

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
АЗЕРБАЙДЖАНСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

АЗЕРБАЙДЖАНСКИЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

*На правах рукописи*

**ЯГУТ САЛМАН ГЫЗЫ ГУСЕЙНЛИ**

**БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА  
ФЕНИЛАЛАНИНА У НОВОРОЖДЕННЫХ С  
ФЕНИЛКЕТОНУРИЕЙ**

2406.02 – «Биохимия»

**А В Т О Р Е Ф Е Р А Т**

диссертации на соискание ученой степени  
доктора философии по медицине

БАКУ – 2016

Диссертация выполнена на кафедре биохимии Азербайджанского  
медицинского университета

**Научный руководитель:**

доктор наук по биологии

**Т.А.Аскерова**

**Официальные оппоненты:**

доктор наук по медицине

**Н.К.Казиева**

доктор философии по медицине

**Д.К.Рустамов**

**Ведущая организация:** Кафедра лабораторного дела и Центральная  
научно-исследовательская лаборатория Азербайджанского  
Государственного Института Усовершенствования Врачей им.  
А.Алиева

Защита диссертации состоится «\_24\_»\_02\_\_\_\_\_2016 года в «\_\_\_\_»  
часов на заседании Диссертационного совета FD 03.013 при Азербайд-  
жанском медицинском университете.

Адрес: AZ 1078, г.Баку, ул. Марданов Гардашлары, 100 (физико-  
химический корпус АМУ, II этаж, кафедра патофизиологии).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Азербайджанского  
медицинского университета

Автореферат разослан «\_\_\_\_» \_\_\_\_\_2016 года

Ученый секретарь

Диссертационного совета FD 03.013

доктор наук по медицине, профессор

**М.К.Аллахвердиев**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Фенилкетонурия (ФКУ) занимает особое место в огромном спектре генетически детерминированных заболеваний детского возраста. Как и большинство наследственных заболеваний обмена аминокислот, после более или менее продолжительного бессимптомного периода почти неизменно приводят к тяжелым нарушениям психомоторного развития детей, к инвалидности. Чем позднее болезнь диагностируется и лечится, тем тяжелее и необратимее последствия ФКУ (Blau N., 2014; Vockley J., 2014). Следовательно, ранняя диагностика крайне важна и актуальна.

ФКУ – наследственное нейрометаболическое заболевание, связанное с дефицитом фермента фенилаланин-4-гидроксилазы (ФАГ), обеспечивающего превращение фенилаланина в тирозин. В результате этого происходит накопление в жидкостях и тканях организма фенилаланина и его производных. Болезнь проявляется в основном в 4-6 месяцев жизни. Характерными клиническими симптомами являются олигофрения, судороги, гиперкинезы, экзема, дерматиты. Тип наследования – аутосомно-рецессивный. Происходит мутация гена, кодирующего ФАГ, располагающегося на длинном плече 12-ой хромосомы (локус 12q 22 – 24) (Аскерова Т.А., 2006; Rajabi F., 2015).

Частота распространения ФКУ в различных странах широко варьирует. К примеру, в России, Белоруссии частота составляет 1:6-10.000 новорожденных. Самые низкие показатели заболеваемости среди европейских стран в Финляндии, среди азиатских стран в Японии. В этих странах на 100.000 новорожденных приходится 1 больной ребенок (Stojilkovic M., 2006). Самый высокий показатель заболеваемости ФКУ обнаруживается в Турции, где частота распространения данного заболевания составляет 1:2600 новорожденных (Ozalp I., 1986; Tezel B., 2014).

Так как Турция близка к нам по многим аспектам, в частности, по структуре и частоте многих заболеваний, генофонду, предполагаем, что распространение данной патологии в Азербайджане может быть высоким. Массовые диагностические тесты на ФКУ в нашей стране не проводились. Следовательно, статистические данные о частоте распространения и формах проявления ФКУ среди населения Азербайджана отсутствуют. Поэтому проведение скринирующих методов диагностики ФКУ среди новорожденных, выявление

гетерозиготных носителей, дифференцирование ФКУ от других аминокислотопатий, изучение клинических проявлений в динамике, исследование зависимости клинического течения болезни от пола, возраста, типа носительства, выявление частоты распространения ФКУ среди обследованных являются актуальными проблемами на сегодняшний день.

На основании вышеуказанного ставим перед собой следующую **цель**: проведением скринирующих методов диагностики ФКУ выявить новорожденных с высоким содержанием фенилаланина в крови и его производных в моче, определить частоту распространения ФКУ среди обследованных, разработать новые схемы лечения больных ФКУ.

Для достижения поставленной цели в работе необходимо решить следующие **задачи**:

1. Выявить новорожденных детей с высоким содержанием аминокислоты фенилаланина в крови и его метаболитов в моче, и повторно обследовать новорожденных с повышенным содержанием фенилаланина с целью подтверждения у них диагноза ФКУ в возрасте 3-6 месяцев.
2. Определить частоту встречаемости различных форм ФКУ среди обследованных и выявить биохимический, генетический, клинический полиморфизм ФКУ.
3. Раскрыть возможную взаимосвязь между показателями фенилаланина в крови и тяжестью клинической картины заболевания, а также определить влияние гиперфенилаланинемии (ГФА) на содержание других аминокислот.
4. Провести скрининг диагностику ФКУ и других аминокислотопатий среди пациентов Детской неврологической больницы.
5. Провести генетическое анкетирование, составить родословные выявленных семей и разработать комплексные схемы для более эффективного лечения ФКУ.

