

АНАЛІЗ МУТАЦІЙ ГЕНА ФАГ В УКРАЇНСЬКІЙ ПОПУЛЯЦІЇ, ДАНИ З ЗАХІДНОГО РЕГІОНУ УКРАЇНИ

Г.В. МАКУХ, Л.Б. ЧОРНА, М.Я. ТИРКУС, Г.Р. АКОПЯН,
В.І. ШУВАРСЬКА, А.Й. МАЛАХОВА, Є.О. ПОЛЯКОВА

ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Україна, 79008, Львів, вул. М. Лисенка, 31 а,
E-mail: makukh.h@ihp.lviv.ua *

Фенілкетонурія (ФКУ) — одне з найбільш частих аутосомно-рецесивних захворювань, обумовлених спадковим дефектом фенілаланінгідроксилази (ФАГ), що супроводжується інтелектуальною недостатністю. Мутації гена ФАГ ведуть до повної або часткової втрати активності фермента ФАГ, що призводить до підвищення вмісту ФА в сироватці крові та фенотипових проявів ФКУ. У роботі аналізували спектр та частоту мутацій гена ФАГ серед пацієнтів з ФКУ західного регіону України. Проведено молекулярно-генетичний аналіз у 158 неспоріднених пацієнтів з ФКУ, з них 101 пацієнт з гіперфенілаланінемією (ГФА) виявлений під час неонатального скринінгу. ДНК пацієнтів з ФКУ виділена з лейкоцитів периферичної крові методом висоловвання. Досліджували 316 алелів, використовуючи метод полімеразної ланцюгової реакції з наступним аналізом поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (RFLP-PCR, ACRS-PCR). За результатами дослідження мутацію R408W виявлено у 58,54 % мутантних алелів з високим ступенем гомозиготності (35,44 %). Частота решти виявлених мутацій була наступною: IVS10nt-11G>A (4,35 %), R158Q (4,17 %), Y414C (2,78 %) та R252W (1,25 %). Найбільш поширеною мутацією у пацієнтів з ФКУ із західного регіону України є R408W. Спектр та частота мутацій в досліджуваній вибірці співвідносні з частотою в загальній популяції України і, в цілому, відповідають спектру мутацій у Східній Європі.

Ключові слова: ген фенілаланінгідроксилази (ФАГ), гіперфенілаланінемія, мутація, фенілкетонурія.

Вступ. Фенілкетонурія (ФКУ, PKU; 261600) — поширене спадкове захворювання групи ферментопатій, пов'язане з порушенням метаболізму амінокислот, головним чином, фенілаланіну (ФА). При відсутності своєчасного і адекватного лікування ФКУ супроводжується накопиченням фенілаланіну (гіперфенілаланінемія, ГФА) і його токсичних метаболітів, що призводить до важкого ураження ЦНС та інте-

лектуальної недостатності (Vockley et al, 2014). ФКУ об'єднує кілька генетично гетерогенних форм порушення обміну фенілаланіну, подібних за клінічними ознаками: класична ФКУ (ФКУ I типу), обумовлена дефіцитом фермента ФАГ і форми ГФА, пов'язані з дефектом тетрагідроптеринового кофактора ВН4 (ФКУ II і III типів). Більшість форм ФКУ (98 %) спричинені мутаціями у гені ФАГ, решта (2 %) зумовлені порушенням синтезу та обміну кофактора ВН4 (Kaufman et al, 1978; Scriver et al, 2001).

Мутації гена ФАГ ведуть до повної або часткової втрати активності фермента фенілаланінгідроксилази (ФАГ, PAH), що призводить до підвищення вмісту ФА в сироватці крові та фенотипових проявів ФКУ (Scriver, 2007). ФАГ (EC 1.14.16.1) — це залізо та тетрагідроптерин (ВН4) — залежний фермент, що каталізує гідроксилювання L-фенілаланіну у L-тирозин.

