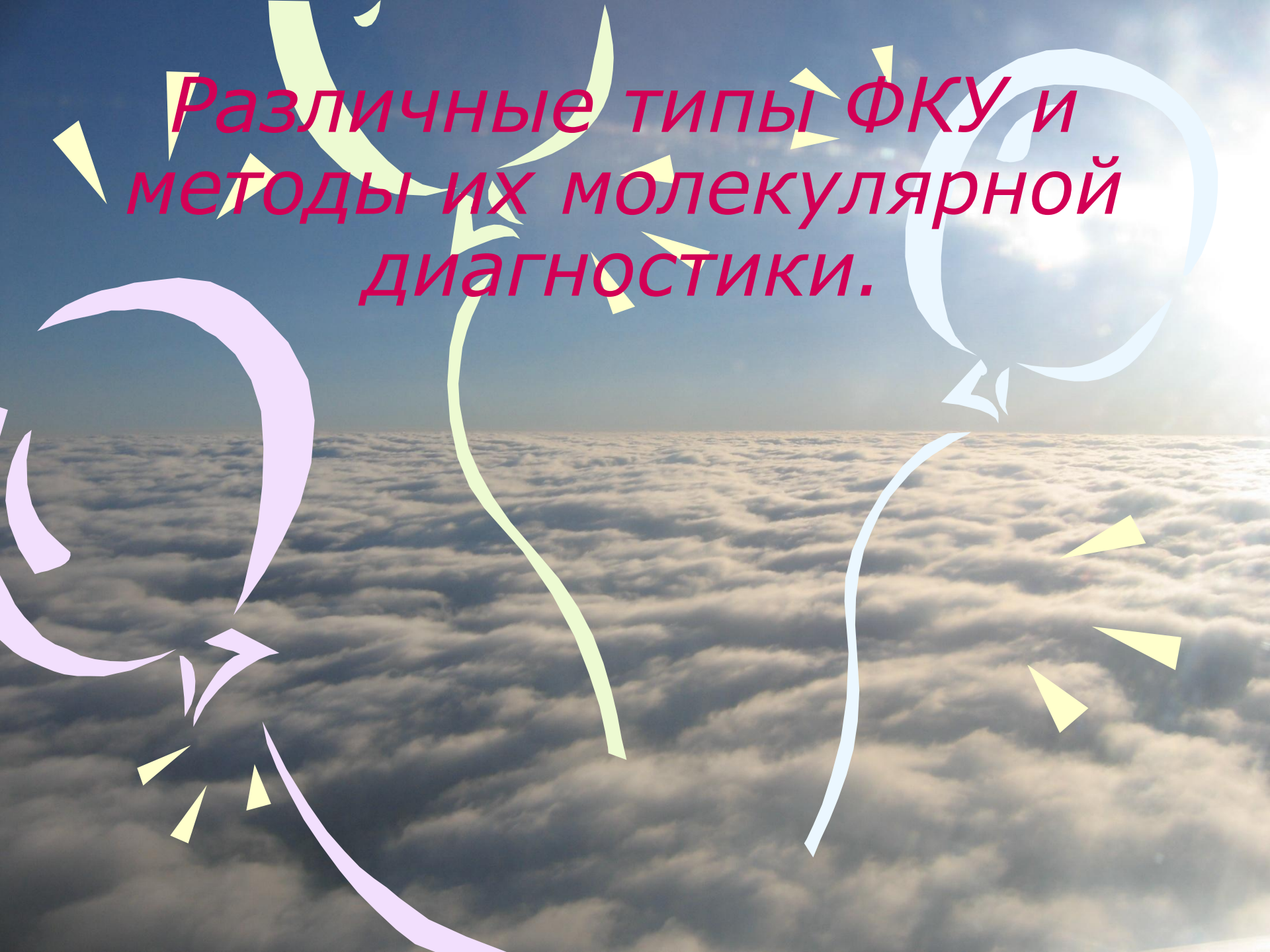


*Различные типы ФКУ и
методы их молекулярной
диагностики.*



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

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

ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ



Классическая

- Повреждения в гене фенилаланингидроксилазы (*PAH*)

