

*Различные типы ФКУ и  
методы их молекулярной  
диагностики.*



**Фенилкетонурия** – частое врожденное нарушение

метаболизма аминокислот, в основе которого лежит

дефицит печеночного фермента

фенилаланингидроксилазы, осуществляющего

превращение фенилаланина.

Основным клиническим симптомом фенилкетонурии,

без своевременного начатого лечения, является задержка

психо-речевого и физического развития и, как следствие,

слабоумие, ведущее к тяжелой психической

инвалидности.

*Распространенность ФКУ в различных популяциях мира, по данным массового скрининга*

<b>Популяция</b>	<b>Частота носителей</b>	<b>Частота заболевания</b>	<b>Авторы</b>
<b>Турция</b>	<b>1:26</b>	<b>1:2600</b>	<b>Ozalp et al., 1986</b>
<b>Ирландия</b>	<b>1:33</b>	<b>1:4500</b>	<b>DiLella et al., 1986</b>
<b>Восточная Европа</b>	<b>1:50</b>	<b>1:10 000</b>	<b>Scriver &amp; Kaufman, 2001</b>
<b>Япония</b>	<b>1:200</b>	<b>1:143 000</b>	<b>Aoki &amp; Wada, 1988</b>
<b>Финляндия</b>	<b>1:225</b>	<b>1:200 000</b>	<b>Scriver &amp; Kaufman, 2001</b>

# ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ



## Классическая



- Повреждения в гене фенилаланингидроксилазы (*PAH*)

• 98%

## Атипичная

- Повреждения в генах синтеза и обмена тетрагидробиоптерина (*BH4*) (*PTS, QDPR* и др.)

• 2%



# Phenylalanine hydroxylase (PAH) mutation map

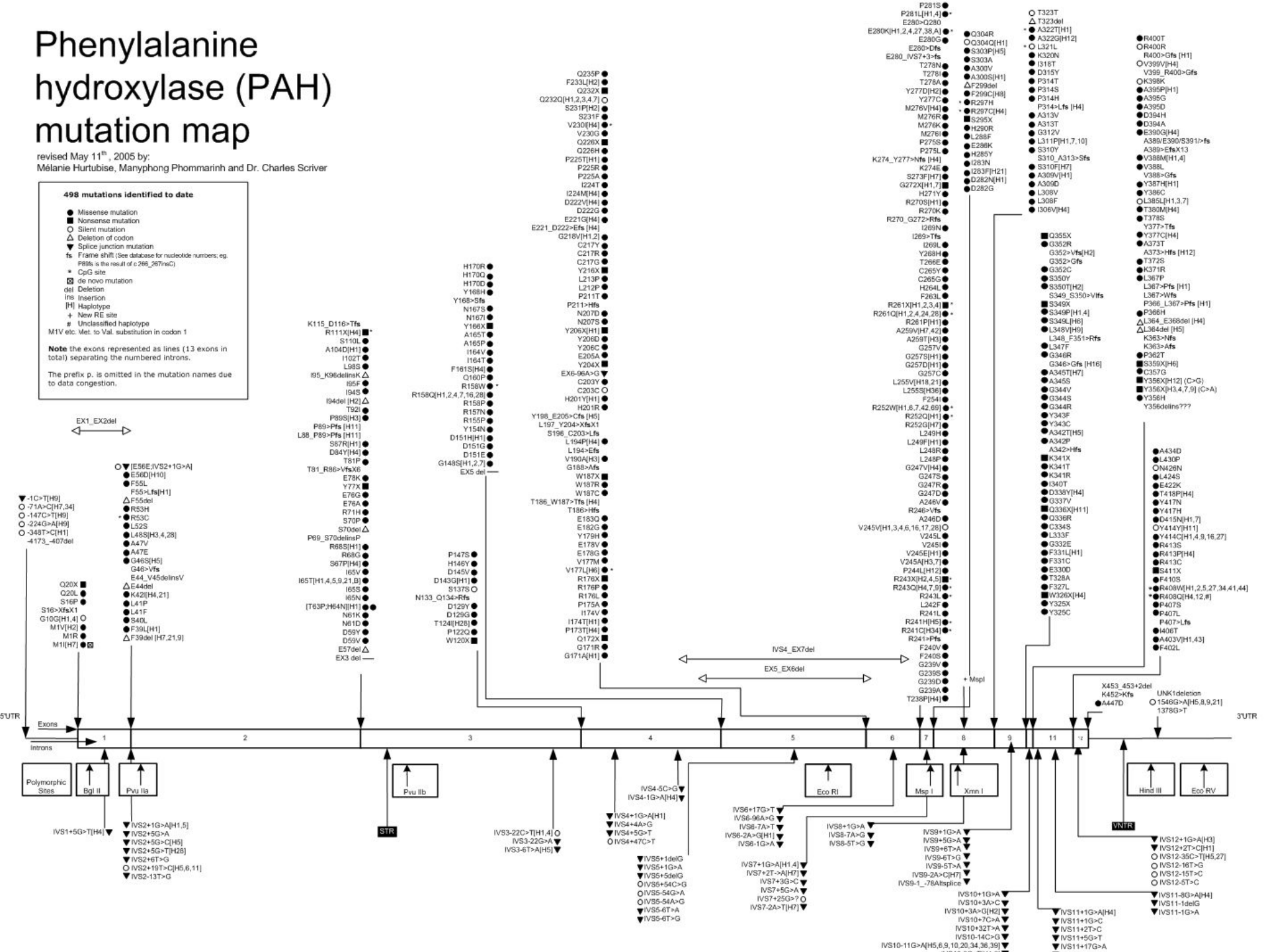
revised May 11<sup>th</sup>, 2005 by:  
Mélanie Hurtubise, Manyong Phommarinh and Dr. Charles Scriver

## 498 mutations identified to date

- Missense mutation
- Nonsense mutation
- Silent mutation
- △ Deletion of codon
- ▽ Splice junction mutation
- fs Frame shift; (See database for nucleotide numbers; eg. P61fs is the result of c.296\_297insC)
- \* CpG site
- ☒ de novo mutation
- del Deletion
- ins Insertion
- [H] Haplotype
- + New RE site
- # Unclassified haplotype
- M1V etc. Met. to Val. substitution in codon 1

Note the exons represented as lines (13 exons in total) separating the numbered introns.

The prefix p. is omitted in the mutation names due to data congestion.



