

О.А. БАТУРИНА¹, А.А. БОНДАРЬ¹,А.Е. ТУПИКИН¹, С.Г. ЖАБИН², И.В. МОРОЗОВ¹¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины
Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск

E-mail: baturina@niboch.nsc.ru

² Зональный перинатальный центр, Новокузнецк

АНАЛИЗ МУТАЦИЙ ГЕНА ФЕНИЛАЛАНИНГИДРОКСИЛАЗЫ У БОЛЬНЫХ ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ И РЕСПУБЛИКИ САХА



Представлены результаты молекулярно-генетического исследования гена фенилаланингидроксилазы (ФАГ) среди 46 больных фенилкетонурией (ФКУ) и членов их семей, проживающих в Кемеровской области и Республике Саха. Для выявления мутаций гена ФАГ применяли амплификацию экзонов и прямое определение их нуклеотидных последовательностей. В результате исследования выявлены как широко известные мутации (R158Q, R252W, R261Q, P281L, IVS10-11G>A, R408W, IVS12+1G>A), так и редко встречающиеся (IVS2+5G>A, R155H, Y168H, W187R, E221_D222>Efs, A342T, Y386C, IVS11+1G>C). Показано, что в популяциях смешанного этнического состава увеличивается разнообразие аллелей, обуславливающих ФКУ.

© О.А. БАТУРИНА, А.А. БОНДАРЬ, А.Е. ТУПИКИН,
С.Г. ЖАБИН, И.В. МОРОЗОВ, 2012

Введение. В настоящее время в мире ежегодно рождаются более 2 млн детей с наследственными заболеваниями [1]. Фенилкетонурия (ФКУ) – распространенное наследственное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования, обусловленное недостаточной активностью фермента фенилаланин-гидроксилазы (ФАГ). При отсутствии своевременного лечения больные ФКУ имеют в 92–96 % случаев выраженную умственную отсталость – идиотию и имбецильность [2]. Более половины из них обречены на раннюю смерть либо на инвалидность, остальные нуждаются в постоянной медицинской и социальной помощи [3, 4]. Частота заболевания в разных популяциях различна: от 1:4500 в Ирландии до 1:120 000 в Японии [5, 6]. В Европе частота дефекта составляет 1:10 000 новорожденных, в Российской Федерации – примерно 1:8000 новорожденных [1]. В Сибирском регионе частота ФКУ составляет около 1:7000 новорожденных [7], в Республике Саха она значительно ниже – 1:48 000 [8]. Изучение наследования ФКУ и ее профилактика (пренатальная диагностика) весьма актуальны в связи с широким распространением заболевания и возможностью его полной коррекции при своевременной и точной постановке диагноза.

Причиной ФКУ I типа являются мутации гена фенилаланингидроксилазы (ФАГ), который локализован на длинном плече хромосомы 12 в сегменте q22–q24 и имеет протяженность около 90 000 пар оснований. Он включает 13 экзонов и кодирует белок, содержащий 451 аминокислоту [9]. К настоящему времени известно более 500 мутаций этого гена, ассоциированных с ФКУ [10]. Степень выраженности заболевания и эффективность различных терапевтических подходов к его коррекции обуславливаются характером мутаций в гене ФАГ.

Этнический состав населения Кемеровской области неоднороден: здесь проживают представители тюркской ветви алтайской языковой семьи (башкиры, татары, чуваша), финно-угорской ветви уральской языковой семьи (марийцы, мордва, удмурты, коми) и славянской ветви индоевропейской языковой семьи (русские) [11]. Современные якуты как народность также не являются монофилетичным этносом: они сформировались

на основе смешения тюркоязычных племен с местными палеоазиатскими родами, а также с монголоязычными хоринцами и тунгусами [12]. Исследование распределения аллелей и генотипов в этих популяциях представляет интерес для характеристики генетической структуры и истории популяций. Определение генетической природы фенилкетонурии в перечисленных популяциях позволяет также выявить гетерозиготных носителей заболевания и осуществлять эффективную пренатальную диагностику ФКУ в семьях, участвующих в исследовании.