Ген класичної ФКУ (I типу) локалізований на довгому плечі хромосоми 12 в області q22-q24.1. Кодуюча білок послідовність гена ФАГ представлена 13 екзонами розміром приблизно 171 кб, які транскрибуються у білок 52 кДа з послідовністю 452 амінокислоти (Scriver, 2007). З часу, коли ген ФАГ людини був клонований (Woo et al, 1983), понад 1200 різних мутацій ідентифіковано і внесено в базу даних локус-специфічних варіантів (LSD) PAHvdb (<http://www.biorku.org/pah/>).

ФКУ входить в число поширених спадкових захворювань, рекомендованих ВООЗ для ранньої діагностики у новонароджених. Важливість раннього виявлення захворювання обумовлена тим, що ефективність лікування напряму залежить від своєчасного початку дієто-терапії відразу після народження. Лікування ФКУ зводиться головним чином до дієтотерапії (Singh et al, 2014). Фармацевтичні ме-

© Г.В. МАКУХ, Л.Б. ЧОРНА, М.Я. ТИРКУС,
Г.Р. АКОПЯН, В.І. ШУВАРСЬКА, А.Й. МАЛАХОВА,
Є.О. ПОЛЯКОВА, 2021

тоди лікування включають використання дигідрохлориду сапроптерину (синтетична форма кофактора ВН4). Сапроптерин ефективний і для хворих з мутаціями в гені ФАГ при наявності залишкової активності ферменту ФАГ (Vockley et al, 2014; Longo et al, 2015).

З найвищою частотою ФКУ зустрічається в Туреччині (1 : 2600), Ірландії (1 : 4500), а з найнижчою в Японії (1 : 120000) та Фінляндії (1 : 100000); середня поширеність на європейському континенті становить близько 1 випадку на 10000 новонароджених (Zschocke, 2003). ФКУ є надзвичайно гетерогенною хворобою як на генотиповому, так і на фенотиповому рівні (Guldberg et al, 1998; Blau et al, 2014), тому важливим є дослідження розповсюдженості мутацій гена ФАГ у різних популяційних групах. Метою роботи було проаналізувати спектр та частоту мутацій гена ФАГ серед пацієнтів з ФКУ західного регіону України.

Матеріали і методи. Молекулярно-генетичне дослідження мутацій гена ФАГ проведено у 158 неспоріднених осіб з клінічними ознаками ФКУ та їхніх родичів зі 136 сімей. Назагал, обстежено 490 осіб 158 пробандів (86 чоловічої статі, 72 жіночої статі), 132 матері, 57 батьків, 31 сибс, 72 інших членів родин та 39 здорових осіб. Всі обстежувані індивіди є вихідцями західного регіону України та надали інформовану згоду для участі у дослідженні.

101 особу з ГФА у крові (ФА >120 мкмоль/л) було відібрано в ході програми неонатального скринінгу новонароджених. Решта осіб звернулись у Львівський міжобласний медико-генетичний центр для генетичного консультування та були скеровані в ДУ «Інститут спадкової патології НАМНУ» для проведення молекулярно-генетичного дослідження мутацій гена ФАГ.

В якості біологічного матеріалу використовували ДНК, виділену із лейкоцитів периферійної крові методом висолювання. Ампліфікацію послідовностей ДНК *in vitro* здійснювали методом ПЛР в автоматичному режимі на термоциклері «Терцик». Панель мутацій було сформовано з 8 поширених мутацій гена ФАГ, які найчастіше зустрічаються в європейській популяції (Van Spronsen et al, 2017). Скринінг мутацій R408W (*MnlI*), R252W (*AvaI*), R261Q (*HinfI*) гена ФАГ проводили методом ПЛР з наступним аналізом поліморфізму довжини ре-

стрикційних фрагментів (PCR RFLP) (Zschocke J, 1995). Для аналізу мутацій R158Q (*MspI*), I65T (*TagI*), Y414C (*RsaI*), IVS10nt-11G>A (*ApaI*) та IVS12ntl (*RsaI*) використовували метод ПЛР з введенням сайту для ендонуклеази рестрикції за допомогою олігонуклеотидних праймерів (ACRS-PCR) (Okano et al, 1991; Eiken et al, 1991). В роботі використовували термостабільну Taq-полімеразу та ендонуклеази рестрикції: *MnlI*, *AvaI*, *HinfI*, *ApaI*, *MspI*, *TagI*, *RsaI* виробництва «Thermo Fisher Scientific» (США) та агарозу виробництва «Amresco» (США). Продукти після рестрикції аналізували шляхом проведення електрофорезу в 2,5%-ному агарозному гелі з додаванням бромистого етидію та сканували на ультрафіолетовому транслюмінаторі.