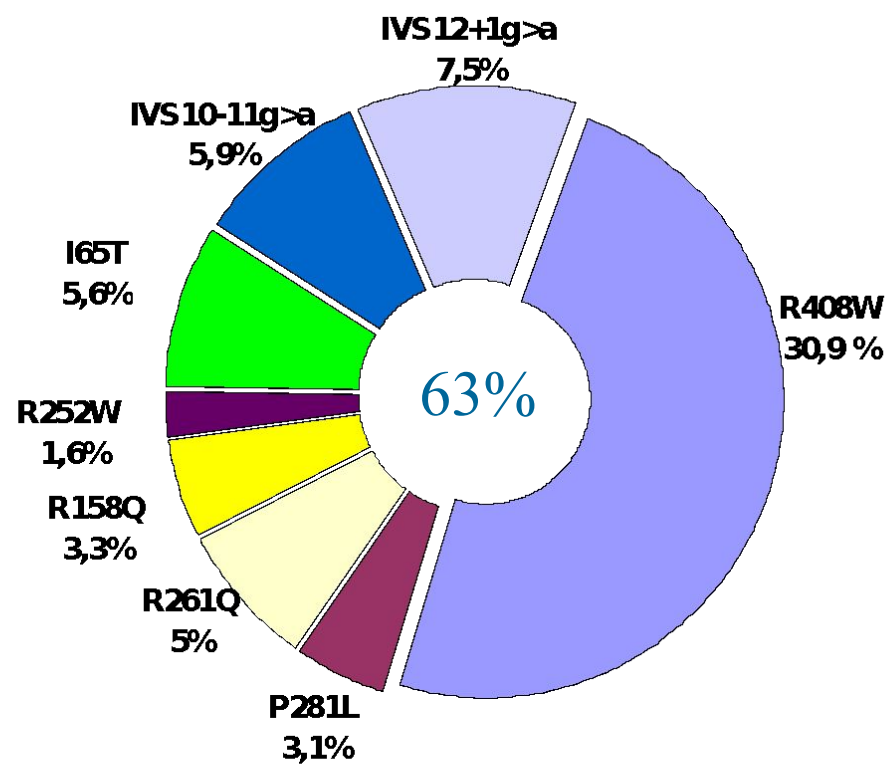
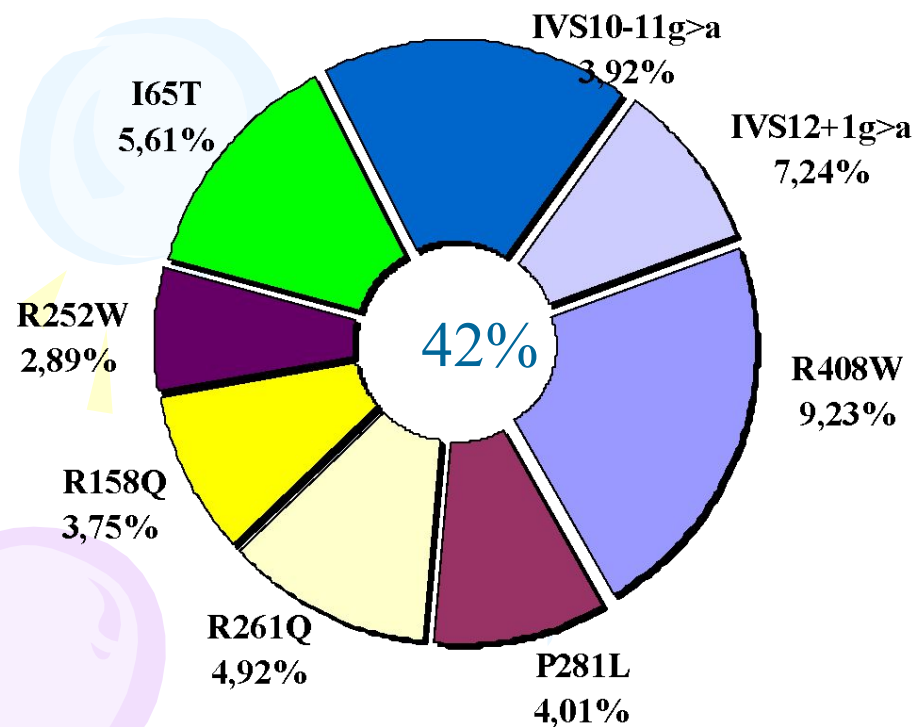
# Частота встречаемости наиболее частых мутаций среди больных

в мире

(<http://data.mch.mcgill.ca/pahdb>)

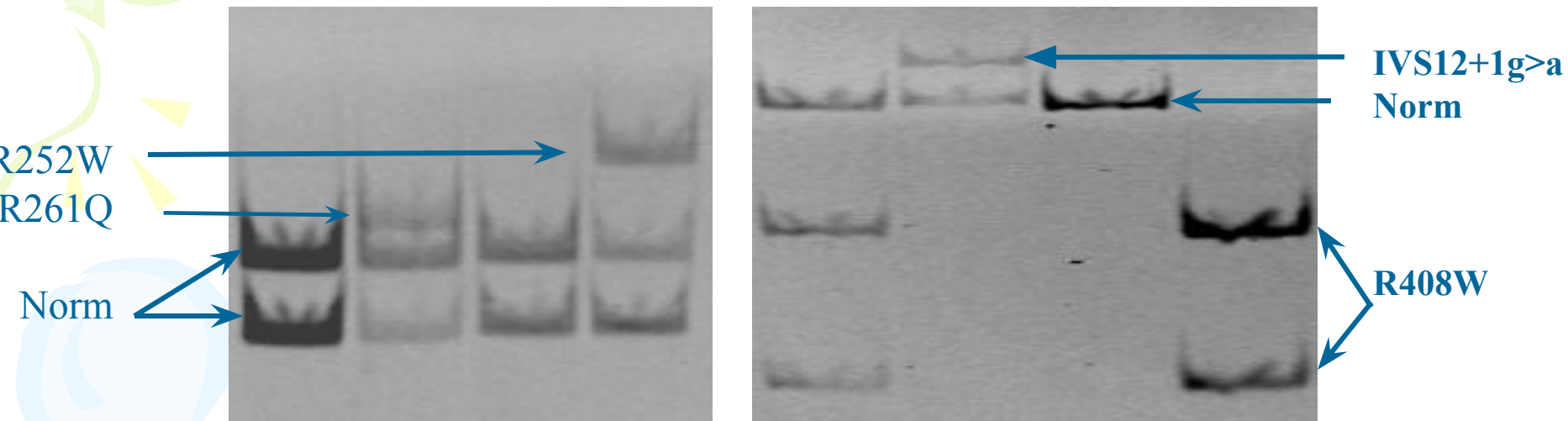
в Европейских

популяциях (Zschocke J., 2003)

