

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРОБЛЕМ ЗДОРОВЬЯ СЕМЬИ И РЕПРОДУКЦИИ ЧЕЛОВЕКА»

*На правах рукописи*

БОГОНОСОВА Галина Петровна

ОПТИМИЗАЦИЯ ДИАГНОСТИКИ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ  
С ТЯЖЕЛОЙ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ  
У ДЕТЕЙ ПЕРВЫХ МЕСЯЦЕВ ЖИЗНИ

3.1.21. Педиатрия

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
доктор медицинских наук  
Бугун Ольга Витальевна

Иркутск -2025

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>ВВЕДЕНИЕ.....</b>	<b>5</b>
<b>Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>	<b>14</b>
1.1. Наследственные болезни обмена веществ: определение, патофизиология, классификация .....	14
1.1.1. Определение, эпидемиология наследственных болезней обмена веществ...14	14
1.1.2. Патофизиология наследственных болезней обмена веществ .....	15
1.1.3. Классификация наследственных болезней обмена веществ .....	16
1.2. Аминоацидопатии, аминоацидурии и дефекты митохондриального $\beta$ -окисления жирных кислот .....	17
1.2.1. Общая характеристика группы.....17	17
1.2.2. Аминоацидопатии.....19	19
1.2.3. Органические ацидурии.....20	20
1.2.4. Дефекты митохондриального $\beta$ -окисления жирных кислот .....	21
1.3. Роль неонатального скрининга в диагностике наследственных заболеваний .21	21
1.3.1. История неонатального скрининга на наследственные заболевания .....	21
1.3.2. Роль тандемной масс-спектрометрии в развитии скрининга.....23	23
1.3.3. Секвенирование ДНК как будущее скрининга .....	26
1.3.4. Проблемы и ограничения массового скрининга .....	27
1.4. Неонатальный скрининг в Российской Федерации.....29	29
<b>Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....</b>	<b>34</b>
2.1. Объект и структура исследования .....	34
2.2. Методы исследования .....	38
2.2.1. Клинико-anamнестический метод .....	38
2.2.2. Лабораторные методы .....	39
2.2.3. Дополнительные методы исследования.....40	40

2.2.4. Скрининг пациентов с использованием метода тандемной масс-спектрометрии.....	40
2.2.5. Скрининг пациентов с использованием полноэкзомного секвенирования ..	41
2.2.6. Статистические методы исследования .....	42
<b>Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....</b>	<b>43</b>
3.1. Селективный скрининг на наследственные болезни обмена с использованием метода тандемной масс-спектрометрии.....	43
3.1.1. Клинико-лабораторная и инструментальная характеристика пациентов, прошедших селективный скрининг .....	44
3.1.2. Результаты селективного скрининга с использованием тандемной масс-спектрометрии.....	47
3.1.2.1. Клинический случай цитруллинемии I типа .....	53
3.1.2.2. Клинические случаи метилмалоновой ацидурии.....	55
3.1.2.3. Клинический случай гиперглицинемии.....	59
3.1.3. Сравнение концентрации аминокислот у пациентов разных клинических групп .....	60
3.1.4. Анализ исходов госпитализации обследованных пациентов .....	61
3.2. Селективный скрининг с использованием полноэкзомного секвенирования ..	65
3.2.1. Характеристика пациентов, прошедших селективный скрининг с секвенированием полного экзома .....	65
3.2.2. Результаты селективного экзомного скрининга новорожденных .....	69
3.2.3. Оценка эффективности полноэкзомного секвенирования в диагностике наследственных заболеваний и определение клинико-биохимических показателей, указывающих на их наличие.....	75
3.2.4. Описание клинических случаев гиперглицинемии у детей.....	77

3.2.5. Оценка роли наследственных болезней обмена веществ в структуре генетической патологии у детей .....	79
3.3. Оптимизация алгоритмов диагностики наследственных заболеваний у детей раннего возраста с отклонениями в состоянии здоровья .....	81
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ .....	84
ВЫВОДЫ.....	92
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	93
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	94
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	95
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	112
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 .....	114
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	115
ПРИЛОЖЕНИЕ 3.....	117

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

В настоящее время общенациональной проблемой Российской Федерации (РФ) является демографический кризис, который обусловлен низкой рождаемостью. На этом фоне пристальное внимание уделяется показателю младенческой смертности, и вызывает беспокойство тенденция роста инвалидизирующей патологии (Баранов А. А. и др., 2017). Согласно Указам Президента РФ «О стратегиях научно-технологического развития Российской Федерации» от 1.12.2016 № 642, «Об объявлении в Российской Федерации Десятилетия детства» от 29.05.2017 № 240, «О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года» от 07.05.2018 № 204, а также Посланию Президента РФ Федеральному Собранию в январе 2020 г. - необходимо принять все меры к изменению данной ситуации.

Серьезный вклад в структуру младенческой заболеваемости и смертности вносит наследственная и врожденная патология, характеризующаяся высокой летальностью и инвалидизацией (Воронин С. В., Куцев С. И., 2022, Dimmock D. et al., 2021). Наследственные болезни являются обширной гетерогенной группой заболеваний, для которых свойственны крайне разнообразные клинические и лабораторные проявления. В совокупности распространенность наследственных заболеваний может достигать 1 % среди населения (Воронин С. В., Куцев С. И., 2022), только группа наследственных болезней обмена веществ (НБО) включает 1450 нозологий (Ferreira C. R. et al., 2021); порядка 1000 генов ассоциированы с развитием моногенных заболеваний в детском возрасте (Schwartz T. S. et al., 2022).

Наследственные болезни обмена веществ могут характеризоваться острым началом и быстрым прогрессированием, во многих случаях с необратимым повреждением органов и систем, а также высокой летальностью, особенно при манифестации в неонатальном периоде (Строева Л. Е. и др., 2017). Клинические

проявления наследственных заболеваний различны, часто протекают под маской таких состояний, как сепсис, внутриутробные инфекции, перинатальное поражение центральной нервной системы (Ferreira C. R. et al., 2019). Для 150 форм НБО разработаны методы эффективной терапии (Печатникова Н. Л., 2017), однако задержка начала лечения нередко заканчивается летальным исходом или развитием необратимых изменений в организме. Диагностический поиск редкого наследственного заболевания может длиться несколько лет и не всегда заканчивается верным прижизненно установленным диагнозом (Воронин С. В., Куцев С. И., 2022).

Доклиническая диагностика и превентивное начало лечения стали применяться впервые в отношении фенилкетонурии (ФКУ) с 1962 года, эффективность ранней диагностики и лечения которой легли в основу внедрения и распространения массового неонатального скрининга новорожденных на наследственные заболевания (Kanugo S. et al., 2018, El-Hattab A. W., 2020), который на территории РФ начат с 1993 года. Знаковым научным прорывом стало внедрение тандемной масс-спектрометрии (ТМС) в диагностику НБО, что позволило расширить число одномоментно выявляемых заболеваний до нескольких десятков (Ma S. et al., 2020). В РФ метод ТМС внедрен в систему массового скрининга с 2023 года.

Однако, несмотря на расширение неонатального скрининга, своевременная диагностика генетической патологии к настоящему времени продолжает представлять большую проблему, так как число наследственных заболеваний, которые могут выявляться в детском возрасте, в том числе неонатальном периоде, значительно превышает количество расстройств, выявляемых по скринингу в любой из стран (Miller D.T. et al., 2021, Guo M. H. et al., 2019), и составляет более 6200 нозологий (Ziegler S. et al., 2023). За последние несколько десятилетий развитие молекулярно-генетических технологий увеличило возможность диагностики моногенных заболеваний, а их совершенствование и удешевление повысило доступность исследований (Roman T.S. et al., 2020, Adhikari A.N. et al., 2020). Ввиду этого перспективным направлением является использование

молекулярно-генетических методов диагностики, таких как NGS (next generation sequencing, секвенирование нового поколения), полноэкзомное секвенирование ДНК (WES-whole exome sequencing) в скрининге новорожденных (Friedman J. et al., 2017). Однако процесс расширения скрининга представляет тяжелую задачу с решением этических, материальных, технических проблем (Захарова Е.Ю. и др., 2017, Tarini V. A. et al., 2012). В то же время молекулярно-генетическое тестирование детей с отклонениями в состоянии здоровья позволяет улучшить диагностику наследственной патологии, в случае курабельности заболевания своевременно начать его лечение, проводить проспективное медико-генетическое консультирование, а также пренатальное/предимплантационное обследование в будущем для семьи. Ряд стран включает полноэкзомное секвенирование в стандарт диагностики почти всем тяжелобольным детям в отделениях интенсивной терапии (Adhikari A.N. et al., 2020, Veldman A., 2022). Исследования показывают, что генетические заболевания выявляются у 15% пациентов, поступающих в отделения реанимации, а при предварительном исключении негенетических причин, более чем в 50 % (Dimmock D. et al., 2021).

Важным направлением демографической политики является профилактика младенческой смертности и инвалидизации, в том числе за счет доклинической и ранней диагностики наследственных заболеваний, проведения прекоцепционной профилактики. В настоящее время опубликовано недостаточное количество работ, посвященных оценке роли наследственных, в том числе обменных болезней в структуре младенческой патологии, а отсутствие унифицированных алгоритмов диагностики приводит к недостаточному и несвоевременному выявлению генетических заболеваний. Ввиду того, что в большинстве своем наследственные заболевания являются орфанными, детальное описание клинической картины и лабораторных параметров является актуальной задачей и необходимо для повышения эффективности ранней диагностики. Своевременное установление наследственной патологии повышает эффективность ее лечения и профилактики. Это выгодно как по гуманистическим, социально-демографическим, так и по экономическим соображениям.

## **Цель исследования**

Разработать дополнительные алгоритмы диагностики наследственных заболеваний с тяжелой соматической патологией у детей первых месяцев жизни с целью организации своевременного персонализированного подхода к ведению таких пациентов.

## **Задачи исследования**

1. Выявить наследственные заболевания с тяжелой соматической патологией у детей первых месяцев жизни и изучить спектр и частоту поражения органов и систем у данной когорты пациентов.
2. Охарактеризовать особенности клинического течения наследственных болезней обмена у детей при дебюте заболевания в периоде новорожденности.
3. Определить связь наследственных заболеваний с возможными причинами неудовлетворительных исходов госпитализации детей первых месяцев жизни.
4. Оценить диагностическую роль клинико-биохимических показателей, указывающих на наличие реализованных наследственных заболеваний для разработки соответствующих алгоритмов их диагностики.

## **Научная новизна**

Установлено, что в 35,7 % случаев у детей с диагностированными врожденными аномалиями двух и более систем выявляются генетические нарушения.

Впервые констатировано, что генетические нарушения могут сочетаться в половине случаев с распространенными патологическими состояниями новорожденных, такими как асфиксия, недоношенность, вирусная и бактериальная инфекции.

Впервые показано, что использование полноэкзомного секвенирования в качестве метода селективного скрининга у пациентов первых месяцев жизни позволяет повысить выявляемость наследственных заболеваний в 4 раза.

Впервые выявлено 11 ранее не описанных вариантов в генах *SPEN*, *PKD1*, *ALDOB*, *PAK3*, *SPEG*, *FOXI3*, *TCF12*, *MYBPC3*, *COQ9*, *ZMIZ1*, *GRIN2A*.

Впервые подтверждена генно-фенотипическая связь варианта с.11630del, р.Gly3877AlafsTer68 в гене *PKD1* (The polycystic kidney disease 1, поликистозная болезнь почек 1) у ребенка с поликистозом почек.

Впервые на основании проведенных исследований предложены дополнительные алгоритмы диагностики наследственных заболеваний с тяжелой соматической патологией у детей первых месяцев жизни, позволяющие своевременно разработать персонализированную программу ведения пациента.

### **Теоретическая и практическая значимость исследования**

Проведение полноэкзомного секвенирования рекомендовано в качестве метода селективного скрининга у пациентов неонатальных отделений и первоочередно показано детям с врожденными пороками развития, включающими аномалии двух и более систем при отсутствии изменений по данным цитогенетического анализа, новорожденным с судорогами, а также по результатам тандемной масс-спектрометрии.

У всех детей первых месяцев жизни с симптомами поражения центральной нервной системы рекомендовано скрининговое определение концентрации аммиака в комплексе лабораторного обследования.

При поступлении ребенка первых месяцев жизни в тяжелом состоянии в стационар по экстренным показаниям рекомендован забор биологического материала (сухих пятен крови, мочи и венозной крови) до начала лечебных мероприятий для проведения возможных генетических тестов.

Важно учитывать, что наличие распространенных расстройств новорожденных, таких как асфиксия, недоношенность, инфекционная патология не должно рассматриваться как факторы, исключающие наследственное заболевание.

По результатам проведенных исследований разработаны дополнительные алгоритмы диагностики наследственных заболеваний у детей первых месяцев жизни.

Результаты исследования могут быть использованы в учебном процессе кафедр педиатрии, неонатологии, клинической генетики медицинских университетов.

### **Методология и методы исследования**

В исследование включены 227 детей первых трех месяцев жизни, проходивших лечение в отделениях неонатального профиля с различной патологией, тяжесть которых требовала нахождения в стационаре и проведения курации мультидисциплинарной командой. На первом этапе работы 146-ти детям проведен селективный скрининг методом ТМС. Среди них большая часть имела мультисистемную симптоматику с невозможностью выделить ведущий патологический параметр (n=54). Также были выделены группы пациентов с преимущественным поражением центральной нервной системы (ЦНС) (n=45), печени (n=15), сердечно-сосудистой системы (ССС) (n=12), расстройствами системы пищеварения (n=15), с изолированными лабораторными изменениями (n=5). По результатам обследования ТМС выявлено 5 случаев НБО: метилмалоновая ацидурия (n=3), цитруллинемия 1 типа (n=1), гиперглицинемия (n=1).

На втором этапе исследования проведен селективный скрининг 81-у новорожденному с использованием полноэкзомного секвенирования. Учитывая возможности метода, параметры для выполнения скрининга были расширены. На данном этапе в исследование включены дети, имеющие врожденные пороки развития, которые и составили самую большую группу (n=44). Также выделены группы пациентов с преимущественным поражением ЦНС (n=19), печени (n=6), расстройствами системы пищеварения (n=4), с поражением ССС, не связанным с пороками развития (n=2), объемными образованиями (n=4), подозрением на врожденную дисфункцию коры надпочечников (n=2). Среди обследованных методом полноэкзомного секвенирования каузативные варианты в генах выявлены у 13 пациентов, среди них у 2-х выявлено нарушение обмена аминокислот:

некетотическая гиперглицинемия (n=2). Кроме этого, у двух пациентов выявлены хромосомные аномалии.

У всех детей проведена оценка семейного, антенатального анамнеза, а также интранатального и раннего неонатального периодов жизни. В анализ лабораторных данных были включены общеклинические и биохимические параметры. Кроме этого, учитывались результаты ультразвуковых исследований головного мозга, сердца, органов брюшной полости и почек.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Более половины пациентов неонатальных отделений имеют мультисистемную симптоматику, обуславливающую тяжесть состояния и нуждаются в проведении полноэкзомного секвенирования для дифференциальной диагностики с заболеваниями других нозологических групп.

2. Наследственные заболевания наиболее часто ассоциируются с клиническими проявлениями поражения центральной нервной системы, в том числе у 46,2 % детей с генерализованными неонатальными судорогами.

3. Среди диагностированных наследственных заболеваний с тяжелой соматической патологией у детей первых месяцев жизни нарушения обмена аминокислот, органических и жирных кислот составляют 15,4%, что определяет недостаточность проведения только tandemной масс-спектрометрии в качестве скрининга у данной когорты.

4. Основой разработанных алгоритмов диагностики наследственных заболеваний у детей первых месяцев жизни явились оценка тяжести состояния при первичном осмотре, уровни повышения концентрации лактата и лактатдегидрогеназы и ответ на проводимую терапию.

### **Степень достоверности результатов исследования**

Достоверность результатов данной работы подтверждается количеством пациентов, включенных в исследование (227), использованием молекулярно-генетических методов, а также методами статистической обработки данных.

### **Личный вклад автора**

Автор лично принимал непосредственное участие в организации и проведении лечебно-диагностических мероприятий, сформулировал цель, задачи, дизайн исследования и этапы выполнения работы, сбор первичных клинико-лабораторных данных, проводил обработку, анализ, интерпретацию и обсуждение полученных результатов. Исследователем выполнены анализ медицинской документации и проспективное исследование согласно намеченному плану работы. Автор лично принимал участие в обследовании и лечении детей, включенных в данное исследование. Автором лично написана и оформлена рукопись диссертации. Все ключевые результаты исследования получены лично автором и неоднократно представлены на конференциях различного уровня.

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.1.21. Педиатрия в области клинической медицины, изучающей здоровье ребенка в процессе его развития, физиологию и патологию детского возраста, а также разработку методов диагностики, профилактики и лечения детских болезней.

Результаты исследования соответствуют паспорту специальности, а именно п. 1 – изучение патологических отклонений состояния функциональных систем детей в периодах новорожденности и раннего возраста, п. 3 – оптимизация научно-исследовательских подходов диагностики детей с хроническими рецидивирующими болезнями; п. 5 – разработка научных, методологических и практических подходов к ведению детей с врожденными пороками развития, наследственно обусловленными болезнями и нарушениями обмена веществ.

### **Апробация результатов исследования**

Основные положения диссертации и результаты работы представлены и доложены на II Съезде врачей Московской области с международным участием (Москва, 2021), конгрессах «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» (Томск,

2021; Иркутск, 2024); II и III ежегодных конференциях «Школа педиатра: орфанные заболевания» (Москва, Иркутск, 2022, 2023); областных научно-практических конференциях педиатров (Иркутск, март, октябрь 2023); на II, III Научно-практических конференциях врачей неонатологов и педиатров Иркутской области «Декабрьские чтения» (Иркутск, 2023, 2024); XXV, XXVI Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва 2024, 2025); VIII Международном медицинском форуме Донбасса «Наука побеждать... болезнь» (Донецк, 2024).

Апробация работы проведена на заседании ученого совета ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (протокол № 2 от 13 марта 2025 г.).

### **Внедрение результатов исследования в практику**

Результаты научно-исследовательской работы внедрены в клиническую работу отделений патологии новорожденных и недоношенных детей, анестезиологии, реанимации и интенсивной терапии новорожденных и детского хирургического отделения № 2 для новорожденных и недоношенных детей ОГАУЗ ГИМДКБ (Иркутск), отделения педиатрии Клиники ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск), а также внедрены в учебный процесс на кафедре клинической генетики ФГБОУ ВО ИГМУ Минздрава России (Иркутск).