Результати. У роботі досліджували 158 зразків ДНК (316 алелів) осіб з ФКУ західного регіону України. Частота виявлених генотипів серед пацієнтів з ФКУ наведена в табл. 1.

За результатами проведених досліджень мутацію R408W [с.1222C>T] в гомозиготному стані виявлено у 56 осіб (35,44 %), в гетерозиготному стані (R408W/X) – у 73 осіб (46,20 %). Назагал, мутацію R408W в гомозиготному та гетерозиготному стані ідентифіковано у 129 (81,64 %) осіб з ФКУ, вихідців із західного регіону України. Чотири пацієнти були компаунд гетерозиготами за мутаціями R408W та R158Q (5,55 %), та ще у чотирьох виявлено поєднання мутацій R408W та Y414C у гетерозиготному стані. У дослідженні зареєстровано по одному випадку генотипів R408W/IVS10nt-11G>A та R408W/R252W (табл. 1). В усіх випадках наявності двох різних мутантних алелів гена ФАГ у пацієнта, проводили дослідження виявлених мутацій у батьків пробанда та доведено розташування цих мутацій на різних хромосомах (транс-положення).

За результатами дослідження два мутантних алеля гена ФАГ виявлено у 66 осіб (42 %) та підтверджено діагноз фенілкетонурія. Мутацію в одному алелі виявлено у 66 осіб (42 %), а у 26 пацієнтів (16,45 %) досліджуваних мутацій гена ФАГ не виявлено. У 92 % батьків, обстежених дітей з ФКУ, підтверджено гетерозиготне носійство виявлених мутацій гена ФАГ.

З метою ідентифікації мутацій гена ФАГ генотипу ДНК трьох пацієнтів з клінічними про-

явами ФКУ та генотипами Х/Х, R408W/Y414C та R408W/X було скеровано на секвенування в NZOZ Genomed (Reference laboratory of Polish Human Genetic Scientific Society; Варшава, Польща). Згідно отриманих результатів, одна особа є компаунд гетерозиготою за мутаціями R241H та E280K гена ФАГ. У другому зразку ДНК генотип R408W/Y414C був підтверджений методом секвенування та у третьої особи (R408W/X) другої мутації гена ФАГ не ідентифіковано.

Частоту мутантних алелів гена ФАГ серед пацієнтів з ФКУ представлено у табл. 2.

Як свідчать дані, наведені в табл. 2, мутацію R408W було виявлено у 58,54 % всіх досліджуваних алелів гена ФАГ (185/316). У 13 пацієнтів виявлено одну із чотирьох мутацій, що зустрічалися у досліджуваній вибірці із частотою вище 1 %: IVS10nt-11G>A (4,35 %), R158Q (4,17 %), Y414C (2,78 %) і R252W (1,25 %). У жодного із пацієнтів не підтверджено наявності наступних мутацій гена ФАГ: R261Q, I65T та IVS12ntl.