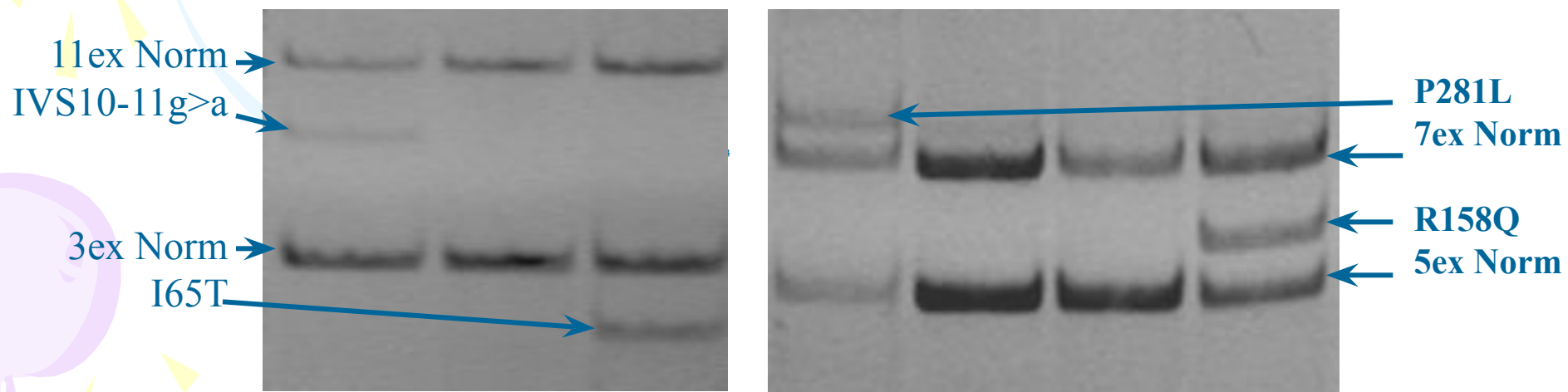


# Система регистрации наиболее частых мутаций

А) одна пара праймеров и две эндонуклеазы рестрикции



Б) две пары праймеров и одна эндонуклеаза рестрикции

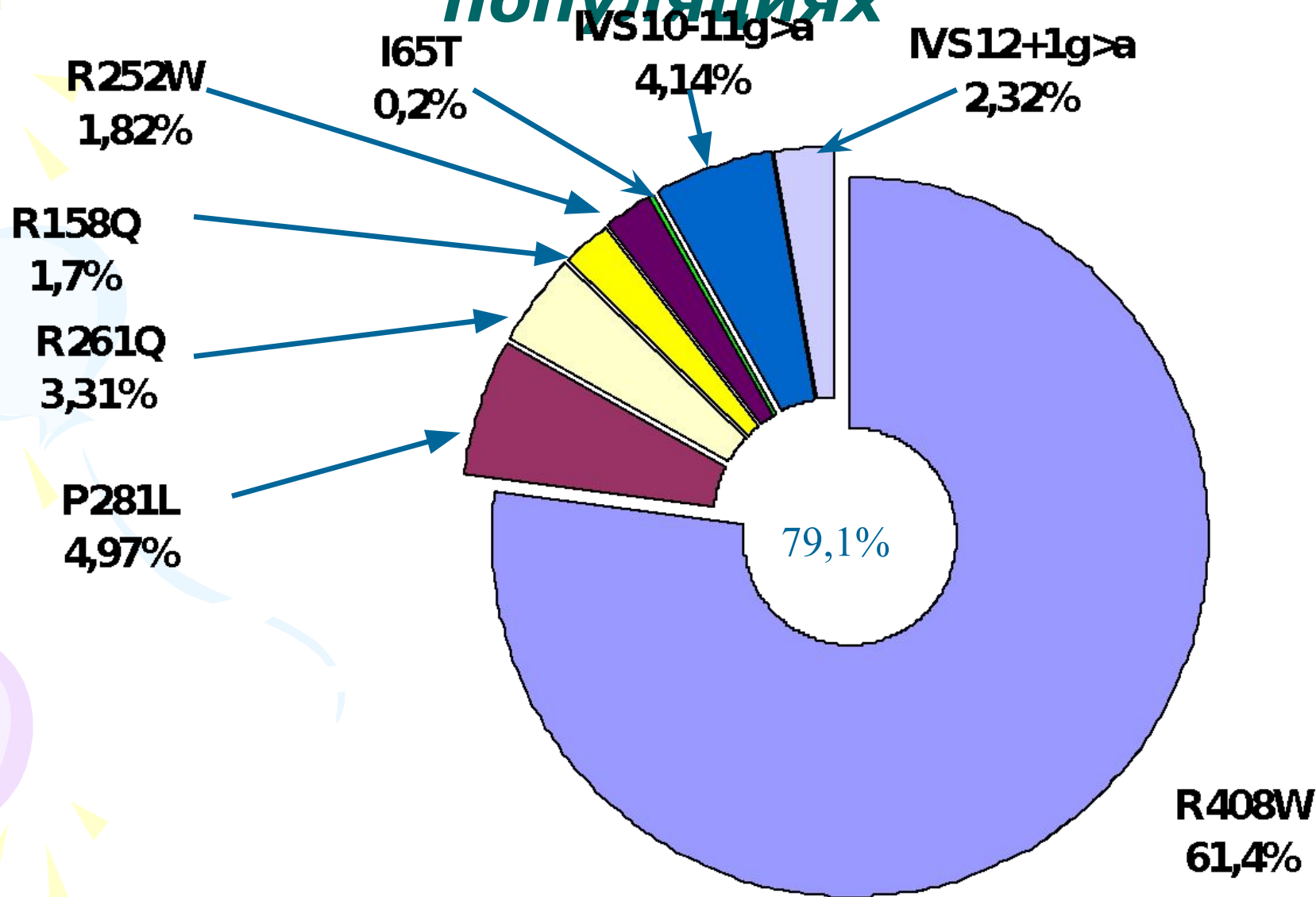


# Структура выборки (N=302)

• Воронежская область	• 46 человек
• Свердловская область	• 33 человека
• Самарская область	• 23 человека
• Курская область	• 23 человека
• Вологодская область	• 20 человек
• Архангельская область	• 24 человека
• Удмуртия	• 28 человек
• Московская область	• 47 человек
• Пациенты научно-консультативного отделения ГУ МГНЦ РАМН	• 58 человек