- 98%

Атипичная

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

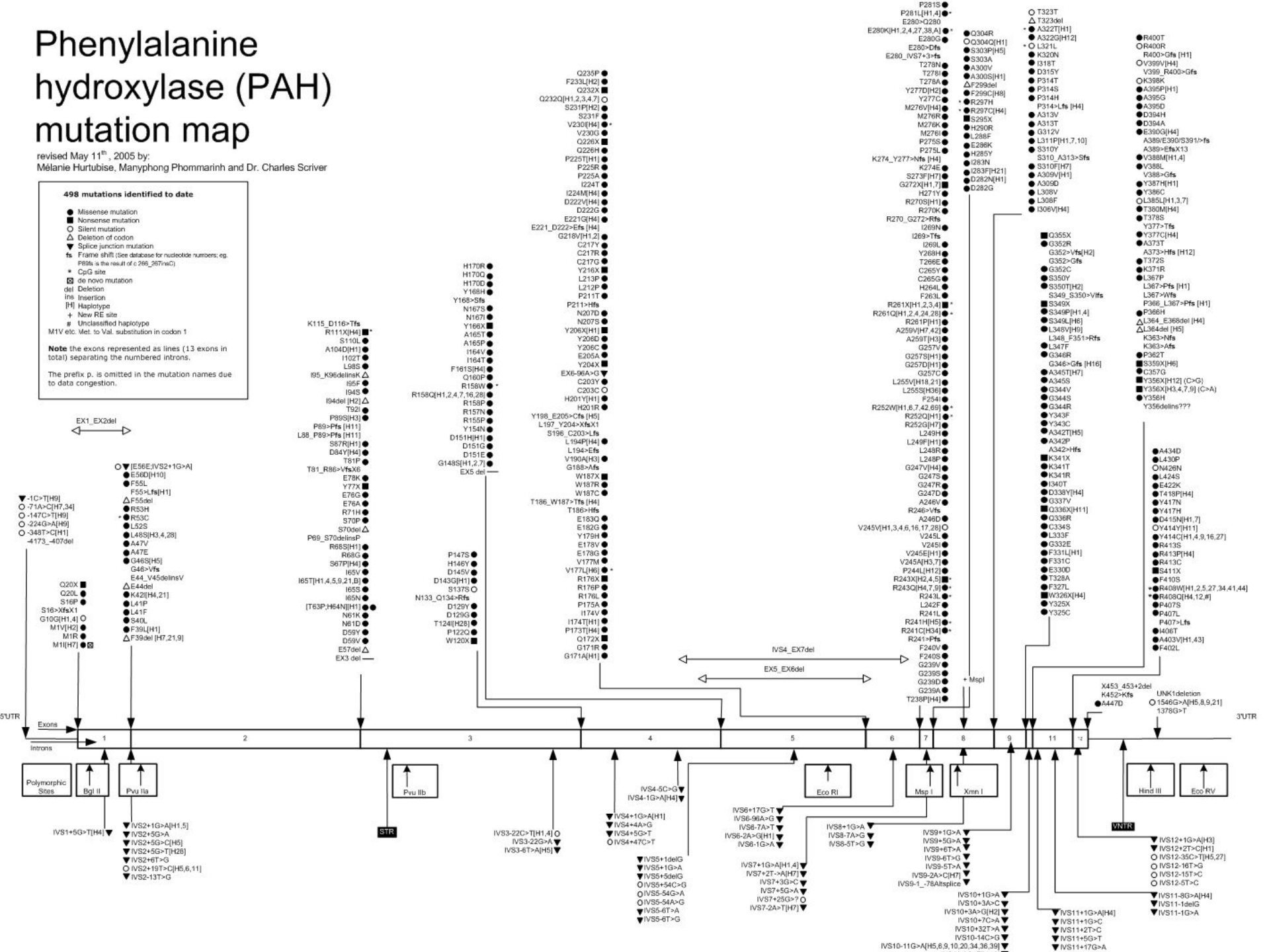
- 2%

Phenylalanine hydroxylase (PAH) mutation map

revised May 11th, 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; esp. Pfffs is the result of c.266_267insC)
 - CgI site
 - de novo mutation
 - ins Insertion
 - 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.



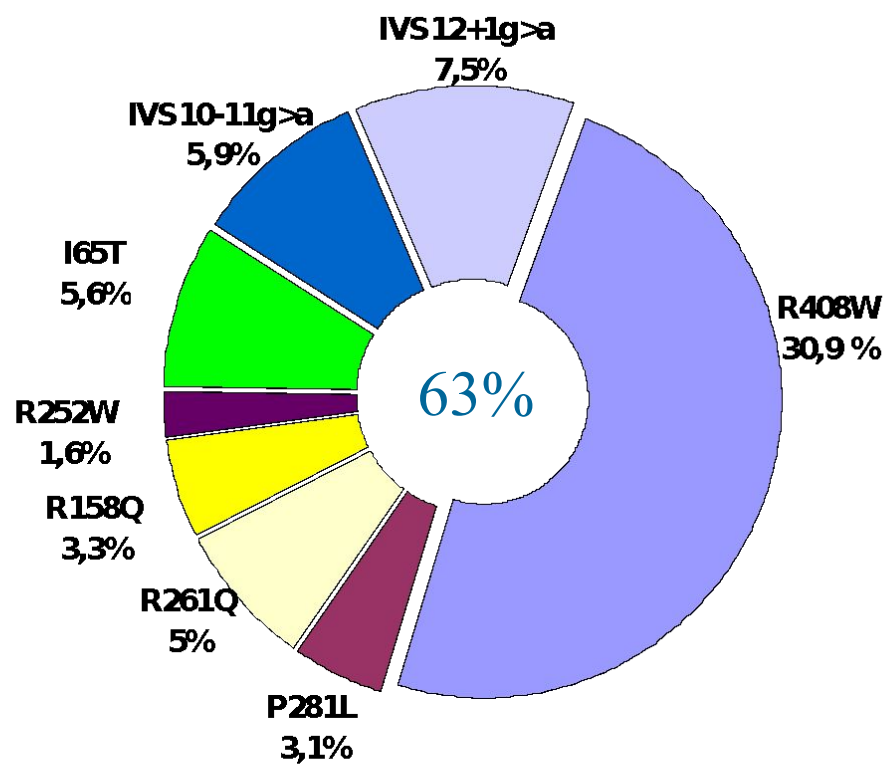
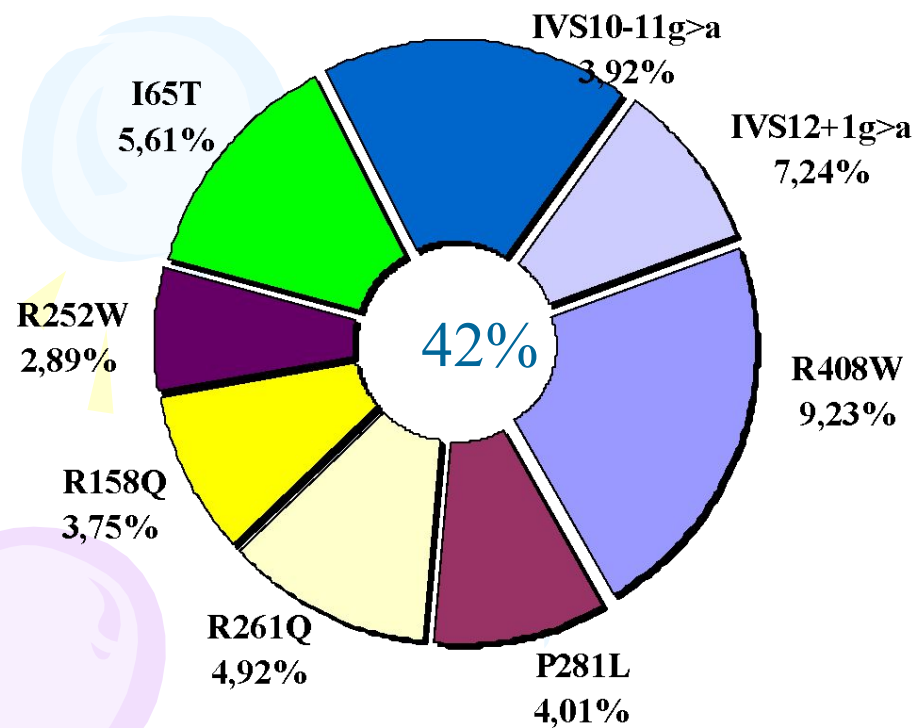
Частота встречаемости наиболее частых мутаций среди больных