Целью настоящего исследования является выявление мутаций гена фенилаланингидроксилазы у больных ФКУ Кемеровской области и Республики Саха, а также анализ распространенности ассоциированных с ФКУ аллелей и их сочетаний.

Материалы и методы. Для молекулярно-генетического исследования использован 41 образец ДНК больных ФКУ, состоящих на учете в медико-генетическом отделе Зонального перинатального центра г. Новокузнецка, и 5 образцов ДНК больных ФКУ, состоящих на учете в медико-генетической консультации Национального центра медицины г. Якутска. Диагноз заболевания ФКУ устанавливался врачом-генетиком на основании результатов клинического и биохимического обследования. Для подтверждения наследования обнаруженной мутации проводили ее идентификацию у доступных членов семьи.

Геномную ДНК выделяли из ядродержащих клеток периферической крови пациентов обработкой протеиназой К с последующим высаливанием пептидов [13]. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) проводили амплификацию 13 фрагментов ДНК, содержащих экзоны и участки интронов гена *ФАГ*. Первоначально определяли нуклеотидные последовательности 7-го и 12-го экзонов. В случае отсутствия ассоциированных с ФКУ мутаций осуществляли определение нуклеотидных последовательностей всех остальных 11 экзонов. Последовательности олигонуклеотидных праймеров, используемых в настоящей работе, выбраны из прилежащих к экзонам участков интронов гена *ФАГ* [13]. ПЦР проводили в 40 мкл буфера, содержа-

щего 65 мМ Трис-НСl (рН 8,9), 16 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1,5 мМ MgCl_2 , 0,01 % Tween-20, 10 мМ меркаптоэтанола, 0,1 мкМ dNTP, 0,2 мкМ олигонуклеотидных праймеров, 50–100 нг геномной ДНК, 2 ед. Taq-полимеразы (Ин-т хим. биологии и фундамент. медицины, РФ) в следующих условиях: начальная денатурация 3 мин при 95 °С, далее в течение 32 циклов: денатурация – 1 мин при 94 °С, отжиг праймеров – 1 мин при 58 °С; элонгация – 2 мин при 72 °С. Продукты ПЦР анализировали после проведения электрофореза в 2%-ном агарозном геле с последующей визуализацией ДНК в ультрафиолетовом свете после окрашивания бромистым этидием и подвергали очистке методом гель-фильтрации на колонках с сорбентом Sephadex G-50 medium («Amersham Pharmacia Biotech», Австрия). Секвенирование осуществляли с обоих праймеров (по двум цепям ДНК) при помощи метода Сэнгера, используя те же праймеры, что и для ПЦР. Реакцию Сэнгера проводили в амплификаторе T3 Thermocycler («Biotetra», Германия) с использованием набора для секвенирования BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit («Applied Biosystems», США). Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала 300–500 фмоль продукта ПЦР, 1 пмоль праймера и 1 мкл реактива BigDye. Температурный профиль реакции был следующим: 2 цикла – 96 °С – 8 с, 64 °С – 4 мин, 4 цикла – 96 °С – 8 с, 60 °С – 4 мин, 16 циклов – 96 °С – 10 с, 50 °С – 5 с, 60 °С – 4 мин. Перед началом первого цикла матрицу денатурировали при 96 °С в течение 10 с, после окончания реакции продукты инкубировали при 72 °С в течение 3 мин. Очистку от избытка флуоресцентно меченных дидезоксинуклеотидтрифосфатов проводили с использованием набора для гель-фильтрации Centri-Sep («Princeton Separations», США) согласно протоколу фирмы-изготовителя. Анализ продуктов реакции осуществляли на автоматическом анализаторе ДНК модели ABI3130xl («Applied Biosystems», США).