**Научная новизна.** Впервые в Азербайджане проводили количественное определение фенилаланина в крови у новорожденных иммуноферментным методом с целью выявления биохимических, клинических, генетических аспектов заболеваний, связанных с нарушением обмена аминокислот, в частности, ФКУ, и на основании полученных данных были проведены научно-обоснованные лечебно-

профилактические мероприятия. Данным методом можно проводить исследования, как в капиллярной, так и в пуповинной крови. Исползованные методы диагностики позволили обнаружить различные формы ФКУ, описать семейные случаи гомозиготных, гетерозиготных носителей заболевания, изучить дисбаланс аминокислот при ГФА, а также, выявить частоту распространения ФКУ среди обследованных.

**Практическое значение диссертации.** Проведенные исследования и выявленные показатели помогли разобраться в биохимических, клинических и генетических особенностях новорожденных детей, больных ФКУ. А также разработать новый подход к лечению больных детей и составить практические рекомендации для врачей-генетиков, педиатров по выявлению и ведению больных ФКУ в условиях Азербайджана.

Применение комплексных методов диагностики значительно повышает степень выявления ФКУ и других ГФА у новорождённых, что особенно важно при проведении массовой скрининг-диагностики в родильных домах, следовательно, необходимо для ранней диагностики, последующей диспансеризации и эффективного лечения больных ФКУ.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Применение комплекса методических приёмов, обеспечивающих популяционно-генетический скрининг и раннюю диагностику ФКУ у новорожденных помогает вовремя предотвратить её тяжелые и необратимые последствия.
2. Выявление биохимического, генетического и клинического полиморфизма диктует необходимость применения различных комплексных методов диагностики ФКУ.
3. Дисбаланс аминокислот в сыворотке крови — характерный биохимический симптом ФКУ.
4. При проведении скрининг-диагностики аминокислотнопатий среди пациентов Детской неврологической больницы было установлено, что в большинстве случаев причиной психоневрологических отклонений является нарушение обмена пировиноградной кислоты. В некоторых случаях было установлено нарушение обмена тиреоидина, триптофана, метионина.

**Внедрение в практику.** Результаты исследований были внедрены и применены в Детской неврологической больнице, г.Баку.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации обсуждены и доложены на научных конференциях, посвященных 75-летию

профессора З. А. Зейналовой (Баку, 2008 г.), 70-летию з.д.н., профессора А. А. Ахунбейли (Баку, 2008 г.), 80-летию создания Азербайджанского Медицинского Университета (Баку, 2010г.), на совместном заседании кафедры биохимии и научно-исследовательской лаборатории АМУ (5 июня 2015г.), на научном семинаре апробационной комиссии АМУ (15 декабря 2015г.).

**Опубликованные работы.** По материалам диссертации опубликовано 10 научных работ, из них 7 журнальных статей. Одна из статей была опубликована в зарубежном, 6 – в местных журналах.

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 155 страницах компьютерного набора, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов, результатов собственных исследований и их обсуждения, заключения, выводов и библиографического указателя, содержащего 204 наименования (из них 1 источник литературы издан на азербайджанском, 4 –на русском языке, остальные на других иностранных языках). Работа иллюстрирована 18 таблицами и 22 рисунками.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Исследованием было охвачено 792 человек, отличающихся по полу, возрасту, состоянию здоровья. Из них 540 детей (267 мальчиков, 273 девочки) являлись новорожденными из родильного дома № 1 им. М. Х. Гасимова, г. Баку. При дальнейшем обследовании для сравнительной оценки динамики развития в 3 и 6 месяцев детей с ГФА и здоровых детей, в качестве контроля, мы обследовали 96 человек (48 мальчиков, 48 девочек) без патологии аминокислотного обмена из детской поликлиники № 1 Насиминского района г. Баку. Дополнительно были проведены работы по исследованию фенотипической и генной частоты гиперфенилаланиемии среди выявленных лиц в Хачмазском районе Азербайджанской республики (93 человека). Кроме того, были обследованы родители (18 человек) выявленных больных ФКУ.

А также, мы обследовали 45 детей (25 мальчиков, 20 девочек) в возрасте от 2 недель до 14 лет, находящихся на лечении в Детской неврологической больнице (ДНБ), г. Баку.

В работе были использованы биохимические, клинические и семейно-генеалогические методы исследования.

Материалом для исследований служила периферическая кровь из пятаки новорожденных, а также кровь и моча больных детей и их родителей. Все образцы крови и мочи обследовали на определение количества фенилаланина и его метаболитов соответственно, а также, параллельно выявляли нарушение обмена других аминокислот.

Для выявления метаболитов фенилаланина в моче мы использовали стандартный набор реактивов «Phenyl-Ketenoria kit» фирмы Saba (Иран). Принцип метода основан на изменении окраски бумаги-индикатора на серо-зелёный при взаимодействии метаболитов фенилаланина и хлорида железа.

Для определения количества фенилаланина в крови у новорождённых нами был использован набор NEO PKU ELISA kit фирмы KIMIA (Иран). Принцип метода основан на ферментном определении фенилаланина, и использует дегидрогеназу фенилаланина (Phe-DH) и промежуточную систему акцептора электронов, чтобы сделать его приемлимым для колориметрического измерения. Данные измерения были сделаны на иммуноферментном планшетном анализаторе STAT FAX (США).