в мире

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

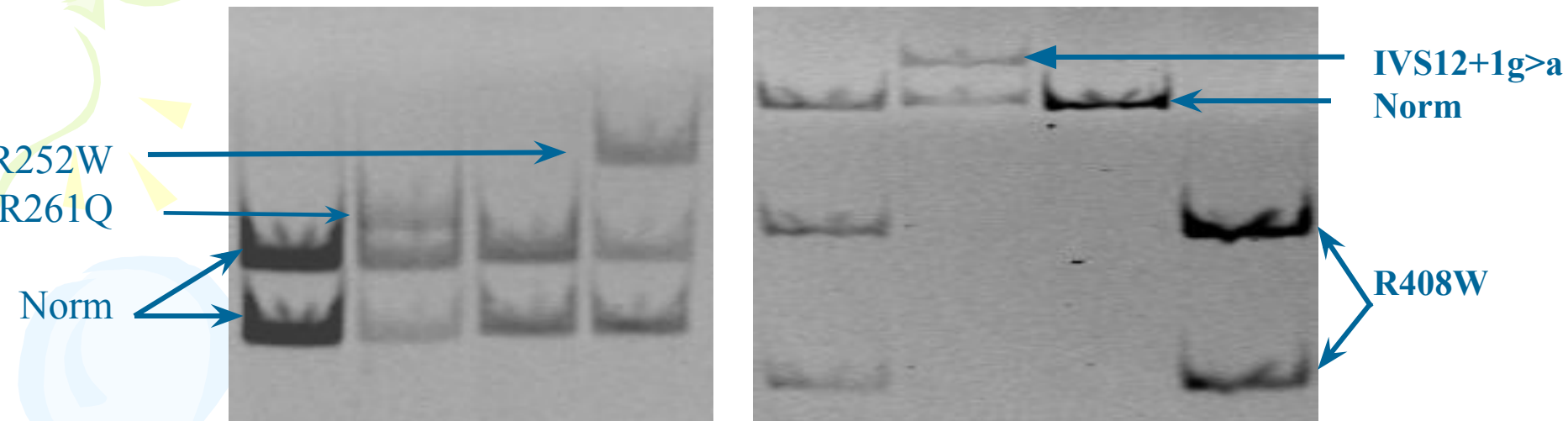
в Европейских

популяциях (Zschocke J., 2003)

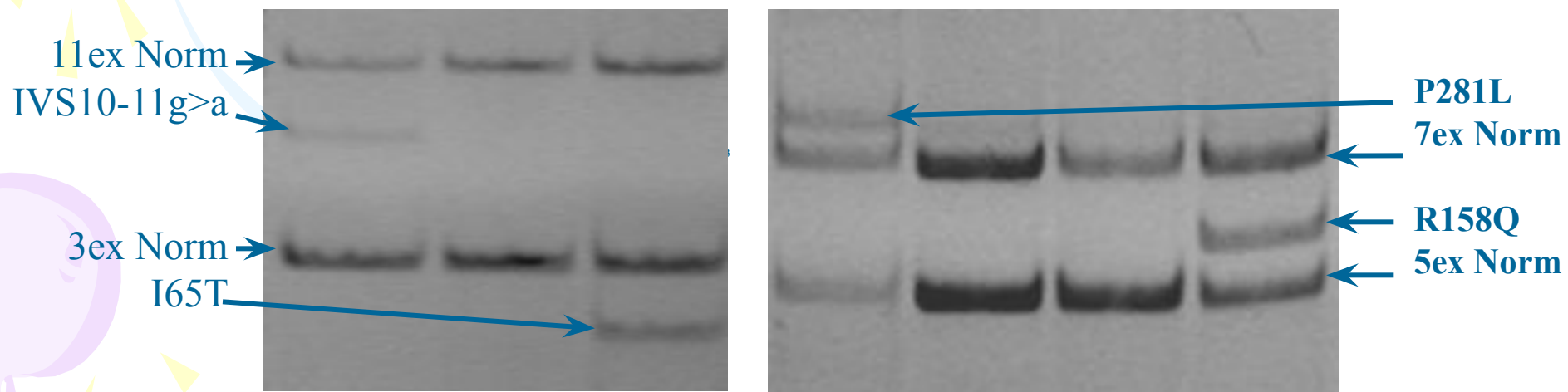


Система регистрации наиболее частых мутаций

А) одна пара праймеров и две эндонуклеазы рестрикции



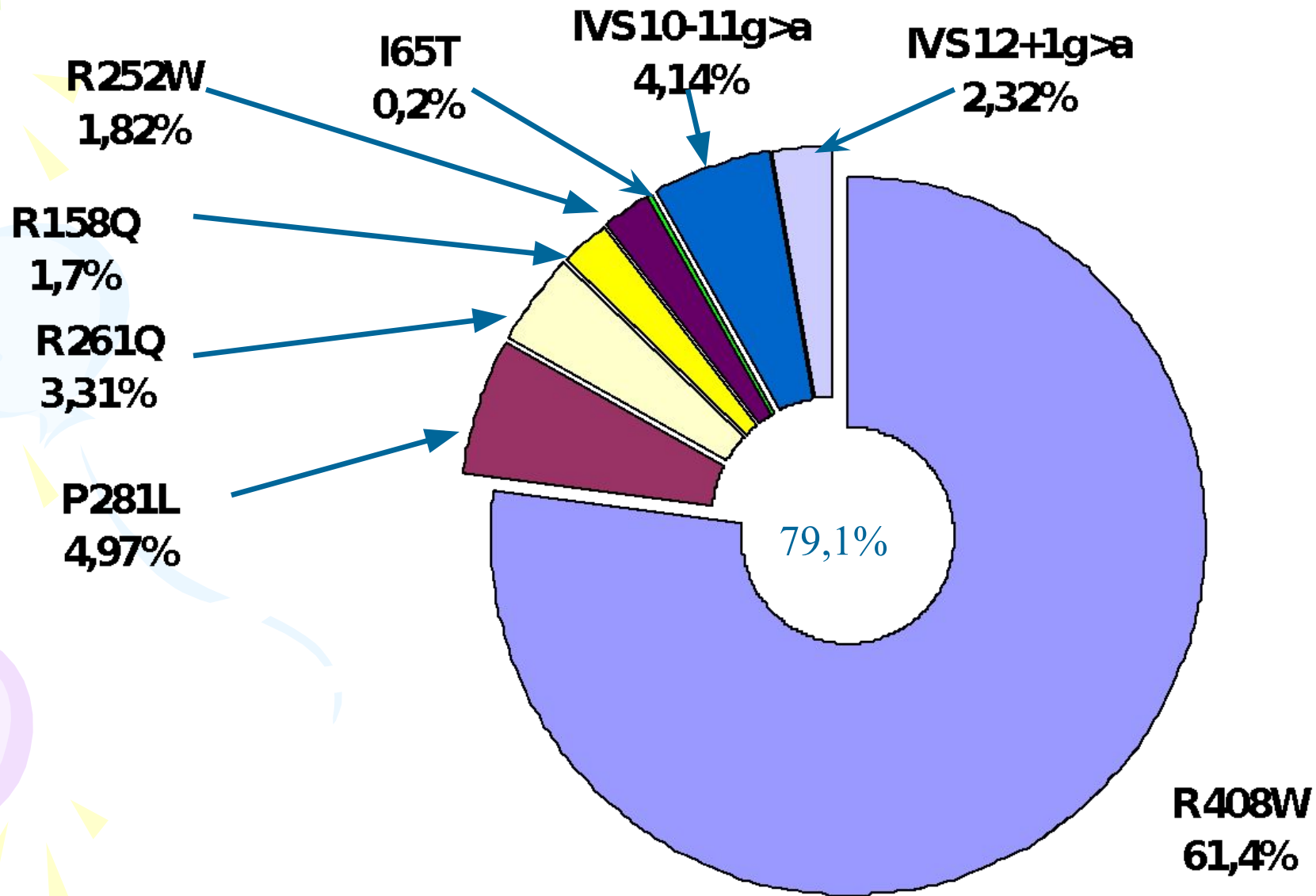
Б) две пары праймеров и одна эндонуклеаза рестрикции