Результаты исследований и их обсуждение. В ходе исследования образцов ДНК больных ФКУ получены результаты молекулярно-генетического анализа локуса *ФАГ*, охватывающие всех больных, которые состоят на учете в

медико-генетическом отделе Зонального перинатального центра г. Новокузнецка и медико-генетической консультации Национального центра медицины г. Якутска с 2002 года. Эти результаты дают полную картину спектра мутаций гена *ФАГ* в регионах, дополняя предварительные результаты, опубликованные ранее [7]. В табл. 1 представлены частоты выявленных комбинаций аллелей, в табл. 2 – частоты отдельных ассоциированных с ФКУ мутаций. Выборка больных ФКУ из Якутии обладала незначительным размером (5 пробандов), и рассматривать ее отдельно не представлялось возможным. Интересен тот факт, что это заболевание не зарегистрировано у представителей якутского этноса, все больные имеют славянское происхождение.

В результате молекулярно-генетического анализа, проведенного на образцах ДНК 46 неродственных больных фенилкетонурией,

мутации, затрагивающие оба аллеля гена *ФАГ*, выявлены у 36 пациентов. У 4 больных выявлена мутация только в одном из двух аллелей гена *ФАГ* и у 6 пациентов не обнаружено ни одной мутации, несмотря на то, что было проведено секвенирование всей кодирующей последовательности гена *ФАГ*, а также прилегающей промоторной области и областей интрон-экзонных соединений. В этих случаях заболевание, возможно, обусловлено мутациями в других генах, например кодирующих ферменты, отвечающие за биосинтез и регенерацию кофактора фенилаланингидроксилазы ВН4 (*QDPR*, *PTS*, *PCD*, *GTPCH*), т.е. заболевание не является фенилкетонурией I типа.

Наиболее распространенная мутация R408W присутствовала в гомо- или гетерозиготном состоянии у 31 пациента (53,75 %). Генотип R408W/R408W также оказался преоб-

Таблица 1

Распределение аллелей, обуславливающих фенилкетонурию, у больных

Количество больных	Аллель 1		Аллель 2	
	Белок	кДНК	Белок	кДНК
12	R408W	c.1222C>T	R408W	c.1222C>T
3	R408W	c.1222C>T	Y414C	c.1241A>G
3	R408W	c.1222C>T	×	–
2	R408W	c.1222C>T	IVS10–11G>A	c.1066–11G>A
2	R408W	c.1222C>T	P281L	c.842C>T
1	R408W	c.1222C>T	Y386C	c.1157A>G
1	R408W	c.1222C>T	Y168H	c.502T>C
1	R408W	c.1222C>T	R158Q	c.472C>T
1	R408W	c.1222C>T	R261Q	c.782G>A
1	R408W	c.1222C>T	R243X	c.727C>T
1	R408W	c.1222C>T	R68S	c.204A>T
1	R408W	c.1222C>T	E221_D222>Efs	c.663_664delAG
1	R408W	c.1222C>T	E390G	c.1169A>G
1	R408W	c.1222C>T	IVS2+5G>A	c.168+5G>A
1	R155H	c.464G>A	R155H	c.464G>A
1	R243Q	c.728G>A	R243Q	c.728G>A
1	R261Q	c.782G>A	W187R	c.559T>C
1	A342T	c.1024G>A	P281L	c.842C>T
1	IVS10–11G>A	c.1066–11G>A	IVS11+1G>C	c.1199+1G>C
1	Y386C	c.1157A>G	×	–
1	Y414C	c.1241A>G	R252W	c.754C>T
1	IVS12+1G>A	c.1315+1G>A	R261Q	c.782G>A
1	R158Q	c.472C>T	L48S	c.143T>C

Примечание. × – мутация не обнаружена.

ладающим – его доля составляла 30,0 % от общего числа исследованных больных, проживающих на территории Кемеровской области. Миссенс-мутация 12-го экзона R408W является также преобладающей в европейских популяциях [14,15], причем она возникла несколько раз независимо в разных популяциях. В обследуемой группе пациентов упомянутая мутация имеет предположительно балто-славянское происхождение.