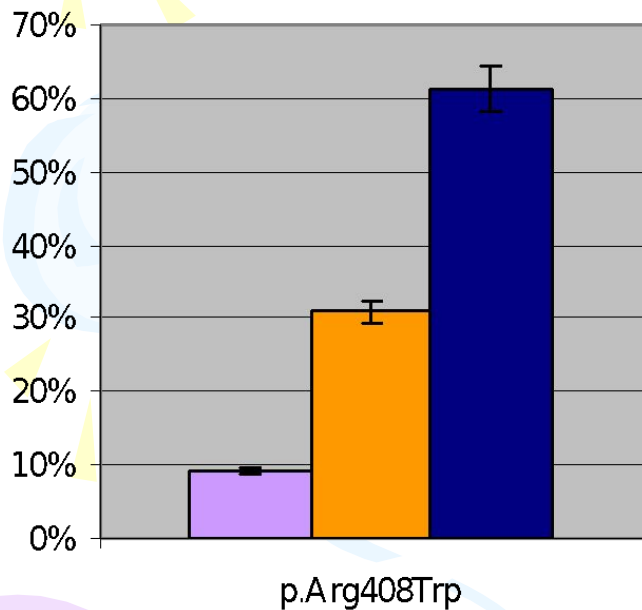


# Частота встречаемости наиболее частых мутаций в Российских популяциях



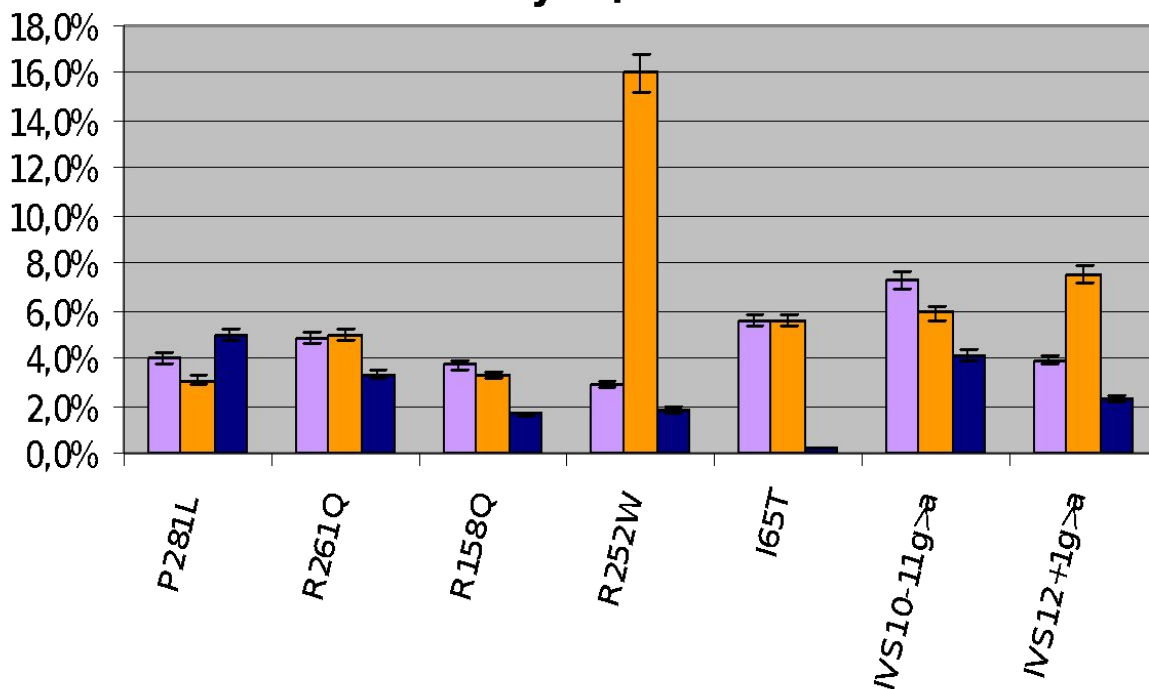
# Частота распространения наиболее частых мутаций в мире, в Европейских популяциях и в исследуемых российских популяциях больных ФКУ

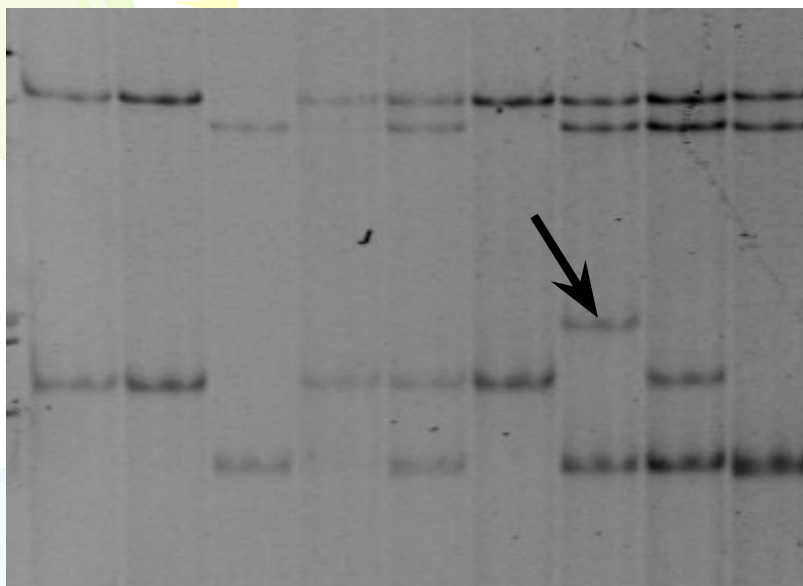
Частота распространения мутации R408W (p.Arg408Trp)



