenylalanine and BH₄ loading tests are useful methods that can shorten the length of hospital stay while improving patients' convenience. However, sufficient research on the dose of phenylalanine loading and BH₄ administration time after the loading has not been carried out. The present study investigates the effectiveness of the existing phenylalanine loading method by analyzing the medical records of six patients who underwent the BH₄ loading test after taking 100 mg/kg of phenylalanine patients.

Methods: The medical records of six patients who underwent the BH₄ load test after taking 100 mg/kg of phenylalanine were examined out of 207 patients who were followed up in the Genetic Metabolic Clinic in Soonchunhyang University Hospital. All of the six patients had a low phenylalanine diet. First, they were taking 100 mg/kg of phenylalanine. 3 hours later, 20 mg/kg of BH₄ were loaded. The phenylalanine levels in the blood were continuously measured at 1, 2, 4, 6, 8, 12, and 24 hours by setting the time the BH₄ was loaded as the basal.

Results: The average of the highest phenylalanine concentrations of six patients was 20.0±11.70 mg/dL. One reached the highest concentration seven hours after taking phenylalanine; another reached it five hours after that, and the remaining three reached it four hours after that. Only one patient reached the highest concentration within three hours. The phenylalanine levels of four out of six patients (66%) rose above 400 μmol/L after being loaded with phenylalanine. The phenylalanine levels of the remaining two were 6.1 mg/dL (366 μmol/L) and 5 mg/dL (300 μmol/L), respectively.

Conclusion: One of six patients (16%) reached the highest concentration three hours after taking 100 mg/kg of phenylalanine and four patients (66%) reached 400 μmol/L or higher phenylalanine levels. There were patients whose phenylalanine levels did not rise above 400 μmol/L using a commonly known test method; moreover, this method had the disadvantage of reaching the highest concentration after more than three hours. Therefore, it is considered that taking 200 mg/kg or more of phenylalanine and performing BH₄ loading four to six hours after taking phenylalanine are helpful in proper diagnosis.

Key words: Hyperphenylalaninemia, Tetrahydrobiopterin, Phenylalanine

서 론

고페닐알라닌혈증은 혈청 페닐알라닌의 지속적인 상승이 있는 것을 말하며 여기에는 페닐케톤뇨증(Phenylketonuria: PKU)과 BH₄ (tetrahydrobiopterin) 결손증이 있다. 고페닐알라닌혈증의 가장 일반적인 형태는 페닐알라닌 수산화효소(phenylalanine hydroxylase: PAH)의 결핍 정도에 따라 발생하며 고페닐알라닌혈증을 가진 영아의 약 5%는 dihydropteridine reductase의 결손 또는 biopterin 합성의 부전이 나타난다¹⁾. 정상적인 BH₄ 대사과정을 갖는 페닐케톤뇨증이라도 BH₄ 투여 시 반응을 보이는 경우가 있다. 이를 BH₄ 반응성 페닐케톤뇨증이라고 하며 철저한 제한 식사를 하지 않아도 BH₄ 복용을 통해 혈중 페닐알라닌 농도를 조절할 수 있어 중요하다²⁾. BH₄ 결손증은 BH₄ 합성에 관여하는 효소인 6-pyruvoyltetrahydropterin synthase (PTPS), dihydropteridin reductase (DHPR), guanosin triphosphate cyclohydrolase (GTPCH), pterin-4- α -carbinolamine dehydratase (PCD) 그리고 sepiapterin reductase (SR)의 부족에 의해 발생한다. 이중 PTPS 결핍증과 DHPR 결핍증이 가장 흔한 아형이며 우리나라의 경우에는 PTPS 결핍증이 가장 흔한 것으로 보고되고 있다³⁻⁵⁾.

지난 40년간 페닐케톤뇨증은 초기에 페닐알라닌 제한 식사를 시행함으로써 이러한 환자들에게서 지적 장애를 성공적으로 예방하였으나 학령기 또는 청소년기 환아들이 단백질 제한 식이를 해야 하는 점, 식사 요법의 좋지 못한 맛 그리고 환경적 여건 등으로 환자들에게 어려움을 주고 있다.