Среди выявленных нами мутаций 12-го экзона следует отметить Y414C. Эта миссенс-мутация обнаружена у четырех больных из Кемеровской области, в трех случаях в сочетании с мутацией R408W и у одного больного в компаунде с мутацией R252W. Остаточная активность фермента при таком генетическом дефекте составляет около 50 % [16]. Мутации Y414C и R252W распространены в большинстве европейских популяций. Мутация Y414C, преобладающая в Швеции, Дании и Норвегии, встречается с частотой

18, 10,1 и 11 % соответственно [17, 18, 19], а мутация R252W получила широкое распространение в Италии [20].

Миссенс-мутация A342T, возникающая в 11-м экзоне гена ФАГ в результате замены G на A в основании 1024 и обуславливающая замещение глицина на треонин, была отмечена в Дании [19]. В нашем исследовании эта мутация обнаружена в гетерозиготном состоянии в сочетании с миссенс-мутацией P281L у больного из Кемеровской области.

Мутация P281L возникает в результате замены пролина на лейцин в белке гена ФАГ, что приводит к нулевой активности фермента, и встречается с наибольшей частотой в Исландии, Хорватии и Греции (32, 11 и 10 % соответственно) [20].

Мутация сайта сплайсинга IVS11+1G > C расположена на границе 11-го экзона и 11-го интрона гена фенилаланингидроксилазы. Впервые упоминается в 1995 г. при описании больного из Индии [21]. В об-

Таблица 2

Частота встречаемости мутаций в гене ФАГ

Мутации	Локализация в гене	Частота мутаций		
		количество	%	
R408W	c.1222C>T	Экзон 12	43	53,75
X	—	—	4	5,0
Y414C	c.1241A>G	Экзон 12	4	5,0
R261Q	c.782G>A	Экзон 7	3	3,75
IVS10-11G>A	c.1066-11G>A	Интрон 10	3	3,75
P281L	c.842C>T	Экзон 7	3	3,75
R155H	c.464G>A	Экзон 5	2	2,5
R158Q	c.472C>T	Экзон 5	2	2,5
R243Q	c.728G>A	Экзон 7	2	2,5
Y386C	c.1157A>G	Экзон 11	2	2,5
W187R	c.559T>C	Экзон 6	1	1,25
E221_D222>Efs	c.663_664delAG	Экзон 6	1	1,25
R243X	c.727C>T	Экзон 7	1	1,25
R252W	c.754C>T	Экзон 7	1	1,25
Y168H	c.502T>C	Экзон 5	1	1,25
A342T	c.1024G>C	Экзон 10	1	1,25
E390G	c.1169A>G	Экзон 11	1	1,25
IVS11+1G>C	c.168+5G>T	Интрон 11	1	1,25
IVS2+5G>A	c.168+5G>T	Интрон 2	1	1,25
R68S	c.204A>T	Экзон 3	1	1,25
IVS12+1G>A	c.1315+1G>A	Интрон 12	1	1,25
L48S	c.143T>C	Экзон 2	1	1,25

следуемой группе пациентов упомянутая мутация обнаружена у больного в гетерозиготном состоянии в сочетании с мутацией сайта сплайсинга IVS10–11G>A, расположенной на границе 10-го интрона и 11-го экзона гена фенилаланингидроксилазы. Результатом мутации является инсерция девяти нуклеотидов, входящих в состав 10-го интрона. Мутация IVS10–11G>A распространена в южноевропейских странах – Италии, Болгарии и Турции [15, 22]. В Испании, Португалии, Германии и Польше мутация IVS10–11G>A является мажорной [23–25]. Мутация сайта сплайсинга IVS10–11G>A выявлена в гетерозиготном состоянии у трех обследуемых: двое – жители Кемеровской области, третий проживает в Якутии.

Мутация сайта сплайсинга IVS2+5G>A, возникающая в результате замены G на A, что приводит к синтезу укороченной молекулы белка, расположена во 2-м интроне гена ФАГ и выявлена у больного из Республики Саха в гетерозиготном состоянии, в компаунде с мутацией R408W. Мутация IVS2+5G>A зарегистрирована на территории Германии [26].