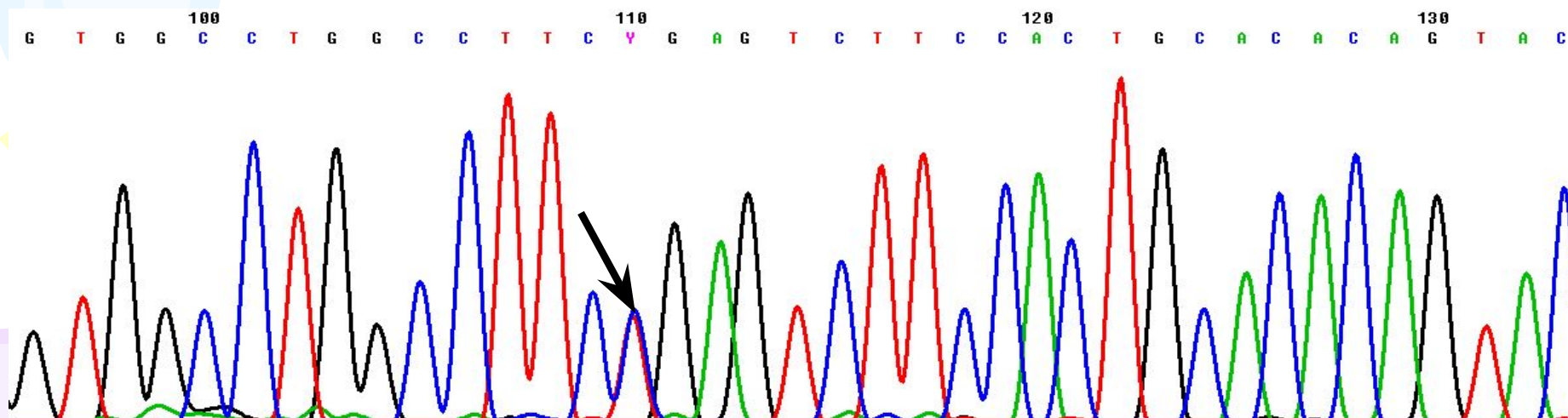
- Мировые данные
- Европейские популяции
- Исследуемые популяции

Частота распространения 7 наиболее частых мутаций



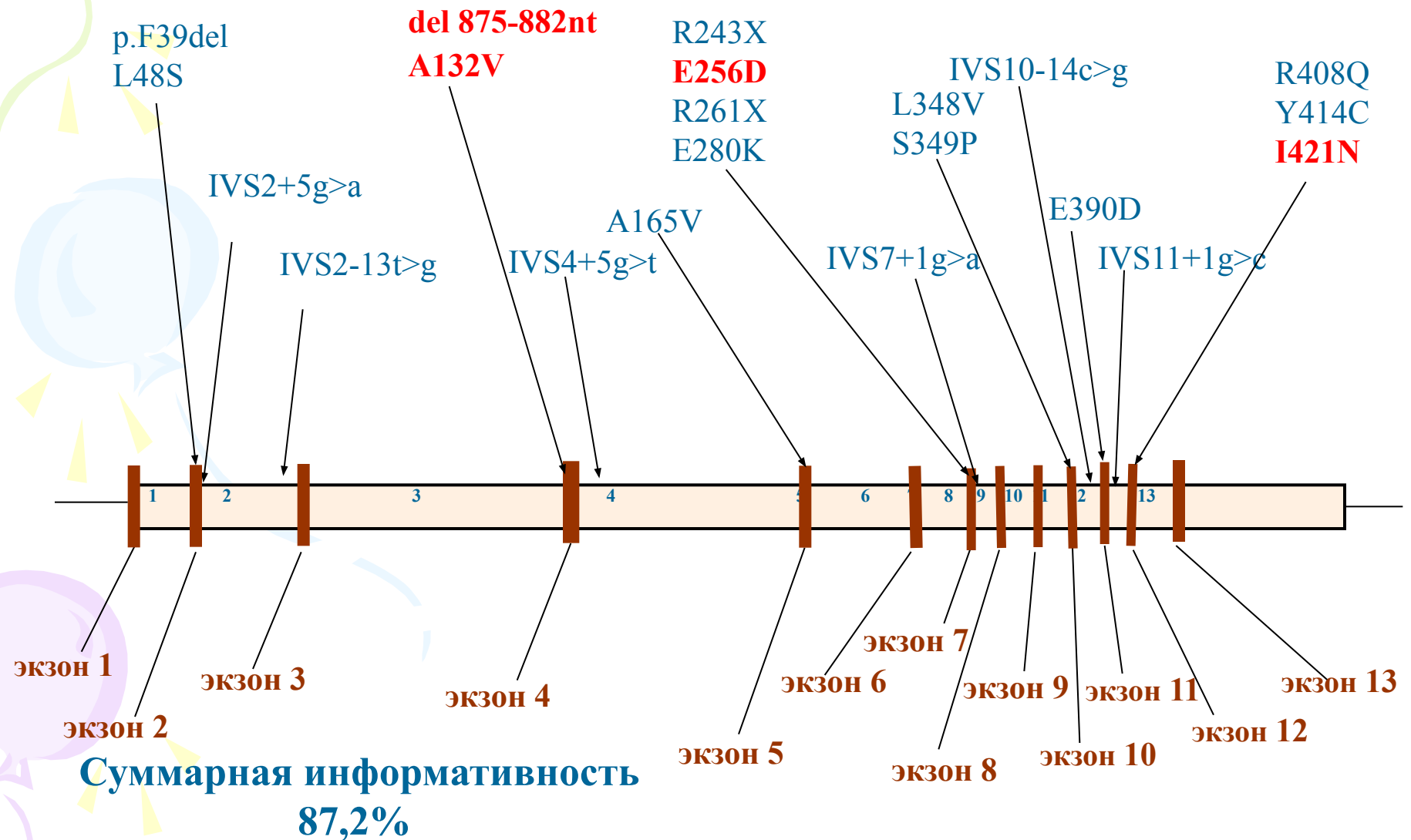


SSCP-анализ экзона 7 гена *PAH*  
 Стрелкой обозначено изменение  
 электрофоретической  
 подвижности соответствующее  
 мутации R261X.