Kure 등 여러 연구에 의하여 고페닐알라닌혈증 및 경한 페닐케톤뇨증 환아의 70%에 이르기까지 페닐알라닌 수산화효소 결핍환자에서 BH₄ 투여에 의해 혈중 페닐알라닌 농도가 감소됨이 밝혀졌다⁶⁻¹⁰⁾. Kure 등의 연구에 의해 BH₄ 부하검사 방법이 제시되었고^{6,12)} 페닐케톤뇨증 환자의 상당수가 BH₄에 반응하여 BH₄ 투여를 유지하면 제한 식사의 어려움을 경감시켜 줄 수 있다는 점이 알려졌다. 더불어 BH₄ 결손증 중 DHPR 결핍증은 고페닐알라닌혈증과 함께 신경전달물질 전구

체인 L-dopa와 5-hydroxy-tryptophan의 결핍을 야기하여 신경학적 손상이나 사망을 야기할 수 있다는 점에서 고페닐알라닌혈증을 진단받은 모든 신생아들에서 적혈구 DHPR, 소변 내 pterine 분석, BH₄ 부하검사를 통하여 BH₄ 결손증 및 BH₄ 반응성이 있는지를 선별해야 한다.

이러한 BH₄ 부하검사에는 몇몇 프로토콜이 알려져 있으며 프로토콜은 다르더라도 일반적으로 BH₄ 부하 후에 혈중 페닐알라닌 수치가 30% 이상 감소하면 임상적으로 BH₄에 반응성이 있다고 판단 할 수 있다. 하지만 BH₄ 부하를 위해서는 페닐알라닌 수치가 400 μ mol/L 이상으로 높아야 한다¹⁰⁾. 따라서 페닐알라닌 제한 식사를 했던 환자들은 2일간 자유롭게 먹거나, 페닐알라닌을 경구로 복용한 후 검사를 진행한다. 페닐알라닌 부하 용량은 100 mg/kg으로 알려져 있으며, 페닐알라닌 부하 3시간 후에 BH₄를 복용하는 것이 지금까지의 일반적인 지침이다¹¹⁻¹⁴⁾.

본 연구는 2015년 7월까지 고페닐알라닌혈증으로 순천향대학교 서울병원에 내원한 총 207명의 환자 중 100 mg/kg의 페닐알라닌을 복용 후 BH₄ 부하검사를 시행한 6명의 환자들의 의무기록을 분석하여 기존의 페닐알라닌 부하 방법의 효용성에 대해 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

본 연구에서는 2004년 7월부터 2015년 7월까지 순천향대학교 소아청소년과 유전대사 클리닉에서 추적관찰하고 있는 총 207명의 환자 중 100 mg/kg의 페닐알라닌을 복용 후 BH₄ 부하검사를 시행한 6명 환자들의 의무기록을 후향적으로 분석하였다. 이들 6명 모두 페닐케톤뇨증 진단 하에 페닐알라닌 제거분유를 복용하고 있었다.

이 연구의 프로토콜은 다음과 같다. 검사 시작 전에 혈중 페닐알라닌 농도는 적어도 6.6 mg/dL (400 μ mol/L) 이상 충분히 상승되어 있어야 하며, 다른 병원에서 이미 PKU 특수 분유를 복용하면서 본원에 방문하여 페닐알라닌 수치가 충분히 높지 않으면 검사 2일 전부터 일반 식사를 하거나 100 mg/kg의 페닐알라

닌을 검사 3시간 전에 투여한다. BH₄ 부하검사가 끝나기 전까지는 일반 분유를 계속 복용하며 BH₄ 부하 용량은 20 mg/kg을 경구로 투여 하며 Basal, 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24시간에 혈중 페닐알라닌 수치를 연속적으로 측정한다. BH₄ 부하 후에 혈액 내 페닐알라닌이 30% 이상 떨어질 경우 반응이 있다고 판단한다. 연구에 참여한 6명의 환자들은 모두 제한식사 진행 후 100 mg/kg의 페닐알라닌을 복용하였으며 3시간 뒤에 20 mg/kg의 BH₄를 경구로 투여 하였다.

