

## МОЛЕКУЛЯРНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ И ГЕНОМНЫЙ СКРИНИНГ ФЕНИЛКЕТОНУРИИ

Мустафаева К.А., Смирнова Е.Е.

*Научно-Исследовательский Институт Акушерства и Гинекологии МЗ Азербайджана*

**В статье обсуждаются значение молекулярного тестирования и геномного скрининга. Приводятся результаты исследований, которые идентифицировали ген фенилаланингидроксилазы у пациентов с фенилкетонурией, найденной при неонатальном скрининге в различных этнических группах. Отмечается, что ген фенилаланингидроксилазы является основным фактором, определяющим фенотип фенилкетонурии. Идентификация спектра вариантов гена фенилаланингидроксилазы важна для ранней диагностики, понимания молекулярных механизмов, клинического наблюдения, лечения и генетического консультирования.**

*Ключевые слова: новорожденные, молекулярное тестирование, ген фенилаланингидроксилазы, фенилкетонурия, фенилаланин, этнические группы.*

Фенилкетонурия (ФКУ) является наиболее распространенным врожденным нарушением метаболизма аминокислот с глобальной распространенностью 1:10000 новорожденных [1]. В настоящее время ФКУ рассматривается как парадигма для всех врожденных ошибок метаболизма, являясь первым, получившим этиологическое объяснение, первым с успешным лечением (в форме контролируемой диеты, введенной Хорстом Бикелем в 1950-х годах), и первым, который был обнаружен с помощью программ скрининга новорожденных [1]. Таким образом, ФКУ по-прежнему широко рассматривается как триумф науки и медицины и как выдающийся пример их огромного потенциала по преобразованию жизни людей с наследственными расстройствами путем предотвращения их изнурительных клинических последствий. Предпосылкой и решающим элементом успеха является эффективная программа геномного скрининга новорожденных.

Генетический анализ является эффек-

тивным средством ранней этиологической диагностики, назначения лечения и пренатальной диагностики пациентов с ФКУ. Установлено, что ФКУ вызывается изменением гена фенилаланингидроксилазы (ФАГ). Этот ген помогает создать фермент, необходимый для расщепления фенилаланина (ФА).

Цель настоящей статьи: провести аналитический обзор современных данных литературы о гене фенилаланингидроксилазы и геномном скрининге по фенилкетонурии.

Электронный поиск выполнен по Ovid MEDLINE, Ovid Embase, Web of Science, PubMed, Scopus в период 2017 - 2022 гг. Для поиска использовали следующие термины: новорожденные, фенилкетонурия, скрининг, ген фенилаланингидроксилазы, генотип.

В 1980-х и 1990-х годах зарождалась специальность медицинской генетики, а молекулярная биология позволила разработать ДНК-диагностику [2]. В то же время росло понимание зачастую большой

вариабельности тяжести заболевания и его распространенности. За последние 50 лет были идентифицированы специфические патогенные варианты в генах и связанные с ними фенотипы, что позволило провести генетическое тестирование и скрининг [3]. Однако по мере того, как все больше бессимптомных новорожденных, подверженных риску генетического расстройства, были оценены и диагностированы, клиническое понимание сложности генетических заболеваний росло. К 2021 году установлены этиологии десятки редких заболеваний, что позволяет разработать специальные методы диагностики и лечения. На сегодняшний день установлена молекулярная основа 6925 заболеваний [3]. В общей сложности 4470 генов имеют болезнетворные варианты, что делает их поддающимися генетическому тестированию [3]. Первые базы данных о последовательностях генома в популяциях мира, т.е. база данных агрегации экзома и база данных агрегации генома продолжают развиваться, хотя они остаются ограниченными в своем представлении редких вариантов патогенных заболеваний и разнообразных популяционных данных [4]. В настоящее время молекулярные тесты в неонатальном скрининге переходят от функционального тестирования с минимальными проблемами интерпретации результатов (например, TRECs- T-cell Receptor Excision Circles, T-рецепторные эксцизионные кольца) к тестированию зародышевой линии для выявления целей, поддающихся медицинскому воздействию. Молекулярные тесты могут использоваться в сочетании с биохимическими тестами в качестве тестов второго уровня в алгоритме скрининга или для управления прогностическими значениями скринингов, сни-

жения затрат на последующее наблюдение (ложноположительные скрининги) для семей и системы здравоохранения и информирования о лечении экстренных ситуаций у новорожденных.