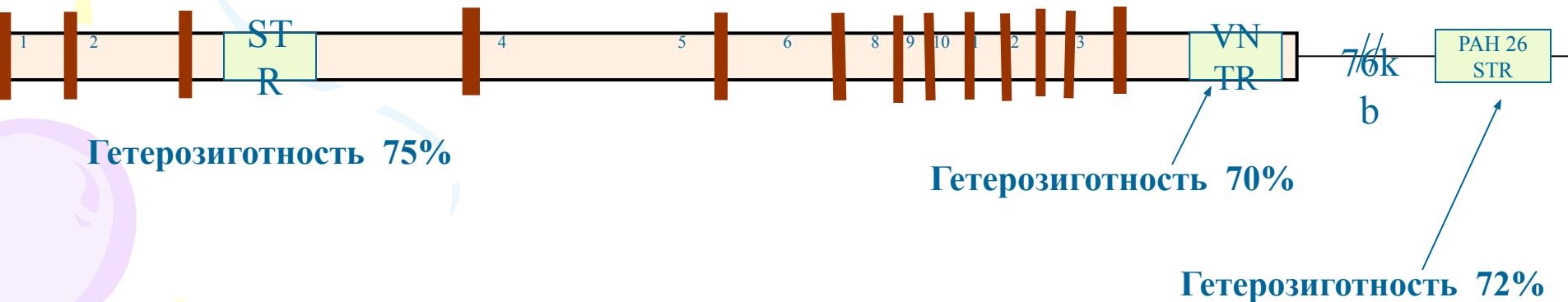
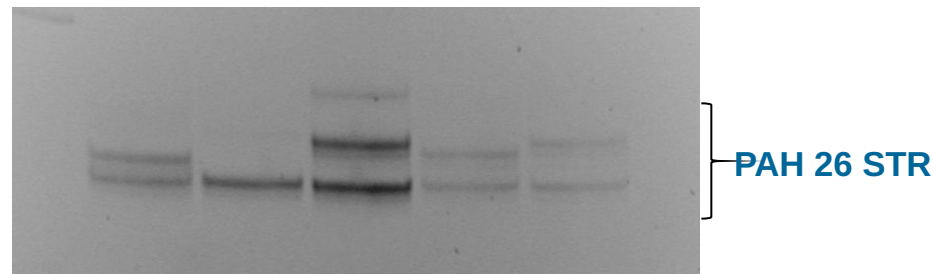
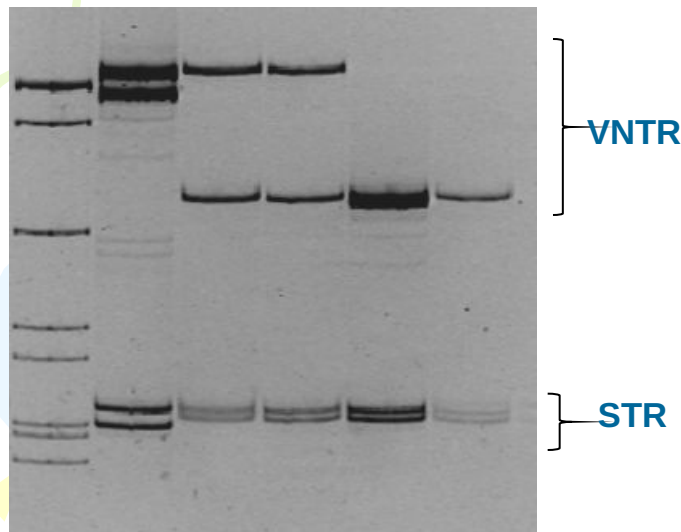


Фрагмент сиквенса экзона 7 гена *PAH*, образца ДНК больного ФКУ из Воронежской области. Замена G на T в 781 основании гена *PAH* **приводящая** к преждевременному стоп кодону в 261 кодоне (Arg261Stop). **Стрелкой обозначена мутация R261X.**

# Структура гена РАН и локализация обнаруженных мутаций в гене РАН



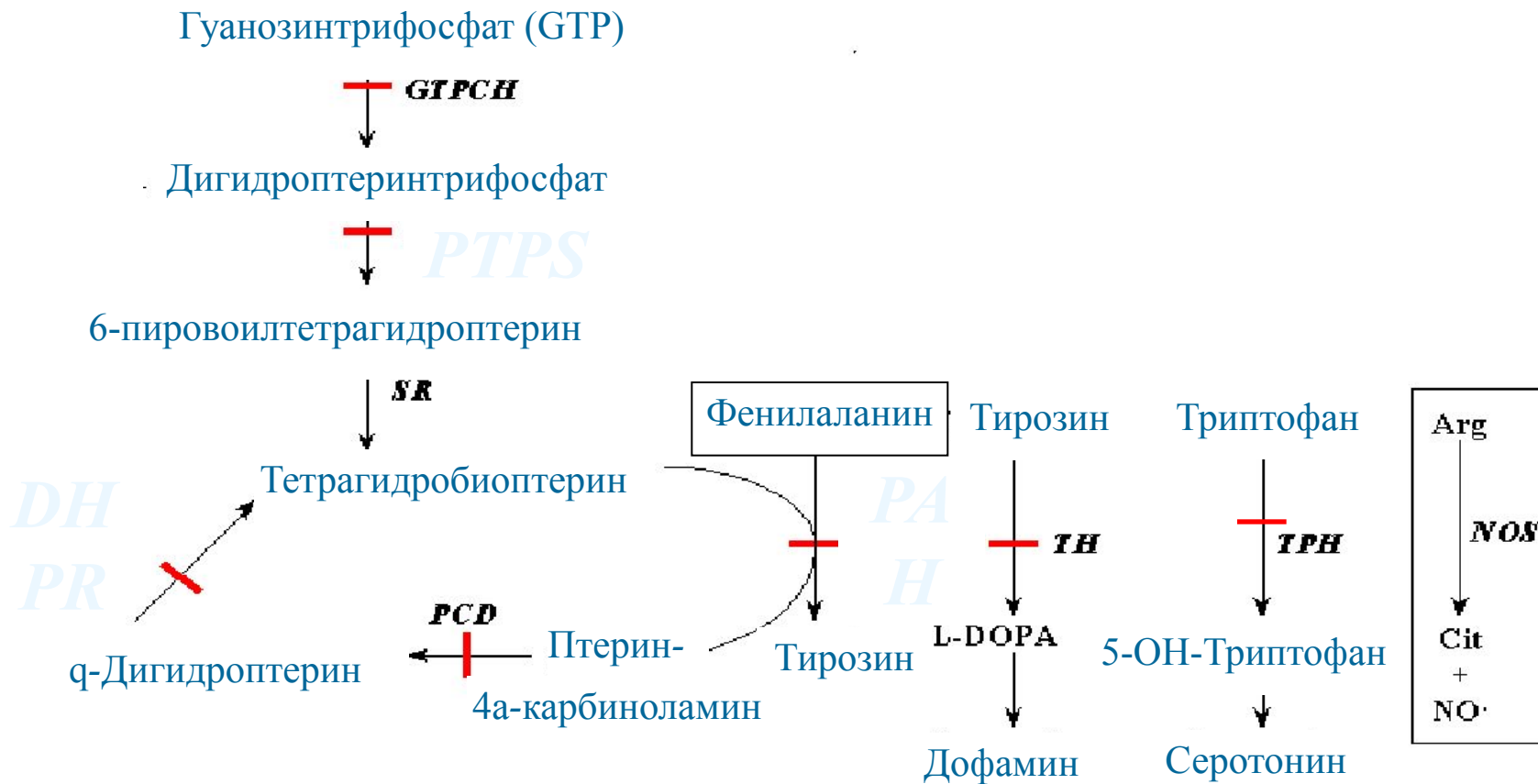
# Полиморфные маркеры внутри и непосредственной близости от гена PAH