Обговорення. Мутантні алелі гена ФАГ є основою етіології фенілкетонурії. Ступінь вираженості захворювання та ефективність різних терапевтичних методів корекції обумовлені характером мутацій гена ФАГ. Деякі мутації гена зумовлюють повну відсутність функції ФАГ, тоді як інші асоціюються із залишковою активністю ферменту *in vitro* в діапазоні 2–70 % (Okano et al, 1991). Мутації із залишковою ак-

тивністю білка 10 % або менше класифіковані як «важкі» з негативною реакцією на лікування сапроптерином. Мутації з активністю понад 10 % класифіковані як «легкі» з імовірною відповіддю на ВН4 терапію (Zurflüh et al, 2008). Вважається, що пацієнти з двома «важкими» мутаціями гена ФАГ не відповідають на терапію сапроптерином, тоді як пацієнти з принаймні однією легкою мутацією є потенційно чутливими до терапії. Дані щодо залишкової активності мутантного білка містяться в базі PAVdb (<http://www.biopku.org/pah/>).

Таблиця 1. Спектр та частота ФАГ генотипів серед пацієнтів з ФКУ західного регіону України

Генотип	Пацієнти з ФКУ	
	n	%
R408W/R408W	56 (158)	35,4
R408W/R158Q	4 (72)	5,5
R408W/Y414C	4 (72)	5,5
R408W/IVS10nt-11G>A	1 (23)	4,4
R408W/R252W	1 (40)	2,5
R408W/X	63 (158)	40,0
IVS10nt-11G>A/X	1 (23)	4,4
R158Q/X	2 (72)	2,8
X/X	26 (158)	16,4
R241H*/E280K*	1	–

Примітка. X-неідентифікована мутація; * мутація виявлена методом секвенування.

Таблиця 2. Частота мутантних алелів гена ФАГ серед пацієнтів з ФКУ західного регіону України

Локалізація екзон/інтрон	Назва мутації cDNA/білок	Частота алелів	
		n/аналізовані алелі	%
12exon	c.1222C>T/R408W	185/316	58,5
10 intron	c.1066-11G>A/IVS10nt-11 G>A	2/46	4,4
5 exon	c.473G>A/R158Q	6/144	4,2
12exon	c.1241A>G/Y414C	4/144	2,8
7 exon	c.754C>T/R252W	1/80	1,2
7 exon	c.722G>A/R241H*	1	–
7 exon	c. 838G>A/E280K*	1	–
Всього ідентифіковано		198	62,7
Неідентифіковано		118	37,3

Примітка. * Мутація виявлена методом секвенування.

У роботі аналізували спектр мутацій гена ФАГ у когорті 158 хворих на ФКУ вихідців із західного регіону України. Найбільш поширеною мутацією з частотою 58,54 % мутантних алелів була R408W [с.1222C>T]. Заміна R408W призводить до заміщення аргініну на триптофан (p.Arg408Trp) в регіоні, що з'єднує каталітичний та тетрамеризаційний домени фермента, і є нуль-мутацією, пов'язаною з <0,3 % нормальної активності та важким фенотипом ФКУ (DiLella et al, 1987; Kayaalp et al, 1997; Zschocke, 2003). У нашому дослідженні мутація R408W виявлена у 35,44 % пацієнтів у гомозиготному стані та у 46,20 % у компаунд гетерозиготному стані. Лише у 29 (18,35 %) пацієнтів не було виявлено мутації R408W. Отримані результати узгоджуються з попередніми повідомленнями з географічно близьких регіонів, а саме: Польщі (55 %), Литви (70 %), а найвищий показник виявлено у пацієнтів з Естонії (84 %) (Zschocke, 2003).

Другою за частотою мутацією в обстеженій вибірці була мутація сайту сплайсингу гена ФАГ – IVS10nt546, що склала 4,35 % від загальної кількості хромосом. Мутація IVS10nt-11G>A у гетерозиготному стані ідентифікована у двох пацієнтів з ФКУ: в першому випадку у поєднанні з R408W, а у другому із невстановленою мутацією на другому алелі. IVS10nt-11G>A відноситься до важких мутацій, і пацієнти гомозиготи за цією мутацією не відповідають на лікування ВН4. Мутація IVS10nt-11G>A гена ФАГ поширена в країнах Південної Європи: виявляється до 19 % пацієнтів у Південній Італії, 15 % в Іспанії та 13 % у Греції (Zschocke, 2003).