### **Публикации результатов исследования**

По теме диссертации опубликовано 7 научных работ, из них 6 публикаций в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ для публикаций основных результатов диссертационных исследований на соискание ученой степени кандидата наук, индексируемых в базах SCOPUS, Web of Science.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 119 страницах, состоит из введения, четырех глав, выводов, практических рекомендаций, указателя литературы, включающего 156 источников литературы, среди них 40 отечественных и 116 зарубежных. Работа иллюстрирована 8 рисунками и 9 таблицами.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Наследственные болезни обмена веществ: определение, патофизиология, классификация

#### 1.1.1. Определение, эпидемиология наследственных болезней обмена веществ

Наследственная и врожденная патология составляет существенную часть общей заболеваемости и смертности населения, особенно детского возраста [1]. По данным ВОЗ, около 5% новорожденных страдают теми или иными наследственными нарушениями; 40% ранней младенческой смертности и инвалидности с детства обусловлены наследственными факторами [1,16]. Наследственные болезни обмена веществ (НБО) представляют собой обширную группу генетически детерминированных метаболических расстройств, включающую в себя более 1450 заболеваний [79]. Каждая нозологическая форма в отдельности встречается редко и, как правило, относится к орфанной патологии, то есть имеет распространенность менее чем 1:10 000 человек.

Понятие "редкие заболевания" появилось в Соединенных Штатах Америки (США) в середине 1980-х годов и было описано в законе «Об орфанных лекарствах 1984 года». В нашей стране данный термин был введен Федеральным законом № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации» в 2011 году [17]. Несмотря на низкую распространенность каждого отдельно взятого обменного заболевания, при совместной оценке НБО встречаются с частотой 1:500-1:3 000 человек [73, 92] и представляют серьезную социальную проблему [109].

К формированию обменных заболеваний приводят дефекты в генах, кодирующих работу ферментов и белков, которые катализируют различные биохимические реакции в организме [14].

Метаболизм человека включает множество биохимических реакций, которые могут нарушаться в результате генетических мутаций, что обуславливает большое число нозологических форм НБО [23]. Следует отметить, что каждое заболевание распространено неравномерно на разных географических территориях земного шара [64, 137, 144]. Большое влияние на частоту оказывает этническая принадлежность [84], плотность населения, вступление в кровнородственные браки [15].

Началом изучения обменных заболеваний можно считать начало XX столетия, когда в 1908 году был введен термин НБО или врожденные нарушения метаболизма после публикации Арчибалдом Гарродом статьи в журнале «The Lancet», посвященной алкаптонурии [43].

### **1.1.2. Патофизиология наследственных болезней обмена веществ**

НБО относятся к моногенным заболеваниям, то есть обусловлены возникновением патологического варианта в структуре определенного гена; в результате нарушается нормальное функционирование ферментов, кофакторов или транспортных белков, выполняющих разные функции в метаболизме клетки [79]. В геноме человека закодировано примерно 1653 метаболических фермента, участвующих в распаде, производстве или взаимобращении различных малых молекул, называемых «метаболитами» [119], которые представляют собой соединения с низкой молекулярной массой. Таким образом, метаболомика является разделом науки, изучающим метаболиты, в том числе методы их определения [119].

Метаболиты включают в себя строительные блоки, такие как аминокислоты, нуклеотиды, сигнальные агенты, сфинголипиды, гормоны и многочисленные промежуточные продукты, возникающие во время их образования, распада или конверсии [127].

Вследствие дефекта функционирования ферментов, кофакторов и транспортных белков нарушается биохимическая реакция преобразования одного

соединения в другое, в результате чего содержание метаболитов, образованных до заблокированной реакции, повышается, а концентрация веществ, которые должны синтезироваться в ходе данной реакции, снижается [77, 119]. Также избыточное накопление промежуточных метаболитов приводит к формированию альтернативного биохимического пути с образованием новых, в том числе токсичных для организма веществ [101].

Отсутствие патогномичных клинических признаков для многих нозологических форм в сочетании с редкой встречаемостью влечет за собой низкую диагностику НБО [76, 104]. Без лечебных мероприятий НБО склонны к прогрессированию, поэтому, учитывая их суммарную распространенность, имеют весомый вклад в инвалидизацию и смертность в первую очередь детского населения [13]. Лечение указанных болезней представляет непростую задачу и требует вовлеченности мультидисциплинарной команды [109, 121].

Активное изучение НБО стало возможным благодаря развитию методов лабораторной диагностики, позволяющих выявлять специфические для различных заболеваний метаболиты [56]. Их повышенное содержание оказывает постоянное неблагоприятное токсическое действие на различные органы и системы [118]. Ввиду этого важным является не только возможность диагностики, но и время ее проведения, так как успешность лечения во многом определяется сроком его начала [59, 108, 138].

### **1.1.3. Классификация наследственных болезней обмена веществ**

Ввиду большого числа нозологических форм классификация НБО сложна. Первая их классификация относится к 1960 году; в ней выделены 10 групп нарушений, влияющих на обмен углеводов, аминокислот, липидов, стероидов, пуринов и пиримидинов, металлов, порфиринов, системы кроветворения, почечного канальцевого транспорта и белков плазмы [80]. В последующие годы учеными предлагались разные классификации. Так, в 1982 году Sinclair L. предложена классификация, основанная на патофизиологических механизмах. В

2014 году обществом по изучению врожденных нарушений обмена веществ (SSIEM) НБО распределены в соответствии с конкретным биохимическим путем развития заболевания [80].

Наиболее современная классификация НБО (ICIMD) разработана группой ученых из Национального исследовательского института генома в США во главе с Карлосом Р. Феррейра (Carlos R. Ferreira) в 2021 году [80], где НБО разделены на 24 категории и 124 группы заболеваний (Приложение 1). Данная классификация одобрена Обществом по изучению врожденных нарушений обмена веществ (SSIEM), Обществом наследственных метаболических заболеваний (SIMD) и рядом других научных организаций [80].

## **1.2. Аминоацидопатии, аминоацидурии и дефекты митохондриального $\beta$ -окисления жирных кислот**

### **1.2.1. Общая характеристика группы**

Одними из самых распространенных НБО являются аминокислотопатии, аминоацидурии (органические ацидурии, ОА) и дефекты митохондриального  $\beta$ -окисления жирных кислот (ОЖК) [10, 11], при которых нарушается метаболизм аминокислот, органических и жирных кислот [10, 119]. Данные группы включают более 100 нозологических единиц и имеют суммарную распространенность порядка 1: 2 000 - 1: 3 000 новорожденных [11].

Аминокислотопатии, ОА и дефекты митохондриального  $\beta$ -ОЖК в большинстве случаев характеризуются появлением симптомов в первые дни или недели жизни [120]. Ранняя манифестация ассоциирована с тяжелым течением заболевания и быстрым прогрессивным ухудшением состояния, во многих случаях с необратимым повреждением органов и систем и высокой вероятностью летального исхода [60].

В генеалогическом анамнезе могут быть данные о близкородственном браке и аналогичных симптомах у родственников [27], в акушерском - о случаях выкидышей, замерших беременностей и мертворождений [27]. В то же время

фетальный и интранатальный периоды зачастую протекают без особенностей, ребенок рождается в срок со средними весоростовыми параметрами и удовлетворительной оценкой по шкале Апгар [105]. Ввиду этого неожиданное ухудшение состояния новорожденного возникает словно «гром среди ясного неба» как для родителей ребенка, так и для медицинского персонала. А высокая вариабельность симптомов и быстрое прогрессирование болезни затрудняют диагностику и значительно сужают окно терапевтических возможностей [63, 105]. Учитывая схожесть симптомов, НБО могут протекать под маской таких состояний, как асфиксия, перинатальное поражение центральной нервной системы (ЦНС), родовая травма, внутриутробная инфекция [79].

Безусловно, не только нарушения обмена аминокислот (АК), органических (ОК) и жирных кислот (ЖК) могут приводить к раннему и быстрому ухудшению самочувствия. Однако данные заболевания достаточно хорошо поддаются лечению при своевременном начале за счет диетической коррекции, применения витаминов, являющихся кофакторами биохимических реакций, и метаболически активных веществ [34, 95].

Первичная диагностика НБО основана на выявлении высокой концентрации метаболитов, которые являются известными биомаркерами определенного ферментативного блока [114]. На первом этапе диагностики нарушений обмена АК и ЖК определяется содержание АК и ацилкарнитинов в пятнах высушенной крови методом тандемной масс-спектрометрии (ТМС) [66]. Для подтверждения диагноза используются молекулярно-генетические методы, такие как массовое параллельное секвенирование, секвенирование по Сэнгеру [119]. Высокий научный интерес к заболеваниям данных групп обусловлен возможностью проведения быстрой диагностики путем выявления высокоспецифичных биохимических маркеров методом ТМС и наличием разработанных методов лечения, применение которых может улучшить клинический исход заболевания [92, 119, 137].

Основные критерии, позволяющие заподозрить аминокислотопатию, ОА и дефекты митохондриального  $\beta$ -ОЖК:

- быстро прогрессирующее поражение ЦНС в виде угнетения сознания до сопора или комы, судорог, метаболической энцефалопатии [105];
- гепатомегалия (гепатоспленомегалия);
- кардиомиопатия [73];
- лабораторные изменения: гипогликемия, метаболический ацидоз, гипераммонемия, повышение концентрации АСТ/АЛТ более 1,5 норм [105, 132];
- анамнестические данные о случаях младенческой смерти в семье, выкидышей, мертворождений [31, 133].

### 1.2.2. Аминоацидопатии

Аминокислоты являются строительными блоками структурных белков и ферментов [43]. Жизненно важные соединения (цитохромы, гем, гормоны, меланин, нейротрансмиттеры, нуклеотиды/нуклеиновые кислоты) также образуются на основе АК [43,101]. Глюкоза и ее производные (гликоген) тоже могут синтезироваться из скелетов углерода для поддержания гликемии в критических ситуациях [43, 133].

Выделяют 20 протеиногенных АК у человека, которые участвуют в биосинтезе белка. Девять из них относятся к незаменимым, одиннадцать - к заменимым. Фенилаланин, гистидин, изолейцин, лейцин, валин метионин, триптофан, лизин треонин поступают в организм с пищей и не могут быть образованы эндогенно [43]. Среди заменимых АК из глюкозы синтезируются аланин, аргинин, аспарагин, аспартат, глутамат, глутамин, глицин, пролин и серин; из фенилаланина - тирозин, из метионина - цистеин [43].

Ферменты катализируют биосинтез, деградацию или перенос АК; отклонения их функции приводят к различным НБО, относящимся к аминоацидопатиям (Приложение 2) [43, 117,118].

При аминоацидопатиях измененная активность ферментов приводит к двум основным неблагоприятным последствиям: нарушается выработка необходимого продукта, и организм испытывает дефицит данного вещества; непреобразованный

ферментом субстрат накапливается, оказывая токсическое воздействие на организм. Кроме этого, повышение промежуточных метаболитов запускает альтернативную биохимическую реакцию с образованием нового, токсичного для человека продукта [44]. Диагностика аминокислотопатий основана на выявлении измененных концентраций АК в крови при выполнении ТМС (Приложение 2) [24].

### 1.2.3. Органические ацидурии

К нарушению метаболизма аминокислот относятся и ОА [99]. В отличие от аминокислотопатий, при заболеваниях данной группы, кроме нарушения обмена АК, страдает метаболизм и других веществ, таких как ЖК и холестерин [83, 156]. ОК являются промежуточными продуктами деградации АК [106]. Поскольку ОК синтезируются на дистальных этапах аминокислотного катаболизма, концентрация АК при ОА остается в норме в отличие от аминокислотопатий. В крови накапливаются определенные для разных заболеваний ацилкарнитины (Приложение 2), являющиеся промежуточными продуктами обмена веществ. Концентрация ацилкарнитинов, как и АК, определяется по ТМС. При этом специфичным для ОА является накопление ОК в моче [99]. Следует отметить, что важную роль в метаболизме играют некоторые витамины, которые являются кофакторами биохимических реакций; ввиду этого нарушение синтеза витаминов также приводит к развитию заболевания [125].

Промежуточные метаболиты ОК токсичны для головного мозга, печени, почек, поджелудочной железы, сетчатки и других органов [30]. Ведущими клиническими проявлениями ОА являются: нарушение вскармливания, рвота, снижение двигательной активности, мышечная гипотония, судороги, гипотермия, необычный запах от тела, нарушение сознания, полиорганная недостаточность [30]. Типичные лабораторные изменения включают метаболический ацидоз, гипогликемию, повышенный уровень трансаминаз [73, 106, 134].

#### **1.2.4. Дефекты митохондриального $\beta$ -окисления жирных кислот**

Для дефектов митохондриального  $\beta$ -ОЖК, как и для ОА, характерно изменение концентрации ацилкарнитинов в крови по результатам ТМС (Приложение 2). ЖК транспортируются в митохондрии, где они катаболизируются посредством  $\beta$ -окисления с образованием молекул ацетил-КоА [103]. Нарушения окисления ЖК являются результатом дефекта их переноса через митохондриальную мембрану или непосредственно расстройством  $\beta$ -окисления [111]. Недостаточная продукция кетоновых тел в сочетании с ингибированием глюконеогенеза приводят к низкой концентрации ацетил-КоА в организме [103]. Во время катаболических состояний (голодание, инфекционный процесс, физическая нагрузка, операции) ЖК не могут быть преобразованы в энергию; в этом случае расходуется глюкоза с развитием гипокетотической гипогликемии [111]. Кроме того, жир, высвобождаемый из жировой ткани, накапливается в печени, скелетных мышцах и сердце, приводя к их дисфункции [73]. Повышение токсичных длинноцепочечных ацилкарнитинов, особенно при нарушениях окисления длинноцепочечных ЖК, вызывает тяжелый неонатальный лактатацидоз [30,148]. Более мягкие формы могут дебютировать в любом возрасте патологией скелетных мышц в виде миопатии, миалгии и рецидивирующего рабдомиолиза [37].

### **1.3. Роль неонатального скрининга в диагностике наследственных заболеваний**

#### **1.3.1. История неонатального скрининга на наследственные заболевания**

Доказательство связи времени начала терапии и ее эффективности легло в основу создания неонатального скрининга на НБО [100]. Неонатальный скрининг на врожденные и (или) наследственные заболевания представляет собой массовое (безотборное) обследование новорожденных на врожденные и (или) наследственные болезни для их раннего доклинического выявления и

своевременного лечения с целью профилактики ранней смерти и инвалидизации детей [4]. Фенилкетонурия (ФКУ) является первым заболеванием, в отношении которого начал применяться неонатальный скрининг [93]. ФКУ описана в 1934 году норвежским врачом Асбьёрном Феллингом, обнаружившим повышение фенилкетонов в моче у двух сибсов, страдающих умственной отсталостью [100]. Позднее, в 1953 году, немецкий врач Херст Бикель доказал положительное влияние ограничения потребления фенилаланина с пищей на самочувствие больных ФКУ [32,100].

Вдохновившись идеей, что раннее начало диетотерапии может уменьшить проявления умственной отсталости у детей, американский ученый Роберт Гатри в конце 50-х годов XX века активно занимался разработкой лабораторной диагностики, которая совмещала бы в себе эффективность, простоту выполнения и низкую стоимость [100]. В результате в 1961 году появился тест с использованием высушенных пятен цельной крови, взятой из пятки у детей и нанесенной на фильтровальную бумагу [100]. Этот метод показал большую достоверность в сравнении с «тестом мокрых пеленок», выявлявшим больных ФКУ по зеленому окрашиванию мочи при смешивании с хлоридом железа за счет выделения с мочой пировиноградной кислоты [94]. Пилотное проведение неонатального скрининга на ФКУ началось с 1961 года, когда несколько госпиталей в городе Джеймстоуне, штат Нью-Йорк (США), стали тестировать всех новорожденных на повышение фенилаланина в пятнах высушенной крови [93, 94].

Успехи в диагностике ФКУ по результатам неонатального скрининга, наряду с высокой клинической эффективностью раннего начала диетотерапии, дали толчок к активному изучению лабораторных маркеров метаболических заболеваний [102]. Еще на этапе трудовой деятельности Роберта Гатри была собрана группа ученых, которым удалось установить биохимические маркеры порядка 30 метаболических заболеваний [93]. С этого времени началась эпоха неонатального скрининга. Эффективное выявление ФКУ у новорожденных повлекло за собой активное расширение скрининговых программ [62, 153]. В разных странах вслед за ФКУ внедрялось обследование новорожденных на

врожденный гипотиреоз, врожденную гиперплазию коры надпочечников, муковисцидоз, галактоземию и другую наследственную патологию [124]. Таким образом, целью неонатального скрининга является раннее выявление поддающихся лечению заболеваний и улучшение клинических исходов за счет старта лечебных мероприятий на начальных стадиях болезни [60, 142].

В настоящее время в разном объеме неонатальный скрининг применяется на всех 5 континентах [51] и ежегодно проводится порядка 140 миллионам новорожденных [143]. С момента создания теста для диагностики ФКУ и до настоящего времени для проведения неонатального скрининга на НБО используются высушенные пятна крови [116].

### **1.3.2. Роль тандемной масс-спектрометрии в развитии скрининга**

Конец XX века ознаменовался развитием высокопроизводительных мультиплексных технологий [119]. Так, прорывом в эпохе неонатального скрининга стало внедрение ТМС для определения спектра АК и ацилкарнитинов [56, 107]. Основное преимущество данного метода заключается в возможности диагностики большого числа заболеваний в одном пятне крови за один аналитический прогон [53, 97].

В основе ТМС лежит детекция молекулярной массы аналита, его идентификация и количественное определение [97]. Все масс-спектрометры используют 3 основных процесса: ионизация, масс-анализ и детекция [66, 86]. Ионизация требуется для преобразования веществ в газовые формы. Могут использоваться такие методы ионизации, как электронная, химическая или электрораспылительная [86]. В дальнейшем представляющие интерес соединения отделяют от смеси веществ. Это достигается с помощью жидкостной или газовой хроматографии, после чего ионы распределяются по массе и заряду и считываются детектором [57].

Данный метод позволил изменить традиционный подход к скринингу, в котором в одном образце крови одним тестом определялся один маркер одного

заболевания [53]. Впервые метод ТМС в программе массового скрининга был применен в США в 1999 году в штате Северная Каролина [124]. Идеальный тест для проведения массового неонатального скрининга должен быть быстрым, надежным, точным, экономичным [56]. ТМС отвечает этим требованиям [52].

Невозможно не отметить, что в начале XXI века расширение неонатального скрининга стало одним из основных изменений в программах общественного здравоохранения [47,70]. Система массового скрининга как нельзя лучше отвечает принципам 4П медицины. Данная концепция, предложенная президентом Института системной биологии г. Сиэтл Лерой Худ, включает такие критерии, как персонализация, предикция, превентивность и партисипативность [129].

Реализация программы массового неонатального скрининга зависит от местных ресурсов и системы здравоохранения [129]. С момента создания и до текущего времени ведущие позиции в количестве определяемых по скринингу заболеваний сохраняют США. Согласно действующим рекомендациям в их скрининговую программу включены 35 основных и 26 дополнительных нозологий [126,150, 151]. Ввиду того, что НБО распространены на территории земного шара неравномерно [58], а также у разных этнических групп уровень определяемых метаболитов может отличаться [15, 28,130], в США каждый штат может включать разное количество заболеваний в программу скрининга [74, 97] и использовать разные пороговые значения определяемых метаболитов [110].