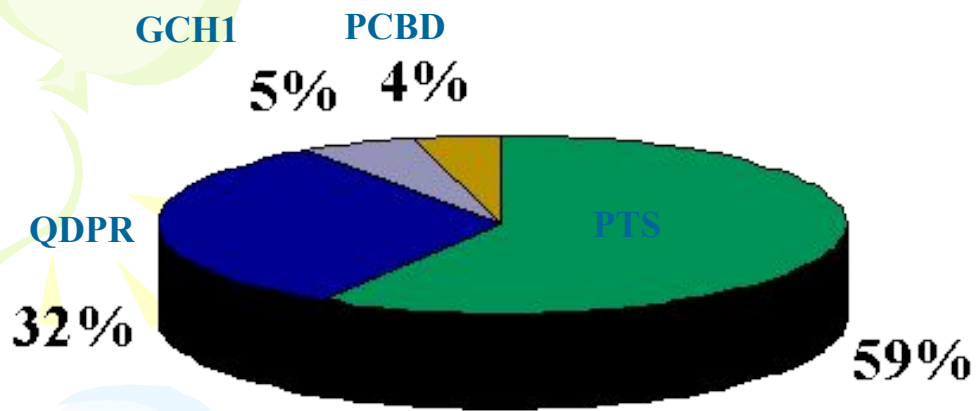


# Исследование в гене *РАН*

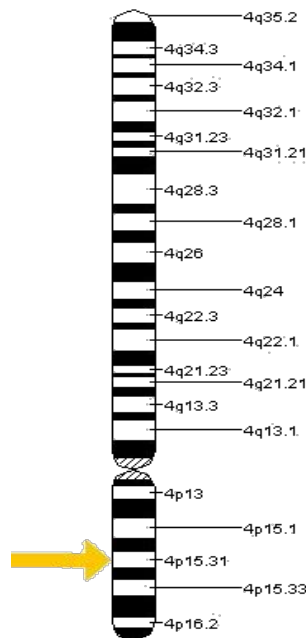
	Количество человек
Обнаружены обе мутации в гене <i>РАН</i>	233
Обнаружены одна мутация в гене <i>РАН</i>	58
Мутаций в гене <i>РАН</i> не обнаружены	11

## Синтез и метаболизм тетрагидробиоптерина

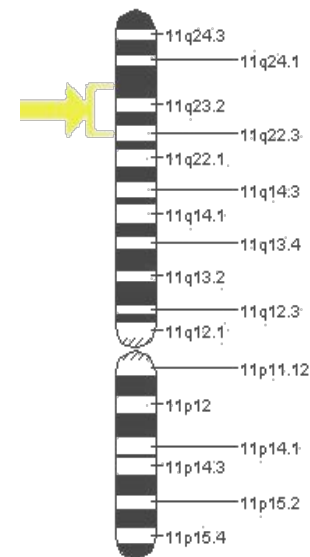




Ген *QDPR* локализован на хромосоме 4 в районе p15.3



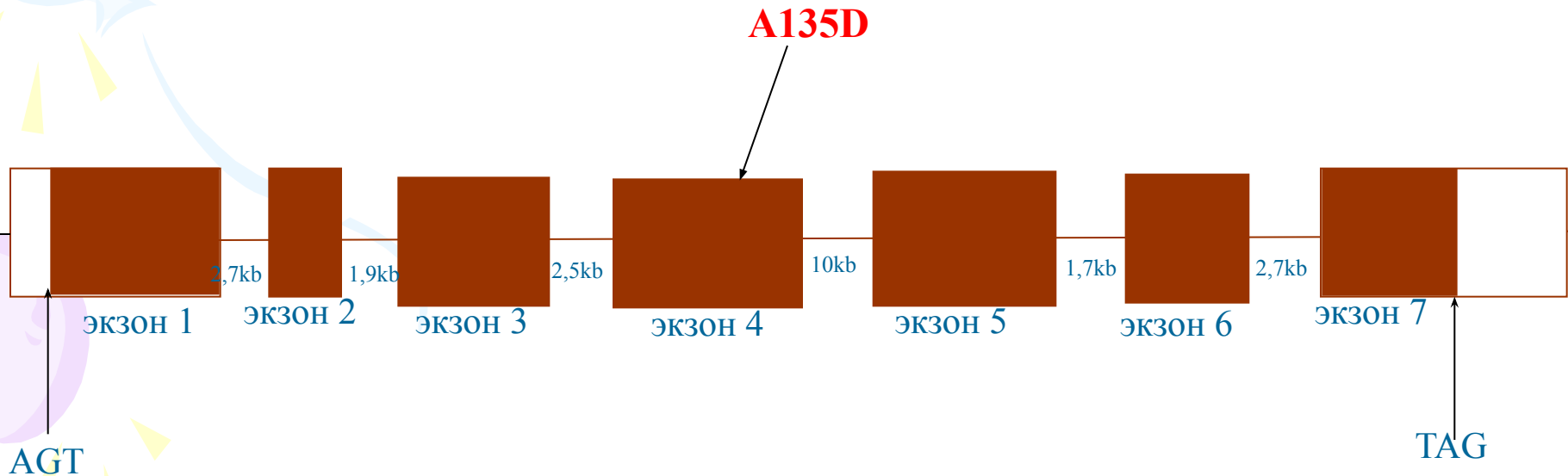
Ген *PTS* расположен хромосоме 11 в районе q22.3-23.3