Структура выборки (N=302)

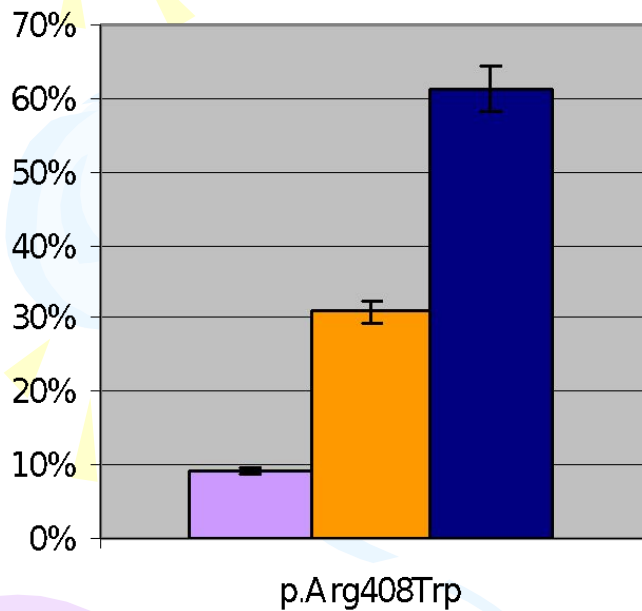
• Воронежская область	• 46 человек
• Свердловская область	• 33 человека
• Самарская область	• 23 человека
• Курская область	• 23 человека
• Вологодская область	• 20 человек
• Архангельская область	• 24 человека
• Удмуртия	• 28 человек
• Московская область	• 47 человек
• Пациенты научно-консультативного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

Частота встречаемости наиболее частых мутаций в Российских популяциях



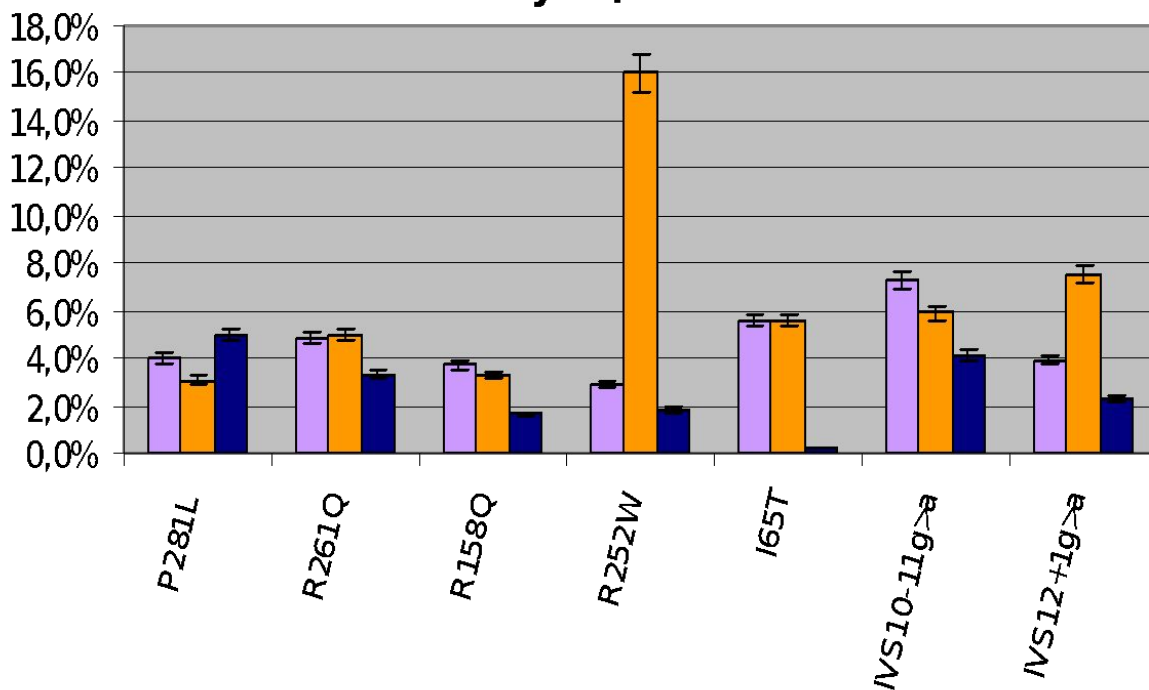
Частота распространения наиболее частых мутаций в мире, в Европейских популяциях и в исследуемых российских популяциях больных ФКУ