Мутація p.Arg158Gln [с.473G>A] була третьою за частотою у нашій вибірці пацієнтів. Її виявлено у 4 пацієнтів (4,17 %) у поєднанні з мажорною R408W та у двох випадках з невідомою мутацією (R158Q/X). Алельний варіант с.473G>A призводить до заміщення аргініну залишком глутаміну в каталітичному домені фермента, зумовлює зниження ферментативної активності та класифікується як важка мутація із залишковою активністю 10 % (Erlandsen et al, 1999). Мутація p.Arg158Gln поширена в усіх частинах Європи: південному, східному та центральному регіонах, але, зазвичай, визначає менше 10 % хромосом у хворих на ФКУ (Zschocke, 2003).

Наступна із досліджуваних нами мутацій p.Tyr414Cys [с.1241A>G] виявлена у 2,78 % пацієнтів з ФКУ. Дана міссенс мутація знаходиться в регуляторній області та призводить до 50 % залишкової активності фермента *in vitro* (Okano et al, 1991). Мутація p.Tyr414Cys асоціюється зі значною кількістю залишкової активності ферменту ФАГ і була описана у пацієнтів з легким перебігом ФКУ або легкою ГФА (Okano et al, 1991). З найвищою частотою зустрічається в Швеції (18 %), Норвегії та Данії (10 %) (Zschocke, 2003). В одного пацієнта з нашої дослідної групи виявлено міссенс варіант p.Arg252Trp [с.754C>T] у гетерозиготному стані з R408W, генотип R408W/R252W. Частота мутації p.Arg252Trp в нашій групі пацієнтів склала 1,25 %. Мутація R252W призводить до заміни аргініну на триптофан в каталітичному домені білка, що знижує ферментативну активність до 15 %. Цей варіант є патогенним і класифікується як важкий та

Таблиця 3. Порівняння частоти мутацій гена ФАГ у західному регіоні України, загальній популяції України та популяціях сусідніх країн

Аміно-кислотна заміна	Моно-нуклеотидна заміна	Локалізація	Тип мутації	Західний регіон України	Загальна популяція України *	Польща **	Чехія ***
R408W	с.1222C>T	Екзон 12	Міссенс	58,5	57,0	55,0	42,1
IVS10nt-11 G>A	с.1066-11G>A	Інtron 10	Сплайсинг	4,3	1,5	4,9	3,6
R158Q	с.473G>A	Екзон 5	Міссенс	4,2	3,7	6,6	4,1
Y414C	с.1241A>G	Екзон 12	Міссенс	2,8	1,6	1,1	1,6
R252W	с.754C>T	Екзон 7	Міссенс	1,2	2,9	1,1	2,6

Примітка. * Pampukha, 2017, ** Zekanowski, 1994, ***Réblová, 2013.

не відповідає на терапію ВН4 (Peu et al, 2007; Zurfluh et al, 2008). Повідомляється, що мутація R252W виявляється з високою частотою у Італії (Zschocke, 2003).

Аналіз спектру мутацій пацієнтів з ФКУ західного регіону України, показав, що більшість з виявлених нами мутацій асоціюється з важким фенотипом ФКУ (класична ФКУ): R408W, IVS10-11G>A, R158Q, R252W, E280K та тільки дві мутації з фенотипом легкої ФКУ: Y414C, R241H.

Таким чином, мутаційний аналіз гена ФАГ в популяції західного регіону України може бути корисним для подальшого розуміння кореляції між генотипом і фенотипом, а отже, і для призначення коректного лікування та покращення якості життя пацієнтів з ФКУ. Дієтичне лікування включаючи використання лікарських препаратів, що не містять ФА, і відмова від продуктів з високим вмістом білка успішно знижує рівень ФА в крові у більшості людей з ФКУ (Singh et al, 2014). За даними авторів, застосування малих доз синтетичного аналогу кофактора ВН4 – сапроптерину ефективно і для лікування хворих з мутаціями в гені ФАГ при наявності залишкової активності ферменту ФАГ (Blau et al, 2014). Виходячи з типу мутації, можна визначити чутливість до препарату та застосувати коректні методи лікування ФКУ (van Wegberg et al, 2017). Отримані в роботі результати можуть бути використані для формування підгрупи пацієнтів з ФКУ, які реагують на лікування сапроптерином. У дослідженій нами вибірці це пацієнти з алелями Y414C та R241H гена ФАГ. Невеликі дози препарату дозволяють істотно розширити дієту і покращити якість життя хворих з ФКУ.