Идентифицировано более 1180 биллельных вариантов гена ФАГ, расположенного на хромосоме 12q22–24.1 [1]. Эти аутосомно-рецессивные наследуемые варианты приводят к дефициту фермента ФАГ, который гидроксилирует ФА в тирозин с помощью кофактора (тетрагидробиоптерин; ВН4), молекулярного кислорода и негемового железа [2]. Метаболическая картина весьма неоднородна, так как зависит от степени остаточной активности ФАГ и концентрации ФА в крови. Низкая остаточная активность фермента обычно приводит к повышению концентрации ФА в крови и более тяжелому клиническому фенотипу, если его не лечить [3].

Ген ФАГ был впервые клонирован в 1983 г. [5]. На сегодняшний день 564 мутации гена ФАГ (12q24) были внесены в базу данных Консорциума анализа мутаций ФАГ, из которых 60,5% являются миссенс-мутациями, 13,5% - мутациями делеции, 11% - мутациями сплайсинга и 5,0% - бессмысленными мутациями, вставками и молчащими мутациями. Мутации гена ФАГ демонстрируют значительные этнические и региональные различия [6]. Фенилаланингидроксилаза (EC1.14.16.1), печеночный фермент, который требует тетрагидробиоптерина (ВН4) в качестве каталитического кофермента, отвечает за превращение ФА в L-тирозин [1]. Дефицит ФАГ приводит к повышению уровня фенилаланина в крови, жидкостях организма и нервной системе [1]. Одним из наиболее важных клинических симптомов дефицита

ФАГ является умственная отсталость [1]. Другими распространенными симптомами являются непроизвольные и ритмичные движения, судороги, микроцефалия и кожные заболевания, такие как экзема, пигментация кожи и затхлый запах тела [1].

Исследования трехмерной структуры фермента ФАГ показывают, что он содержит четыре мономера. Каждый мономер имеет три структурных домена, включая регуляторный домен на аминоконце (аминокислоты 1-142), каталитический домен (аминокислоты 143-410) и домен тетрамеризации на карбоксильном конце (аминокислоты 452-411) (4). Ген ФАГ содержит 12 интронов и 13 экзонов, кодирующих 2,5 кб мРНК [7]. Наиболее протяженными экзонами и интронами являются экзон 13 и интрон 2, с 892 и 17874 п.н. соответственно [7]. До настоящего времени в гене ФАГ было идентифицировано более 520 мутаций [7]. В дополнение к мутациям, ген ФАГ имеет множество полиморфизмов, используемых при идентификации носителей и пренатальной диагностике [7]. Одним из частых исходов мутации гена ФАГ является ФКУ.

По оценкам A. Hillert et al. [8], во всем мире ФКУ страдает 0,45 миллиона человек, с глобальной распространенностью 1:23 930 живорождений (диапазон 1:4 500 [Италия]–1:125 000 [Япония]). Сравнение генотипов и метаболических фенотипов 16 092 пациентов с ФКУ выявило различия в тяжести заболевания в 51 стране из 17 регионов мира, при этом глобальное распределение фенотипов составило 62% классической ФКУ, 22% легкой ФКУ и 16% легкой гиперфенилаланинемии (ГФА). В Европе существует градиент в распределении генотипа и фенотипа, от классической