Мутация Y386C, вызванная заменой A на G, обуславливает замещение тирозина на цистеин в 11-м экзоне. В литературе мутация описана в 1995 г. в северной Ирландии [27]. Миссенс-мутация выявлена в гетерозиготном состоянии у больного из Кемеровской области.

При проведении молекулярно-генетического исследования образца ДНК больного, жителя Кемеровской области, выявлена миссенс-мутация R155H в гомозиготном состоянии. Генетический дефект обусловлен заменой G на A в 5-м экзоне, что приводит к замене аргинина на гистидин. Ранее эта мутация была описана единожды в гетерозиготном состоянии в компаунде с мутацией D143G в 2009 г. [28]. В литературных источниках описание этой мутации в гомозиготе отсутствует. Больной с редкой мутацией в гомозиготном состоянии является уникальным и незаменимым объектом для изучения связи генотипа с фенотипом.

Помимо описанных случаев, нами выявлена редко встречающаяся мутация в 6-м экзоне гена ФАГ – W187R. Миссенс-мутация W187R идентифицирована у больного из

Якутска в состоянии компаунда с мутацией R261Q, впервые эта мутация была описана на территории бывшего Советского Союза в славянской популяции в 1995 г. [29]. Мутация R261Q распространена в большинстве европейских популяций [15] и является мажорной в Швейцарии (32 %) [20]. В обследованной выборке больных ФКУ мутация R261Q является третьей по распространенности – 3,75 %.

В 12-м интроне была обнаружена мутация IVS12+1G>A, нарушающая донорный сайт сплайсинга. Мутация приводит к делеции целого экзона 12 во время сплайсинга мРНК, что значительно понижает активность фермента из-за конформационной нестабильности белка [30]. Мутация IVS12+1G>A является одной из самых распространенных в Дании (35 %) [18] и юго-западной Англии (27 %) [20].

Относительно редкая мутация – E390G. Остаточная активность фермента при мутации составляет около 70 %. Это одна из первых мутаций, при наличии которой было предложено использовать тетрагидробиоптерин для лечения ФКУ [31]. По литературным данным она, вероятно, затрагивает формирование сайта связывания кофактора (тетрагидробиоптерина – ВН4), снижая к нему сродство фермента. В данном случае она обнаружена в паре с R408W, поэтому эффект предсказать трудно. Миссенс-мутация E390G приводит к замене глутаминовой кислоты на глицин в положении 390 белка ФАГ. В Хорватии зарегистрирована наибольшая распространенность указанной мутации (9 %) [32]. В обследуемой группе пациентов мутация обнаружена в гетерозиготном состоянии в сочетании с мутацией R408W у больного из Якутии.

Делеция E221_D222>Efs 6-го экзона встретилась один раз в гетерозиготном состоянии у пациента из Кемеровской области. Делеция двух пар оснований (AG), затрагивающая кодоны 221 и 222, приводит к сдвигу рамки считывания белка. Эта мутация описана в единичных случаях в Дании и Германии [18, 33].

Нонсенс-мутация R243X выявлена у одного пациента в компаунде с R408W. Остаточная активность ФАГ составляет менее 1 %. Наибольшая частота встречаемости наблюдается в Ирландии (6 %) [34], в остальных европейских странах не превышает 3 % [18].

Мутация R243Q обнаружена в исследуемой выборке в гомозиготном состоянии у жителя г. Кемерово. Мутация R243Q предположительно имеет китайское происхождение. Частота встречаемости в Китае составляет 22,2 % [35], в Корею – 10,6 % [36], Японии – 7,3 % [37]. Остаточная активность фермента не превышает 10 % [37]. Наличие мутации R243Q у жителя Кемеровской области указывает на тот факт, что в формировании населения этого региона принимали участие представители азиатских популяций.

Мутация R158Q распространена во всех европейских популяциях. Она вызвана заменой G на A в 5-м экзоне, приводящей к замещению аргинина на глутамин. Остаточная активность фермента составляет 28,8 % [38]. Указанная мутация в гетерозиготном состоянии обнаружена нами у двух больных ФКУ (2,5 %). Следует отметить, что в Республике Саха среди больных ФКУ мутация R158Q нами не обнаружена.