Дослідження поширеності мутацій гена ФАГ в Україні опубліковано колективом співавторів у 2017 р. (Ramprukha, 2017). Порівняння частоти мутацій гена ФАГ між вибірками пацієнтів з ФКУ західного регіону України, загальної популяції України та сусідніх європейських популяцій представлено в табл. 3.

Дані, узагальнені в табл. 3, показали високу частоту мажорної мутації R408W у західній частині України (58,5 %) та співвідносні з результатами, отриманими авторами у загальній популяції України (57 %).

Частота мутації R408W значно варіює в різних країнах і етнічних групах, складаючи від 5 до 80 % всіх мутантних алелів (Hoang et al, 1999). Вважається, що мутація R408W є європейською, має два незалежних центри походження в Європі – «кельтське» і «слов'янське» – і знаходиться в складі гаплотипів 1 і 2 відповідно (Tighe et al, 2003). Поширення мутації R408W, зчепленої з гаплотипом 1, має західно-східний клін, досягаючи найбільших частот в Ірландії (42 %) (O'Neill et al, 1994) і країнах Північної Європи. У Центральній і Східній Європі в основному поширена мутація R408W, зчеплена з гаплотипом 2. Максимальна частота мутації R408W в складі гаплотипу 2 виявлена в Прибалтійських країнах з східно-західним клином. У даному дослідженні не проводилося аналізу гаплотипів R408W алелів гена ФАГ, це може стати предметом подальших досліджень. Падіння частоти мутації R408W спостерігається в популяціях, розташованих на схід і на південний схід (Tighe et al, 2003). Як видно з табл. 3 отримані нами дані підтверджують дану закономірність: в загальній популяції України – 57 %, західній частині України – 58,5 %, Польщі – 55 %, Чехії – 42,1 %. Такий розподіл вказує на географічні закономірності пов'язані з особливостями міграційних процесів, в ході яких формувалося сучасне населення.

Таким чином, генотипування кожного окремого випадку ФКУ є невід'ємною складовою верифікації діагнозу, прогнозу перебігу захворювання, застосування ефективних терапевтичних методів, а узагальнені результати висвітлюють генетичні особливості тої чи іншої популяції чи етнічної групи.

Висновки. У результаті проведеного дослідження встановлено, що з найвищою частотою у пацієнтів із ФКУ західного регіону України зустрічається мутація R408W, і становить 58,5 % мутантних алелів. Мутації IVS10nt-11G>A, R158Q, Y414C та R252W представляють 4,4; 4,2; 2,8 та 1,2 % від 198 мутантних алелів, відповідно. Встановлений спектр мутацій є подібним із описаним в загальній популяції України, і, загалом, відповідає поширеності мутацій гена ФАГ у хворих на ФКУ в східноєвропейських популяціях.

Припускаємо, що серед неідентифікованих алелів можуть виявлятися варіанти, які ви-

кликають легкий перебір хвороби. Подальшою перспективою цього дослідження є проведення повного секвенування гена ФАГ у пацієнтів з невідомими мутаціями.

Автори вдячні усім пацієнтам за участь у дослідженні. Автори висловлюють подяку NZOZ Genomed, лабораторії Інституту генетики людини в Польщі за співпрацю.

Дотримання етичних стандартів. Усі дотримані процедури відповідали етичним нормам комітету, відповідального за експерименти на людях (інституційний та національний), та Гельсінській декларації 1975 р., переглянутій у 2000 р. Інформаційна згода була отримана від дорослих осіб та батьків неповнолітніх про те, що вони включені в дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Наукові дослідження не фінансувалися з боку сторонніх комерційних організацій.