ФКУ на востоке до легкой формы ФКУ на юго-западе и легкой гиперфенилаланинемии на юге. Ассоциированный с с.1241A>G (p.Tyr414Cys) генотип можно проследить от Северной до Западной Европы, от Швеции через Норвегию до Дании и Нидерландов. Частота классического ФКУ увеличивается от Европы (56%) через Ближний Восток (71%) до Австралии (80%). Из 758 вариантов ГФА с.1222C>T (p.Arg408Trp) (22,2%), с.1066–11G>A (IVS10–11G>A) (6,4%) и с.782G>A (p.Arg261Gln) (5,5%) были наиболее распространенными и ответственными за два распространенных генотипа: p.[Arg408Trp];[Arg408Trp] (11,4%) и с.[1066–11G>A];[1066–11G>A] (2,6%). Большинство генотипов (73%) были составными гетерозиготами, 27% были гомозиготными, а 55% из 3659 различных генотипов встречались только у одного индивидуума. Варианты ФАГ оценивались с использованием значения аллельного фенотипа и коррелировали с концентрациями ФА в крови до лечения (n = 6115) и результатами нагрузочного теста на тетрагидробиоптерин (n = 4381), что позволяет прогнозировать как фенотип на основе генотипа (88%), так и чувствительность к тетрагидробиоптерину (83%) [8]. Исследование A. Hillert et al. [8] показывает, что большие базы данных генотипов позволяют точно прогнозировать фенотип, позволяя правильно нацеливать терапию для оптимизации клинических результатов.

Сообщается, что p.Arg234Gln составляет 23% всех вариантов в Китае. Три дополнительных варианта p.Arg243Gln, с.611A>G и p.Arg241Cys (AF> 5%) также были распространены в Корее и Тайване, что указывает на общность миграционных перемещений и эволюции среди этих наци-

ональностей. Распространенные варианты ФКУ в Европе, на Ближнем Востоке, в Латинской Америке и США были редкостью в азиатском населении [8].

Исследования, проведенные в Хачмазском районе Азербайджанской Республики, определили генетические формы ФКУ: в 4,3% случаев выявлялась у гомозигот, в 6,45% у гетерозигот. Частота мутантного гена варьировала в пределах 0,1129-0,930 [9].

Четыре из каждых 100 люди в Турции являются гетерозиготными носителями ФКУ [10]. F.N. Ozturk and T. Akin Duman [11] определили частоту вариантов гена ФАГ в турецкой популяции с ФКУ. У 433 пациентов с ФКУ ген ФАГ был исследован методом секвенирования следующего поколения. Варианты IVS10-11G>A, p.R261Q, p.A300S, p.A403V и p.T380, которые являются наиболее распространенными вариантами в этом исследовании, составили 45,9%. Было идентифицировано девять новых вариантов p.A34V, K73Qfs\*4, R157H, R261S, p.T266I, p.S310P, T328A, p.F351I и K363N. Это исследование определяет наиболее распространенные варианты ФАГ в Турции и показывает, что ФКУ можно выявить до брака с помощью наборов для скрининга.

В Латвии наблюдается относительно однородный пул аллелей, вызывающих заболевание, с высокой распространенностью классической тяжелой формы ФКУ [12].

X. Wang et al. [13] диагностировали 181 пациента с ГФА от 1 до 957 новорожденных, что выражает заболеваемость 1:6873. Наиболее частыми мутациями ФАГ были с.728 C > A/ p.Arg243Gln (13,83 %), с.158G > A/ p.Arg53His (9,57 %), с.611 A >

G/ p.Tyr204Cys (7,44 %). , и с.721 C > T/p.Arg241Cys (6,38 %).

Результаты исследования E. Hosseini et al. [14] подтверждают гетерогенность гена ФАГ и могут помочь в диагностике тестов для выявления носителей и пренатальной диагностики ФКУ у населения Ирана.