Также, в работе мы проводили количественное определение аминокислот в биологических жидкостях при помощи одной из модификаций метода нисходящей хроматографии на бумаге. В том же образце исследуемого материала параллельно проводилось исследование концентрации фенилаланина методом восходящей хроматографии на бумаге в модификации Е. И. Ситниченко (1972).

Помимо этого, концентрацию тирозина в сыворотке крови определяли методом S. Udenfriend и J. Cooper в модификации Adarya M. и Katyare S. (2004). Метод основан на том, что реакция между тирозином и нитрозоафтолом даёт соединение красного цвета, при нагревании с азотной кислотой полученное соединение превращается в стабильное вещество жёлтого цвета. От избытка нитрозоафтола данное соединение отделяли при помощи дихлорэтана.

Оценку психомоторного развития проводили по шкале Л. Т. Журбы – Е. А. Мастюковой для детей первого года жизни. Данная шкала позволяет оценить психомоторное развитие ребёнка на 13 возрастных уровнях: в первую неделю жизни и далее ежемесячно от 1 до 12 месяцев.

Помимо биохимических исследований, нами было проведено генетическое анкетирование, составление родословных выявленных больных ФКУ и их семей.

Полученные данные подверглись статистической обработке методами вариационной статистики. Для сравнения и вероятностной оценки различий между этими группами воспользовались непараметрическим критерием Уайта ( $W$  – критерий), который основан на ранжировании значений двух сравниваемых выборок и сравнение полученных ранговых сумм каждой группы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам биохимического обследования 540 новорожденных детей было выявлено, что у 414 детей (76,7 %) содержание фенилаланина в крови не превышает норму, а у 126 (23,3 %) имеется ГФА.

Новорожденные с нормальной концентрацией фенилаланина в крови составили контрольную группу, а дети с ГФА, согласно полученным результатам, были поделены нами на 3 группы (табл. 1).

Таблица 1

*Концентрация фенилаланина в крови у обследованных новорожденных, мг%*

Группа новорожденных	Концентрация фенилаланина в сыворотке крови, мг %		Число новорожденных	
	Общая	Средняя $M \pm m$	Абс.	%
Контроль	До 4	$3,07 \pm 0,11$	414	$76,7 \pm 3,2$
1-я группа	4,1 – 10	$6,23 \pm 0,31$	84	$15,6 \pm 2,7$
2-я группа	10,1 – 15	$12,34 \pm 0,45$	36	$6,7 \pm 1,9$
3-я группа	Выше 15,1	18,25	6	$1,1 \pm 0,8$
Все	0,8 – 20,5	$5,63 \pm 0,1$	540	100%

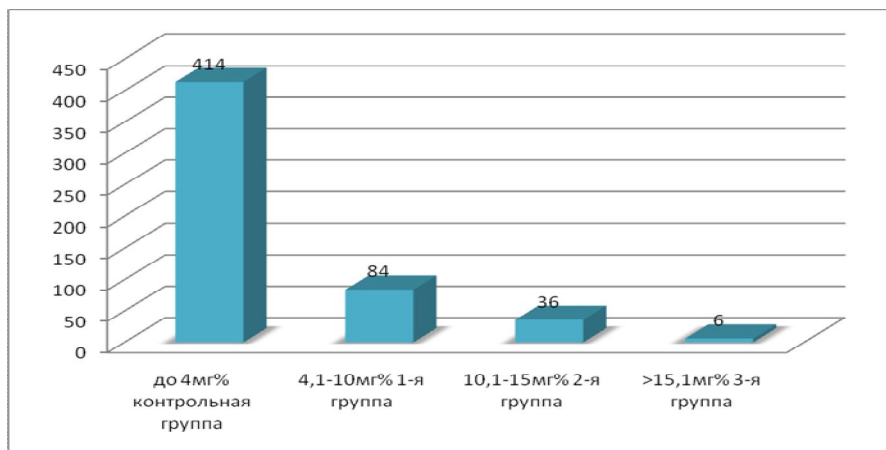
Как видно из табл. 1, 1-ю группу составили 84 ребенка (45 девочек, 39 мальчиков) с концентрацией фенилаланина от 4 до 10 мг%. Средний показатель ( $M \pm m$ ) оказался равным  $6,23 \pm 0,11$  мг%, минимальный – 4,2 мг%, максимальный – 9,6 мг%. Во 2-ю группу включены 36 детей (18 девочек, 18 мальчиков) с ГФА от 10 до 15 мг% со средним показателем  $12,34 \pm 0,45$  мг%. Минимальное содержание фенилаланина в крови во 2-й группе – 10,2 мг%, максимальное – 14,8 мг%. Результаты выше 15 мг% (3-я группа) оказались у троих новорожденных мальчиков и трех девочек (минимальный показатель -



16 мг%, максимальный показатель - 20,5 мг%, средний показатель – 18,25 мг%). Большинство исследователей считают, что для типичной, «классической» ФКУ характерна концентрация фенилаланина в крови выше 20 мг%. Такой показатель оказался у одной новорожденной девочки (20,5 мг%).

Частота выявления ГФА по половому признаку была практически одинакова (60 мальчиков, 66 девочек), что совпадает с мнением большинства исследователей.