Успехи лабораторной диагностики опережают терапевтические возможности [60]. Еще в середине XX века был создан этический комитет, целью которого являлось обсуждение целесообразности включения определенного заболевания в программу массового скрининга новорожденных. Фундаментальной работой является труд Уилсона и Джангера (Wilson and Junger) «Принципы и практика скрининга на выявление заболеваний» [50, 119], в котором авторы разработали традиционные критерии отбора для включения заболеваний в скрининговую программу [48, 66, 85].

В последующем, в мае 2000 года, комитет общественной и профессиональной политики Европейского общества генетики человека (ESHG) опубликовал

доработанную экспертами 15 европейских стран систему правил, стандартов и мер безопасности для организации и проведения генетических скрининговых программ [23]. Основными критериями, необходимыми для включения болезни в программу скрининга, названы следующие:

- заболевание должно быть четко описано клинически и биохимически;
- болезнь должна представлять значимую проблему (высокую степень инвалидизации и смертности);
- распространенность заболевания должна составлять не менее 1:10 000–1:15 000 новорожденных;
- процедура скрининга должна быть приемлемой и корректной для пациента и общества;
- тест для проведения скрининга должен иметь адекватную стоимость;
- болезнь должна иметь готовое, апробированное лечение, эффективное на доклиническом этапе [24].

В зависимости от эффективности методов лечения генетические заболевания можно распределить по группам:

- расстройства, при которых вовремя начатое лечение позволяет предотвратить тяжелые последствия для организма;
- болезни, при которых ранняя медицинская помощь предотвращает выраженность клинических проявлений в острой фазе, но не изменяет отдаленные осложнения;
- заболевания, при которых эффективность своевременно начатого лечения сомнительна;
- нозологии, при которых не удастся предотвратить ущерб здоровью [68].

Однако ввиду постоянного научного поиска, появления новых терапевтических возможностей [91], положение заболеваний внутри групп может меняться; те, которые еще вчера не подходили под необходимые критерии включения в программу массового скрининга, уже завтра могут быть в нее включены [81, 142]. Таким образом, разработка диагностических технологий и эффективных методов лечения, безусловно, влечет за собой расширение программ неонатального скрининга [69, 87, 149].

### 1.3.3. Секвенирование ДНК как будущее скрининга

Следующим научным прорывом в возможностях неонатального скрининга стало внедрение полноэкзомного (WES) и полногеномного (WGS) секвенирования [67,147], возможности которых позволяют диагностировать множество заболеваний при выполнении одного анализа [98].

Экзом составляет 1-2 % от генома, однако в экземе находятся более 89 % генов, патологические изменения в которых ассоциированы с развитием моногенных болезней [45,65]. По этой причине, а также учитывая более низкие материальные и временные затраты, чаще используется полноэкзомное секвенирование [135]. Исследование всего экзома стало возможно благодаря методу высокопроизводительного параллельного секвенирования (массовое параллельное секвенирование, секвенирование нового поколения, NGS), который позволяет исследовать последовательность множества генов одновременно [9, 36,55]. Данная методика потенциально позволяет увеличить число тестируемых заболеваний до нескольких тысяч, включая генетически гетерогенные состояния и крайне редкие расстройства [9, 89, 152].

Следует отметить, что большая часть генетических заболеваний остается недиагностированной [49,78]. Известно, что число нозологий, которые могут выявляться в детском, в том числе в неонатальном возрасте, значительно превышает количество патологий, определяемых по скринингу в настоящее время в любой из стран [49, 90, 113]. Кроме того, некоторые заболевания не могут быть выявлены иначе, как при проведении генетического секвенирования [145]. Современные технологии позволяют диагностировать порядка 4300 генетических заболеваний [154]. База OMIM (Online mendelian inheritance in man) содержит более 4700 генов с вариантами, вызывающими фенотипические особенности [40], Clinvar – более 1 500 000 аллелей и более 12 000 вариантов, значимость которых подтверждена экспертным сообществом [40]. Около 1000 генов ассоциированы с развитием моногенных заболеваний у детей [136].

Для оценки значимости находок варианты в генах оцениваются на основе 3 критериев:

- связь гена с заболеванием;
- патогенность варианта;
- возрастные проявления заболевания [146].

В разных странах проводятся пилотные проекты по применению высокопроизводительного секвенирования для неонатального скрининга [96], такие как NBSseq, NEXUS, Babyseq, NGS-first [40, 54]; также в ряде стран полноэкзомное секвенирование включено в стандарт диагностики почти всем тяжелобольным детям в отделениях интенсивной терапии [42, 147, 154].

При всей привлекательности WES следует учитывать, что с расширением диагностической способности метода увеличивается и количество ложноположительных результатов. При исследовании выявляются как больные, так и носители болезней [9, 122]. А часть обнаруженных вариантов в генах не приводят к нарушениям в состоянии здоровья [122]. Между тем детям с ложноположительными анализами приходится проходить диагностические и лечебные мероприятия, которые им не требовались [9].

#### **1.3.4. Проблемы и ограничения массового скрининга**

Современные тесты позволяют одновременно выявлять множество заболеваний, включая крайне редкие и не поддающиеся лечению [15, 71]. Таким образом, многие диагностированные болезни не будут подходить под все критерии включения в программу массового скрининга [71]. Необходимо отметить, что любые методы не имеют абсолютной достоверности, даже при высокой чувствительности и специфичности. Кроме этого, не исключены как технические, так и человеческие ошибки на каждом этапе исследования. Поэтому массовый скрининг помимо очевидной пользы может создавать определенные проблемы [123]. Среди них, увеличение числа ложноположительных результатов при расширении панели скрининга [41, 56]. Так, проведенная в США оценка

свидетельствует о выявлении ложноположительных результатов более чем у 51 000 детей ежегодно при скрининге нескольких десятков заболеваний даже при высокой специфичности теста (99,9%) [48].

Преимущества WES в виде возможности одномоментной диагностики большого числа нозологий являются одновременно и его недостатками в контексте массового скрининга [75, 89]. Ведь каждое заболевание перед включением в программу скрининга подвергается обсуждению. Задача скрининга состоит в ранней диагностике болезни, что приводит к своевременному началу лечения и улучшению прогноза для жизни [85, 155]. Немаловажным аспектом скрининга является экономия государственных ресурсов за счет начала терапии на ранних стадиях патологического процесса [115].

В случае WES, дискуссия по каждому включаемому в программу скрининга заболеванию невозможна. При массовом внедрении у клинически здоровых новорожденных будут обнаруживаться манифестирующие у взрослых расстройства [128], варианты неопределенной клинической значимости и болезни, для которых не разработано лечение [136]. Основным смыслом скрининга является улучшение состояния здоровья ребенка, уменьшение тяжести симптомов. Ввиду этого стоит ли выявлять заболевания у здоровых на текущий момент детей, если для них нет лечения, остается вопросом [140].

На пути внедрения массового скрининга стоят проблемы этического характера, такие как потеря автономии человека. Нельзя не учитывать, что полученная при скрининге информация влияет на состояние в семье в целом. Его результаты не только вызывают психологический стресс у родителей [82], но и приводят к стигматизации человека с повышенным генетическим риском как внутри семьи, так и в обществе в целом [85]. В этой связи при решении вопроса о включении позднестартовых заболеваний и болезней, не имеющих лечения, в программу массового скрининга необходимо проработать этические аспекты, такие как добровольность исследования, защита конфиденциальности полученных данных, дискриминация по генетическим признакам [14].

Расширение неонатального скрининга связано с высокими экономическими затратами [141]. К потенциальным проблемам относятся долгосрочные затраты, которые включают, помимо расходов на забор, доставку и анализ проб, стоимость длительного наблюдения и лечения. Так, несмотря на существующие законы, пациенты с ФКУ в США сталкиваются с барьерами возмещения специализированного питания как в государственных, так и в частных системах, которые ставят под угрозу приверженность терапии и результаты лечения [88].

Ключевым моментом является не только сохранить жизнь, но и обеспечить дальнейшее качество жизни [131]. Ввиду этого при включении заболевания в программу скрининга необходимо четко очерчивать не только этап его диагностики, но и внедрять программы дальнейшего ведения пациента как в детском возрасте, так и при переходе во взрослую сеть.

Большое число генетических, в том числе обменных расстройств, их высокая суммарная распространенность в сочетании с возможностью диагностики и лечения обеспечит дальнейшую потребность в изучении данной темы [60, 112].

#### **1.4. Неонатальный скрининг в Российской Федерации**

Эпохой становления медико-генетической службы России можно считать конец 80-х годов XX столетия, когда в номенклатуру врачебных специальностей были включены «врач-генетик» и «врач лаборант-генетик», что способствовало организации службы медико-генетического консультирования [1]. На территории РФ неонатальный скрининг на НБО начат в 1993 году с внедрения обследования на ФКУ и врожденный гипотиреоз [28, 38], а с 2006 года - на муковисцидоз, адреногенитальный синдром и галактоземию [2, 28,33,39].

Каждый этап расширения скрининговой программы связан с возрастанием финансовых затрат, увеличением нагрузки на кадровый состав и необходимостью разработки алгоритма действий. Программа скрининга на любое заболевание должна включать в себя последовательность необходимых частей: обучение, тестирование, контроль, диагностика, лечение, управление и оценка [1, 2, 21, 29].

Путь становления неонатального скрининга в РФ не был гладким. Помимо очевидных экономических и кадровых трудностей, отмечались проблемы недостаточного охвата, логистические сложности как доставки первично взятого материала, так и своевременный забор ретестов, поздние сроки подтверждения диагноза и начала лечения. За тридцатилетний период существования скрининга в РФ была проведена большая работа по улучшению его организации [16].

Проведение массового скрининга является трудоемкой и дорогостоящей программой, поэтому перед его внедрением на государственном уровне, происходит процесс запуска пилотных проектов. Указанные проекты, проводимые на ограниченной территории, позволяют протестировать оборудование, выявить проблемы, разработать пути решения. С 2011 года в РФ для скрининга НБО стали применять метод ТМС [27]. Первым регионом, внедрившим технологию ТМС для проведения неонатального скрининга, стала Свердловская область в 2012 году [8, 19, 39]. С 2016 года селективный скрининг на редкие НБО с использованием ТМС начат на базе Морозовской детской городской клинической больницы [35]. Этот опыт позволил в 2018 году на территории Москвы расширить массовый скрининг до 11 заболеваний [22]; к основному перечню нозологий добавились глутаровая ацидурия типа I, тирозинемия типа I, лейциноз, метилмалоновая/пропионовая ацидурии, недостаточность биотинидазы и среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот [16].

Важным шагом на пути расширения массового скрининга на врожденные заболевания стало то, что с 2017 года ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» внедрил программу обследования на НБО с использованием ТМС и ферментодиагностики лизосомных болезней накопления у детей с подозрением на метаболические расстройства [16]. Это позволило отработать методику проведения ТМС и повысить доступность диагностики обменных заболеваний.

Опираясь на опыт зарубежных коллег, результаты пилотных отечественных проектов, ведущими педиатрами, во главе с академиками А. А. Барановым и Л. С. Намазовой-Барановой, неоднократно поднимался вопрос о расширении

неонатального скрининга [13]. При определении нозологий, специалисты руководствовались в том числе перечнем жизнеугрожающих и хронических прогрессирующих орфанных заболеваний, приводящих к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности [7]. Помимо заболеваний, вошедших в программу расширенного неонатального скрининга, предлагалось включить в нее ряд лизосомных болезней накопления (болезни Фабри, Гоше, Помпе, мукополисахаридозы I, II, VI типов), при которых применяется патогенетическая терапия с помощью препаратов, зарегистрированных на территории РФ [13].

В РФ вопрос о поэтапном расширении скрининга новорожденных вошел в перечень поручений Президента Правительству РФ при обсуждении «Национальной стратегии действий в интересах детей» в ноябре 2016 г. [25]. Согласно указу Президента РФ от 7 мая 2018 г. № 204 "О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года», к 2024 году была поставлена цель снизить целевой показатель младенческой смертности до 4,5 случая на 1 000 родившихся детей [6], что также способствовало расширению программы массового неонатального скрининга, так как смерть в результате врожденной и наследственной патологии занимает второе место в структуре младенческой смертности [27].

С 1 января 2023 года на территории РФ неонатальный скрининг расширен до 36 заболеваний (Приложение 3). Значительный прирост числа выявляемых нозологий обеспечен за счет внедрения ТМС. Организация массового неонатального скрининга регламентируется приказом Минздрава России № 274н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи пациентам с врожденными и (или) наследственными заболеваниями» [4].

Одной из сохраняющихся проблем как диагностики, так и лечения орфанных заболеваний, является зависимость от зарубежных технологий. В учреждениях медицинской генетики используются в основном дорогостоящие зарубежные медицинские технологии (оборудование, расходные материалы) [25]. Одной из задач, сформулированных в указе Президента РФ от 29.05.2017 № 240 "Об

объявлении в Российской Федерации Десятилетия детства» является обеспечение полного цикла производства на территории РФ стратегически необходимых лекарственных средств и изделий медицинского назначения для лечения детей и подростков [5].

Следует отметить, что исключительно расширением скрининга не заканчивается решение проблемы. Как верно в своей работе отметила С. С. Дерябина: «Необходима разработка целой системы мероприятий, которая предусматривает обязательное консультирование семьи, дополнительные клинические или генетические исследования для установления диагноза, а в случае подтверждения последнего — обеспечение больного ребенка лечением, постоянное наблюдение за ним» [19].

Академиком А. А. Барановым высказан крайне важный постулат: «Наряду со снижением младенческой смертности, как общепризнанного показателя социального благополучия населения, таким же приоритетным направлением социальной политики государства должны стать профилактика детской инвалидности и эффективная социальная и медицинская реабилитация детей с ограниченными возможностями здоровья» [12].

Несмотря на расширение массового неонатального скрининга, нельзя забывать о том, что количество орфанных заболеваний намного выше числа выявляемых по скринингу. Следует помнить, что при самых высокоспецифичных методах диагностики сохраняется вероятность получения ложноотрицательных и ложноположительных результатов. Поэтому массовый скрининг не исключает проведение селективного у пациентов, имеющих набор определенных клинических критериев. Также требуется более широкое применение молекулярно-генетических методов диагностики в случае, если диагноз остается неясен [154].

Таким образом, изучив доступную из отечественных и зарубежных источников информацию по изучаемой теме, можно заключить, что диагностика наследственных, в том числе моногенных заболеваний, является актуальной проблемой ввиду общей распространенности, тяжести течения и невозможности постановки диагноза по клиническим данным и стандартным лабораторным

тестам. Представленная литература свидетельствует о вероятной гиподиагностике наследственной патологии у детей раннего возраста за счет схожей симптоматики с болезнями других нозологических групп. Внедрение и увеличение доступности современных лабораторных методов выявления генетических расстройств, а также расширение возможностей их терапии и профилактики обосновывают необходимость проведенного нами исследования.

## **Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (далее по тексту ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ), г. Иркутск (директор – член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук Рычкова Л. В.). Отбор и ведение детей осуществлялись на базе Областного государственного учреждения здравоохранения «Городская Ивано-Матренинская детская клиническая больница» (ОГАУЗ ГИМДКБ), г. Иркутск (главный врач – д.м.н., профессор Новожилов В. А.). Анализ образцов крови методом ТМС проводился в ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ. Молекулярно-генетическая диагностика на первом этапе исследования выполнялась в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (ФГБНУ МГНЦ), г. Москва (директор-академик РАН, доктор медицинских наук Куцев С.И.), на втором этапе - в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ (ФГБУ НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова), г. Москва (директор - академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ Сухих Г. Т.). Сроки выполнения работы: 2020-2024 г.

### **2.1. Объект и структура исследования**

Объектом исследования стали дети первых трех месяцев жизни, находившиеся на лечении в отделениях патологии, хирургии и реанимации новорожденных ОГАУЗ ГИМДКБ по поводу различной соматической патологии и имевшие отклонения в неврологическом статусе, поражение внутренних органов, метаболические нарушения.

Исследование выполнялось в 2 этапа (Рисунок 1). Селективный скрининг на наследственные заболевания проведен 227-и детям, из них 146 - с использованием ТМС и 81 - полноэкзомного секвенирования.

*Критерии включения в исследование:*

- подписанное законными представителями информированное согласие на участие в исследовании;
- возраст на момент исследования менее 3 месяцев;
- тяжесть состояния, требующая нахождения пациента в стационаре и проведения курации мультидисциплинарной командой;
- наличие у ребенка двух и более параметров, представленных в таблице 1.

*Критерии исключения из исследования:*

- отказ законных представителей от участия в исследовании;
- наличие у ребенка ранее подтвержденного генетического заболевания;
- проведение гемотрансфузии в течение 30 дней до момента забора крови для второго этапа исследования.

Все пациенты, вошедшие в исследование, были распределены на группы по преобладающей симптоматике для удобства оценки клинического фенотипа. У законных представителей обследованных были собраны семейный анамнез, истории жизни и заболевания ребенка; проведено измерение антропометрических показателей, зафиксированы лабораторные и инструментальные данные.

Для решения первой задачи осуществлен селективный скрининг с использованием метода ТМС (n=146) и полноэкзомного секвенирования (n=81). Для оценки спектра и частоты поражения органов и систем пациенты были распределены по клиническим фенотипам. При положительных результатах скрининга проводилась подтверждающая молекулярно-генетическая диагностика методами массового параллельного секвенирования (для I этапа) и секвенирования по Сэнгеру (для I и II этапов).