Молекулярное подтверждение стало важным в диагностическом алгоритме ГФА, поскольку доступны надежные методы, такие как секвенирование по Сэнгеру и, в последнее время, метод секвенирования следующего поколения. Однако эти стратегии имеют ряд недостатков, таких как длительное время получения результатов и необходимость интерпретации обнаруженных новых возможных вариантов неопределенной значимости. По этим причинам M. Tolve et al. [15] разработали метод анализа ряда известных мутаций, аналогичный тесту на мутации первого уровня, который используется в диагностических целях и для скрининга муковисцидоза на носительство. Авторы также применяли этот тест в качестве второго уровня неонатального скрининга на ГФА с использованием высушенных пятен крови. Таким образом можно получить генотип примерно через 48 часов. Авторами были отобраны 18 мутаций с представленностью аллелей более 1%, что составляет 75% от общей частоты мутаций в итальянской популяции, но с высокой частотой обнаружения в других европейских популяциях: 70% в южной Германии, 68% в западной Германии, 76% в Дании и 68% в Швеции. Обнаружены 48% аллелей в Румынии, 63% в Польше только с одной мутацией нашей панели (p.Arg408Trp); в Болгарии две мутации (с.1066-11G>A, p.Arg408Trp) достигают 60% частоты обнаружения [15]. Используя метод минисеквенирования, ав-

торы оптимизировали обнаружение 24 зондов (основная панель плюс панель управления) предложенного теста в четырех мультиплексных полимеразных цепных реакциях (ПЦР), за которыми следуют четыре реакции однонуклеотидного удлинения и четыре электроферограммы. Метод показал 100% чувствительность и 100% специфичность и успешно протестирован на засохших пятнах крови, что позволило применить его в качестве экспресс-теста для подтверждения раннего генотипирования после положительного неонатального скрининга. Этот анализ генотипа оказался быстрым и недорогим, и он способен охарактеризовать оба аллеля более чем у 50% субъектов с ФКУ. Предлагаемый метод интегрирует диагностический алгоритм, рекомендованный F.J. van Spronsen et al. [1], и которым пользуется скрининговый центр авторов. Учитывая хорошее качество теста, его применяли в качестве теста Линда второго уровня при скрининге новорожденных и скрининговых тестах на носительство. В этой связи, было успешно генотипировано 40 новорожденных с положительным результатом неонатального скрининга. Преимущества применения этого теста для скрининга новорожденных связаны с точностью, быстротой (два рабочих дня) и низкой стоимостью по сравнению с секвенированием генов. После валидации теста четыре пары, в которых один из партнеров был субъектом с ФКУ, были генотипированы по запросу медицинского генетика. Скрининг партнеров на наиболее частую мутацию позволяет паре снизить репродуктивный риск и обратиться за соответствующей генетической консультацией. Применительно к скринингу на носительство отрицательный результат этого скри-

нинга «первого уровня» снижает риск носительства в пять раз, с 1:50 до 1:250 [15].

В настоящее время государственные программы неонатального скрининга испытывают давление, требующее рассмотрения: того, как интегрировать геномный скрининг в популяцию у новорожденных. В этом контексте, а также наряду с текущим состоянием общественного здравоохранения и инфраструктуры здравоохранения, можно выделить несколько проблем.

Развивающиеся молекулярные технологии, такие как секвенирование с длительным считыванием, заполняют пробелы в последовательности генома человека, которые составляют примерно 15% генома в 'более полной' последовательности генома в 2004 году [16]. Было обнаружено более 100 генов и еще миллионы вариантов. По состоянию на 2021 год во вторичных результатах Американского колледжа медицинской генетики (ACMG- American College of Medical Genetics) насчитывается 73 гена v3.1 список геномных мишеней, подлежащих медицинскому воздействию, наиболее связанных с предрасположенностью к раку и сердечно-сосудистым заболеваниям, но список включает гены неонатального скрининга, для которых хорошо описаны действенные ювенильные или взрослые формы с поздним началом [17,18].