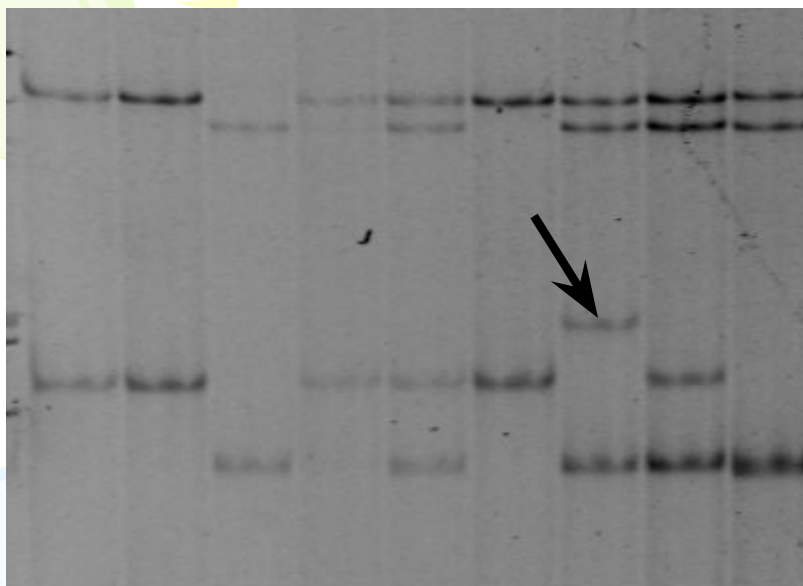
Частота распространения мутации R408W (p.Arg408Trp)



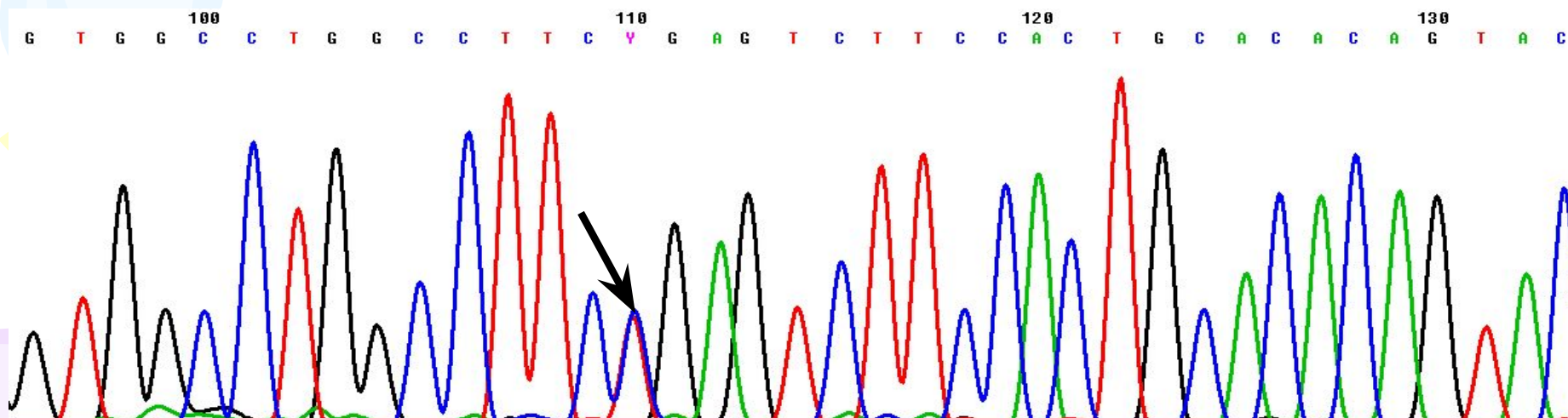
- Мировые данные
- Европейские популяции
- Исследуемые популяции