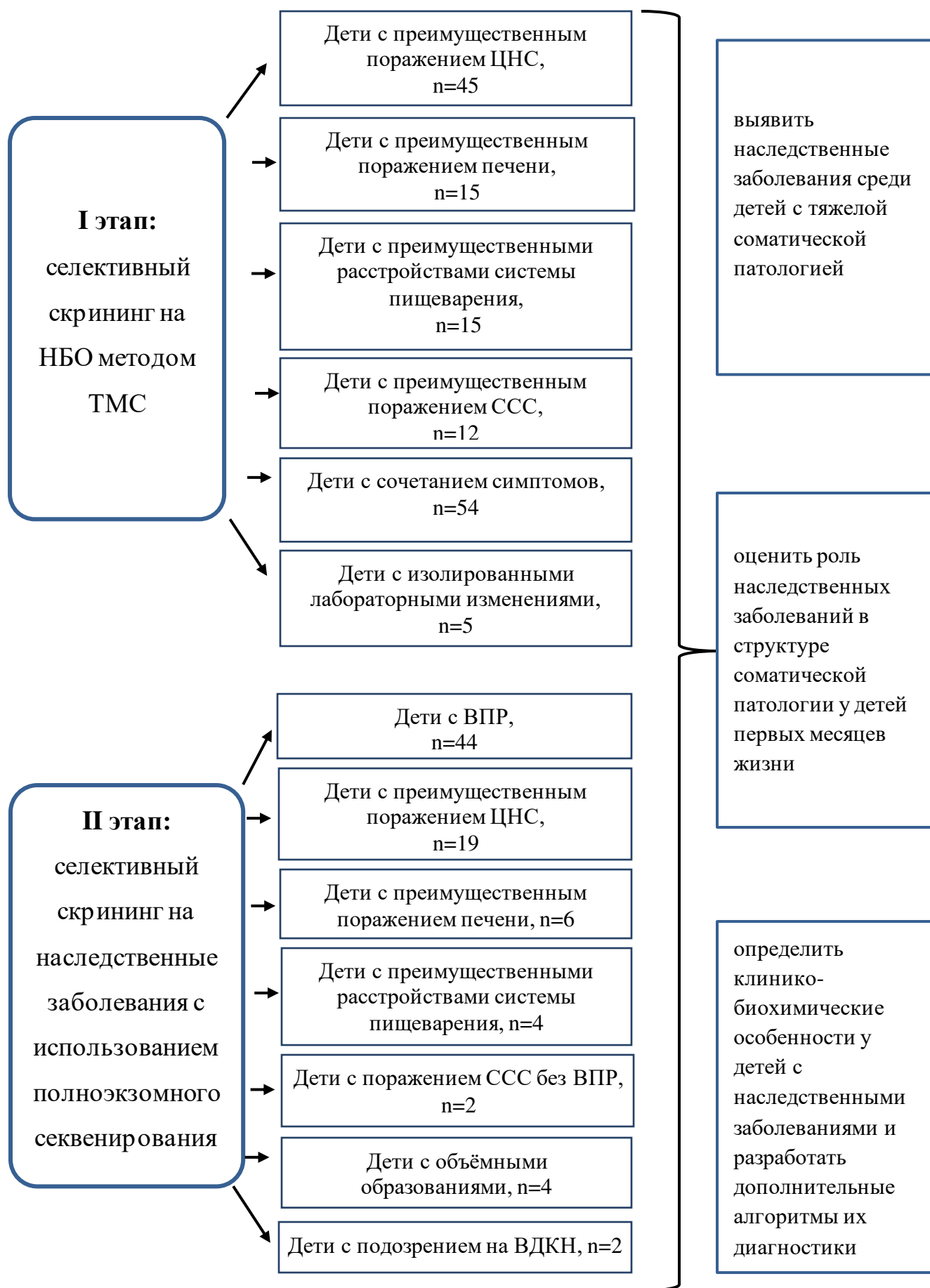


Рисунок 1 - Дизайн исследования

Таблица 1 - Параметры включения в исследование

<b>Перинатальный анамнез</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ухудшение состояния после светлого промежутка</li> <li>* врожденный порок развития</li> <li>* объемные образования</li> <li>* группа риска по результатам неонатального скрининга</li> </ul>
<b>Семейный анамнез</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• родственный брак</li> <li>• выкидыши и замершие беременности в анамнезе</li> <li>• случаи младенческой гибели в семье</li> <li>• диагностированное генетическое заболевание у родителя или сибса</li> <li>• наличие сходных симптомов у родителя или сибса</li> </ul>
<b>Нервно-мышечная система</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• судороги</li> <li>• нарушение сознания</li> <li>• синдром угнетения ЦНС</li> <li>• синдром повышенной нервно-рефлекторной возбудимости</li> <li>• структурные нарушения головного мозга</li> <li>• нарушение мышечного тонуса</li> </ul>
<b>Сердечно-сосудистая система</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• аритмия</li> <li>• кардиомиопатия</li> <li>• гипертрофия миокарда</li> </ul>
<b>Расстройства пищеварения</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• дисфагия</li> <li>• повторная рвота</li> <li>• отказ от еды</li> <li>• нарушение перистальтики</li> <li>• дефицит массы тела</li> </ul>
<b>Лабораторные и инструментальные нарушения</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• тромбоцитопения, лейкопения</li> <li>• нарушение гликемия</li> <li>• персистирующая/преходящая лактатемия</li> <li>• метаболический ацидоз</li> <li>• повышение КФК после 3 суток жизни</li> <li>• повышение концентрации прямого билирубина к общему</li> <li>• повышение АЛТ/АСТ</li> <li>• повышение/снижение ЩФ</li> <li>• гипер/гипокальциемия</li> <li>• гипераммонемия</li> <li>• повышение/снижение концентрации мочевины</li> <li>• кетонурия</li> <li>• гепатомегалия</li> <li>• спленоmegалия</li> </ul>

Примечание: \*- для II этапа исследования.

В рамках второй задачи проведен анализ клинико-биохимических параметров, результатов лечения у пациентов с диагностированными НБО и представлено описание клинических случаев данных заболеваний.

Третья задача включала в себя анализ результатов госпитализации пациентов с определением возможных причин неудовлетворительных результатов лечения, связи с наследственными заболеваниями и параметров, позволяющий их прогнозировать.

Четвертая задача состояла в проведении сравнительного анализа клинико-лабораторных показателей у пациентов с генетическими нарушениями с последующей разработкой дополнительных алгоритмов диагностики наследственных заболеваний у детей первых месяцев жизни с тяжелой соматической патологией.

Исследование является проспективным, нерандомизированным и моноцентровым.

Научно-исследовательская работа «Оптимизация диагностики наследственных заболеваний с тяжелой соматической патологией у детей первых месяцев жизни» проведена в соответствии с этическими принципами медицинских исследований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (2013) и одобрена локальным этическим комитетом ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск), выписка № 8.1 от 16.11.2020 г.

## **2.2. Методы исследования**

### **2.2.1. Клинико-anamnestический метод**

При анализе анамнестических данных оценивался семейный, акушерский анамнез, а также истории жизни и болезни. Семейный анамнез включал в себя сведения о возрасте и национальности родителей, о близкородственных браках, о схожих клинических случаях у старших детей. При сборе акушерского анамнеза учитывались наличие сопутствующей патологии у матери, число и исходы предыдущих беременностей, а также особенности течения настоящей. Анамнез

жизни и болезни включал данные о сроке гестации, физических параметрах при рождении, оценке по шкале Апгар, возрасте появления симптомов, наличии светлого промежутка с удовлетворительным состоянием после рождения.

### **2.2.2. Лабораторные методы**

Обследование пациентов включало набор стандартных лабораторных исследований, выполненных на базе ОГАУЗ ГИМДКБ. Всем детям назначались общие анализы крови (ОАК) и мочи (ОАМ), анализы кислотно-щелочного состояния (КЩС) и биохимических параметров с определением сахара и электролитов крови, общего белка, мочевины, креатинина, фракций билирубина, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), креатинфосфокиназы (КФК), щелочной фосфатазы (ЩФ), С-реактивного белка (СРБ), железа сыворотки, ферритина. Кроме этого, им проводился скрининг на TORCH-инфекции (цитомегаловирусная инфекция, вирус простого герпеса I, II типа, токсоплазма) методами иммуноферментного анализа (ИФА) и полимерной цепной реакции (ПЦР). При нарушении функции печени и подозрении на коагулопатию выполнялась коагулограмма, которая включала фибриноген, активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), протромбиновое (ПВ) и тромбиновое время (ТВ), международное нормализованное отношение (МНО). Концентрация аммиака крови определялась аммониметром Pocket Chem BA PA-4140 с использованием тест-полосок arkray у пациентов с синдромом угнетения центральной нервной системы. ОАК выполнялся на приборе mindray BC-6000, КЩС – ABL 800 FLEX, биохимический анализ – на приборе mindray BS – 240 Pro, коагулограмма – Insula 500. Для выполнения анализов использовались стандартные реактивы фирм-производителей.

### **2.2.3. Дополнительные методы исследования**

Дополнительные методы включали проведение нейросонографии, эхокардиографии, ультразвукового исследования брюшной полости и почек, электрокардиографии, выполненных на аппарате mindray DC-8. Данные лучевых методов диагностики в анализе не учитывались ввиду небольшого охвата пациентов сходными исследованиями.

### **2.2.4. Скрининг пациентов с использованием метода тандемной масс-спектрометрии**

Всем пациентам первой группы определялись концентрации аминокислот и ацилкарнитинов методом ТМС.

Материалом для исследования были сухие пятна капиллярной крови детей, взятые согласно стандартным рекомендациям на фильтровальные бумажные тест-бланки Whatman 903. Забор образцов крови производился из пятки или пальца ребенка.

ТМС выполнялась на базе лаборатории ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ, г Иркутск. Для определения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови использовался набор реагентов «MassChrom® Amino Acids and Acylcarnitines from Dried Blood» (Chromsystems, Германия). Исследование осуществлялось методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с тандемной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС) на приборе «Shimadzu LCMS-8060» (Shimadzu, Япония).

При превышении референсного значения образцы периферической крови подвергались ретесту. В случае высоких показателей по результатам второго анализа, биоматериал направлялся в ФГБНУ МГНЦ. Для подтверждающей диагностики проводились анализ органических кислот мочи методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией (ГХ-МС), массовое параллельное секвенирование и секвенирование по Сэнгеру на базе ФГБНУ МГНЦ.

Всем пациентам второй группы анализ ТМС был выполнен в рамках расширенного неонатального скрининга в декретированные сроки согласно Приказу Министерства Здравоохранения РФ от 21 апреля 2022 г. № 274н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи пациентам с врожденными (или) наследственными заболеваниями» [4].

### **2.2.5. Скрининг пациентов с использованием полноэкзомного секвенирования**

Второй этап работы проводился в рамках реализации регионального пилотного проекта по проведению селективного скрининга новорожденных с использованием полноэкзомного секвенирования, осуществляемого на базе ФГБУ НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова.

Для исследования использовалась венозная кровь детей, забранная в пробирки с ЭДТА в объеме не менее 1 мл. Биоматериал до момента доставки хранился не более пяти суток после забора при температуре от 2 до 4 С. Доставка проводилась с хладоэлементами. В случае проведения у ребенка трансфузии компонентов донорской крови забор биоматериала на исследование осуществлялся не ранее, чем через 4 недели после проведенной гемотрансфузии.

Полноэкзомное секвенирование ДНК пациентов выполнялось на платформе NovaSeq 6000 (WES, whole exome sequencing, секвенирование полного экзома). Для обогащения использовался набор IDT ×Gen™ Exome Hyb Panel v2 или Illumina Exome 2.0 Plus согласно инструкциям производителя.

Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использовалась база данных Genome Aggregation Database (gnomAD). Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов применялись базы данных OMIM, ClinVar и LOVD.

Оценка клинической значимости (патогенности) выявленных вариантов проводилась на основе рекомендации ACMG и российских рекомендаций по

интерпретации данных, полученных методами высокопроизводительного секвенирования [36].

Для подтверждающей диагностики при необходимости проводились секвенирование по Сэнгеру, хромосомный микроматричный анализ (ХМА), секвенирование экзома родителей.

### 2.2.6. Статистические методы исследования

Параметры пациентов и полученные результаты вносились в компьютерную базу данных, где проводилась их последующая статистическая обработка с использованием специальных программ (STATISTICA, MedCalc, Numbers).

Для определения нормальности распределения количественных показателей использовались критерии Шапиро-Уилка (при числе исследуемых менее 50) и Колмогорова-Смирнова (при числе исследуемых более 50).

Ввиду того, что распределение большинства признаков отличалось от нормального, для описания количественных переменных использовались медиана (М), первый (25%) и третий (75%) квартили. Категориальные данные представлены в виде абсолютных значений и процентных долей.

Для проведения сравнительного анализа пациенты распределялись на две независимые группы с применением непараметрического теста Мана-Уитни (Mann – Whitney U-test) для количественных признаков и критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ) для качественных. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ , высокодостоверными при  $p < 0,01$ .

Также анализ таблиц сопряженности  $2 \times 2$  с определением критерия  $\chi^2$  использовался для оценки значимости различий в количестве установленных наследственных заболеваний между группами пациентов, обследованных на разных этапах.

Для определения значимости влияния изучаемых параметров на исход госпитализации применялся метод логистической регрессии с построением ROC-кривых, уровень статистической значимости был принят равным  $p < 0,05$ .

### Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1. Селективный скрининг на наследственные болезни обмена с использованием метода тандемной масс-спектрометрии

На первом этапе исследования проведен селективный скрининг на НБО (аминоацидопатии, ОА, дефекты митохондриального  $\beta$ -ОЖК) с применением метода ТМС у детей первых 3 месяцев жизни с различной соматической патологией. Всего обследовано 146 пациентов, из них 84 мальчика (57,5 %) и 62 девочки (42,5 %). Медиана веса составила 3070 г. (LQ 2645; UQ 3440), длины тела - 50 см. (LQ 47; UQ 52). Среди обследованных 33/146 (22,6 %) родились недоношенными на сроке гестации от 23 до 36 недель. У 111/146 (76,0 %) детей состояние после рождения расценивалось как удовлетворительное. Асфиксия при рождении констатирована у 38/146 (26,0%) новорожденных, при этом в 8/146 (5,5 %) случаях - тяжелая, а в 30/146 (20,5%) - асфиксия средней степени тяжести.

Пациенты были распределены на группы по преобладающей симптоматике (Рисунок 2): с преимущественным поражением ЦНС (n=45), печени (n=15), сердечно-сосудистой системы (n=12), с расстройствами системы пищеварения (n=15), с изолированными лабораторными изменениями (n=5); самой большой группой среди обследованных стали дети с сочетанным поражением органов и систем, у которых выделить ведущий патологический признак не представлялось возможным (n=54).



Рисунок 2 - Распределение пациентов по преобладающей симптоматике

### 3.1.1. Клинико-лабораторная и инструментальная характеристика пациентов, прошедших селективный скрининг

Наибольшая группа обследованных представлена пациентами с сочетанным поражением органов, так как выявить превалирующую симптоматику не представлялось возможным.

Самыми распространенными были патологические изменения со стороны ЦНС. Признаки ее поражения выявлены у 105/146 (71,9 %) детей, при этом в 48/105 (45,7 %) случаях зафиксированы судороги, в остальных 57/105 (54,3 %) - констатировано угнетение ЦНС и/или нарушение мышечного тонуса.

Инструментальные изменения по данным нейросонографии (НСГ) наблюдались у 86/146 (58,9 %) пациентов, из которых наиболее часто - у 51/86 (59,3%) встречались гипоксические проявления в виде гиперэхогенности паренхимы головного мозга. Расширение ликворных пространств диагностировано у 34/86 (39,5 %) детей, кистозные изменения головного мозга - у 17/86 (19,8 %),

геморрагическое поражение ЦНС - у 13/86 (15,1 %), лейкоэнцефаломалиция - у 11/86 (12,8 %), признаки отека головного мозга - у 8/86 (9,3 %).

Среди обследованных патология функции печени выявлена у 43/146 (29,4%) пациентов, из них синдром холестаза отмечен у 28/43 (65,1 %), цитолиза - у 43/43 (100 %), нарушение белков-синтетической функции печени - у 27/43 (62,8 %).

Медиана концентрации прямого билирубина у пациентов с холестазом составила 98 мкмоль/л (LQ=56,2; UQ=145), Me прямой фракции - 61% от общего билирубина (LQ 45,5; UQ 75,5). Щелочная фосфатаза (ЩФ) была повышена у 25/146 (17,1%) пациентов с медианой 712 Ед/л (LQ=566; UQ=765), при этом 17/25 (68,0 %) были дети с синдромом холестаза.

Цитолиз наблюдался у всех пациентов с поражением печени. Медиана концентрации аспартатаминотрансферазы (АСТ) была выше аланинаминотрансферазы (АЛТ) и составила 274 Ед/л (LQ=124,5; UQ=392,3), в то время как АЛТ - 175 Ед/л (LQ=78; UQ=209). Цитолиз умеренной и высокой активности выявлен у 19/43 (44,2 %) детей с повышением печеночных ферментов более трех норм, в остальных 24/43 (55,8 %) случаях активность цитолиза была низкой. Высокая концентрация лактатдегидрогеназы (ЛДГ) обнаружена у 38/146 (26,0 %) обследованных с Me 784 Ед/л (LQ=533,5; UQ=907,7), вместе с тем только лишь у 9/38 (23,7%) повышение ЛДГ сочеталось с увеличением печеночных ферментов.

Снижение концентрации фибриногена, как маркера печеночно-клеточной недостаточности, отмечено у 27/43 (62,8 %) пациентов с поражением печени. Медиана его концентрации составила 1,2 г/л (LQ=0,7; UQ=1,8). Снижение содержания мочевины, как маркера нарушения ее синтеза в печени, выявлено лишь у 3/43 (6,9%) детей с Me 0,75 ммоль/л (LQ=0,56; UQ=0,9).

По данным ультразвуковой диагностики печень была увеличена у 39/146 (26,7 %) пациентов, медиана косовертикального размера (КВР) у них равнялась 62 мм (LQ 59,5; UQ 66,0). Спленомегалия наблюдалась реже, у 21/146 (14,3 %) обследованных, и в большинстве случаев, у 18/21 (85,7%), сочеталась с

гепатомегалией. Размер селезенки в длину при ее увеличении составил  $Me=59$  мм ( $LQ=50$ ;  $UQ=61$ ).

Патологические симптомы со стороны ССС диагностированы у 45/146 (30,8%) пациентов, среди них нарушение сердечного ритма (НРС) без структурных изменений выявлено у 24/45 (53,3 %) детей, у 21/45 (46,6 %) преобладающими были эхокардиографические признаки поражения ССС, в большинстве случаев также сочетающиеся с электрокардиографическими изменениями.

Среди НРС чаще всего, у 30/45 (66,6 %) больных, встречались синусовые аритмии. Следует отметить, что тахикардии наблюдались значительно чаще (25/45, 55,5 %) в сравнении с брадикардиями (5/45, 11,1 %). Несинусовые НРС зафиксированы у 4/45 (8,8 %) среди пациентов с поражением ССС. Нередкой находкой по данным ЭКГ стала экстрасистолия, у 10/45 (22,2 %), с той же частотой констатировалось наличие атриовентрикулярной блокады. Кроме этого, по ЭКГ выявлены изменения интервалов PQ (у 10/45, 22,2 %) и QT (у 13/45, 28,8%). Самым редким электрокардиографическим синдромом был WPW (Вольф - Паркинсона-Уайта), поставленный 3/45 (6,6 %) детям с поражением ССС.

По результатам эхокардиографии (ЭХО-КГ) гипертрофия миокарда описана у 11/45 (24,4%) с  $Me$  толщины межжелудочковой перегородки 0,5 см. ( $LQ$  0,4,  $UQ$  0,6). Другими изменениями по ЭХО-КГ были: дилатация камер сердца (у 14/45, 31,1 %), клапанная недостаточность (у 5/45, 11,1 %), легочная гипертензия (у 9/45, 20,0 %). При этом 10/45 (22,2 %) имели различные врожденные пороки развития ССС.

Повышение креатинфосфокиназы (КФК), как возможного маркера повреждения сердечной мускулатуры, отмечалось у 17/146 (11,6 %) детей, медиана ее концентрации составила 1010 Ед/л ( $LQ=687$ ;  $UQ=1241$ ). Однако среди данных пациентов лишь у троих были эхографические признаки поражения сердца, у двоих - гипертрофия миокарда и у одного - снижение его сократительной функции.