Платформы молекулярного тестирования, способные обнаруживать множество анализируемых веществ, такие как панели генов/вариантов и секвенирование следующего поколения неонатального скрининга, в настоящее время широко используются во 2-м уровне алгоритмов тестирования неонатального скрининга и последующего диагностического наблюдения. Секвени-

рование генома новорожденного могло бы предоставить больше информации о состоянии здоровья, чем текущая группа тестов. Потенциально он может быть использован для оказания медицинской помощи на протяжении всей жизни человека, предоставляя раннюю информацию как о поддающихся лечению детских заболеваниях, так и о состояниях, возникающих во взрослом возрасте [19]. Однако геномный скрининг находится на ранней стадии своего развития, со многими из тех же проблем с редкими заболеваниями, что и в неонатальном скрининге. Кроме того, он используется в течение всей жизни человека. Имеются ограниченные данные о случаях, объективно выявленных в общей популяции, и о широком спектре состояний, поддающихся медицинскому лечению, для которых оценка риска возможна после установления характеристик эффективности скринингового теста. Высокие положительные прогностические значения будут необходимы для минимизации высоких затрат на лабораторное и клиническое наблюдение. На другом конце спектра находятся частные варианты, настолько редкие, что исключают сравнение с другими случаями, но для которых терапия, адаптированная к данному варианту, становится реальностью. Если мы хотим воспользоваться открывающимися возможностями для выявления и лечения редких и сверх редких генетических заболеваний, поддающихся медикаментозному лечению, для которых генетические варианты могут быть единственными доступными биомаркерами требуется раннее секвенирование генома. По мере накопления данных о клинической значимости редких вариантов, которым не хватает специфичности в отношении тя-

жести сопутствующего заболевания и возраста начала, может быть показано, что некоторые варианты предрасполагают к поздней или ослабленной форме заболевания, которая, возможно, не была целью неонатального скрининга, если не поддается лечению в раннем возрасте. Опыт показал, что у некоторых пациентов с поздним началом болезни Помпе симптомы, требующие лечения, развиваются в детском возрасте. Чтобы сохранить фокус неонатального скрининга на выявлении новорожденных с состояниями, поддающимися лечению в раннем возрасте, либо улучшенные функциональные исследования, которые проясняют патогенную природу варианта, либо большие массивы данных, которые отвечают на этот вопрос, должны позволить адаптировать алгоритмы скрининга. Тем не менее, ключевым показателем пригодности состояния для скрининга новорожденных является результат подгруппы положительных по результатам скрининга случаев, пролеченных в ходе клинических испытаний, что привело к улучшению результатов. По мере развития скрининга генома некоторые гены/варианты/состояния, вероятно, будут соответствовать требованиям для неонатального скрининга.

В настоящее время существует четыре частных предприятия (Геном Англия, SEMA4, Perkin Elmer и Fulgent) с тестами неонатального скрининга gene panel на рынке, но вне программ неонатального скрининга. Однако существует значительная вариабельность в их геномных мишенях, что говорит о необходимости отраслевых стандартов [20]. Genomics England в настоящее время планирует воспользоваться данными национального здравоохранения Великобритании для проведения

пилотного исследования использования метода секвенирования генома следующего поколения на 200 000 новорожденных [21].

Трудно сравнивать людей с редкими генетическими заболеваниями, поскольку они различаются по частоте, тяжести, возрасту начала, распространенности, реакции на лечение и рискам его проведения. Изменчивый спектр проявления заболевания оставил неясными конечные точки, которые определяют, когда известно достаточно о скрининге на наличие заболевания-кандидата, чтобы официально оценить его эффективность через национальные органы, такие как Консультативный комитет по наследственным заболеваниям новорожденных и детей США, для возможного включения в панель скрининга. Кроме того, природа льгот, которые оправдывают неонатальный скрининг при том или ином заболевании, и кому они должны начисляться, оспариваются, поскольку наследование генетического заболевания затрагивает не только младенца, но и его нуклеарную и расширенную семью. Генетический скрининг может быть целесообразным, даже когда прямое медицинское лечение недоступно, если есть польза для ребенка благодаря ведению и поддержке семьи, для принятия последующих репродуктивных решений и для информирования общества о состоянии. Первоначально Консультативный комитет по наследственным заболеваниям новорожденных и детей охватил пособия для семьи в рамках критериев выдвижения и рассмотрения, но с 2012 года пособие для семьи было снято с рассмотрения [19].