Для наглядности приводим диаграмму, изображающую полученные результаты (рис. 1).



*Рис. 1 Разделение полученных результатов по группам в зависимости от концентрации фенилаланина в крови у новорожденных*

Как видно на рис. 1, наибольшую группу (414 человек - 76,7% обследованных) составляют новорожденные с концентрацией фенилаланина в пределах нормы (контроль). Численность 1 группы (84 детей - 15,6%) почти в 5 раз, 2-й группы (36 детей - 6,7%) в 11, 5 раз меньше контроля, а самая малочисленная 3-я группа (1,1%) состоит из 6-х новорожденных с самыми высокими концентрациями фенилаланина в крови (16 - 20,5 мг%).

Так как исследование проводилось в городе Баку и, учитывая то обстоятельство, что население города является смешанным, среди обследованных и выявленных 126 детей с ГФА 114 человек (69 %) оказались жителями города Баку и окрестных сёл, 1 (2,38 %) – из

г. Хырдалан, 6 (14,28%) детей – из Хачмазского, 2 (4,76%) ребёнка – Имишлинского, 1 – из Джебраильского районов, 2 ребёнка – уроженцы Нахичеванской АР, 1 – уроженец Чеченской республики (РФ). Дети с самыми высокими результатами: Аллахвердиев (19,5 мг% фенилаланина в крови) был из Баку, Бабаева (20,5 мг%) – из Имишлинского района.

В связи со значительным числом выявленных новорожденных (14,28%) с ГФА, уроженцев Хачмазского района Азербайджанской Республики, нами была исследована фенотипическая и генная частота ФКУ среди родственников выявленных лиц в Хачмазском районе. частота гена ФКУ варьировала в пределах 0,1129-0,9301 соответственно. Наиболее высокие частоты ФКУ наблюдали среди гомозиготных больных – 0,9301. Низкие частоты среди гетерозиготных носителей – 0,1129.

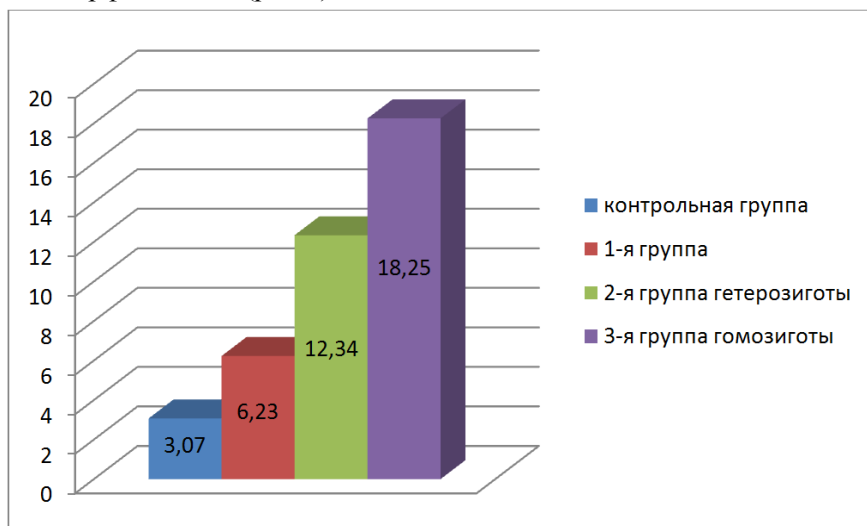
Среди исследованных лиц идентифицировано гомозиготное состояние для ФКУ с фенотипической частотой 4,3%. Фенотипической частота гетерозиготных носителей - 6,45%. Общая фенотипическая частота ФКУ среди обследованных составляла 10,8%.

Среди родителей и сибсов пробанда с аномальными формами ФКУ были проведены дополнительные исследования. Был повторно произведен забор капиллярной крови с последующим проведением анализа на ФКУ. Для генеалогического исследования мутантных фенотипов ФКУ была составлена родословная пробанда, родителей и сибсов пробанда. Агрегационный анализ патологического гена ФКУ, проведенный на уровне родословной, показал аутосомно-рецессивный тип наследования. При семейно-генеалогическом анализе наблюдали горизонтальное распределение патологического гена, поражающего оба пола в равной степени. У пробанда оба родителя были генотипически гетерозиготными носителями ФКУ.

Таким образом, из 540 обследованных новорожденных мы выявили 126 (23,3%) ребёнка с ГФА. Среди них у 6-х (1,1%) высокий уровень фенилаланина был характерен для классической ФКУ. Результаты 1-ой группы со средней концентрацией фенилаланина в крови 6,23 мг% мы считаем вариантами нормами (транзиторная ГФА). Показатели 2-ой группы со средней концентрацией фенилаланина в крови 12,34 мг% можно считать показателями гетерозиготных носителей, за исключением одного случая, оказавшимся, в дальнейшем, атипичной формой ФКУ. А результаты 6-х детей из 3-ей

группы – это показатели гомозиготных носителей гена классической ФКУ.

В ходе исследований мы выявили определённый биохимический полиморфизм ГФА (рис.2).