В разной степени расстройства системы пищеварения наблюдались у 71/146 (48,6 %) обследованных. Так, симптомы рвоты и срыгивания отмечены у 54/71 (76,0 %), нарушение перистальтики - у 18/71 (25,3 %), отказ от еды и/или

потребность в зондовом питании - у 48/71 (67,6 %). Следует отметить, что недостаточная прибавка массы тела после рождения была частым симптомом и фиксировалась у 64/146 (43,8 %) детей.

Из пяти пациентов, основной причиной к проведению обследования которых послужили имеющиеся лабораторные изменения, у 3/5 (60,0 %) констатировано повышение лактата с медианой показателя 5,6 ммоль/л (LQ=4,6; UQ=6,2). Нарушения гликемии также отмечены у 3/5 (60,0 %) обследованных, при этом у двух выявлено снижение концентрации глюкозы до 1,3 и 1,4 ммоль/л, у одного - ее повышение до 18 ммоль/л. У одного ребенка (1/5, 20,0 %) было значительное повышение КФК - 2148 Ед/л, ЩФ - 1148 Ед/л и ЛДГ - 2296 Ед/л.

При анализе лабораторных данных всех обследованных пациентов, нарушение гликемии выявлено у 58/146 (39,7 %), из них у 21/146 (14,4 %) - гипергликемия с Me концентрации глюкозы 8,4 ммоль/л (LQ=6,9; UQ=9,7), у 37/146 - гипогликемия с Me сахара крови 2,4 ммоль/л (LQ=1,8; UQ=2,8). Декомпенсация кислотно-основного состояния имела у 27/146 (18,5 %), среди них ацидоз был у 15/27 (55,5 %) с медианой показателя pH 7,16 (LQ=7,13; UQ=7,24), а алкалоз - у 12/27 (44,5 %) с Me pH 7,48 (LQ=7,47; UQ=7,5). Важно отметить, что в 11/15 (73,3 %) случаях ацидоз носил метаболический характер с Me  $\text{HCO}_3$  14,3 ммоль/л (LQ=13,9; UQ=19,6). Лактат был повышен у 81/146 (55,5 %) детей, его медиана составила 4,2 ммоль/л (LQ=2,6; UQ=4,8).

Измерение концентрации аммиака не применялось в качестве рутинного метода лабораторной диагностики и проведено лишь у 19/146 (13,0 %) пациентов, преимущественно имевших нарушение сознания. Медиана его показателя равнялась 187 мкг/дл (LQ=115; UQ=255).

### **3.1.2. Результаты селективного скрининга с использованием тандемной масс-спектрометрии**

При проведении селективного скрининга с использованием ТМС нарушения обмена веществ выявлены у 5/146 (3,4%) обследованных. У 3/5 (60 %) детей

диагностирована метилмалоновая ацидурия, у 1/5 (20 %) - цитруллинемия I типа, у 1/5 (20 %) получены биохимические маркеры, соответствующие некототической гиперглицинемии. Однако в последнем случае молекулярно-генетическое подтверждение не выполнено.

Ниже представлены клинико-лабораторные и молекулярно-генетические характеристики пациентов с диагностированными нарушениями обмена веществ.

При проведении анализа семейного и акушерского анамнеза отягчающие факторы выявлены у 4/5 (80,0 %) детей; наиболее часто, в 3/5 (60,0 %) случаях, встречались данные о спонтанном прерывании беременности, в 1/5 (20,0 %) - о кровнородственном браке, в 1/5 (20,0 %) - о смерти детей в семье в младенчестве, также в 1/5 (20,0 %) - об использовании технологии экстракорпорального оплодотворения. Все женщины имели разное число беременностей (LQ=1; UQ=9), причём у 4/5 (80,0 %) матерей текущая беременность не была первой. Медиана возраста рожениц составила 31,2 года (LQ=28; UQ=36), отцов - 35 (LQ=29; UQ=42). Угроза прерывания беременности наблюдалась в 4/5 (80,0 %) случаях.

В таблице 2 представлена клинико-антропометрическая характеристика пациентов с выявленными нарушениями обмена.

Таблица 2 - Клинико-антропометрическая характеристика пациентов с НБО

Параметр	Показатель	
	мальчики, n=4	девочки, n=1
Пол		
Вес тела при рождении, г.	3070 (LQ 2470; UQ 3130)	
Длина тела при рождении, см.	50 (LQ 48; UQ 50)	
Оценка по шкале Апгар на 1-й минуте, баллы	7 (LQ 6; UQ 8)	
Оценка по шкале Апгар на 5-й минуте, баллы	8 (LQ 7; UQ 9)	
Доношенные, n (%)	4 (80,0 %)	
ЗВУР, n (%)	1 (20,0 %)	
Светлый промежуток после рождения, n (%)	4 (80,0 %)	
Возраст дебюта, сут.	2 (LQ 2; UQ 3)	

Среди детей с выявленными обменными нарушениями мальчиков было больше, чем девочек (четыре против одной). Большинство родились в срок и с удовлетворительными оценками по шкале Апгар. В обоих случаях асфиксии, последняя была средней степени тяжести с улучшением параметров к 5-й минуте. Малый вес к сроку гестации отмечен лишь у одного ребенка. У всех представленных пациентов заболевание дебютировало в раннем неонатальном периоде. Большинство новорожденных имели светлый промежуток после рождения с удовлетворительным самочувствием, только у одного состояние с рождения расценено как тяжелое на фоне нарастания дыхательной недостаточности в результате реализации респираторного дистресс-синдрома.

У всех пациентов данной группы заболевание манифестировало симптомами поражения ЦНС, у 4/5 (80,0 %) - прогрессирующим угнетением сознания, у 1/5 (20,0 %) - судорожными эквивалентами. Изменения общепределяемых лабораторных и инструментальных параметров появлялись с некоторым опозданием от клинических проявлений, и 4/5 (80,0 %) детей не имели их грубых отклонений при первичном определении.

В таблице 3 представлены лабораторные данные пациентов с нарушением обмена веществ.

Таблица 3 - Лабораторная характеристика пациентов с нарушением обмена веществ

Параметр	Норма	Пациенты с НБО, n=5 Me (LQ; UQ)	Группа сравнения, n=141 Me (LQ; UQ)	p
Сахар крови, ммоль/л	3,3 - 5,5	<b>5,5 (LQ=2,9; UQ=9,5)</b>	4 (LQ=3,2; UQ=4,8)	0,07
Калий, ммоль/л	3,5-5,5	5,2 (LQ=4,7; UQ=5,8)	5,4 (LQ=4,7; UQ=5,8)	0,8
Натрий, ммоль/л	135-145	142 (LQ=137; UQ=145)	137 (LQ=135; UQ=138)	0,07
Хлор, ммоль/л	97-115	111 (LQ=105; UQ=120)	106 (LQ=104; UQ=109)	0,28
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,15-1,3	1,2 (LQ=1,12; UQ=1,3)	1,3 (LQ=1,22; UQ=1,32)	0,4

Продолжение таблицы 3

рН	7,28 -7,4	7,32 (LQ=7,29; UQ=7,39)	7,35 (LQ=7,31; UQ=7,4)	0,4
Лактат, ммоль/л	<2,2	<b>6,4 (LQ= 4,7; UQ =6,5)</b>	2,4 (LQ= 1,7; UQ =3,3)	<b>0,04</b>
НСО <sub>3</sub> , ммоль/л	22-26	<b>16,3 (LQ=14,5; UQ=18,7)</b>	23,2 (LQ=21,0; UQ=24,7)	<b>0,03</b>
Билирубин общий, мкмоль/л	<256	60,7 (LQ=10; UQ=83)	70,8 (LQ=24; UQ=164)	0,28
Билирубин прямой, мкмоль/л	<17	8,9 (LQ=3,7; UQ=13)	7 (LQ=4,7; UQ=14)	0,7
АСТ, Ед/л	<77	79,4 (LQ=34; UQ=139)	40 (LQ=27; UQ=93)	0,6
АЛТ, Ед/л	<54	33 (LQ=16; UQ=40)	29 (LQ=15,8; UQ=61)	0,8
Аммиак, мкг/дл	<150	<b>337 (LQ=238; UQ=400)</b>	176 (LQ=112; UQ=192)	0,06
СРБ, мг/л	<5	4,2 (LQ=1,2; UQ=8)	0 (LQ=0; UQ=1,9)	0,1
Тромбоциты, 10 <sup>9</sup>	160-400	139,6 (LQ=88; UQ=182)	319(LQ=187; UQ=426)	<b>0,02</b>
Фибриноген, г/л	2-4	1,6 (LQ=0,5; UQ=2,7)	2,3 (LQ=1,8; UQ=2,8)	0,5
МНО	0,9-1,5	2,7 (LQ=1,3; UQ=2,9)	1,2 (LQ=1,1; UQ=1,4)	0,2
АПТВ, сек	22-38	30,9 (LQ=39; UQ=49,7)	36 (LQ=32,4; UQ=39)	0,1
ПВ, сек	10-18	34,9 (LQ=15,4; UQ=45)	15(LQ=13,6; UQ=16,8)	0,4
ТВ, сек	12-19	30,9 (LQ=19,9; UQ=37,5)	18,7(LQ=17,5; UQ=20,4)	0,2
Общий белок, г/л	41-68	51,2 (LQ=45; UQ=58)	54 (LQ=49,7; UQ=58)	0,4
Мочевина, ммоль/л	1,5-7	5,2 (LQ=2,2; UQ=5,5)	3,2 (LQ=2,7; UQ=4,1)	0,8
Креатинин, мкмоль/л	18-80	92 (LQ=54; UQ=112)	38 (LQ=32; UQ=48)	0,07
ЛДГ, Ед/л	<451	<b>758 (LQ=451,7; UQ=1056,5)</b>	320(LQ=268; UQ=456,5)	0,1
ЩФ, Ед/л	75-316	174 (LQ=144,7; UQ=197,7)	255 (LQ=195,5; UQ=410)	<b>0,03</b>

При оценке электролитов крови наиболее часто изменения касались уровня глюкозы. Нарушения гликемии, как в сторону снижения, так и повышения параметров, отмечались у 4/5 (80,0 %) пациентов с НБО. В нашей серии также выявлялась гиперхлоремия у 2/5 (40,0 %). Гипернатриемия, гиперкалиемия и гипокальциемия не являлись частыми и ранними проявлениями, и развивались в случае метаболической декомпенсации.

Со стороны кислотно-щелочного состояния (КЩС) равнозначно частыми, стойкими и соотносящимися с клинической картиной изменениями были повышение концентрации лактата и снижение бикарбоната ( $\text{HCO}_3$ ). Данные показатели оставались в норме лишь у ребенка с гиперглициемией.

В нашей выборке мы не увидели значимых маркеров поражения печени в дебюте заболевания; синдром цитолиза с повышением доли прямого билирубина до 25 % был у одного пациента (1/5, 20,0%), а умеренный прирост АСТ, не превышающий трех норм, - у 2/5 (40,0 %). Концентрация ЩФ находилась в пределах референсных значений у всех детей, а ЛДГ повышалась более чем в 2 раза у 2/5 (40,0 %).

Коагулопатия развивалась у пациентов с полиорганной недостаточностью (2/5, 40,0 %) в форме выраженной гипокоагуляции и была предиктором неблагоприятного исхода. То же можно сказать о повышении показателей азотистого обмена, мочевины и креатинина.

Кетонурия выявлена только у 1/5 (20,0 %), у этого же пациента отмечено снижение мочевины, что позволяет рассматривать данные параметры как возможные, но нечастые маркеры дебюта.

Интересно, что при первичном определении гипераммонемия диагностирована у 2/5 (40,0 %) детей, хотя при дальнейшем наблюдении ее эпизоды наблюдались уже у 4/5 (80,0 %).

При проведении сравнительного анализа лабораторных параметров пациентов с выявленными НБО (n=5) и остальных обследованных (n=141) с использованием критерия Мана-Уитни статистически подтверждены: более

высокая концентрация лактата ( $p=0,04$ ) при более низких показателях содержания бикарбоната ( $p=0,03$ ) и тромбоцитов ( $p=0,02$ ) у детей с НБО.

Наиболее ранним и прогностически неблагоприятным инструментальным признаком в нашем наблюдении был отек головного мозга, фиксируемый по НСГ. Несколько позднее от манифестации в 3/5 (60,0 %) случаях мы увидели изменения со стороны ССС в виде снижения сократительной способности миокарда, недостаточности сердечных клапанов, дилатации камер сердца или легочной гипертензии с нормализацией данных параметров при стабилизации состояния. У 3/5 (60,0 %) пациентов выявлялись расширение ликворных пространств и гепатомегалия, но их нельзя отнести к ранним проявлениям дебюта болезни.

Следует обратить внимание, что забор крови для проведения ТМС у 3/5 (60,0%) детей проводился на фоне инфузионной терапии и парентерального питания, что затрудняло интерпретацию полученных результатов. Показатели ТМС и молекулярно-генетические данные представлены в таблице 4. Наибольшие изменения параметров (цитруллина и аргинина) выявлены у пациента с цитруллинемией I типа, что позволило предварительно установить верный диагноз, несмотря на увеличение концентрации ряда других АК. В двух случаях метилмалоновой ацидурии был выстроен дифференциальный ряд заболеваний, и без анализа на органические кислоты мочи постановка диагноза вызывала затруднения. В случае гиперглицинемии отсутствие технической возможности для определения концентрации глицина в ликворе привело к замедлению диагностики. И после получения контрольного теста с нормальной концентрацией глицина крови родители отказались от дальнейшего обследования. Таким образом, молекулярно-генетическое подтверждение прошли 4/5 (80,0 %) детей.

Таблица 4 - Основные маркеры ТМС и молекулярно-генетическая характеристика пациентов с нарушениями обмена веществ

№ пациента	Заболевание	Основной метаболит по ТМС	Показатель основного метаболита, мкмоль/л (норма)	Ген	Генетический вариант	Зиготность
1	ММА*	C3	18,7 (<6,8)	<i>MMUT</i>	c.655A>T, p.Asn219Tyr и c.782T>A, p.Ile261Ans	Нет
2	ММА	C3	13,0 (<6,8)	<i>MMUT</i>	c.360dup, p.Lys121Ter	Гомо
3	ММА	C3	9,3 (<6,8)	<i>MMUT</i>	c.360dupT, p.Lys121fs	Гомо
4	Цитруллинемия I типа	Cit	2449,6 (4-80)	<i>ASS 1</i>	c.1168G>A, p.Glu390Arg	Гомо
5	Некетотическая гиперглицинемия	Gly	1183 (<1080)	Не определен		

Примечание: ММА\* - метилмалоновая ацидурия.

Ниже представлено описание клинических случаев пациентов с нарушениями обмена веществ.

### 3.1.2.1. Клинический случай цитруллинемии I типа

В отделение реанимации и интенсивной терапии для новорожденных и недоношенных детей силами санавиации был госпитализирован мальчик, рожденный от русских по национальности родителей, состоящих в неблизкородственном браке. Возраст обоих родителей на момент рождения - старше 35 лет. У матери ребенка акушерский анамнез отягощен: первые роды при третьей беременности (предыдущие: медицинский аборт и внематочная). Беременность протекала с угрозой прерывания в первой половине; во второй -

отмечены холестаза и отеки беременных, а также легкая анемия. Роды проходили в родовспомогательном учреждении второго уровня. Ребенок родился через естественные родовые пути на 40-й неделе беременности вне асфиксии (оценка по шкале Апгар 8/10 б.) с весом 3130 г. и длиной тела 52 см. После рождения состояние мальчика расценивалось как удовлетворительное, был приложен к груди в родильном зале и находился с матерью в палате совместного пребывания.

Отрицательная динамика в самочувствии отмечена с конца вторых суток, когда мама обратила внимание на стонущее дыхание новорожденного и вялое сосание груди. При осмотре выявлена гипотермия 35,5 С, лабораторно - сдвиг лейкоцитарной формулы влево. При этом снижения оксигенации, изменения газового состава крови, повышения острофазовых белков, а также патологии по данным дополнительных методов исследования не было. Имеющиеся параметры расценены как реализация внутриутробной инфекции, назначена антибактериальная терапия.

К третьим суткам отмечено прогрессивное ухудшение состояния с угнетением сознания до комы III степени, дыхательной недостаточностью III степени и недостаточностью кровообращения III степени. С конца третьих суток отменена энтеральная нагрузка, а также внутривенная дотация белков и жиров. Однако стабилизировать пациента на месте не удалось, и на 6-е сутки жизни ребенок транспортирован в многопрофильный стационар третьего уровня в крайне тяжелом состоянии с признаками полиорганной недостаточности. Концентрация аммиака выше определяемых аммониметром значений (>400 мкг/дл) в сочетании с анурией более суток послужили основанием для начала перитонеального диализа. Интересно, что концентрация мочевины оставалась в норме (5,5 ммоль/л) при выраженном увеличении креатинина (218 мкмоль/л).

По результатам ТМС выявлено значительное повышение цитруллина до 2449,6 мкмоль/л (N до 45-80 мкмоль/л), при невысокой концентрации аргинина 19,6 мкмоль/л (N 2-129 мкмоль/л). Помимо этого, наблюдались высокие уровни аланина, лейцина, метионина, тирозина, глицина, пролина, а также снижение общего карнитина при нарастании практически всех остальных фракций

ацилкарнитинов. Данные изменения объясняются забором крови после начала лечебных мероприятий. Учитывая клиническую картину, значимое отклонение от нормы цитруллина в сравнении с другими АК, предварительно был поставлен диагноз цитруллинемия I типа.

В лечении, помимо перитонеального диализа, ограничения белка, были добавлены дотации бензоата натрия, L- аргинина, левокарнитина. Однако добиться стабилизации состояния не удалось. Ребенок умер в возрасте 19 суток жизни. Молекулярно-генетическое подтверждение диагноза получено постмортально (Таблица 4).

### **3.1.2.2. Клинические случаи метилмалоновой ацидурии**

Большинство находок, выявленных в ходе проведения селективного скрининга методом ТМС, касалось метилмалоновой ацидурии (ММА). Всего за время исследования диагностировано три случая ММА. Интересным представляется то, что все три пациента принадлежат не только к разным семьям, но и к трем этническим группам: родители первого ребенка - русские, второго - буряты, третьего - таджики. Все дети - мальчики. У 2/3 (66,6 %) акушерский анамнез матерей отягощен. Во втором случае имели место два выкидыша и четыре эпизода младенческой смерти в семье; в третьем констатированы близкородственный брак родителей и выкидыш в исходе первой беременности. Большинство пациентов (2/3, 66,6 %) рождены в срок, один (33,4 %) - в 35 недель гестации. У 2/3 (66,6 %) была умеренная асфиксия при рождении с оценкой по шкале Апгар на 1-й минуте 6 баллов и увеличением ее выше 7 баллов у обоих к 5-й минуте.