M.S. Watson et al. [19], рекомендуют пересмотреть критерии для включения со-

стояний у новорожденных следующим образом:

1. Переопределить первичные цели скрининга как формы заболевания, которые лечатся в ходе пилотного исследования, и, таким образом, проинформировать о первоначальном определении клинической обоснованности включения конкретного состояния в исследование Рекомендуемой унифицированной панели скрининга (США).

2. Переоценить преимущества, которые оправдывают неонатальный скрининг, и рассмотреть другие потенциальные преимущества, в том числе вопрос о том, является ли выявление статуса генетического носителя разумной целью неонатального скрининга.

Неонатальный скрининг уникален как один из очень немногих случаев в жизни, когда есть доступ ко всему населению. Другие благоприятные периоды для проведения детского скрининга включают возраст, в котором младенец получает большую часть прививок, либо в младенчестве, либо перед поступлением в школу, либо в подростковом возрасте.

Состояния, требующие очень быстрого получения результатов и начала лечения для здоровья младенца, поднимают вопрос о том, следует ли выявлять случаи заболевания и вмешиваться в рамках программ общественного здравоохранения или включать их в растущее число неонатальных или педиатрических медицинских услуг, предлагаемых в качестве стандарта ухода за младенцами, детям или подросткам.

Для расстройств, которые могут не требовать лечения до тех пор, пока они не выйдут далеко за пределы подросткового периода, доступность электронных меди-

цинских карт будет документировать потребности пациента, которые могут быть удовлетворены в будущем государственными и / или частными поставщиками медицинских услуг. Кроме того, по мере улучшения знаний о молекулярной этиологии заболевания роль метода секвенирования генома следующего поколения на протяжении всей жизни, в том числе при неонатальном скрининге, будет возрастать. Другие расстройства могут не требовать лечения до тех пор, пока они не выйдут далеко за пределы подросткового периода, что делает наличие электронной медицинской карты решающим для документирования будущих потребностей пациента, которые могут быть удовлетворены государственными и / или частными поставщиками медицинских услуг. Поставщики педиатрической помощи обычно обязаны сообщать о завершении иммунизации в Государственные реестры, которые позволяют связать реестры с базами данных проверки. Также можно было бы рассмотреть возможность включения методов физиологического скрининга или инструментов скрининга на месте оказания медицинской помощи, используемых в таких клинических условиях. Однако всеобщий охват может быть сокращен, и не все новорожденные могут быть обнаружены.

В конечном счете, стадия жизни, на которой скрининг может быть целесообразным, будет зависеть от консенсуса относительно того, когда следует начинать лечение, чтобы максимизировать пользу для пострадавших. Поэтому M.S. Watson et al. [19] рекомендуют органам, принимающие решения следующее:

1. Работать с педиатрическими поставщиками медицинских услуг для ко-

ординации подхода к скринингу на протяжении всей жизни, определяя точки пересечения между различными программами скрининга здоровья детей.

2. Работать с медицинскими и общественными организациями здравоохранения, специализированными обществами, семьями и реестрами электронных медицинских карт для разработки ИТ-инструментов, которые общественное здравоохранение и поставщики медицинских услуг могут использовать для отслеживания функциональной совместимости и которые семьи могут использовать в качестве паспорта «профиля здоровья».

3. Объединить усилия по расследованию для осуществления скрининга генома на протяжении всей жизни, поскольку неонатальный скрининг развивается.

4. Рассмотреть, соответствуют ли какие-либо условия-кандидаты для геномного скрининга критериям, установленным для скрининга новорожденных.

Следовательно, достижения в области сбора данных с помощью геномных, транскриптомных, протеомных и метаболомных платформ высокого разрешения способствовали открытию основных факторов, связанных с метаболическими нарушениями, и привели к вмешательствам, направленным на устранение основных генетических причин, а также на изменение образа жизни и регулирование рациона питания.

**Заключение.** Генотип ФАГ является основным фактором, определяющим фенотип ФКУ. Идентификация спектра вариантов гена ФАГ важна для ранней диагностики, понимания молекулярных механизмов, клинического наблюдения, лечения и генетического консультирования.