결 과

총 6명의 환자는 모두 남자 환자였으며 이 중 5명은 본원 및 타 병원에서 고전적 페닐케톤뇨증으로 진단 받았으며 1명은 타 병원에서 BH₄ 반응형으로 진단 받고 Kuvan (Sapropterin dhydrochloride) 복용 중이었으나 혈중 페닐알라닌 수치가 잘 조절되지 않아 본원에서 다시 부하검사를 시행한 경우였다. 고전적 페닐케톤뇨증으로 진단 받았던 5명 중 1명은 타 병원에서 BH₄ 부하검사를 시행하였으며 비반응성이었다. 5명의 환자는 모두 1개월 이내에 진단을 받았으나 3명 환자는 신생아 대사이상 선별검사가 시행되기 이전인 1987년에 출생하여 18개월째 발달저하로 본원에 내원하여 진단되었다. 이 환자 이외에는 모두 타 병원 진단 후 본원에 내원하였다.

6명 모두 2일간 일반 식사를 진행하지 않고 PKU 특수분유로 식사를 진행하다 페닐알라닌 복용 후 BH₄ 부

하검사를 진행하였으며 BH₄ 반응형으로 진단 받았던 1명은 부하검사 2일전 BH₄ 투여를 중단하고 특수분유만 복용 하였다. 6명 모두 100 mg/kg의 페닐알라닌을 투여 받았으며 페닐알라닌과 BH₄ 부하(20 mg/kg)까지의 시간 간격은 5명은 3시간, 나머지 한 명은 2시간이었다(Table 1).

페닐알라닌 부하 후 일반적인 프로토콜에서¹⁰⁻¹³⁾ 알려진 바와 같이 3시간 경과 후 최고농도에 도달한 환자는 1명(16%)이었다. 또 다른 세 명은 4시간 경과 후, 나머지는 각각 5시간, 7시간 경과 후 최고 농도에 도달하였다. 최고농도는 6.6 mg/dL (400 umol/L) 이상 오르는 것을 목표로 하였고 6명중 4명(66%)이 목표농도에 도달하였다(Fig. 1). 6명의 최고 페닐알라닌 농도의 평균은 20.0±11.70 mg/dL 이었다.

BH₄에 비교적 반응을 보이는 환아는 1번 환자와 6번 환자로 각각 87%, 86%의 BH₄ 부하 후 페닐알라닌 수치가 감소하였으나 두 환자 모두 페닐알라닌 최고 농도가 각각 6.1 mg/dL (366 umol/L), 5 mg/dL (300 umol/L)로 6.6 mg/dL (400 umol/L) 이상 오르지 않았다(Fig. 2). Patient 6의 경우 PAH 유전자 검사 결과 이전의 많은 보고에서 BH₄ 반응성으로 확인되었던 부분으로 부하검사 결과를 고려하여 BH₄ 반응성으로 진단이 바뀌었다.

고 찰

전형적 페닐케톤뇨증은 PAH 유전자의 돌연변이에

Table 1. Baseline Characteristic of Patients with Phenylalanine Loading Test

	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6
Sex	M	M	M	M	M	M
Age at first diagnosis (month)	1	1	18	1	1	1
Initial Phe level (mg/dL)	8.3	9.9	54.7	10.19	9.7	10
History of visiting other center	Y	Y	N	Y	Y	Y
Prior therapy before test	PKU Formula	PKU Formula+ Kuvan	PKU Formula	PKU Formula	PKU Formula	PKU Formula
First diagnosis	Classical PKU	BH ₄ responsive	Classical PKU	Classical PKU	Classical PKU	Classical PKU
Phe loading dose	100 mg/kg					
Time interval	3 h	3 h	3 h	3 h	3 h	2 h
Diagnosis after BH ₄ loading test	Classical PKU	BH ₄ responsive	Classical PKU	Classical PKU	Classical PKU	BH ₄ responsive