Во всех случаях заболевание манифестировало в раннем неонатальном периоде. У двоих детей (2/3, 66,6 %) имелся светлый промежуток с удовлетворительным самочувствием, а состояние ухудшилось на вторые и третьи сутки жизни соответственно. Первыми симптомами у обоих были прогрессирующее угнетение ЦНС, отказ от еды, появление стонущего дыхания. У

рожденного недоношенным ребенка (33,4%) состояние было тяжелым с рождения ввиду нарастания дыхательной недостаточности на фоне реализации респираторного дистресс-синдрома и пневмоторакса. Однако и у него с третьих суток отмечено прогрессирующее ухудшение самочувствия с развитием декомпенсированного метаболического ацидоза, что совпало с началом энтерального кормления.

Ранние лабораторные изменения включали повышение концентрации лактата в пределах 4,9-7,1 ммоль/л (норма <2,2) и дефицит оснований со снижением  $\text{HCO}_3$  до 7,6-15 ммоль/л (норма 20-27) у всех (3/3, 100 %) пациентов. Следующим по частоте лабораторным маркером стала гипогликемия 1,0 - 2,8 ммоль/л (норма 3,3-5,5), выявленная у 2/3 (66,6 %). На первой неделе жизни аммиак >150 мкг/дл был повышен только у одного пациента.

Изменения по данным дополнительных методов исследования появились позже, на второй неделе жизни. У 2/3 (66,6 %) увеличились размеры печени. Все пациенты (3/3, 100 %) имели отклонения по НСГ в виде отека мозга, венгерулодилатации или гиперэхогенности паренхимы. Эхокардиографические признаки поражения ССС также обнаружены у 3/3 (100 %) пациентов, у двоих (66,6%) диагностирована дилатация камер сердца, у одного (33,4 %) - признаки легочной гипертензии.

У 2/3 (66,6 %) пациентов забор крови для выполнения ТМС проведен на фоне парентерального питания, что привело к ложному повышению ряда АК. Это затруднило установление диагноза до получения анализа органических кислот мочи. Показатели ТМС пациентов представлены на рисунке 3, а результаты органических кислот мочи - в таблице 5.

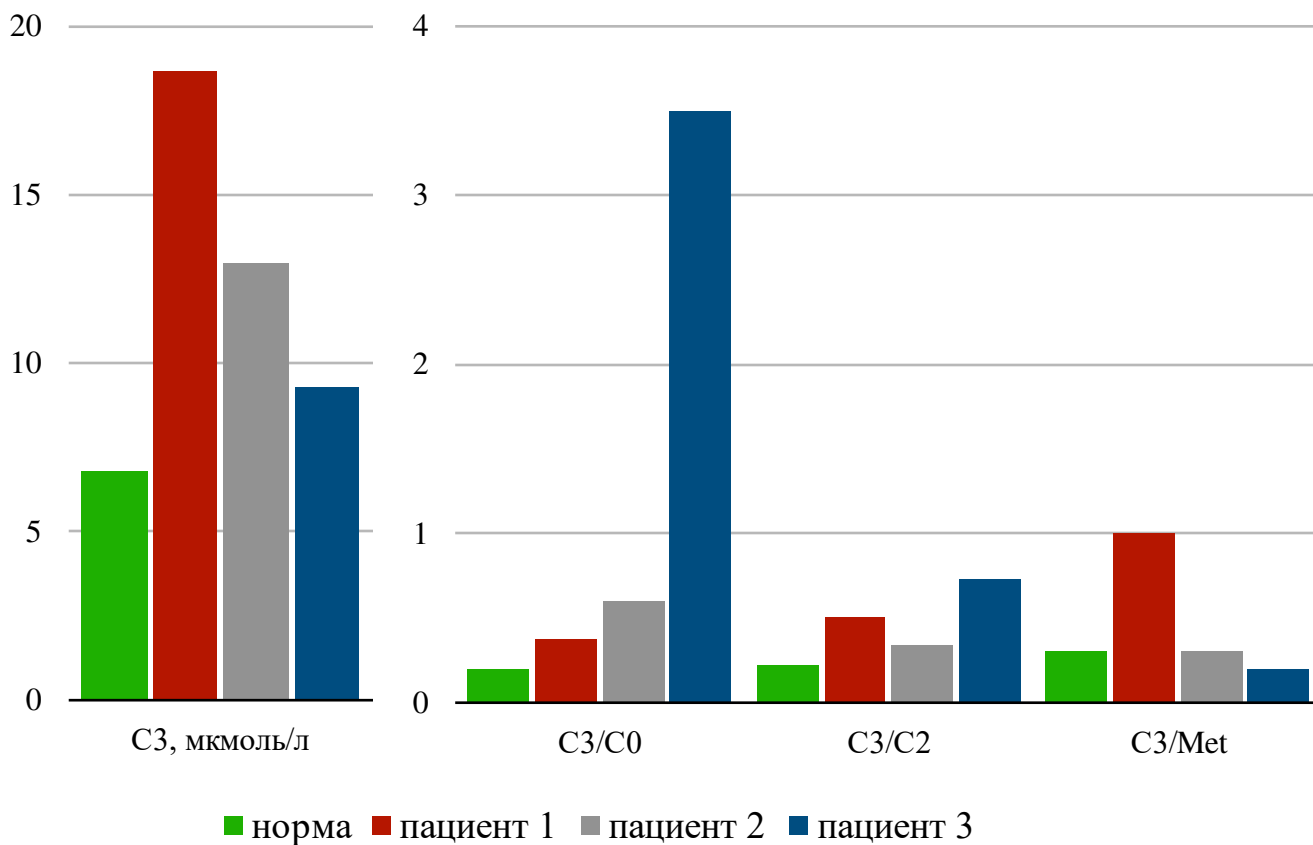


Рисунок 3- Показатели ТМС пациентов с метилмалоновой ацидурией

У 3/3 (100 %) детей отмечалось увеличение пропионилкарнитина и соотношений C3/C0 и C3/C2. При этом изменение соотношения C3/метионин было лишь у 1-го ребенка.

При анализе органических кислот мочи у всех (3/3, 100 %) обследованных выявлено значительное повышение метилмалоновой кислоты (в тысячи раз) и в меньшей степени - метилцитрата.

Таблица 5 - Показатели органических кислот мочи у пациентов с метилмалоновой ацидурией

пациент	метилмалоновая кислота (N=0-2 мМ/моль CRE)	метилцитрат (N=0-12 мМ/моль CRE)
№ 1	18948,9	68,5
№ 2	3341,2	55,5
№ 3	6292,0	72,0

В нашей серии все 3/3 (100 %) случая ММА ассоциированы с вариантами в гене *MMUT*. Данные представлены ранее в таблице 4. У двоих пациентов (66,6 %) обнаружены аналогичные патогенные аллели (с.360dup) во втором экзоне в гомозиготном состоянии. Интересно, что между детьми не только нет родственной связи, но они относятся к разным этническим группам. У обоих констатировано очень тяжелое кризовое течение заболевания. У одного (№3) отмечено развитие синдрома полиорганной недостаточности к пятым суткам жизни и летальный исход на 12 сутки; у второго (№ 2) удалось добиться метаболической компенсации и выписки ребенка, возможно, ввиду неполной дотации энтеральной нагрузки с рождения из-за общей тяжести состояния. Однако пациент имел тяжелое кризовое течение ММА и умер в возрасте 1 года 3 месяцев от развившейся метаболической декомпенсации после перенесенной вирусной инфекции.

Пациент № 1 с вариантами в гене *MMUT* в компаунд- гетерозиготном состоянии имеет более благоприятный исход. Заболевание протекает без развития метаболических кризов, но с задержкой нервно-психического развития. Ребенок ходит с 2 лет 11 месяцев; в возрасте 3 лет говорит единичные слова, не проявляет элементов ролевой игры, не сформирован навык пользования горшком.

### 3.1.2.3. Клинический случай гиперглициемии

В отделение патологии новорожденных переведена девочка из центральной районной больницы в связи с судорогами, некупирующимися на фоне проводимой антиэпилептической терапии. Этнически: отец ребенка - русский, мать имеет русские корни по женской линии и азербайджанские по мужской. Акушерский анамнез женщины отягощен. Имели место два самопроизвольных прерывания беременности и рождение ребенка с пороком развития мочевыводящей системы и задержкой внутриутробного развития плода. Беременность протекала с неоднократными эпизодами респираторных вирусных инфекций. Девочка родилась через естественные родовые пути на 39 -й неделе вне асфиксии (оценка по Апгар 8/9 б.). Физические параметры соответствовали критериям маловесности для гестационного срока: вес 2470 г., длина тела 48 см. После рождения состояние новорожденной расценивалось как удовлетворительное, к груди приложена в родильном зале. Ребенок выписан домой на четвертый день жизни. Однако с пятых суток мама отмечала появление эпизодов вздрагивания и кратковременного подергивания конечностей. К 16-м суткам жизни наблюдалась отрицательная динамика с развитием клонических судорог до восьми эпизодов за сутки и длительностью приступов до трех минут. В это время девочка госпитализирована по месту жительства, где ей была назначена противосудорожная терапия вальпроевой кислотой. В ходе проведенного обследования маркеры воспаления и вирусных инфекций в ликворе, крови и моче не выявлены. Судорожная активность с эпизодами генерализованных приступов сохранялась, ввиду чего ребенок переведен для углубленного обследования в лечебное учреждение областного центра в возрасте 1 месяца 7 дней, где проведена смена противосудорожной терапии на левитирацетам. По данным общих лабораторных и инструментальных методов диагностики, включая МРТ головного мозга, изменений, за исключением легкой нормохромной нормоцитарной анемии (гемоглобин 105 г/л, гематокрит 29,7%), выявлено не было.

Но при этом по результатам ТМС крови выявлено повышение глицина до 1183 мкмоль/л (норма <1080). Однако в контрольном анализе концентрация глицина крови находилась в пределах нормы и составила 446,6 мкмоль/л. Ввиду этого дальнейшее обследование (определение соотношения концентрации глицина ликвора/глицину крови, молекулярно-генетическая диагностика) выполнено не было.

Между тем после выписки приступы судорог сохранялись. В возрасте 4 месяцев девочка находилась на лечении в отделении реанимации в связи с усилением судорожной активности на фоне течения новой коронавирусной инфекции. В этот период ребенок получал четыре противосудорожных препарата: вальпроевая кислота, вигабатрин, фенобарбитал и клобазам. Однако судороги имели резистентный характер к антиэпилептической терапии, поэтому пациентке требовалась дополнительная седация диазепамом. К этому времени отмечены лабораторные и инструментальные изменения. В общем анализе крови - нарастание анемии до средней степени тяжести (гемоглобин 88 г/л, гематокрит 27,2%). По данным дополнительных методов исследования появились признаки внутренней и наружной гидроцефалии, а также гепатомегалия с КВР печени 74 мм. Ввиду сохранения миоклонических судорог с частотой 5-6 эпизодов в сутки на фоне проводимой комбинированной антиэпилептической терапии, ребенок переведен в другой стационар. Дальнейший катамнез неизвестен.

### **3.1.3. Сравнение концентрации аминокислот у пациентов разных клинических групп**

После исключения пациентов с выявленными нарушениями обмена проведено разделение оставшихся на парные выборки для сравнения концентрации АК в разных клинических ситуациях. При анализе с использованием критерия Мана-Уитни были выявлены статистически значимые различия.

Установлено, что у недоношенных новорожденных была выше концентрация аргинина ( $p=0,004$ ), а также ацилкарнитинов C5 ( $p=0,02$ ) и C8 ( $p=0,02$ ). Кроме этого, определено более высокое содержание метионина ( $p=0,005$ ), аргинина ( $p=0,005$ ), C5 ( $p=0,01$ ) и низкое - глутаминовой кислоты ( $p=0,006$ ), C 12 ( $p=0,03$ ) у детей с задержкой внутриутробного развития. При этом разницы в показателях АК и ацилкарнитинов у новорожденных с постнатальной гипотрофией не отмечено.

Пациенты с благоприятным результатом госпитализации имели более низкие показатели аланина ( $p=0,005$ ), метионина ( $p=0,02$ ), фенилаланина ( $p=0,03$ ), а также ацетилкарнитина ( $p=0,02$ ) и октаноилкарнитина ( $p=0,01$ ) в сравнении с группой детей, выписавшихся с ухудшением, без перемен состояния или имевших летальный исход.

У детей с судорогами выше были концентрации аланина ( $p=0,03$ ), аспарагиновой кислоты ( $p=0,04$ ), аргинина ( $p=0,02$ ), но ниже общего карнитина ( $p=0,02$ ), C12 ( $p=0,03$ ) и C16 ( $p=0,03$ ). В то время как пациенты с поражением печени имели более высокие значения бутирилкарнитина ( $p=0,02$ ) и гексаноилкарнитина ( $p=0,02$ ).

#### **3.1.4. Анализ исходов госпитализации обследованных пациентов**

В ходе работы проведен анализ исходов госпитализации обследованных пациентов. Благоприятный результат имели 111/146 (76,0 %) детей, среди них 25/146 (17,1 %) выписаны с выздоровлением по основному заболеванию и 86/146 (58,9 %) - с улучшением. Практически в четверти случаев, 35/146 (24,0 %), констатирован неудовлетворительный результат лечения, а именно: 19/146 (13,0%) не имели перемен по основному заболеванию при выписке, 10/146 (6,9 %) выбыли из стационара с ухудшением, а 6/146 (4,1 %) умерли.

При анализе возможных причин неблагоприятных исходов рассматривались такие факторы, как асфиксия при рождении, недоношенность, вирусные и бактериальные инфекции, генетические заболевания.

Асфиксия при рождении наблюдалась у 5/25 (20,0 %) человек, у всех среди них средней степени тяжести.

Недоношенными родились 8/25 (32,0 %). Медиана срока гестации равнялась 31 неделям (LQ=28; UQ=33), веса при рождении - 1710 г. (LQ=1300; UQ=1900).

У 8/25 (32,0 %) пациентов выявлено повышение СРБ, как маркера течения инфекционного процесса, Me которого составила 34 мг/л (LQ=13; UQ=57).

В 9/25 (36,0 %) случаях возможной причиной неудовлетворительного результата лечения стала вирусная инфекция, при этом наиболее часто выявлялась цитомегаловирусная инфекция (ЦМВ), у 7/9 (77,8 %) детей. Вирус простого герпеса 1 типа выделен у 1/9 (11,1 %) пациента, гриппа – у 1/9 (11,1 %).

Следует отметить, что у 6/25 (24 %) наблюдаемых в данной группе отмечена различная комбинация описанных факторов.

Генетическое обследование проведено у 31/146 (21,2 %) детей. У большинства оно представлено цитогенетическим анализом (15/31, 48,4%). Кроме этого, детям (9/31, 29,0 %), имеющим критерии включения в действующие на тот момент диагностические программы ФГБНУ МГНЦ, выполнено секвенирование панели генов. Для подтверждающей диагностики НБО, обнаруженных по ТМС, использовались массовое параллельное секвенирование и секвенирование по Сэнгеру.

Генетические заболевания, помимо ранее описанных НБО, установлены еще у двоих детей. У одного диагностирован синдром Прадера-Вилли по результатам цитогенетического анализа; у другого - гликогенез I типа (болезнь Гирке), который был поставлен после выписки ребенка из стационара в возрасте 3 месяцев жизни при проведении полноэкзомного секвенирования.

Примечательно, что из семи детей с наследственными заболеваниями (шесть подтвержденных и один предположительный) неудовлетворительный результат лечения наблюдался у 5/7 (71,4 %), из них 2/7 (28,6%) умерли, 3/7 (42,9 %) имели сохраняющиеся патологические симптомы после выписки.

Таким образом, доля подтвержденных генетических диагнозов на первом этапе работы составила 6/146 (4,1 %). При этом неблагоприятный исход

госпитализации был ассоциирован с наследственной патологией предположительно в 5/25 (20,0 %) случаях.

Для выявления параметров, прогнозирующих неблагоприятный исход госпитализации был проведен метод бинарной логистической регрессии с определением отношения шансов с 95% доверительным интервалом, где за 0 принимался удовлетворительный результат лечения, а за 1 неудовлетворительный. Значимым уровень считался при значении  $p < 0,05$ .

По результатам проведенного анализа значимыми факторами (Таблица 6), величина которых оказывает влияние на результат лечения, явились длительность госпитализации и параметры коагуляции (АПТВ и ТВ).

Таблица 6 – Коэффициенты и отношение шансов признаков, влияющих на неудовлетворительный результат лечения

Параметр	Порог (точка деления)	AUC [±95 ДИ]	ОШ	Чувствительность/ специфичность	Индекс Юдена/ р
Длительность госпитализации, сут	>30	0,597 [0,531- 0,662]	0,28	73,3/44,9	0,182/ 0,03
ТВ, сек	>20	0,648 [0,551- 0,737]	0,33	31,2/97,4	0,28/ 0,01
ПТВ, сек	>20	0,624 [0,526- 0,716]	0,56	50,0/86,8	0,37/ 0,06
АПТВ, сек	>38	0,715 [0,621- 0,797]	0,38	53,1/84,6	0,37/ 0,001

Примечание: AUC-площадь под кривой; ОШ – отношение шансов

Длительная госпитализация требуется пациентам с более тяжелой патологией, ввиду этого ее связь с исходом лечения логична. Зависимость результата госпитализации от показателей коагулограммы можно объяснить развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания у тяжелобольных пациентов. Полученные ROC- кривые для указанных параметров представлены на рисунке 4. Выявить значимость влияния других параметров на результат лечения не удалось вероятнее ввиду крайней гетерогенности клинических состояний у обследуемых.