Частота распространения 7 наиболее частых мутаций



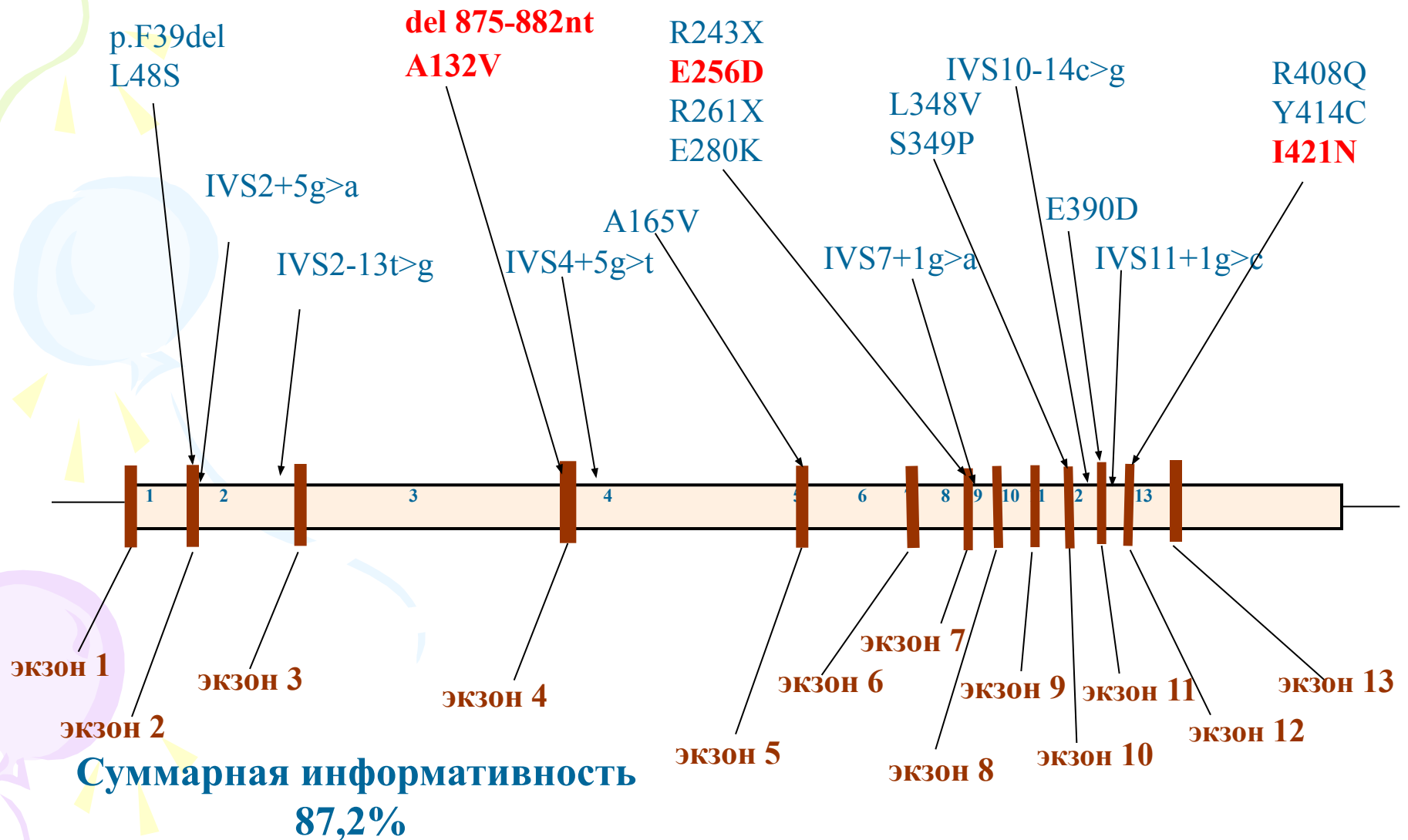


SSCP-анализ экзона 7 гена *PAH*
 Стрелкой обозначено изменение
 электрофоретической
 подвижности соответствующее
 мутации R261X.

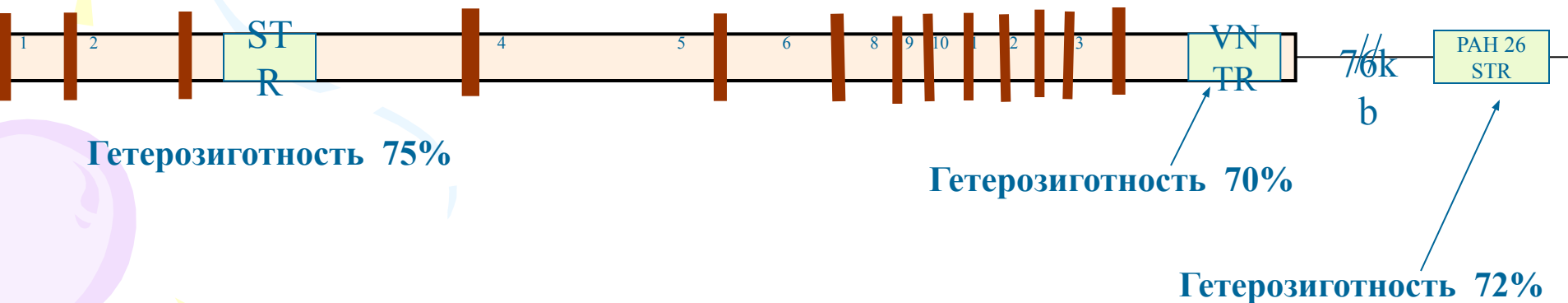
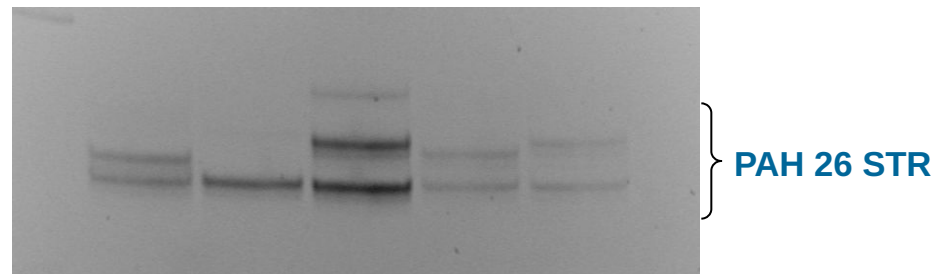
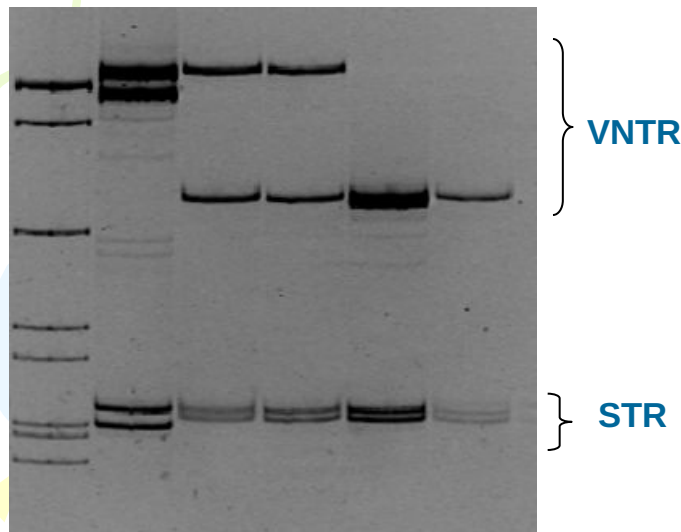


Фрагмент сиквенса экзона 7 гена *PAH*, образца ДНК больного ФКУ из Воронежской области. Замена G на T в 781 основании гена *PAH* **приводящая** к преждевременному стоп кодону в 261 кодоне (Arg261Stop). **Стрелкой обозначена мутация R261X.**