Обнаруженные варианты важны для дальнейших исследований. Корреляционный анализ между выявленными генетическими мутациями и фенотипическими харак-

теристиками полезен для генетического консультирования и позволит получить важные данные для каждого пациента с точки зрения конкретной тактики ведения.

### ЛИТЕРАТУРА:

1. Van Spronsen FJ, Blau N, Harding C, Burlina A, Longo N, Bosch AM. Phenylketonuria. *Nat Rev Dis Primers*. 2021; 7(1): 36. doi: 10.1038/s41572-021-00267-0
2. Kan YW, Golbus MS, Trecartin RF, Filly RA, Valenti C, Furbetta M, et al. Prenatal diagnosis of beta thalassemia and sickle-cell anemia: Experience with 24 cases. *Lancet* 1977, 1, 269–271.
3. Watson MS, Lloyd-Puryear MA, Rodney Howell R. The Progress and Future of US Newborn Screening. *Int. J. Neonatal Screen*. 2022; 8: 41-65. doi: 10.3390/ijns8030041
4. Collins RL, Brand H, Karczewski KJ, Zhao X, Alföldi J, Francioli LC, et al. A structural variation reference for medical and population genetics. *Nature* 2020, 581, 444–451. doi: 10.1038/s41586-020-2287-8
5. Woo SL, Lidsky AS, Guttler FD, Chandra T, Robson KJ. Cloned human phenylalanine hydroxylase gene allows prenatal diagnosis and carrier detection of classical phenylketonuria. *Nature*.1983;306:151-155. doi: 10.1038/306151a0
6. Zhou Y-A, Ma Y-X, Zhang Q-B, Gao W-H, Liu J-P, Yang J-P, et al. Mutations of the phenylalanine hydroxylase gene in patients with phenylketonuria in Shanxi, China. *Genet. Mol. Biol*. 2012; 35(4). doi: 10.1590/S1415-47572012005000069
7. Lee YW, Lee DH, Kim ND, Lee ST, Ahn JY, Choi TY, 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):533–40. doi: 10.3858/emm.2008.40.5.533
8. Hillert A, Anikster Y, Belanger-Quintana A, Alhashem AM, Alodaib A, Alahaideb L, et al. The genetic landscape and epidemiology of phenylketonuria. *Am J Hum Genet* 2020; 107: 234- 250. doi: 10.1016/j.ajhg.2020.06.006
9. Аскерова Т.А., Ягубова В.И., Гусейнова Ф.Д., Гасанова Ш.И., Велиева Г.А. Генетическое исследование фенилкетонурии в Хачмазском районе Азербайджанской Республики. *Curieful medical (Молдова)*. 2012;6 (330):13-16.
10. Т.С. Sağlık Bakanlığı. Yenidoğan tarama programı. Available at: <https://dosyaism.saglik.gov.tr/Eklenti/11173,259822214447pdf.pdf?0>.
11. Ozturk FN, Akin Duman T. An update of the mutation spectrum of phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in the population of Turkey. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2022;35(5):663-668. doi: 10.1515/jpem-2021-0556
12. Kreile M, Lubina O, Ozola-Zalite I, Lugovska R, Pronina N, Sterna O, et al. Phenylketonuria in the Latvian population: molecular basis, phenylalanine levels, and patient compliance. *Mol Genet Metab Rep*. 2020;25:100671. doi: 10.1016/j.ymgmr.2020.100671