*Рис. 2 Сравнение средней концентрации фенилаланина в крови у новорожденных из контрольной группы с результатами детей с ГФА*

Как видно на рис. 2, результаты анализов новорожденных из 1-й группы широко варьируют: от близкой к норме концентрации (4,2 мг%) до результатов в 2,5 раза выше показателя контроля. Средний показатель концентрации фенилаланина в крови детей из 1-ой группы выше среднего показателя в контрольной группе в 2,03 раза. По сравнению со средним показателем контрольной группы, фенилаланин в крови во 2-ой группе повышен до 4 раз. В 3-ей группе средняя концентрация фенилаланина в крови равна 18,25 мг%, а это в 5,94 раз выше, чем концентрация фенилаланина в контрольной группе.

Однако такое большое количество выявленных детей с ГФА требовало дополнительного расследования и дифференцировки форм и вариантов ГФА и ФКУ.

Для выяснения форм проявлений ГФА, выявленной нами у 126-ти новорожденных, и дальнейшего клинко-биохимического контроля за их развитием, этих детей мы повторно обследовали в 3 и 6 месяцев.

Мы выяснили, что 84 ребенка из первой группы практически здоровы, в 3 месяца уровень фенилаланина в крови не превышает норму, проба Феллинга - отрицательная.

Так как в 3 месяца показатели биохимического и клинического обследования у этих детей соответствовали норме, не было необходимости обследовать их в 6 месяцев. Предполагаем, что несколько повышенный уровень фенилаланина у них в период новорожденности связан с недоношенностью, задержкой созревания печеночной ФАГ системы (транзиторная ненаследственная ГФА), заболеваниями печени и т.д.

У 15-ти из 36-ти обследованных во 2-ой группе отмечалась лёгкая умственная отсталость, сопровождаемая неврозоподобными и психопатоподобными расстройствами. Первые клинические проявления болезни были в виде повышенной нервно-рефлекторной возбудимости, вегето-висцеральных расстройств, раннего закрытия большого родничка и микроцефалии. В дальнейшем, к ним присоединилось отставание в психофизическом развитии и у 9-х детей – судорожные припадки. На фоне предпринятых мер по диетотерапии этих больных их неврологический статус и биохимические показатели намного улучшились. Уровень фенилаланина в крови в среднем равнялся 12,34 мг%. Фенилпировиноградная кислота в моче не определялась, однако, у одного ребёнка при нагрузке фенилаланином (0,1 г на 1 кг веса) реакция становилась слабоположительной.

У 21 ребенка из этой же группы какие-либо отклонения в развитии не имелись. Все они были достаточно уравновешенны и активны. Запах пота и мочи, характерный для «классической» ФКУ, отсутствовал. Повышенный уровень фенилаланина в крови можно рассматривать либо как результат высокой экспрессивностью гена ФКУ в гетерозиготном состоянии, либо как результат двойной гетерозиготности по гену ФКУ и по гену ГФА. Фенотипически эти дети имели характерные черты: светлые глаза и волосы, бледная кожа, склонная к экземам. Интеллект соответствовал возрасту.

Для сравнительной оценки динамики развития детей с ГФА и здоровых детей нами было обследовано 96 ребенка того же возраста без патологии аминокислотного обмена (контрольная группа) (табл. 2).

Таблица 2

*Симптомы психоневрологических и соматических нарушений у детей с ГФА при рождении и детей с нормальным содержанием фенилаланина в крови*

Патологические состояния	Дети с гиперфенилаланинемией при рождении, n = 126				Дети с нормальным содержанием фенилаланина в крови, n = 96			
	В возрасте 3-х месяцев		В возрасте 6 месяцев		В возрасте 3-х месяцев		В возрасте 6 месяцев	
	абс.	% ± m	абс.	% ± m	Абс.	% ± m	Абс.	% ± m
Вздрагивания	27	21,4 ± 6,3	21*	16,7 ± 5,8	16	16,7 ± 5,4	-	-
Парасомнии	24	19,0 ± 6,1	18	14,3 ± 5,4	10	10,4 ± 4,4	4	4,2 ± 2,9
Повышенная нервно-рефлекторная возбудимость	24	19,0 ± 6,1	21*	16,7 ± 5,8	6	6,3 ± 3,5	-	-
Краниосиностоз	6	4,8 ± 3,3	-	-	2	2,1 ± 2,1	-	-
Микроцефалия	9	7,1 ± 4,0	9	7,1 ± 4,0	-	-	-	-
Судороги	6	4,8 ± 3,3	9	7,1 ± 4,0	-	-	-	-
Нарушения статико-моторных функций	9	7,1 ± 4,0	12	9,5 ± 4,5	-	-	-	-
Отставание в психическом развитии	9	7,1 ± 4,0	21*	16,7 ± 5,8	2	2,1 ± 2,1	2	2,1 ± 2,1
Анемия	24	19,0 ± 6,1	12	9,5 ± 4,5	10	10,4 ± 4,4	6	6,3 ± 3,5
Рахит	9	7,1 ± 4,0	12	9,5 ± 4,5	4	4,2 ± 2,9	-	-
Пигментация	-	-	-	-	6	6,3 ± 3,5	2	2,1 ± 2,1
Атопический дерматит	9	7,1 ± 4,0	9	7,1 ± 4,0	2	2,1 ± 2,1	2	2,1 ± 2,1
Гипотрофия	30*	23,8 ± 6,6	18	14,3 ± 5,4	2	2,1 ± 1,1	2	2,1 ± 1,1