MUTATION ANALYSIS OF THE PAH GENE IN UKRAINIAN POPULATION, A REPORT FROM WEST UKRAINE REGION

*H.V. Makukh, L.B. Chorna, M.Ya. Tyrkus,
H.R. Akopyan, V.I. Shuvarska,
A.Y. Malakhova, Ye.O. Poliakova*

State Institution «Institute of Hereditary Pathology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine»
31-a, M. Lysenko Str., Lviv, Ukraine, 79008
E-mail: makukh.h@ihp.lviv.ua *

Phenylketonuria (PKU) is one of the most common autosomal recessive diseases caused by inherited defect in phenylalanine hydroxylase (PAH) that impairs postnatal cognitive development. Mutations in the *PAH* gene lead to complete or partial loss of PAH enzyme activity which cause to increasing phenylalanine serum level and phenotypic manifestations of PKU. In order to determine the *PAH* mutations spectrum in the population from the West region of Ukraine, 158 unrelated PKU patients were studied. 101 patients with hyperphenylalaninemia (HPA) were selected during the neonatal screening program. DNA from peripheral blood leukocytes was isolated and purified using a modified salting out method. A total of 316 alleles were studied by means of restriction fragment length polymorphism polymerase chain reaction (RFLP-PCR, ACRS-PCR) method. The most prevalent mutation was R408W,

occurring in 58.54 % of all alleles, with a very high degree of homozygosity (35.44 %). The frequencies of remaining identified mutations were: IVS10nt-11G>A (4.35 %), R158Q (4.17 %), Y414C (2.78 %) and R252W (1.25 %). The most common mutation in patients with PKU from the West region of Ukraine is R408W. The spectrum and frequency of mutations are correlated with the frequency in the general population of Ukraine and corresponded to the mutation spectrum in Eastern Europe.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Blau N, Shen N, Carducci C. (2014) Molecular genetics and diagnosis of phenylketonuria: State of the art. *Expert Rev Mol Diagn* 6:655–671. doi: 10.1586/14737159.2014.923760
- DiLella AG, Marvit J, Brayton K et al. (1987) An amino-acid substitution involved in phenylketonuria is in linkage disequilibrium with DNA haplotype 2. *Nature* 327:333–338. doi: 10.1038/327333a0
- Eiken HG, Odland E, Boman H et al. (1991) Application of natural and amplification created restriction sites for the diagnosis of PKU mutations. *Nucleic Acids Res* 19:1427–30. doi: 10.1093/nar/19.7.1427
- Erlandsen H, Stevens RC. (1999) The structural basis of phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 68:103–125. doi: 10.1006/mgme.1999.2922
- Guldberg P, Rey F, Zschocke J et al. (1998) A European multicenter study of phenylalanine hydroxylase deficiency: classification of 105 mutations and a general system for genotype-based prediction of metabolic phenotype. *Am J Hum Genet* 63:71–79. doi: 10.1086/301920
- Hoang L, Byck S, Prevost et al. (1999) PAH mutation analysis Consortium Database: a database for disease-producing and other allelic variation at the human PAH locus. *Nucl Acids Res* 24(1):127–131. doi: 10.1093/nar/24.1.127
- Kaufman S, Berlow S, Summer GK et al. (1978) Hyperphenylalaninemia due to a deficiency of bipterin. A variant form of phenylketonuria. *N Engl J Med* 299(13):673–9. doi: 10.1056/NEJM197809282991301
- Kayaalp E, Treacy E, Waters PJ et al. (1997) Human phenylalanine hydroxylase mutations and hyperphenylalaninemia phenotypes: a metanalysis of genotype-phenotype correlations. *Am J Hum Genet* 61:1309–1317. doi: 10.1086/301638
- Longo N, Arnold GL, Pridjian G et al. (2015) Long-term safety and efficacy of sapropterin: the PKUDOS registry experience. *Mol Genet Metab* 114:557–563. doi: 10.1016/j.ymgme.2015.02.003
- Okano Y, Eisensmith RC, Güttler F et al. (1991) Molecular basis of phenotypic heterogeneity in