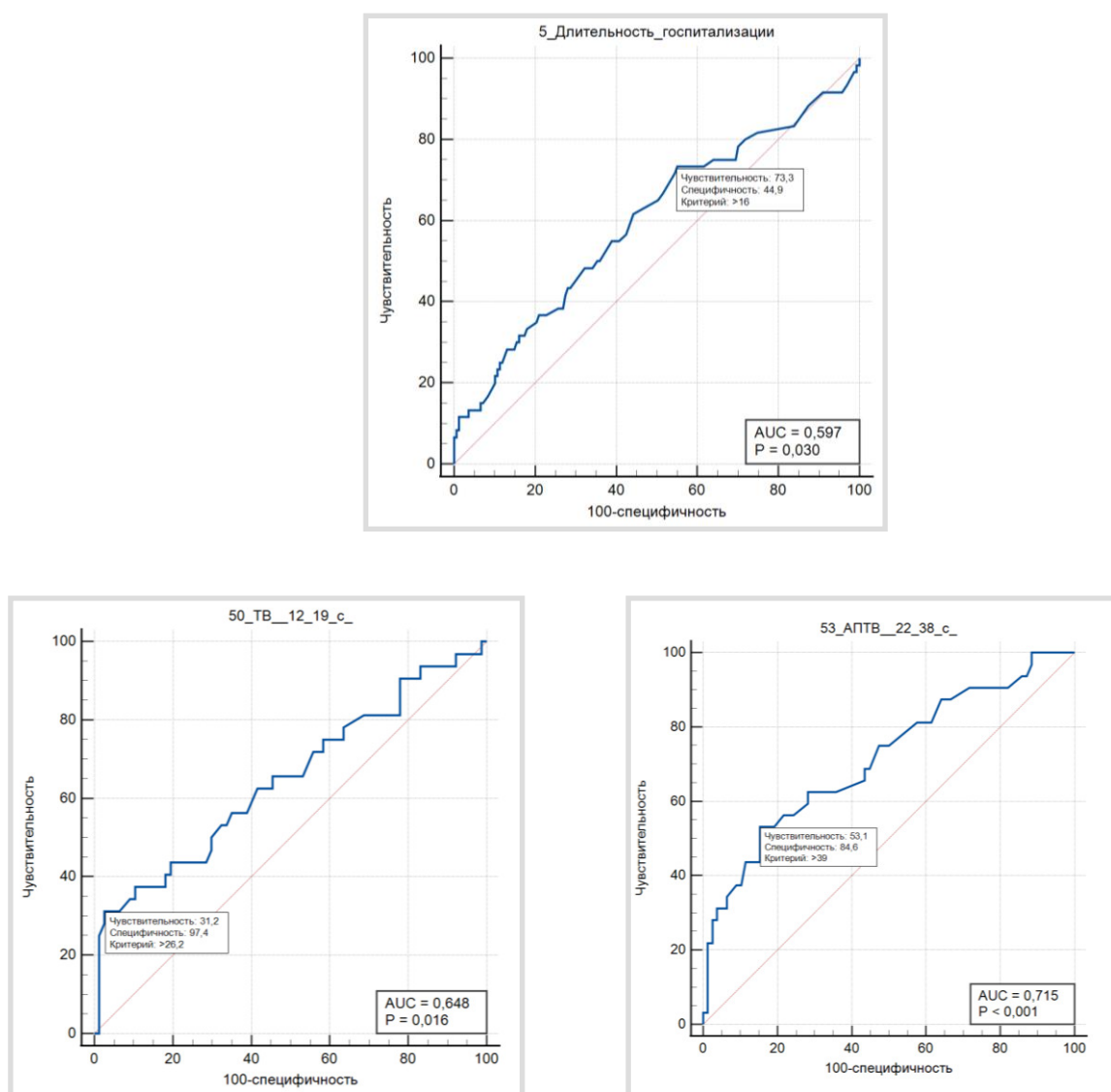


Рисунок 4 - ROC- кривые оценки зависимости результатов лечения от клинико- лабораторных показателей

### **3.2. Селективный скрининг с использованием полноэкзомного секвенирования**

На втором этапе нашей работы селективный скрининг проведен с использованием полноэкзомного секвенирования. Учитывая большие диагностические возможности метода, критерии включения в исследование расширились (Таблица 1). Общее количество обследованных - 81 ребенок, 43 мальчика (53,0 %) и 38 девочек (47,0 %). Медиана веса при рождении составила 3000 г. (LQ 2540; UQ 3505), длины тела - 50 см (LQ 48; UQ 52). Недоношенных в этой группе было 15/81 (18,5 %), с Ме гестации 33 недели (LQ=31; UQ=36). Рождены в асфиксии 9/81 (11,1 %) пациентов, из них у 1/9 (11,1 %) наблюдалась тяжелая асфиксия, у 8/9 (88,9 %) - средней степени тяжести.

#### **3.2.1. Характеристика пациентов, прошедших селективный скрининг с секвенированием полного экзома**

На втором этапе исследования преобладающая симптоматика при распределении пациентов на группы несколько отличалась в сравнении с первым этапом. Наибольшее число составили дети с врожденными пороками развития (n=44) и с преимущественным поражением ЦНС (n =19). Меньше обследованных было с превалирующей патологией печени (n =6), системы пищеварения (n =4), ССС без сопутствующих пороков развития (n=2). Кроме этого, в наше исследование были включены дети с объемными образованиями (n=4) и подозрением на врожденную дисфункцию коры надпочечников (n=2).

Процентное распределение пациентов по преобладающей симптоматике представлено на рисунке 5.

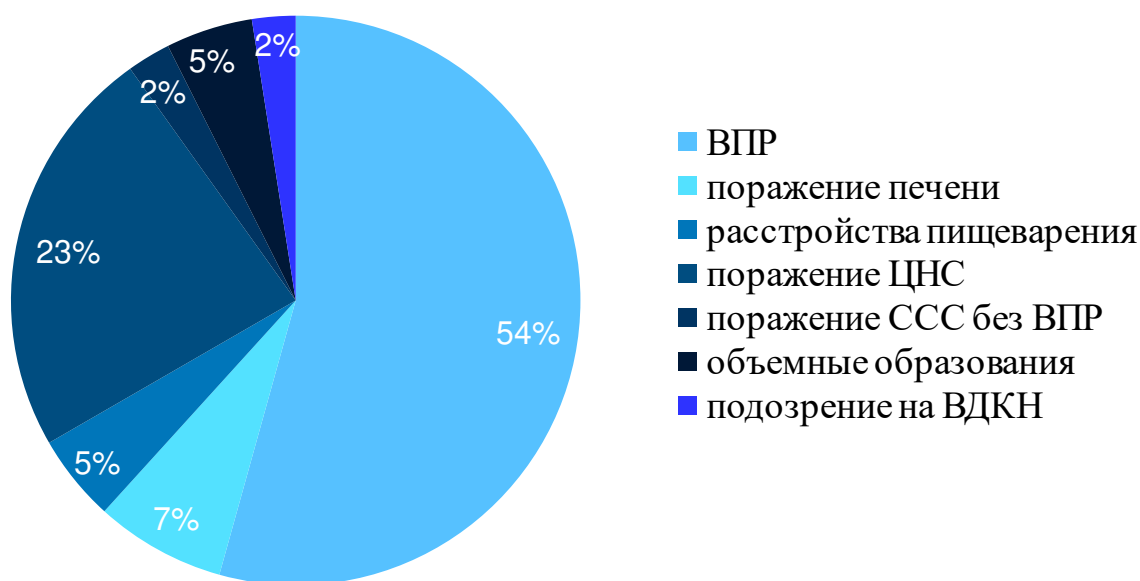


Рисунок 5 - Распределение пациентов по преобладающей симптоматике, прошедших секвенирование всего экзоста

Среди ВПР наиболее часто встречались пороки развития почек и мочевыводящих путей (у 18/44, 40,9%), желудочно-кишечного тракта (у 16/44, 36,4%), ССС (у 9/44, 20,4%), реже наблюдались ВПР легких (у 3/4, 6,8%), ЦНС (у 3/44, 6,8%), патология челюстной-лицевой области (у 3/44, 6,8%), пороки развития глаз (у 3/44, 6,8%), скелетные аномалии (у 4/44, 9,1%), аномалии строения уха (у 2/44, 4,5%). При этом сочетание пороков двух и более систем выявлено у 14/44 (31,8%) пациентов. Перечень ВПР детей, прошедших селективный скрининг представлен в таблице 7.

Таблица 7 - Пороки развития, наблюдаемые у обследованных пациентов

Система	Врожденный порок развития	Число пациентов
<b>пороки развития, затрагивающие одну систему организма</b>		
ВПП почек и мочевыводящих путей	удвоение почек + двусторонний мегауретер+ уретероцеле	1
	клапан задней уретры + двусторонний мегауретер	1
	обструктивный мегауретер	5
	везико-ренальный рефлюкс	2
	гидронефроз	2
	мультикистоз	1
ВПП легких	кистозно-аденоматозная мальформация	3
ВПП органов желудочно-кишечного тракта	атрезия пищевода с дистальным трахеопищеводным свищем (ТПС)	2
	изолированный ТПС	1
	диафрагмальная грыжа	3
	гастрошизис	4
	атрезия подвздошной кишки	1
	атрезия ануса со свищем	1
	атрезия ануса без свища	1
ВПП глаз	аниридия	1
ВПП органов слуха	микротия, атрезия слухового прохода	1
<b>Множественные врожденные пороки развития</b>		
Атрезия пищевода с дистальным ТПС. Комбинированный ВПС. Двойная дуга аорты, ДМЖП, ДМПП.		1
ВПП ЦНС. Микроцефалия, голопроэнцефалия алобарная форма, лисэнцефалия, гипоплазия большой цистерны. ВПП ЧЛС. Атрезия носа и его структур.		1
Ахондроплазия с укорочением конечностей и деформацией грудной клетки. ВПС. ДМПП. Расщелина твердого и мягкого неба. Микрогнатия. Трахеомаляция.		1
ВПС. Атриовентрикулярная коммуникация. Двусторонний крипторхизм. Аномалии стоп. Дизморфии лица. Судороги.		1

## Продолжение таблицы 7

ВПС. Двойное обхождение магистральных сосудов, ДМЖП, ДМПП, умеренный подкапанный стеноз ЛА, правая дуга аорты. Полидактилия левой кисти.	1
Односторонний анофтальм. ВПС. ДМЖП, ДМПП.	1
Диафрагмальная грыжа. ВПР ЧЛС. Расщелина губы/неба, дизморфии лица. Гипоплазия пальцев. Судороги.	1
Колобома радужки обоих глаз. Аплазия кожи голосистой части головы. Гипоспадия головчатая форма.	1
Тетрада Фалло. Дизморфии лица. Аномалии строения пальцев, аномалии ушных раковин.	1
Дермальный синус поясничной области. ВПР МВС. Гидронефроз.	1
Поликистоз почек. ВПС. ДМПП.	1
ВПС. ДМЖП. Везикоренальный рефлюкс.	1
ВПР ЦНС. Мальформация Арнольда-Киари II тип. ВПР МВС. Мегауретер справа, гидронефроз слева.	1
VACTERL-синдром. ВПР ССС. Добавочная левая верхняя полая вена. ВПР ЖКТ. Атрезия ануса с ректовестибулярным свищом. ВПР МВС. Гипоплазия почек.	1

Всего симптомы поражения ЦНС отмечены у 48/81 (59,2 %) обследованных. Судороги фиксировались у 13/81 (16,0 %), в остальных случаях (34/81, 41,9 %) патологические симптомы включали синдром угнетения и/или мышечную дистонию.

Печень была увеличена у 34/81 (41,9 %) детей, а селезенка у 18/81 (22,2 %). При этом у 17/18 (94,4 %) спленомегалия сочеталась с гепатомегалией. Медиана КВР печени при ее увеличении составила 66 мм (LQ=61; UQ=70), а длины селезенки - 60 мм (LQ=56; UQ=64). Синдром цитолиза наблюдался у 13/81 (16,0 %) с медианой АСТ 163 Ед/л (LQ=96; UQ=147) и АЛТ 139 Ед/л (LQ=59; UQ=153), а холестаза - у 6/81 (7,4 %) с Me прямого билирубина 64,5 мкмоль/л (LQ=58; UQ=77), что соответствовало 76 % (LQ=75; UQ=80) от общего. ЩФ была повышена у 12/81 (14,8 %) с медианой 497 Ед/л (LQ=452; UQ=644), но только у четырех из них (33,3%) сочеталась с цитолизом и холестазом. Увеличение ЛДГ выявлено у 8/81

(9,8 %) с Me 840 Ед/л (LQ=533; UQ=626), а КФК у 4/81 (5 %) - 521 Ед/л (LQ=447; UQ=602).

У четверти обследованных (20/81, 24,7 %) фиксировался метаболический ацидоз, концентрация бикарбоната у которых составила 17,3 ммоль/л (LQ=15,8; UQ=19,2). Повышение лактата встречалось еще чаще, более чем у половины детей (42/81, 51,9 %). Его медиана - 4,6 ммоль/л (LQ=3; UQ=5,8).

У трети больных (24/81, 29,6 %) выявлены преходящие или персистирующие изменения концентрации глюкозы. При этом гипогликемия регистрировалась реже, у 5/24 (20,8 %) с Me сахара крови 2,4 ммоль/л (LQ=2,1; UQ=2,8), а гипергликемия - чаще, у 19/24 (79,2 %), и Me составила 9,5 ммоль/л (LQ=6,9; UQ=10).

Оба пациента, составившие группу детей с поражением ССС без сопутствующих пороков развития, имели гипертрофию миокарда с толщиной межжелудочковой перегородки 0,9 и 0,7 мм соответственно.

Среди новорожденных с преобладающим расстройством системы пищеварения у трех ведущих был синдром рвоты и срыгивания, у одного - нарушение переваривания и всасывания. У всех (n=4) данные нарушения приводили к развитию постнатальной гипотрофии.

Кроме этого, в исследование включены дети с объемными образованиями (n=4). Два из них (50,0 %) имели крестцово- копчиковые тератомы, по одному (25,0%) - герминогенную опухоль средостения и лимфангиому кишечника.

### **3.2.2. Результаты селективного экзомного скрининга новорожденных**

По результатам селективного скрининга с выполнением полноэкзомного секвенирования у 26/81 (32,0 %) выявлены находки разной степени значимости. Из них у 2/26 (7,7 %) обнаружены хромосомные aberrации, у 13/26 (50,0 %) - патогенные или вероятно патогенные варианты, у 7/26 (26,9 %) - генетические

аллели неопределенной клинической значимости, предположительно имеющие отношение к фенотипу пациента, у 4/26 (15,4 %) диагностированы случайные (вторичные) находки. Полученные результаты представлены на рисунке 6.



Рисунок 6 - Генетические находки, обнаруженные при секвенировании всего экзона

Среди 26 детей с генетическими находками большинство имели ведущую патологическую симптоматику со стороны ЦНС (11/26, 42,3%) или ВПР (8/26, 30,9%). Кроме этого, у 3/26 (11,5%) основной патологией было поражение печени, у 2/26 (7,7%) - подозрение на ВДКН, по 1/26 (3,8%) случаю – гипертрофия миокарда и герминогенная опухоль средостения. Соотношение положительных результатов к числу обследованных в каждой группе представлены на рисунке 7.

Обращает на себя внимание высокая частота выявленных вариантов в генах у детей с неврологической патологией в целом, и с судорожной активностью в частности. Так, среди группы пациентов с ведущими клиническими признаками со стороны ЦНС, более чем у половины обнаружены аллели разной степени

значимости (у 11/21, 52,3 %). При этом у 9/13 (69,2 %) новорожденных с судорогами выявлены генетические нарушения, из них у 6/13 (46,2 %) подтверждена каузативность выявленных вариантов.

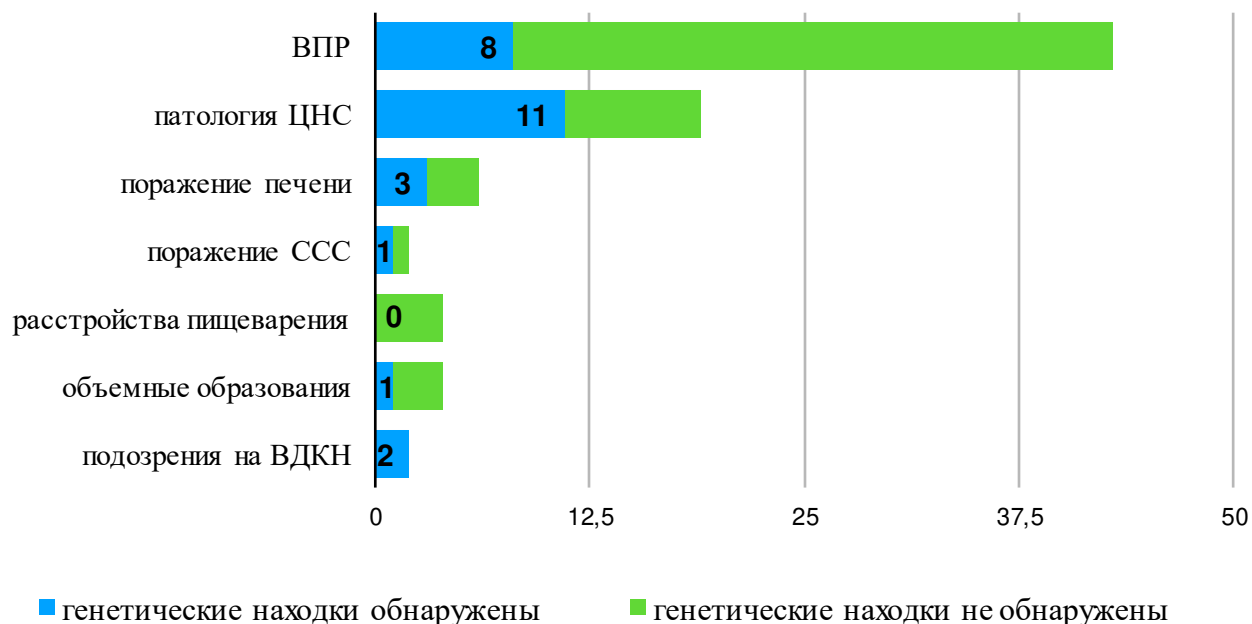


Рисунок 7 - Соотношение выявленных генетических нарушений к общему числу обследованных в клинических группах

Абсолютное и относительное число положительных результатов в группе, основными клиническими признаками которых являлись ВПР, было ниже (8/44, 18,1%). При этом варианты в генах чаще выявлялись у пациентов с мультисистемными ВПР (5/8, 62,8 %), которые включали аномалии скелета (5/5, 100 %) и челюстно-лицевой области (4/5, 80,0 %), а также комбинированные пороки ССС (3/5, 60,0 %).

Среди 26 новорожденных с выявленными генетическими нарушениями, подтвердить каузативность обнаруженных вариантов к текущему времени удалось у 13/26 (50,0 %) на основании полного соответствия клинического фенотипа результатам секвенирования (Таблица 8, пациент № 1-13). Из них в течение шестимесячного катамнеза летальный исход отмечен у двух пациентов, в обоих

случаях имеющих хромосомные аномалии. У остальных 13/26 (50 %) пациентов с выявленными находками, непродолжительный период катамнеза не позволяет оценить клинические проявления. Данные дети находятся под динамическим наблюдением врача-генетика.

При проведении полноэкзомного секвенирования выявлено 11 ранее не описанных генетических вариантов в генах *SPEN*, *ALDOB*, *PAK3*, *SPEG*, *FOXI3*, *TCF12*, *MYBPC3*, *COQ9*, *PKD1*, *ZMIZ1*, *GRIN2A*. При этом на момент описания подтверждена генно-фенотипическая связь варианта в гене *PKD1* у пациента с поликистозом почек (№ 12 в таблице 8). Оценка значимости остальных аллелей не подтверждена и требует более длительного катамнеза.