의해 발생하는 선천적 대사이상 질환이다²⁾. 페닐알라닌 수산화효소는 조효소인 tetrahydrobiopterin (BH₄)과 철이 함께 존재 할 때 페닐알라닌을 타이로신으로 전환시킨다. BH₄ 부하검사는 처음에는 BH₄ 합성이상과 PAH 결핍을 감별하기 위해 시행되었지만, 1975년 Kaufman과 Milstein이 페닐알라닌 수산화효소 결핍증 환자에서 BH₄ 복용시 페닐알라닌 농도가 감소하는 것이 BH₄가 남아있는 PAH의 활성을 자극해 효과를 나타내는 것일 거라고 제안하였고, 이후 Kure 등이 페

닐알라닌 수산화효소 결핍 시에 정상적인 BH₄ 대사과정을 갖더라도 BH₄에 반응을 보이는 경우가 있다는 것을 발표하였으며, 이후로 이에 대한 활발한 연구가 이루어지고 있다^{6,15-17)}.

BH₄ 반응형 페닐케톤뇨증에서 BH₄의 약리기전은 BH₄가 분자적 샤페론(molecular chaperone) 역할을 함으로서 잘못 접힌 PAH 단백질(misfolded protein)의 안정성을 증가시키며, 기능을 하는 페닐알라닌 수산화효소의 농도를 높이는 것으로 알려지고 있다¹⁸⁾.

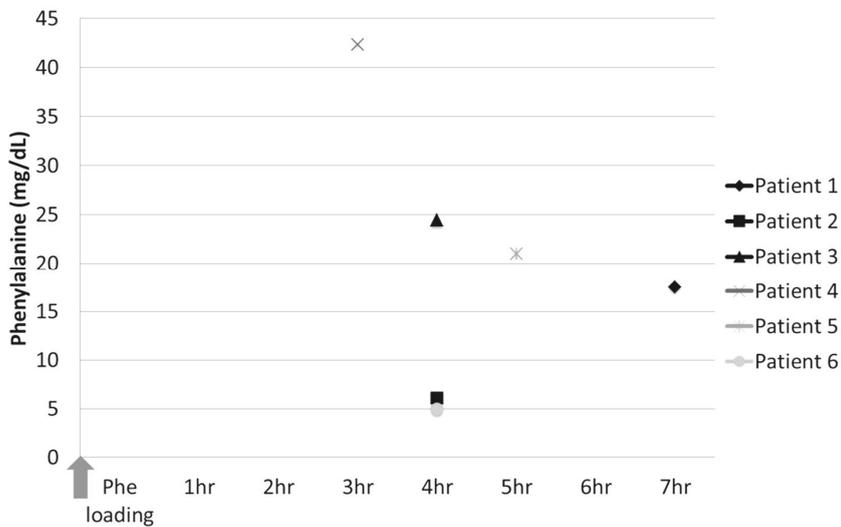


Fig. 1. Peak phenylalanine level and peak level access time after phenylalanine loading.

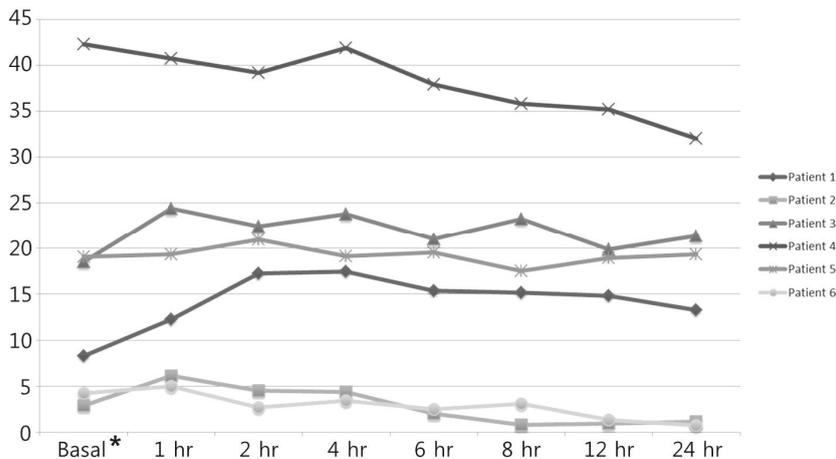


Fig. 2. BH₄ loading test results.
*Three hour after phenylalanine loading.