13. Wang X, Wang Y, Ma D, Zhang Z, Li Y, Yanget P, et al. Neonatal screening and genotype-phenotype correlation of hyperphenylalaninemia in the Chinese population. *Orphanet J Rare Dis.* 2021; 16: 214. doi: 10.1186/s13023-021-01846-w
14. Hosseini E, Mousavi SS, Zamanfar D, Hashemi-Soteh SMB. Frequency of PAH Mutations Among Classic Phenylketon Urea Patients in Mazandaran and Golestan Provinces, North of Iran. *Clin Lab.* 2022;68(1). doi: 10.7754/Clin.Lab.2021.210512
15. Tolve M, Artiola C, Pasquali A, Giovanniello T, D'Amici S, Angeloni A, et al. Molecular Analysis of PKU-Associated PAH Mutations: A Fast and Simple Genotyping Test. *Methods Protoc.* 2018;1:30. doi: 10.3390/mps1030030
16. Rhie A, McCarthy SA, Fedrigo O, Damas J, Formenti G, Koren S, et al. Towards complete and error-free genome assemblies of all vertebrate species. *Nature.* 2021;592:737–746. doi: 10.1038/s41586-021-03451-0
17. Miller DT, Lee K, Gordon AS, Amendola LM, Adelman K, Bale S, et al. Recommendations for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing, 2020 update: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet. Med.* 2021;23:1381–1390. doi: 10.1038/s41436-021-01172-3
18. Miller DT, Lee K, Chung WK, Gordon AS, Herman GE, Klein TE, et al. ACMG SF v3.0 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet. Med.* 2021; 23:1582–1584. doi: 10.1038/s41436-021-01278-8
19. Watson MS, Lloyd-Puryear MA, Rodney Howell R. The Progress and Future of US Newborn Screening. *Int. J. Neonatal Screen.* 2022; 8: 41-65. doi: 10.3390/ijns8030041
20. DeCristo DM, Milko LV, O'Daniel JM, Foreman AKM, Mollison LF, Powell BC, et al. Actionability of commercial laboratory sequencing panels for newborn screening and the importance of transparency for parental decision-making. *Genom. Med.* 2021;13:1–13. doi: 10.1186/s13073-021-00867-1
21. Genomics England. Available online: <https://www.genomicsengland.co.uk/news/public-dialogue-genomics-newborn-screening>

## XÜLASƏ

### Fenilketonuriya üçün molekular sınaq və genom skriningi

**Mustafayeva K.A., Smirnova E.E.**

*Elmi Tədqiqat Mamalıq və Ginekologiya İnstitutu*

**Açar sözləri:** *yenidoğulanlar, molekulyar test, genom skriningi.*

Məqalədə molekulyar test və genom skriningin əhəmiyyətindən bəhs edilir. Müxtəlif etnik qruplarda neonatal skrining zamanı aşkar edilmiş fenilketonuriyalı xəstələrdə fenilalanin hidrosilaz genini müəyyən edən tədqiqatların nəticələri təqdim olunur. Qeyd olunur ki, fenilalanin hidrosilaz geni fenilketonuriyanın fenotipini təyin edən əsas amildir. Fenilalanin hidrosilaz gen variantlarının spektrinin müəyyən edilməsi erkən diaqnostika, molekulyar mexanizmlərin dəqiqləşdirilməsi, klinik nəzarət, müalicə və genetik konsultasiya üçün vacibdir.

## SUMMARY

### Molecular testing and genomic screening for phenylketonuria

**Mustafayeva K.A., Smirnova E.E.**

*Scientific Research Institute of Obstetrics and Gynecology*

**Keywords:** *newborns, molecular testing, phenylalanine hydroxylase gene, phenylketonuria, phenylalanine, ethnic groups.*

The article discusses the importance of molecular testing and genomic screening. The results of studies that identified the phenylalanine hydroxylase gene in patients with phenylketonuria found during neonatal screening in various ethnic groups are presented. It is noted that the gene phenylalanine hydroxylase is the main factor determining the phenotype of phenylketonuria. Identification of the spectrum of phenylalanine hydroxylase gene variants is important for early diagnosis, understanding of molecular mechanisms, clinical follow-up, treatment, and genetic counseling.

**Mustafayeva K.A.**

Elmi Tədqiqat Mamalıq və Ginekologiya İnstitutu

*E-mail: gulnaramz@gmail.com*

*Redaksiyaya daxil olub: 19.07.2023*

*Çapa tövsiyə olunub: 22.12.2023*