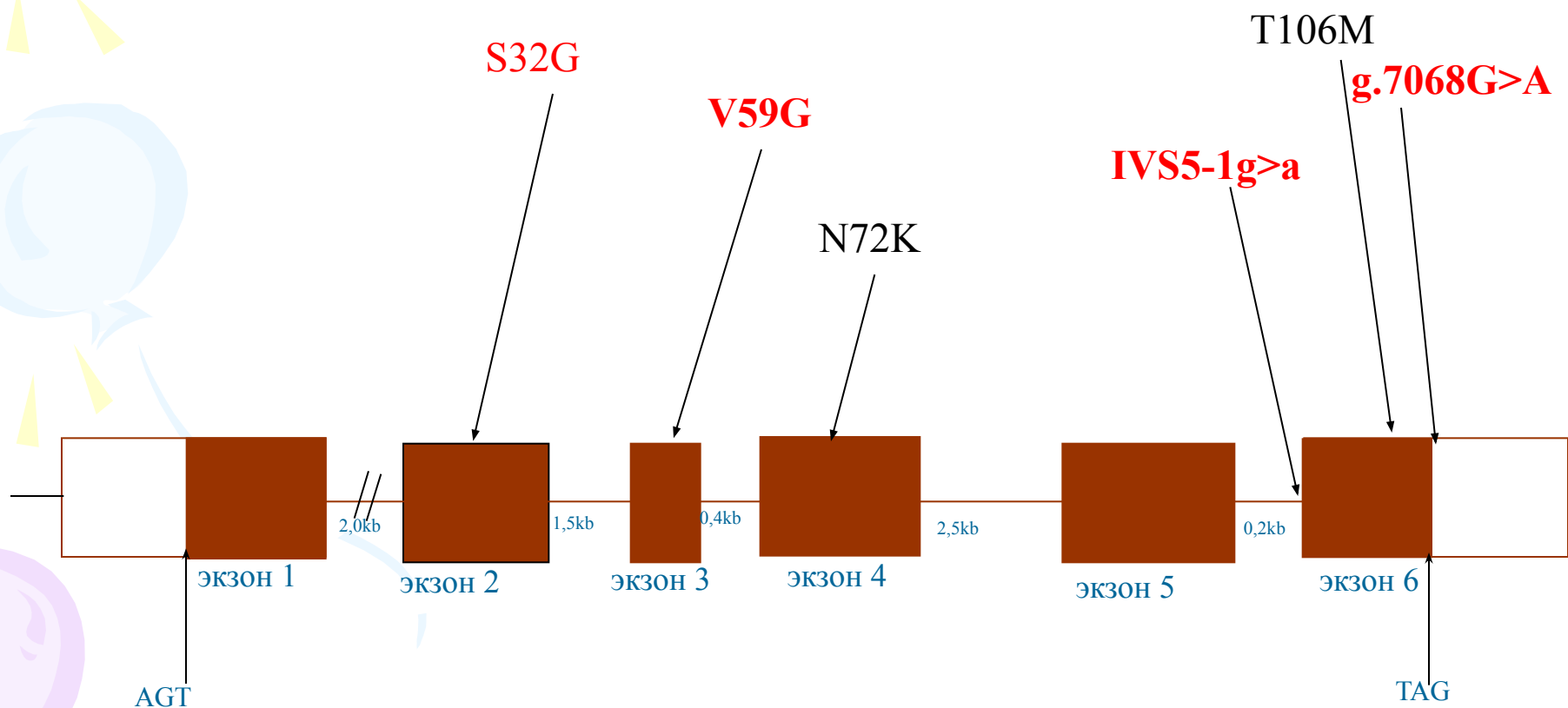


# Структура гена QDPR и локализация обнаруженных мутаций в гене QDPR


Query 120 AGCATCTCAAGGAAGGAGGCCTCCTGACCTTGGATGGCGCAAAGGCTGCCCTGGATGGGA 179  
|||||  
Sbjct 150 AGCATCTCAAGGAAGGAGGCCTCCTGACCTTGGCTGGCGCAAAGGCTGCCCTGGATGGGA 209



# Структура и локализация обнаруженных мутаций в гене *PTS*



<b>Мутация</b>	<b>Кол-во хромосом</b>	<b>Ген</b>	<b>Экзон/Инtron</b>	<b>Информат.</b>
<b>A135D</b>	<b>2</b>	<b><i>QDPR</i></b>	<b>Экзон 4</b>	<b>41,6%</b>
<b>N72K</b>	<b>2</b>	<b><i>PTS</i></b>	<b>Экзон 4</b>	
<b>T106M</b>	<b>2</b>	<b><i>PTS</i></b>	<b>Экзон 6</b>	
<b>S32G</b>	<b>1</b>	<b><i>PTS</i></b>	<b>Экзон 2</b>	
<b>V59G</b>	<b>1</b>	<b><i>PTS</i></b>	<b>Экзон 3</b>	
<b>IVS5-1g&gt;a</b>	<b>1</b>	<b><i>PTS</i></b>	<b>Инtron 5</b>	
<b>g.7068G&gt;A</b>	<b>1</b>	<b><i>PTS</i></b>	<b>Экзон 6</b>	



Диета с пониженным  
содержанием ФА

**Больной ВН4-  
зависимой формой  
ГФА**

Умственная отсталость  
и тяжелые  
неврологические  
нарушения

Комбинированное  
лечение

- диета с пониженным  
содержанием ФА
- медиаторы
- ВН4

Отсутствие  
неврологической  
симптоматики

# Практическое применение

С помощью разработанной системы регистрации наиболее частых мутаций в гене *РАН* проведено:

• **216** диагностики гетерозиготного носительства мутаций в гене *РАН*:

- 162 диагностики провели для индивидов, не имеющих в семье больного ФКУ (планирование беременности): обнаружено 4 гетерозиготных носителя мутаций в гене *РАН*
- 54 диагностики в семьях больных ФКУ: обнаружено 26 гетерозиготных носителя мутаций в гене *РАН*

• **67** пренатальных диагностик, из них:

- В семи случаях плод унаследовал те же хромосомы, что и больной ребенок
- В 46 случае плод являлся гетерозиготным носителем заболевания
- В 14 случаях плод не унаследовал мутации в гене *РАН*



# Практическое применение

Методом SSCP-анализа с последующим секвенированием проведена

• **Диагностика недостаточности тетрагидробиоптерина:**

- Подтвержден диагноз «ВН4 – зависимая форма ГФА», найдены мутации в гене *PTS*

# Схема молекулярно-генетической диагностики гиперфенилаланинемии