Структура гена РАН и локализация обнаруженных мутаций в гене РАН



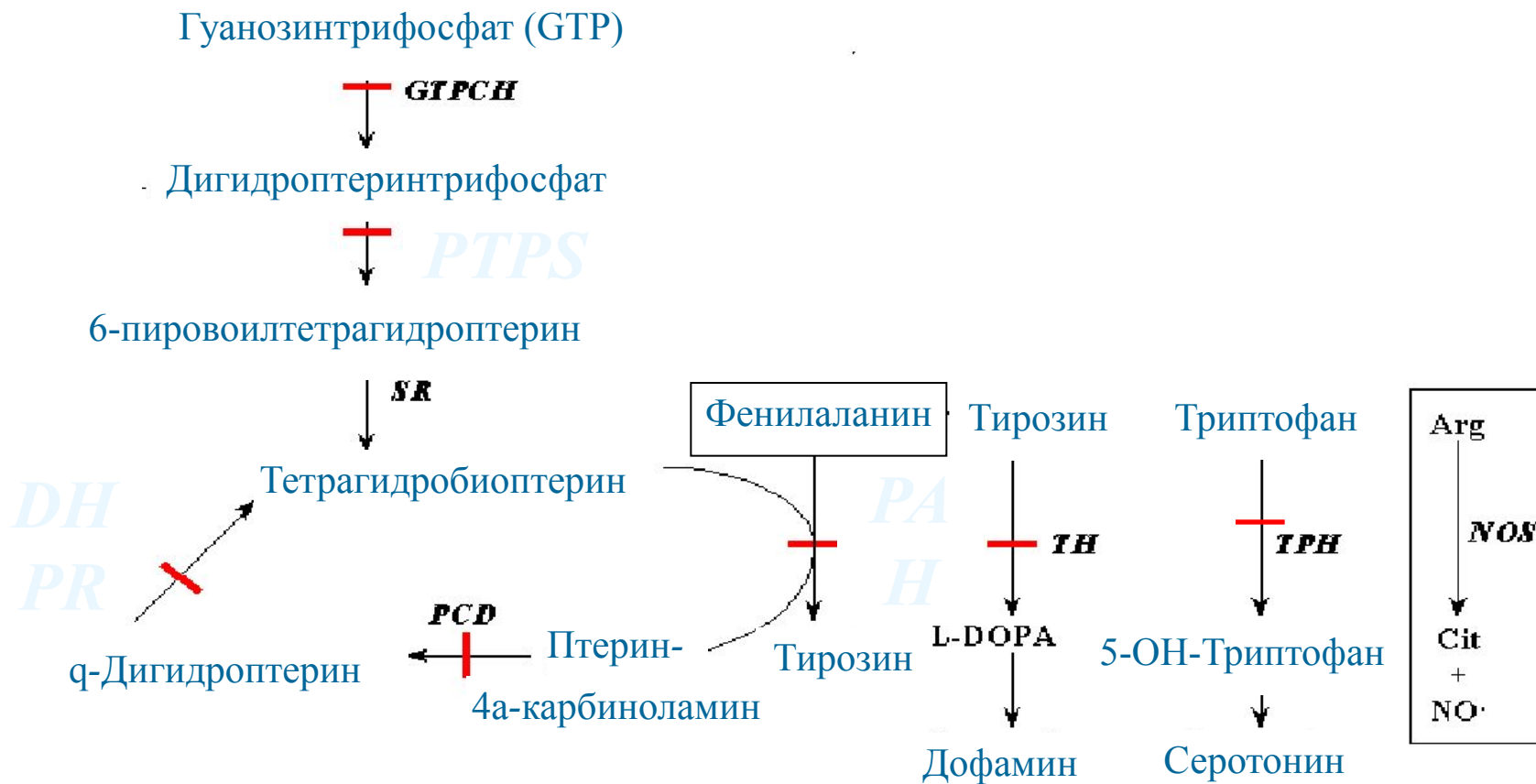
Полиморфные маркеры внутри и непосредственной близости от гена PAH

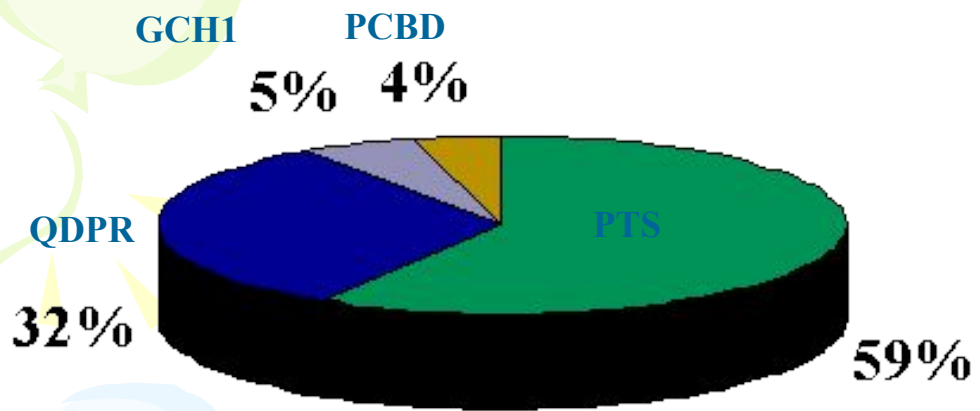


Исследование в гене *РАН*

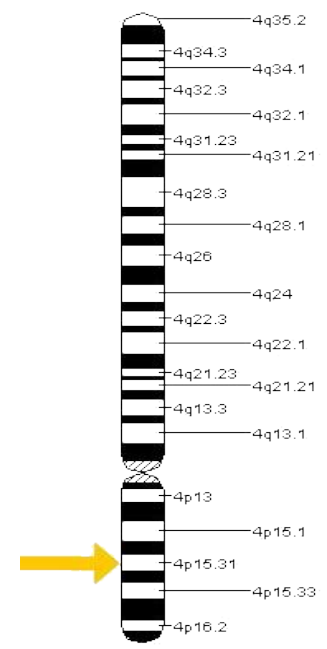
	Количество человек
Обнаружены обе мутации в гене <i>РАН</i>	233
Обнаружены одна мутация в гене <i>РАН</i>	58
Мутаций в гене <i>РАН</i> не обнаружены	11