Современная ДНК-диагностика, основанная на косвенных методах идентификации наиболее часто встречающихся мутаций гена ФАГ, при отрицательном результате, к сожалению, не позволяет исключить диагноз ФКУ, так как другие, относительно более редкие, но значимые патогенетические мутации при таком подходе не выявляются. В результате исследования больных сибирского региона обнаружены не только такие известные мутации, как R158Q, R252W, R261Q, P281L, IVS10–11G>A, R408W, IVS12+1G>A, но и редко встречающиеся – IVS2+5G>A, R155H, Y168H, W187R, E221_D222>Efs, A342T, Y386C, IVS11+1G>C. Используемый нами метод прямого секвенирования позволяет выявить любые, в том числе ранее не известные мутации гена ФАГ, а также достоверно исключить носительство таких мутаций, что чрезвычайно важно для планирования семьи, пренатальной диагностики и рождения в семье здоровых детей. Такие исследования имеют очевидную практическую пользу: они позволяют ускорить процесс идентификации преваляющих в регионе мутаций, а также выбрать оптимальную схему терапии, универсальную в рамках изученной популяции. В целом спектр мутаций гена ФАГ, выявленных

нами, демонстрирует высокий уровень генетической гетерогенности фенилкетонурии на территории сибирского региона.

*O.A. Baturina, A.A. Bondar,
A.E. Tupikin, S.G. Zhabin, I.V. Morozov*

MUTATION ANALYSIS OF THE PHENYLALANINE HYDROXYLASE GENE OF PHENYLKETONURIA PATIENTS OF KEMEROVSKAYA OBLAST AND SAHA REPUBLIC

Phenylketonuria (PKU) associated mutations in phenylalanine hydroxylase (PAH) gene were identified by direct DNA sequencing in 46 PKU patients and members of their families from Kemerovskaya Region and Saha Republic. Mutations found included both wide spread known mutations (R158Q, R252W, R261Q, P281L, IVS10–11G>A, R408W, IVS12+1G>A) and several rare mutations (IVS2+5G>A, R155H, Y168H, W187R, E221_D222>Efs, A342T, Y386C, IVS11+1G>C). We observed the increase in diversity of PKU-associated alleles in the populations studied, probably due to their complex mixed ethnic structure.

*O.A. Батурина, О.А. Бондар,
О.Е. Тупікін, С.Г. Жабін, І.В. Морозов*

СПЕКТР ГЕНА ФЕНІЛАЛАНІНГІДРОКСИЛАЗИ У ХВОРИХ НА ФЕНІЛКЕТОНУРІЮ, ЩО МЕШКАЮТЬ В КЕМЕРОВСЬКІЙ ОБЛАСТІ ТА РЕСПУБЛІЦІ САХА

Наведено результати молекулярно-генетичного дослідження гена фенілаланінгідроксилази (ФАГ) серед 46 хворих на фенілкетонурію (ФКУ) та членів їхніх сімей, що проживають в Кемеровській області та Республіці Саха (Якутія). Для виявлення мутацій гена ФАГ були застосовані молекулярно-генетичні методи – полімеразна ланцюгова реакція (ПЛР) та пряме визначення нуклеотидних послідовностей. У результаті проведеного дослідження виявлено як відомі мутації (R158Q, R252W, R261Q, P281L, IVS10–11G>A, R408W, IVS12+1G>A), так і ті, що зустрічаються рідко (IVS2+5G>A, R155H, Y168H, W187R, E221_D222>Efs, A342T, Y386C, IVS11+1G>C). Показано вищу різноманітність алелів, що обумовлюють ФКУ, в популяціях зі змішаним етнічним складом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Матулович С.А. Массовый скрининг новорожденных на наследственные болезни обмена как часть системы медико-генетической помощи населению : Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 2009.