\* Статистически значимая разница с показателями контрольной группы, p < 0,05

Как видно из табл. 2, на раннем этапе развития детей с ГФА при рождении такие симптомы, как частые вздрагивания, беспокойный сон, раздражительность, раннее закрытие большого родничка, наблюдались в большей степени, чем у здоровых детей. К шестимесячному возрасту эти симптомы постепенно уменьшались. В трехмесячном возрасте судороги были у 6-х детей с ГФА, микроцефалия – у 9-х, нарушения статико-моторных функций – у 9-х. К 6-ти месячному возрасту наблюдалось увеличение некоторых указанных симптомов. Так, судороги были у 9-х, нарушения статико-моторных функций – у 12-х, а отставание в психическом развитии было выявлено уже у 21-х детей с ГФА. Перечисленные

неврологические нарушения в контрольной группе не отмечались, за исключением одного случая отставания в психическом развитии, связанного с перенесенной родовой травмой.

Наряду с неврологическими нарушениями обнаружилось, что у детей с ГФА, по сравнению с контрольной группой, чаще наблюдались железодефицитная анемия, рахит, атопический дерматит, гипотрофии (чаще 2-й степени). Однако, случаи анемии, гипотрофии и рахита у детей с ГФА к 6-ти месячному возрасту уменьшились, что, по-видимому, связано с введением прикорма.

Шестеро детей из 3-ей группы являлись больными классической ФКУ. Проба Феллинга у больных определялась как резкоположительная.

В первую очередь этим детям был проведен повторный количественный анализ фенилаланина в крови иммуноферментным методом в 3 и 6 месяцев жизни. Средний уровень фенилаланина у данных пациентов к 3 месяцам был очень высоким – 21,1 мг% и превышал предельно допустимую норму более чем в 5 раз. После соблюдения необходимых мер по диетотерапии уровень фенилаланина опустился до 4,4 мг%.

Для исследования влияния повышенного уровня фенилаланина на уровень других аминокислот (тирозина, треонина, метионина, валина, лейцина, изолейцина, лизина, гистидина, триптофана, серина, глутаминовой кислоты, глицина, аланина, аргинина, глутамин) мы исследовали концентрации аминокислот в крови у здоровых по гену ФКУ детей, гетерозигот при пищевой нагрузке фенилаланином и больных ФКУ.

В условиях кратковременной экспериментальной ГФА было получено подтверждение существования её порогового эффекта, как правило, только при сверхпороговом уровне фенилаланина (выше 15 мг%) начинает развиваться выраженный дисбаланс аминокислот в сыворотке крови. Это позволяет с большей уверенностью рекомендовать поддерживать во время лечения уровень фенилаланина в крови до 8-10 мг%, а не до близкого к норме уровня в 2-3 мг%, при котором нередко соматические осложнения.

Кроме того, в случае интеркуррентного заболевания (инфекционные заболевания, различные формы анемий т.д.) или выраженной соматической ослабленности организма можно рекомендовать временное расширение диеты (применение наряду с лечебными сбалансированными смесями дополнительного питания)

до контролируемого уровня фенилаланина в сыворотке крови не выше 15мг%.

По результатам параллельно проводимой скрининг диагностики аминокислотопатий у 45 детей - пациентов Детской неврологической больницы выявили, что больше всего нарушений обмена имелись в возрастной группе детей до 1 года – 20 детей; число страдающих обменными заболеваниями мальчиков превалирует над девочками – 20 и 13 детей соответственно. Выяснилось, что у 9 больных (20 % от общего числа обследованных) обнаружилось повышенная экскреция с мочой ксантуреновой кислоты, что указывает на нарушение обмена триптофана (синдром Кнаппа – Комровера), у 8 больных (17,8 %) — повышенная экскреция с мочой  $\alpha$ -кетомасляной кислоты, указывающая на нарушение абсорбции метионина, а также у 11 детей (24,4 %) – пировиноградная ацидемия, у 8 (17,8 %) – молочный ацидоз. Тест на тиреоидин оказался положительным у 3 больных (6,7 %).

Нарушение обмена метионина имелось у 4-х детей с перинатальной гипоксически-травматической энцефалопатией, у 2-х с детским церебральным параличом и у 2-х больных с микроцефалией. Пировиноградная ацидемия имелаась у 8-х детей с перинатальной гипоксически-травматической энцефалопатией и у 3-х больных детским церебральным параличом. Молочный ацидоз обнаружили у двоих детей с перинатальной гипоксически-травматической энцефалопатией, у одного больного с гидроцефалией, у двоих больных, страдающих эпилепсией, и у троих пациентов с недифференцированной олигофренией.

Наши исследования еще раз подтвердили необходимость ранней диагностики и своевременного начала диетотерапии при ФКУ, а также целесообразность дополнительного введения омега-3 и омега-6 жирных кислот в составе биологически активных добавок (рыбьего жира) и ноотропных препаратов (на примере Ноотропила). Диагноз ФКУ должен основываться на комплексном подходе, включающим в себя клинические, генетические, биохимические данные. Динамическое наблюдение за детьми с ГФА поможет своевременно выявить детей с различными формами ФКУ и как можно раньше назначить элиминационную диетотерапию этим детям. Проведение пищевой нагрузки фенилаланином поможет в определении носительства патологического гена и атипичной формы ФКУ.