- phenylketonuria. *N Eng J Med* 324:1232–1238. doi: 10.1056/NEJM199105023241802
- O'Neill CA, Eisensmith RC, Croke DT et al. (1994) Molecular analysis of PKU in Ireland. *Acta Paediatr Suppl* 407:43–44. doi: 10.1111/j.1651-2227.1994.tb13448.x
- Pampukha V, Nechyporenko M, Livshyts L. (2017) Analysis of EX5del4232ins268 and EX5del955 PAH gene mutations in Ukrainian patients with phenylketonuria. *Genes & Diseases* 4(2):108–110. doi: 10.1016/j.gendis.2016.11.004
- Pey AL, Stricher F, Serrano L et al. (2007) Predicted effects of missense mutations on native-state stability account for phenotypic outcome in phenylketonuria, a paradigm of misfolding diseases. *Am J Hum Genet* 81:1006–1024. doi: 10.1086/521879
- Réblová K1, Hrubá Z, Procházková D et al. (2013) Hyperphenylalaninemia in the Czech Republic: genotype-phenotype correlations and in silico analysis of novel missense mutations. *Clin Chim Acta* 419: 1–10. doi: 10.1016/j.cca.2013.01.006
- Scriver CR. (2007) The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. *Hum Mutat* 28(9):831–845. doi: 10.1002/humu.20526
- Scriver CR, Kaufman S. (2001) Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. *The metabolic and molecular bases of inherited disease* 8:1667–724. doi: 10.1036/Ommbid.97
- Singh RH, Rohr F, Frazier D et al. (2014) Recommendations for the nutrition management of phenylalanine hydroxylase deficiency. *Genet Med* 16(2):121–131. doi: 10.1038/gim.2013.179
- Tighe O, Dunican D, O'Neill C et al. (2003) Genetic diversity within the R408W phenylketonuria mutation lineages in Europe. *Hum Mutat* 21:387–393. doi: 10.1002/humu.10195
- Van Spronsen FJ, van Wegberg AMJ, Ahring K, et al. (2017) Key European guidelines for the diagnosis and management of patients with phenylketonuria. *Lancet Diabetes Endocrinol* 5(9):743–756. doi: 10.1016/S2213-8587(16)30320-5
- Van Wegberg AMJ, MacDonald A, Ahring K et al. (2017) The complete European guidelines on phenylketonuria: diagnosis and treatment. *Orphanet J Rare Dis.* 12(1):162. doi.org/10.1186/s13023-017-0685-2
- Vockley J, Anderson HC, Antshel KM et al. (2014) Phenylalanine hydroxylase deficiency: diagnosis and management guideline. *Genet Med* 16:188–200. doi: 10.1038/gim.2013.157
- Woo SL, Lidsky AS, Guttler F et al. (1983) Cloned human phenylalanine hydroxylase gene allows prenatal diagnosis and carrier detection of classical phenylketonuria. *Nature* 306:151–155. doi: 10.1038/306151a0
- Zekanowski C, Nowacka M, Zgulska M et al. (1994) Frequencies of the most common mutations responsible for phenylketonuria in Poland. *Mol Cell Probes* 8:323–324. doi: 10.1006/mcpr.1994.1044
- Zschocke J, Graham CA, Carson DJ and Nevin NC. (1995) Phenylketonuria mutation analysis in Northern Ireland: a rapid stepwise approach. *Am. J. Hum. Genet.* 57:1311–1317.
- Zschocke J. (2003) Phenylketonuria mutations in Europe. *Hum mutat* 21(4):345–56. doi: 10.1002/humu.10192
- Zurflüh MR, Zschocke J, Lindner M et al. (2008) Molecular genetics of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Hum mutat* 29(1):167–175. doi: 10.1002/humu.20637

Надійшла в редакцію 14.04.21
Після доопрацювання 29.04.21
Прийнята до друку 18.09.21