BH₄에 반응을 보이는 환자 대부분은 경한 고페닐알라닌혈증과 경한 페닐케톤뇨증 표현형이었으나¹⁹⁾, 이전까지의 보고와는 달리 경증, 중등증 페닐케톤뇨증 뿐 아니라 전형적 페닐케톤뇨증의 경우도 BH₄에 반응할 수 있고 환자의 40%에서 50%에 이르기 까지 치료에 도움이 될 수 있다고 알려져 있다^{11,20)}.

페닐케톤뇨증 환자에서 BH₄ 부하검사를 시행하는데 있어 일반 식사를 2일간 진행 후 검사를 하는 것은 환자나 보호자에게 있어 기존 진행하던 식사를 바꾸어야 하고 일반 식사를 하는 동안 입원을 하거나 재 내원하여 검사를 하는 불편함이 있다. 일부 연구에서는 일반 식사를 시행 한 후 BH₄ 부하검사를 하는 것 보다 페닐알라닌 부하 후 BH₄ 부하검사를 하는 것이 효과적임을 보고하기도 하였다²¹⁾.

이 연구에서는 기존에 알려진 바와 같이 100 mg/kg의 페닐알라닌 복용 후에 3시간째에 최고 농도에 도달한 환자들은 6명 중 1명(16%)이고 400 μmol/L 이상 페닐알라닌 수치가 올라간 환자는 4명(66%)이었다. 100 mg/kg의 페닐알라닌을 경구 복용한 것으로는 페닐알라닌 농도가 400 μmol/L 이상으로 상승하지 않은 환자가 있었고 84%는 3시간 이후에 최고 농도에 도달하는 제한점이 있었다.

Nalin 등¹³⁾이 브라질 환자 18명을 대상으로 시행한 페닐알라닌 단독 부하 및 1주 뒤 페닐알라닌 부하 3시간 뒤 시행한 BH₄ 부하검사를 보면 페닐알라닌 단독 부하검사서 부하 3시간, 8시간 그리고 27시간에 혈중 페닐알라닌 농도를 측정하였으며 3시간에 최고치를 보인 경우는 BH₄ 반응성 환자 6명중 3명, 비반응성 환자 12명 중 9명이었다. 8시간 경과 후 최고 농도를 보인 경우는 반응성 그룹은 3명, 비반응성 그룹은 2명으로 BH₄ 반응성으로 진단 받게 된 환자의 50%가 3시간 이후에 최고농도에 도달하였다. 단독 페닐알라닌 부하 검사에서 3시간 페닐알라닌 평균 농도는 730±221 μmol/L이었다. 모두 400 μmol/L으로 상승되었으나 이 연구에서는 연구 대상군이 연구 시작 전 12개월 연속 페닐알라닌이 360 μmol/L 이상 측정된 환자만 포함하였으며 따라서 페닐알라닌 부하 전 평균농도는 255±138 μmol/L 이었다. Desviat 등이 스페인 환자 23명을 대상으로 한 연구에서도 페닐알라닌 단독 부하검사

에서 혈중 페닐알라닌이 최고 농도에 도달한 시간은 페닐알라닌 부하 후 평균 4시간 이었다¹⁹⁾.

BH₄ 부하검사 시 혈중 페닐알라닌 농도가 충분히 상승되어야 PAH 활성도를 증가시켜 BH₄의 효과를 배가시킬 수 있다. 기존 연구에서 페닐알라닌 복용 후 3시간 뒤 BH₄ 부하를 시작하는 것은 페닐알라닌의 흡수시간을 감안한 것이며 이 시간이 임상적으로 적절한지에 대하여는 적절한 연구가 이루어지지 않았다. 또한 환자들의 평균 혈중 페닐알라닌 농도의 차이가 크고 복용 후 증가되는 수치도 다양하다. PAH 활성도를 충분히 끌어올리기 위해 400 μmol/L이라는 최고농도 설정이 적절한지와 알려진 페닐알라닌 부하 용량이 이에 합당한지 대하여 좀 더 많은 연구가 이루어 져야 할 것으로 보이며 적어도 BH₄ 투여시간은 페닐알라닌 부하 후 4-6시간, 부하용량은 200 mg/kg으로 증가시키는 것이 합당하다고 생각된다.