2. Лебедев Б.В., Блюмина М.В. Фенилкетонурия у детей. — М.: Медицина, 1972.
3. Knivsberg A.M., Reichelt K.L., Huiien T., Nudland M. A randomized, controlled study of dietary intervention in autistic syndromes // *Nutr. Neurosci.* — 2002. — 5, № 4. — P. 251–261.
4. Борисенко Т.Н., Бурова Ю.С., Хисамова Х.А. Дети с фенилкетонурией: особенности психоречевого развития и перспективы комплексной реабилитации // *Логопед.* — 2007. — № 1.
5. O'Neill C.A., Eisensmith R.C., Croke D.T. et al. Molecular analysis of PKU in Ireland // *Acta Paediatr.* — 1994. — 407, Suppl. — P. 43–46.
6. Aoki K., Wada Y. Outcome of the patients detected by newborn screening in Japan // *Acta Paediatr. Japan.* — 1988. — 30. — P. 429–434.
7. Осокина Ю.Ю., Корень О.Л., Котова Л.Ю. и др. Мутации гена фенилаланингидроксилазы у больных фенилкетонурией, проживающих в Кемеровской области // *Медицина в Кузбассе: Спецвыпуск.* — 2007. — № 4. — С. 13–15.
8. Сухомясова А.Л., Ноговицына А.Н., Максимова Н.Р. Медико-генетическая помощь населению республики Саха (Якутия) // *Якут. мед. журн.* — 2009. — 2. — С. 58–60.
9. DiLella A.G., Kwok S.C., Ledley F.D. et al. Molecular structure and polymorphic map of the human phenylalanine hydroxylase gene // *Biochemistry.* — 1986. — 25. — P. 743–749.
10. web site <http://www.pahdb.mcgill.ca>
11. Балабановская Е.В., Балабановский О.П. Русский генофонд. — М.: Луч, 2007. — 416 с.
12. Алексеев В.П. Предки тюркских народов // *Наука и жизнь.* — 1971. — № 5. — С. 33–37.
13. Смагулова Ф.О., Бреннер Е.В., Котова Л.Ю. и др. Идентификация мутаций гена фенилгидроксилазы с использованием автоматического секвенатора ДНК // *Генетика.* — 2004. — 40, № 2 — С. 272–276.
14. Скрябин Б.В., Хальчицкий С.Е., Кузмин А.И., Шварц Е.И. Определение мутационных повреждений в гене ФАГ среди больных в Латвии // 2-й Всесоюз. съезд мед. генетиков: Тез. докл. — Алма-Ата, 1990. — С. 401.
15. Eisensmith R.C., Okano Y., Dasovich M. et al. Multiple origins for phenylketonuria in Europe // *Amer. J. Hum. Genet.* — 1992. — 51. — P. 1355–1365.
16. Okano Y., Eisenmith R.C., Guttler F. et al. Molecular basis of phenotypic heterogeneity in phenylketonuria // *N. Engl. J. Med.* — 1991. — 324. — P. 1232–1238.
17. Svensson E., Von Döbeln U., Eisenmith R.C. et al. Relation between genotype and phenotype in Swedish phenylketonuria and hyperphenylalaninemia patients // *Eur. J. Ped.* — 1993. — 152. — P. 132–139.
18. Guldberg P., Henriksen K.F., Guttler F. Molecular analysis of phenylketonuria in Denmark: 99 % of the mutations detected by denaturing gradient gel electrophoresis // *Genomics.* — 1993. — 17. — P. 141–146.
19. Eiken H.G., Knappskog P.M., Boman H. et al. Relative frequency, heterogeneity, and geographic clustering of PKU mutations in Norway // *Eur. J. Hum. Genet.* — 1996. — 4. — P. 205–213.
20. Zschocke J. Phenylketonuria mutations in Europe // *Hum. Mutat.* — 2003. — 21, № 4. — P. 345–356.
21. Guldberg P. — 1995. Nov 30/95 To Consortium.
22. Guldberg P., Lou H.C., Henriksen K.F. et al. A novel missense mutation in the phenylalanine hydroxylase gene of homozygous Pakistani patient with non-PKU hyperphenylalaninemia // *Hum. Mol. Genet.* — 1993. — 2. — P. 1061–1062.
23. Zare-Karizi Sh., Hosseini-Mazinani S.M., Khazaei-Koohpar Z. et al. Mutation spectrum of phenylketonuria in Iranian population // *Mol. Genet. Metab.* — 2011. — 102, № 1. — P. 29–32.
24. Desviat L.R., Perez B., Ugarte M. Phenylketonuria in spanish gypsies: prevalence of the IVS10nt546 mutation on haplotype 34 // *Hum. Mutat.* — 1997. — 9. — P. 66–68.
25. Rivera I., Leandro P., Lichterkonecki V. et al. Population genetics of hyperphenylalaninaemia resulting from phenylalanine hydroxylase deficiency in Portugal // *J. Med. Genet.* — 1998. — 35. — P. 301–304.
26. Guldberg P., Mallmann R., Henriksen K.F., Guttler F. Phenylalanine hydroxylase deficiency in a population in Germany: mutational profile and nine novel mutations // *Hum. Mutat.* — 1996. — 8. — P. 276–279.
27. Zschocke J., Graham C.A., Carson D.J., Nevin N.C. Phenylketonuria mutation analysis in Northern Ireland: A rapid stepwise approach // *Amer. J. Hum. Genet.* — 1995. — 57. — P. 1311–1317.
28. Dobrowolski S.F., Pey A.L., Koch R. et al. Biochemical characterization of mutant phenylalanine hydroxylase enzymes and correlation with clinical presentation in hyperphenylalaninaemic patients // *J. Inher. Metab. Dis.* — 2009. — 32. — P. 10–21.
29. Kuzmin A., Goltsov A., Eisenmith R.C. et al. Molecular basis of phenylketonuria in seven populations from the Former Soviet Union // *Amer. J. Hum. Genet.* — 1995. — 57 (Suppl.) — A166-(945).
30. Marvit J., Dilella A.G., Drayton K. et al. At transition at a splice donor site causes skipping of the