## ВЫВОДЫ

1. Частота распространения ФКУ среди обследованных новорожденных 7:540 (1,3 %). Среди них 6 случая (1,1 %) классической (гомозиготной) формы и 36 случаев (6,7 %) гетерозиготного носительства ФКУ. В ходе исследования был выявлен также 1 случай атипичной ФКУ. Обнаружен генетический, биохимический, клинический полиморфизм ФКУ.
2. Выявлен дисбаланс аминокислот: у новорожденных и детей с ФКУ в 3 и 6 месяцев в сыворотке крови, наряду с резким повышением уровня фенилаланина (выше 10 мг%), отмечено снижение концентраций, по сравнению с нормой, 8 аминокислот: метионина, гистидина, аланина на 50-60% и тирозина, треонина, лейцина с изолейцином и глутамина - на 30-40%. Дисбаланс аминокислот в сыворотке крови — характерный биохимический симптом ФКУ.
3. При проведении скрининг-диагностики аминокацидопатий среди 45 пациентов Детской неврологической больницы было установлено, что в большинстве случаев причиной психоневрологических отклонений является нарушение обмена пировиноградной кислоты (24,4 %). В некоторых случаях было установлено нарушение обмена тиреоидина, триптофана, метионина.
4. Было проведено генетическое анкетирование, исследование крови на фенилаланин и составлены родословные выявленных семей с ФКУ, подтверждающие наследственный характер и аутосомно-рецессивный тип наследования данной болезни.
5. Составлены практические рекомендации по диетотерапии больных ФКУ с учетом возрастных особенностей, тяжести заболевания с введением дополнительных корректирующих препаратов.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Учитывая возможную высокую частоту гетерозиготных носителей гена ФКУ среди населения Азербайджана, а также, для составления регистра профилактических мероприятий заболевания нами был предложен алгоритм по



- диагностике различных форм ФКУ. После выявления новорожденных с ГФА для подтверждения диагноза ФКУ рекомендуется динамическое наблюдение за этими же детьми в 3 и 6 месяцев жизни, а также, проведение генетического анкетирования для установления форм передачи и обследования родственников больных детей.
2. В случае подтверждения диагноза ФКУ у гомозиготных детей, наличие порогового эффекта ГФА позволяет рекомендовать поддерживать во время диетотерапии концентрацию фенилаланина в сыворотке крови на уровне 8-10 мг%.
  3. Для поддержания нормального уровня фенилаланина в крови у гетерозиготных носителей гена ФКУ рекомендуется только диетотерапия, а у гомозиготных – сочетание диетотерапии с введением в рацион биологически активных добавок, содержащих рыбий жир, а также, применение ноотропных препаратов (на примере Ноотропила 30 мг/кг в сутки).

## **СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Фенилкетонурия. Клинико-генетические аспекты, диагностика и тактика лечения / В сборнике научных изданий Института Физиологии им. А. И. Караева АНАН и Общества Физиологов Азербайджана «Проблемы физиологии и биохимии». Баку: «Элм», 2007, т. 25, с. 170-180. (соавтор: Аскерова Т. А.)
2. Диагностика фенилкетонурии у новорожденных детей с помощью количественного иммуноферментного анализа фенилаланина в сухой пробе крови. / Материалы научной конференции, посвященной 75-летию профессора З.А. Зейналовой. Баку: «Тебиб», 2008, с. 223-225. (соавтор: Аскерова Т. А.)
3. Клинические проявления поражения центральной нервной системы у детей с гиперфенилаланинемией / Материалы научной конференции, посвященной 70-летию з.д.н., профессора А. А. Ахунбейли. Баку: «Нурлан», 2008, с.233 – 239. (соавтор: Аскерова Т. А.)
4. Динамика развития детей с гиперфенилаланинемией, выявленной в период новорожденности // Азербайджанский Журнал

- Метаболизма. Баку, 2009, т. 10, № 1, с. 8-11 (соавторы: Аскерова Т. А., Магалов Ш.И.)
5. Диагностическая значимость определения гиперфенилаланинемии среди новорожденных // Клиническая лабораторная диагностика», Москва: «Медицина», 2009, № 7, с. 18-20. (соавтор: Аскерова Т. А.)
  6. Некоторые современные аспекты диетотерапии при фенилкетонурии // Современные достижения азербайджанской медицины. Баку, 2010, № 1, с. 129-132. (соавтор: Аскерова Т. А.)
  7. Применение дополнительных лекарственных средств наряду с диетотерапией у детей, больных фенилкетонурией // Азербайджанский Журнал Фармакологии и Фармакотерапии. Баку, 2010, № 2, с. 46-49. (соавторы: Аскерова Т. А., Магалов Ш.И.)
  8. Выявление различных форм фенилкетонурии в ходе клинико-биохимического обследования новорожденных / Материалы международной научной конференции, посвященной 80-летию Азербайджанского Медицинского Университета, Баку: «Тебиб», 2010, с. 447-448. (соавтор: Аскерова Т. А.)
  9. Клинические и генетические формы, диагностика и лечение фенилкетонурии // Азербайджанский Медицинский Журнал. Баку, 2012, № 2, с. 167-170. (соавторы: Аскерова Т. А., Гасанова Ш.И.)
  10. Azərbaycan Respublikasının Xaçmaz rayonunun əhalisi arasında fenilketonuriyanın genetik heterogenliyi // Azərbaycan Tibb Jurnalı. Bakı, 2014, № 4, s. 57-61. (həmmüəllif: Əsgərova T.Ə.)