요 약

목적: BH₄ 부하검사는 PKU와 BH₄ 결핍증을 감별하고, PKU 환자 중 BH₄ 반응성을 확인할 수 있는 중요한 검사이다. 일반적으로 알려진 프로토콜로 페닐알라닌 부하와 BH₄ 부하검사는 환자의 편의 및 입원기간을 단축시킬 수 있는 유용한 검사방법이다. 하지만 페닐알라닌 부하의 용량이나 부하 후 BH₄ 투여시간이 임상적으로 적절한지에 대하여는 충분한 연구가 이루어지지 않았다. 본 연구는 순천향대학교 소아청소년과 유전대사 클리닉에 내원한 환자 중 100 mg/kg의 페닐알라닌을 복용 후 BH₄ 부하검사를 시행한 6명 환자들의 의무기록을 분석하여 기존의 페닐알라닌 부하 방법의 효용성을 연구하였다.

방법: 2004년 7월부터 2015년 7월까지 순천향대학교 유전대사 클리닉에서 추적관찰하고 있는 총 207명의 환자 중 100 mg/kg의 페닐알라닌을 복용 후 BH₄ 부하검사를 시행한 6명 환자들을 대상으로 의무기록을 분석하였다. 이들은 모두 제한식사를 시행하고 있었으며 100 mg/kg의 페닐알라닌을 복용 후 3시간 뒤 20 mg/kg의 BH₄를 부하하였다. BH₄를 부하한 시점을 Basal로 하여 1, 2, 4, 6, 8, 12, 24시간에 혈중 페닐알

라닌 수치를 연속적으로 측정하였다.

결과: 6명의 최고 페닐알라닌 농도의 평균은 20.0±11.70 mg/dL 이었다. 1명은 페닐알라닌 복용 후 7시간 쯤, 다른 1명은 5시간 쯤, 나머지 3명은 4시간 쯤에 최고농도에 도달하였다. 3시간 만에 최고 농도에 도달한 환자는 1명이었다. 페닐알라닌 부하 후 페닐알라닌 수치가 400 μmol/L 이상으로 상승한 환자는 6명 중 4명(66%)이었다. 나머지 2명의 환자는 페닐알라닌 수치가 각각 6.1 mg/dL (366 μmol/L), 5 mg/dL (300 μmol/L)이었다.

결론: 본 연구에서 기존에 알려진 바와 같이 100 mg/kg의 페닐알라닌 복용 후에 3시간 쯤에 최고 농도에 도달한 환자들은 6명 중 1명(16%)이고 400 μmol/L 이상 페닐알라닌 수치가 올라간 환자는 4명(66%)이었다. 일반적으로 알려진 검사 방법으로 페닐알라닌 농도가 400 μmol/L 이상으로 상승하지 않은 환자가 있었고 3시간 보다 더 늦게 최고 농도에 도달하는 단점이 있었다. 따라서 페닐알라닌은 200 mg/kg이상 증량하여 복용하고 적어도 페닐알라닌 복용 4-6시간 후에 BH₄ loading을 하는 것이 적절한 진단에 도움이 될 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 1) Lee DH. Diagnosis and treatment guidelines for phenylketonuria. *J Korean Soc Inher Metab Dis* 2012; 12:1-4.
- 2) Rhee MH, Kim JW, Lee JH, Lee DH. Clinical findings and gene analysis of BH₄ responsive PKU Patients in Korea. *J Korean Soc Inher Metab* 2013;13:104-10.
- 3) O'Neil CA, Eisensmith RC, Croke DT, Naughten ER, Cahalane SF, Woo SL. Molecular analysis of PKU in Ireland. *Acta Paediatr* 1994;407:43-4.
- 4) Jun-ichi T. Central tegmental tract involvement in an infant with 6-pyruvoyltetrahydropterin synthetase deficiency. *AJNR* 2006;27:584-5.
- 5) Park YJ, Hong YH, Suh ES. 13 cases of BH₄ deficiency with neurologic symptoms. Program and Abstract, the 59th Annual Fall Meeting of the Korean Pediatric Society; 2009 Oct 23-24; Seoul, Seoul: Korean Pediatric Society, 2009.
- 6) DC Hou SK, Ohura T, Iwamoto H, Suzuki S, Sugiyama N, et al. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Pediatr* 1999;135:

- 375-8.
- 7) Muntau AC, Roschinger W, Habich M, Demmelmair H, HoVmann B, SommerhoV CP, Roscher AA et al. Tetrahydrobiopterin as an alternative treatment for mild phenylketonuria. *N Engl J Med* 2002;347: 2122-32.
- 8) Spaapen LJ, Bakker JA, Velter C, Loots W, Rubio-Gozalbo ME, et al. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deWciency in Dutch neonates. *J Inherit. Metab Dis* 2001;24:352-8.
- 9) Lassker U, Zschocke J, Blau N, Santer R. Tetrahydrobiopterin responsiveness in phenylketonuria. Two new cases and a review of molecular genetic endings. *J Inherit Metab* 2002;65-70.
- 10) Steinfeld R, Kohlschutter A, Zschocke J, Lindner M, Ullrich K, Lukacs Z. Tetrahydrobiopterin monotherapy for phenylketonuria patients with common mild mutations. *Eur J Pediatr* 2002;161:403-5.
- 11) Iraj Rezvani, Can H. Ficiocioglu. Defect in metabolism of amino acids. In : Behrman RE, Kliegman RM, Schor NF, ST Geme JW, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 20th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Co, 2016:636-40.
- 12) Blau N, Fiege B, Trefz F. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency : diagnosis, treatment, genetics, and international BIOPKU database. In : N. Blau, B. Thfnv editors. *Pterins, Folates and Neurotransmitters in Molecular Medicine*. Heilbronn: Verlagsgesellschaft mbH 2004:132-42.
- 13) Tatiéle Nalin, Ingrid Dalira Schweigert Perry, Angela Sitta, Carmen Regla Vargas, Maria Luiza Saraiva-Pereira, et al. Optimized loading test to evaluate responsiveness to tetrahydrobiopterin (BH₄) in Brazilian patients with phenylalanine hydroxylase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 2011;104:80-5.
- 14) John J. Mitchell, Bridget Wilcken, Ian Alexander, Carolyn Ellaway, Helen O'Grady, Veronica Wiley, et al. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylketonuria : The New South Wales experience. *Molecular Genetics and Metabolism* 2005;86:81-5.
- 15) Polak E, Ficek A, Radvanszky J, Soltysova A, Urge O, Cmelova E, et al. Phenylalanine hydroxylase deficiency in the Slovak population: Genotypephenotype correlations and genotype-based predictions of BH₄-responsiveness. *Gene* 2013;526:347-55.
- 16) Levy H, Burton B, Cederbaum S, Scriver C. Recommendations for evaluation of responsiveness to tetrahydrobiopterin (BH₄) in phenylketonuria and its use in treatment. *Mol Genet Metab* 2007;92:287-91.
- 17) Cerone R, Andria G, Giovannini M, Leuzzi V, Riva E, Burlina A. Testing for tetrahydrobiopterin responsiveness in patients with hyperphenylalaninemia due

- to Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. *Adv Ther* 2013;30:212-28.
- 18) Jarl underhaug, Oscar Aubi, Aurora Mrtinez. Phenylalanine hydroxylase misfolding and pharmacological chaperones. *Curr Top Med Chem*. 2012;12:2534-45.
- 19) Desviat LR, Perez B, Belanger-Quintana A, Castro M, Aguado C, Sanchez A, Garcia MJ, et al. Tetrahydrobiopterin responsiveness : results of the BH4 loading test in 31 Spanish PKU patients and correlation with their genotype. *Mol Genet Metab* 2004;83:157-62.
- 20) Keil S, Anjema K, van Spronsen FJ, Lambruschini N, Burlina A, Bélanger-Quintana A. Long-term follow-up and outcome of phenylketonuria patients on sapropterin: a retrospective study. *Pediatrics* 2013;131:1881-8.
- 21) Spaapen LJ, Rubio-Gozalbo ME. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Mol Genet Metab* 2003;93-9.