- preceding exon in phenylketonuria // Nucl. Acids Res. — 1987. — **15**. — P. 5613–5628.
31. Trefz F., Blau N., Aulehla-Scholz C. et al. Treatment of mild phenylketonuria (PKU) by tetrahydrobiopterin (BH4) // J. Inherit. Metab. Dis. — 2000. — **23**, Suppl. 1. — P. 47.
 32. Zschocke J., Preusse A., Sarnavka V. et al. The molecular basis of phenylalanine hydroxylase deficiency in Croatia // Hum. Mutat. — 2003. — **21**, № 4. — P. 399.
 33. Zschocke J., Hoffmann G.F. Phenylketonuria mutations in Germany // Hum. Genet. — 1999. — **104**, № 5. — P. 390–398.
 34. O'Donnell K., O'Neill C., Tighe O. et al. The mutation spectrum of hyperphenylalaninaemia in the Republic of Ireland: the population history of the Irish revisited // Eur. J. Hum. Genet. — 2002. — **10**. — P. 530–538.
 35. Song F., Qu Y.J., Zhang T. et al. Phenylketonuria mutations in Northern China // Mol. Genet. Metab. — 2005. — **86**, Suppl. 1. — P. 107–118.
 36. Lee Y.W., Lee D.H., Kim N.D. et al. Mutation analysis of PAH gene and characterization of a recurrent deletion mutation in Korean patients with phenylketonuria // Exp. Mol. Med. — 2008. — **40**, № 5. — P. 533–540.
 37. Okano Y., Asada M., Kang Y. et al. Molecular characterization of phenylketonuria in Japanese patients // Hum. Genet. — 1998. — **103**, № 5. — P. 613–618.
 38. Pey A.L., Desviat L.R., Gámez A. et al. Phenylketonuria: genotype-phenotype correlations based on expression analysis of structural and functional mutations in PAH // Hum. Mutat. — 2003. — **21**, № 4. — P. 370–378.

Поступила 14.03.11