**FENİLKETONURİYALİ YENİDOĞULMUŞLARDA  
FENİLALANIN MÜBADİLƏSİNİN  
BİOKİMYƏVİ XÜSUSİYYƏTLƏRİ**

**Xülasə**

Tədqiqatın məqsədi – yenidoğulmuşlar arasında FKU-nun diaqnostikasının skrining metodlarının tətbiqi, qanında və sidiyində fenilalaninin səviyyəsi yüksək olan yenidoğulmuşların aşkar edilməsi, müayinə olunanlar arasında FKU-nun yayılma tezliyinin müəyyən-ləşdirilməsi, FKU xəstələrinin yeni müalicə sxemlərinin işlənilib-hazırlanması təşkil edir.

Tədqiqat işi 792 nəfər üzərində aparılmışdır. Onlardan 540 uşaq Bakı ş. M.X.Qasimov adına 1 saylı doğum evində dünyaya gələn yenidoğulmuşlar olmuşdur. Daha sonra hiperfenilalaninemiya (HFA) körpələrin 3 və 6 aylığında inkişaf dinamikasını izləmək məqsədi ilə Bakı ş. 1 saylı poliklinikasında qeydiyyatda olan 96 sağlam uşaq nəzarət qrupu qismində tədqiqat işinə cəlb olunmuşdur. FKU xəstəliyi olan uşaqların valideynləri (18 nəfər) müayinə olunmuşdur. Bundan əlavə, Azərbaycan respublikasının Xacmaz rayonunda 93 nəfər üzərində hiperfenilalaninemiyanın fenotipik və gen tezliyi öyrənilmişdir. Eyni zamanda, Uşaq nevroloji xəstəxanası 45 nəfər pasientləri arasında aminoasidopatiyaların skrining-diaqnostikası aparılmışdır.

Aparılmış tədqiqatlar nəticəsində məlum olmuşdur ki, müayinə olunan körpələr arasında FKU-nun yayılma tezliyi 7:540 (1,3%) nisbətində aşkar edilir. Onların arasında 6 (1,1 %) xəstədə klassik (homoziqot) forma və 36 (6,7%) xəstədə FKU daşıyıcılığı aşkar olunmuşdur. Tədqiqat zamanı həmçinin bir atipik FKU da qeyd olunmuşdur. FKU-nun genetik, biokimyəvi və kliniki poliformizmi aşkar edilmişdir. Fenilketonuriyalı uşaqların qanında amin turşuların disbalansı aşkarlanmışdır. Bundan əlavə, Uşaq nevroloji xəstəxanasında yatan xəstələr üzərində aparılan tədqiqatlar nəticəsində amin turşuların müdabilə pozuntuları aşkar olunmuşdur və nevroloji xəstə kontingentinə aminoasidopatiyaların skrining-diaqnostikasının aparılması zəruri hesab edilmişdir.

**Yagut Salman gizi Huseynli**

**BIOCHEMICAL FEATURES OF PHENYLALANINE  
METABOLISM IN NEWBORNS  
WITH PHENYLKETONURIA**

**Summary**

The purpose of this study is to conduct screening methods of diagnosis of phenylketonuria (PKU) among infants, the identification of infants with high levels of phenylalanine in the blood and urine analysis, revelation of the occurrence of PKU among the surveyed, the development of new treatment regimens of patients with PKU.

The study was conducted among 792 persons, different by sex, age, state of health. 540 of them are newborns from the maternity hospital No. 1 in Baku. Upon further examination for the comparative assessment of the dynamics of development in 3 and 6 months, children with hyperphenylalaninaemia (HPA) as a control we examined 96 healthy children. In addition, parents of patients with PKU were surveyed (18 persons). Further work was done on phenotypic and genetic research of the HPA frequency among persons identified in the Khachmaz region of the Azerbaijani Republic (93 persons). As well as screening was conducted Diagnostics of aminoacidopathies among patients of Pediatric neurological hospital.

The research revealed that the occurrence of PKU among examined newborns 7:540 (1.3%). Among them 6 cases (1.1%) classic PKU (homozygous) and 36 cases (6.7%) are heterozygous carriers of PKU. The study also revealed 1 case of atypical PKU. Discovered the genetic, biochemical, clinical polymorphism of PKU. Identified imbalance of amino acids in the blood of patients with PKU. Studies among patients of the Pediatric neurological hospital was established violations of the metabolism of amino acids, which confirmed the need to conduct screening diagnostics of aminoacidopathies among the contingent of neurological patients.



AZƏRBAYCAN RESPUBLİKASI  
SƏHİYYƏ NAZİRLİYİ

AZƏRBAYCAN TİBB UNİVERSİTETİ

*Əlyazması hüququnda*

**YAQUT SALMAN QIZI HÜSEYNLİ**

**FENİLKETONURİYALİ YENİDOĞULMUŞLARDA  
FENİLALANİN MÜBADİLƏSİNİN BİOKİMYƏVİ  
XÜSUSİYYƏTLƏRİ**

2406.02 – “Biokimya”

Tibb üzrə fəlsəfə doktoru elmi dərəcəsi almaq  
üçün təqdim edilmiş dissertasiyanın

**A V T O R E F E R A T I**

BAKİ – 2016