Синтез и метаболизм тетрагидробиоптерина

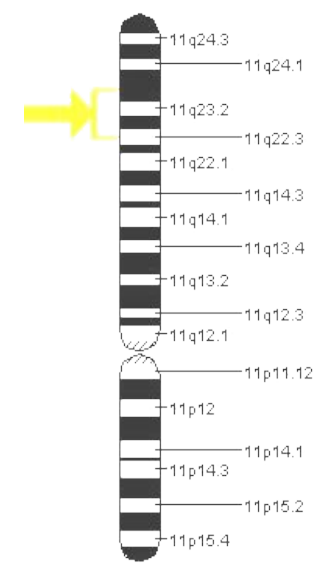




Ген *QDPR* локализован на хромосоме 4 в районе p15.3

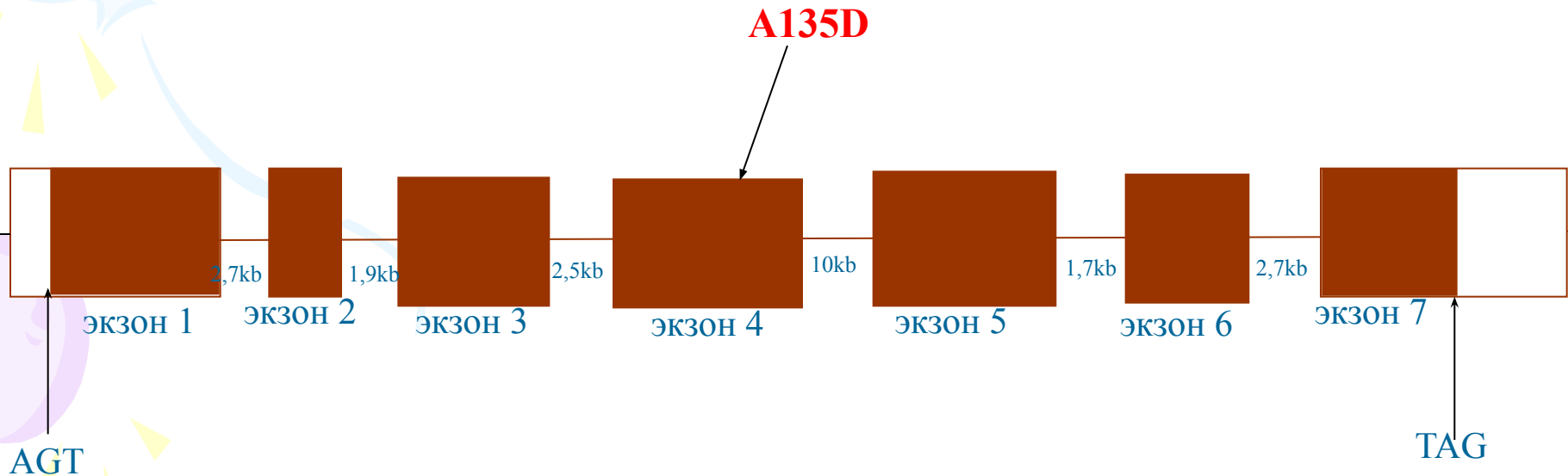


Ген *PTS* расположен хромосоме 11 в районе q22.3-23.3

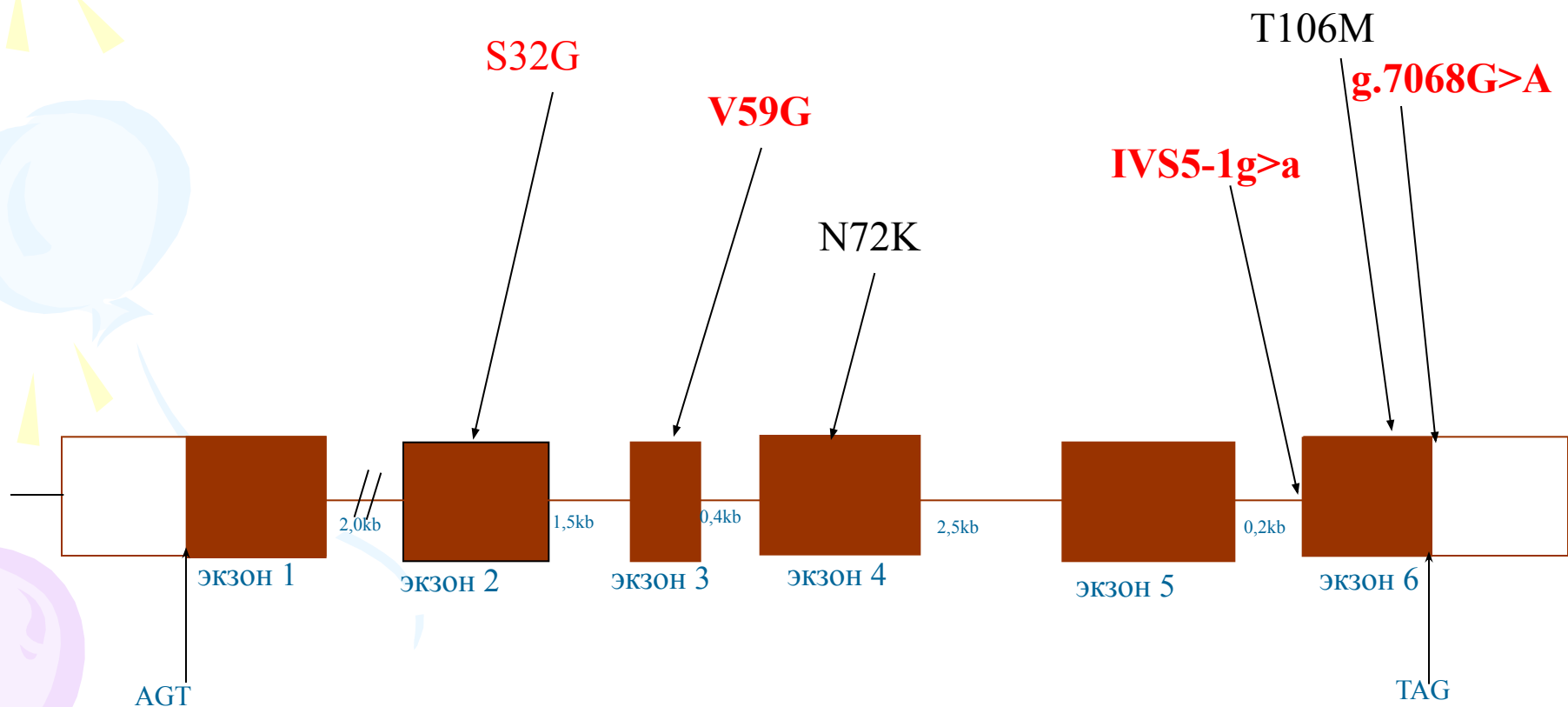


Структура гена QDPR и локализация обнаруженных мутаций в гене QDPR


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



Структура и локализация обнаруженных мутаций в гене *PTS*



Мутация	Кол-во хромосо м	Ген	Экзон/ Инtron	Информ ат.
A135D	2	<i>QDPR</i>	Экзон 4	41,6%
N72K	2	<i>PTS</i>	Экзон 4	
T106M	2	<i>PTS</i>	Экзон 6	
S32G	1	<i>PTS</i>	Экзон 2	
V59G	1	<i>PTS</i>	Экзон 3	
IVS5-1g>a	1	<i>PTS</i>	Инtron 5	
g.7068G>A	1	<i>PTS</i>	Экзон 6	



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