Таблица 8 - Клинические фенотипы и выявленные варианты у пациентов, прошедших экзомное секвенирование

№	фенотип	ген	вариант	классификация варианта	зиготность	статус варианта	заболевание
1	судороги, вялость, гепатоспленомегалия	<i>AMT</i>	c.959G>A, p.Arg320His и c.452_466del, p.Lys151_Leu155del	PAT	Нет	описан	некетотическая гиперглицинемия
2	судороги	<i>AMT</i>	c.959G>A, p.Arg320His и c.452_466del, p.Lys151_Leu155del	PAT	Нет	описан	некетотическая гиперглицинемия
3	судороги, гипотония	<i>FGF12</i>	c.155G>A, p.Arg52His	PAT	Нет	описан	эпилептическая энцефалопатия 47 типа
4	судороги, мышечная гипотония	<i>SCN2A</i>	c.754A>G, p.Met252Val	LPAT	Нет	описан	эпилептическая энцефалопатия 48

№	фенотип	ген	вариант	классификация варианта	зиготность	статус варианта	заболевание
5	судороги, гипокальциемия	<i>CARS</i>	c.2180T>A, p.Leu727Gln	LPAT	Нет	описан	аутосомно-доминантная гипокальциемия I типа
6	вялость, мышечная гипотония	<i>SPEN</i>	c.628_649del, p.Thr210GlyfsTer149	LPAT	Нет	Не описан	с-м Прадера-Вилли, форма с нарушением метилирования гена <i>SNRPN</i>
7	МВПР. Укорочение конечностей, микрогнатия, расщелина губы и неба	<i>COL2A1</i>	c.905C>T, p.Ala302Val	PAT	Нет	Описан	дисплазия Книста
8	МВПР. Тетрада Фалло, дизморфии лица, аномалии строения пальцев, аномалии ушных раковин	мозаичная форма трисомии 14					мозаицизм, трисомия по 14 хромосоме
9	МВПР. АВК, двусторонний крипторхизм, аномалии стоп, дизморфии лица, судороги	гетерозиготная дупликация на 10 хромосоме, включающая 4 белок-кодирующих гена ( <i>BTRC</i> , <i>DPCD</i> , <i>FBXW4</i> , <i>POLL</i> )					синдром дупликации 10q24.32
10	ВДКН	<i>CYP21A2</i>	c.332_339del, p.Gly111ValfsTer21	PAT	Гомо	описан	ВДКН, дефицит 21-гидроксилазы
11	ВДКН	<i>CYP21A2</i>	c.844G>T, p.Val282Leu	VUS	Нет	описан	ВДКН, дефицит 21-гидроксилазы
12	поликистоз почек	<i>PKD1</i>	c.11630del, p.Gly3877AlafsTer68	LPAT	Нет	не описан	поликистоз почек
13	врожденная аниридия	<i>PAX6</i>	c.823C>T, p.Arg275Ter	PAT	Нет	описан	аниридия
14	гепатоспленомегалия, ↑ АСТ, АЛТ	<i>GCK</i>	c.98T>C, p.Val33Ala	PAT	Нет	описан	MODY, type II

№	фенотип	ген	вариант	классификация варианта	зиготность	статус варианта	заболевание
15	гипертрофия межжелудочковой перегородки	<i>MYBPC3</i>	c.3535del, p.Glu1179ArgfsTer10	LPAT	Нет	не описан	кардиомиопатия
16	МВПР. Тетрада Фалло, полидактилия, аномалия строения ушной раковины	<i>EP300</i>	c.3671+1G>A	LPAT	Нет	описан	синдром Рубинштейна-Тейби
17	МВПР. Диафрагмальная грыжа, расщелина губы/неба, дизморфии лица, гипоплазия пальцев, судороги	<i>ZMIZ1</i>	c.656A>G, p.Gln219Arg	VUS	Нет	не описан	нарушение нервно-психического развития с дистрофическим и изменениями лица и дистальными аномалиями скелета
18	судороги, гипогликемия, ↑АСТ, предрасположенность к кровотечениям	<i>GRIN2A</i>	c.1329C>A, p.Asn443Lys	VUS	Нет	не описан	фокальная эпилепсия
19	судороги, гипогликемия, гепатомегалия	<i>COQ9</i>	c.522-1G>A	VUS	Нет	не описан	пациенты с дефицитом коэнзим Q10
20	гепатоспленомегалия, ↑АЛТ, АСТ, судороги	<i>ALDOB</i>	c.967del, p.Ala323GlnfsTer	VUS	Нет	не описан	врожденная непереводимость фруктозы
21	мышечная гипотония, ↑АЛТ, АСТ	<i>SPEG</i>	c.8839C>T, p.Arg294Ter	VUS	Нет	не описан	центромолекулярная миопатия
22	микротия, атрезия слухового прохода	<i>FOXI3</i>	c.256G>A, p.Gly86Arg	VUS	Нет	не описан	с-м Гольденхара
23	гипераммонемия, угнетение ЦНС, гипотония, ДМПП	<i>MYH7</i>	c.1573G>A, p.Glu525Lys	PAT	Нет	описан	кардиомиопатия

№	фенотип	ген	вариант	классификация варианта	зиготность	статус варианта	заболевание
24	гепатомегалия, ↑ ГГТ, АФП	<i>PAK3</i>	гемизиготный с.181A>T, p.Lys61Ter	LPAT	hem	не описан	пациенты с нарушением интеллектуального развития
25	угнетение ЦНС	<i>RAG1</i>	c256_257del, pLys86ValfsTer	PAT	Het	описан	синдром Оммена
26	объемное образование средостения	<i>TCF12</i>	c.574del, p.Ser192LeufsTer53	LPAT	Het	не описан	краниосиностоз, гипогонадотропный гипогонадизм

### 3.2.3. Оценка эффективности полноэкзомного секвенирования в диагностике наследственных заболеваний и определение клинико-биохимических показателей, указывающих на их наличие

Результаты нашего исследования показывают, что число установленных наследственных заболеваний на втором этапе работы выше, чем на первом.

Среди 146 детей, обследованных на первом этапе исследования, НБО при выполнении ТМС заподозрены у пяти (3,4 %), молекулярно-генетическое подтверждение получено у четырех (2,7%). Еще два наследственных заболевания диагностированы при выполнении других генетических тестов. Таким образом, на данном этапе исследования доля подтвержденной унаследованной патологии составила 4,1 % (6/146).

Из 81 ребенка, обследованного на втором этапе работы, ассоциированные с заболеваниями варианты в генах выявлены у 26 новорожденных (32,1 %). Окончательно диагноз подтвержден у 13/81 (16,0 %) на основании сопоставления фенотипа с молекулярно-генетическими данными. Следует учитывать, что количество установленных наследственных заболеваний может увеличиться в ходе дальнейшего катамнестического наблюдения в большую сторону.

Таким образом, доля диагностированных наследственных болезней во второй группе составила 16,0% против 4,1% в первой. Эффективность проведения экзомного секвенирования в качестве селективного скрининга для повышения диагностики генетической патологии подтверждена статистически, критерий хи-квадрат составил 6,63 при  $p=0,01$ .

Нами проведен статистический сравнительный анализ для выявления возможных признаков, указывающих на наследственное заболевание у детей. В первую группу ( $n=32$ ) включены 26 человек с генетическими находками по экзомному скринингу и шесть человек с подтвержденными наследственными заболеваниями из первого этапа исследования. Вторую группу ( $n=55$ ) составили дети, результат экзомного секвенирования которых был отрицательный.

Так как большинство параметров не поддавались нормальному распределению, для сравнения количественных признаков в группах использовался непараметрический критерий Мана-Уитни и хи-квадрат для качественных.

Следует отметить, что по большинству параметров статистически значимых отличий в группах не выявлено. Это показывает сложность постановки диагноза наследственных заболеваний без определения специфических метаболитов и молекулярно-генетических исследований. Статистически значимые отличия представлены в таблице 9.

Достоверно доказано, что исход госпитализации у детей с генетическими нарушениями был хуже, чем в группе сравнения ( $p=0,001$ ).

При анализе клинических данных, у детей первой группы чаще встречались поражение ЦНС ( $p=0,02$ ) и судороги ( $p=0,001$ ).

Среди лабораторных параметров у пациентов с генетической патологией достоверно выше был уровень ЛДГ ( $p=0,001$ ), глюкозы крови ( $p=0,02$ ). Кроме этого, можно сделать вывод о более частых нарушениях коагуляции в данной группе, так как ПВ ( $p=0,01$ ) было длиннее, а МНО выше ( $p=0,006$ ). При сравнении показателей общего анализа мочи у пациентов первой группы чаще встречалась глюкозурия ( $p=0,05$ ).

Таблица 9 - Сравнительный анализ клинико-лабораторных параметров в исследуемых группах

параметр	дети с генетическими нарушениями, n= 32	дети без находок экзомного секвенирования, n = 55	p
неблагоприятный исход (без перемен, ухудшение, летальный), n (%)	18 (56 %)	11 (20 %)	<b>0,001</b>
поражение ЦНС, n (%)	24 (75 %)	31 (56 %)	<b>0,02</b>
судороги, n (%)	11 (34 %)	5 (9 %)	<b>0,001</b>
ЛДГ, Ед/л, Ме (LQ; UQ)	359,2 (291,1; 504,5)	240,0 (200; 337,9)	<b>0,001</b>
глюкоза, ммоль/л, Ме (LQ; UQ)	5,0 (4,2; 7,1)	4,2 (3,5; 5,6)	<b>0,02</b>
ПВ, сек, Ме (LQ; UQ)	16,3 (13,6; 17,8)	12,7 (11,9; 13,5)	<b>0,01</b>
МНО, Ме (LQ; UQ)	1,5 (1,3; 1,7)	1,1 (0,98; 1,2)	<b>0,006</b>
глюкозурия, n (%)	5 (6,2 %)	2 (3,6 %)	<b>0,05</b>

Кроме этого, обращает на себя внимание, что у пациентов с установленными наследственными заболеваниями (n= 19, 6 человек из I этапа исследования и 13 из II) в сравнении с детьми, не имеющими находок по результатам полноэкзомного секвенирования (n=55) чаще отмечалось повышение лактата выше 2,2 ммоль/л и ЛДГ выше 451,0 Ед/л. В первой группе лактат был повышен у 78,9 % (15/19) пациентов, во второй – у 49,0% (27/55). Повышение ЛДГ выявлено у 57,9 % (11/19) детей с наследственными заболеваниями против 9 % (5/55) пациентов из группы сравнения.

### 3.2.4. Описание клинических случаев гиперглициемии у детей

По результатам селективного скрининга с выполнением полноэкзомного секвенирования у двух пациентов выявлены НБО, у обоих диагностирована некототическая гиперглициемия. Один из детей - мальчик, вторая -девочка.

Родители пациентов по национальности - русские. Акушерский и семейный анамнез в обоих случаях не отягощены. Дети рождены в срок вне асфиксии с весом 3140 г. и 3380 г., оценкой по Апгар 8/9 б. и 7/9 б. соответственно. В первые сутки жизни состояние детей расценивалось как удовлетворительное, к груди приложены в родильном зале и находились в палате совместного с матерью пребывания.

У обоих самочувствие ухудшилось на вторые сутки жизни за счет угнетения ЦНС, отмечались мышечная гипотония, гипорефлексия, вялая реакция на манипуляции и осмотр. Судороги у обоих детей появились в ранний неонатальный период. У одного ребенка судорожные эквиваленты зафиксированы на третьи сутки в виде брадиаритмии, апноэ и гипертонуса в верхних конечностях с их энцефалографическим подтверждением, у второго - в форме икоты с конца вторых суток. Оба пациента потребовали проведения искусственной вентиляции легких с третьих суток жизни ввиду нарастания депрессии дыхания.

Лабораторно в двух случаях отмечено нарушение гликемии. У одного - эпизод гипогликемии 1,9 ммоль/л на пятые сутки, с последующей нормализацией концентрации глюкозы, у второго наблюдалась преходящая гипергликемия 7-20 ммоль/л со вторых до 12-х суток. В биохимическом анализе обоих пациентов выявлено повышение ЛДГ 657 Ед/л и 573 Ед/л на вторые и шестые сутки жизни соответственно с последующей нормализацией.

По данным дополнительных методов диагностики в двух случаях установлены гипоксически-ишемические изменения в виде повышения эхогенности паренхимы в перивентрикулярных отделах головного мозга, также у одного ребенка констатирована гепатомегалия с КВР печени 63 мм.

Забор крови у пациентов для проведения ТМС осуществлен в первые 24-48 часов, по результатам которой выявлено повышение концентрации глицина крови - 1136,6 мкмоль/л и 1141,0 мкмоль/л (норма до 1080 мкмоль/л). Учитывая изменения по ТМС, проведен ретест с определением глицина в ликворе, крови и их соотношения. Следует отметить, что у одного из детей в контрольном образце крови, забранном менее чем через сутки от первого, концентрация глицина находилась уже в пределах референсных значений и составила 969,6 мкмоль/л.

Содержание глицина в ликворе у детей значительно отличалось (1347,2 мкмоль/л и 138,7 мкмоль/л), как и соотношения глицин ликвора/плазмы крови (1,3 и 0,11). Но в обоих случаях указанное соотношение было выше нормы (норма <0,06).

В ходе селективного скрининга пациентам выполнено полноэкзомное секвенирование, по результатам которого выявлены одинаковые патогенные варианты в гене *AMT* в комплаунд гетерозиготном состоянии (с.959G>A, р.Arg320His и с.452\_del, р.Lys151\_Leu155del). Данные аллели описаны как патогенные у больных гиперглицинемией [ОМIM: 620398]. В последующем, проведено подтверждающее секвенирование по Сэнгеру. Несмотря на то, что дети имели одинаковые варианты в гене *AMT*, родственной связи между ними не выявлено.

Таким образом, возможность проведения ТМС позволила заподозрить диагноз на вторые сутки, а генетического секвенирования - подтвердить его в течение первого месяца жизни.

### **3.2.5. Оценка роли наследственных болезней обмена веществ в структуре генетической патологии у детей**

Наше исследование демонстрирует, что наследственные заболевания имеют место в структуре неонатальной патологии и ассоциированы с тяжелым течением, в том числе с летальным исходом. Их диагностика ввиду многообразия форм и клинической схожести с болезнями других групп без применения специфических лабораторных тестов в большинстве случаев невозможна.

Учитывая разные возможности методов, результаты первого и второго этапа исследования отличаются. В первой части работы в ходе селективного скрининга выявлено 5 пациентов с НБО, что составило 3,4 % обследованных. Диагностированные заболевания относятся к группам аминокислородпатий и аминокислородурий, при этом нарушений митохондриального  $\beta$ -ОЖК в нашей серии выявлено не было. После выписки из стационара у одного ребенка в ходе дальнейшего обследования также было диагностировано нарушение обмена

веществ - гликогеноз I типа (болезнь Гирке). Таким образом, частота НБО составила 6/144 (4,2%). Помимо этого, у одного ребенка выявлено наследственное заболевание, не относящееся к группе НБО (синдром Прадера-Вилли) при проведении цитогенетического анализа. Однако пациент с гиперглициемией не прошел молекулярно-генетическую диагностику. Следовательно суммарная частота подтвержденной наследственной патологии на первом этапе составила 4,1% (6/146).

У всех (7/7) детей отмечалось тяжелое течение болезни, больше половины детей (4/7, 57,1 %) требовали проведения реанимационных мероприятий и интенсивной терапии. Необходимо отметить, что из шести случаев летальных исходов на этом этапе работы, два (33,3 %) констатированы у детей с выявленными обменными заболеваниями.

По итогам второй части нашей работы окончательно подтверждены наследственные расстройства у 13/81 (16,0 %), при этом эта цифра может измениться в большую сторону при дальнейшем катамнестическом наблюдении. У 4/13 имелись специфические маркеры при массовом скрининге (30,7 %). Остальным 9/13 (69,2 %) диагноз не был бы установлен без проведения селективного экзомного секвенирования. Доля НБО среди обследованных в группе составила 2,5 % (2/81) и 15,4 % (2/13) от установленных генетических заболеваний.

Результаты нашего исследования показывают, что не меньше 16,0 % новорожденных с тяжелыми отклонениями в состоянии здоровья имеют генетические заболевания. При этом НБО, выявляемые по ТМС, не считая ФКУ, составляют 2,5 %. Остальные 13,5 % приходятся на наследственные расстройства других групп, для обнаружения которых требуется проведение молекулярно-генетической диагностики. Соответственно количество генетических, в первую очередь моногенных болезней, имеющих клинические проявления в первые месяцы жизни, значительно превышает количество, выявляемое по массовому скринингу.

### **3.3. Оптимизация алгоритмов диагностики наследственных заболеваний у детей раннего возраста с отклонениями в состоянии здоровья**

Наша работа продемонстрировала высокую роль генетически-детерминированных состояний среди пациентов отделений неонатального профиля. Второй этап исследования показал, что наследственные заболевания выявляются не менее, чем у 16,0 % (13/81) обследованных. В то же время генетическая природа расстройств подтверждена лишь у 4,1 % (6/146) детей из первой группы, при этом у 4/6 (66,6 %) молекулярно-генетическая диагностика инициирована после получения результатов селективного скрининга с использованием метода ТМС.

Таким образом генетически детерминированные болезни вносят весомый вклад в структуру младенческой заболеваемости наряду с такими причинами, как асфиксия, недоношенность, внутриутробные и постнатальные вирусные и бактериальные, грибковые инфекции, пороки развития.

При этом оценка по шкале Апгар для определения наличия и степени асфиксии проведена 97,9 % (143/146) обследованным первой группы, то есть всем детям за исключением случаев внебольничных родов. Охват своевременным пренатальным скринингом составил 90,4 % (132/146). Его не прошли лишь беременные, не вставшие на учет или нерегулярно наблюдавшиеся в женской консультации. Обследование на внутриутробные инфекции (цитомеловирус, токсоплазма, вирус простого герпеса 1 и 2 типа) проведено у 100 % (146/146) детей, как и определение концентрации СРБ в качестве маркера воспалительного процесса.

Однако охват молекулярно-генетическими методами составил 11/146 (7,5%) пациентов первого этапа исследования. При этом 4/11 (36,4 %) обследованы в рамках подтверждающей диагностики при положительных результатах ТМС. У 5/11 (45%) проведено панельное секвенирование на наследственные заболевания с поражением печени в рамках имеющейся диагностической программы на базе ФГБНУ МГНЦ. Полноэкзомное секвенирование выполнено двум пациентам (18,2%) в рамках дообследования после выписки из стационара.

Высокий процент генетических находок показывает необходимость внедрения полноэкзомного секвенирования в качестве метода селективного скрининга у пациентов неонатальных отделений. В настоящее время доступным к проведению методом обследования является цитогенетический анализ, который, безусловно является менее дорогостоящим и более быстрым в исполнении. Однако цитогенетический анализ позволяет установить изменения в хромосомном аппарате клеток, но не диагностирует моногенные заболевания.

Наше исследование показывает, что все пациенты (7/7, 100 %) с подтвержденными нарушениями обмена веществ имеют тяжелое течение болезни, к моменту описания летальный исход отмечен у 3/7 (42,9 %) детей, в том числе у 2/7 (28,6 %) в неонатальном периоде. Это подчеркивает положительную роль расширения массового скрининга, позволяющего улучшить прогноз за счет диагностики и начала лечения на доклинической стадии.

Необходимо отметить, что наши результаты демонстрируют низкий процент определения концентрации аммиака среди пациентов - 27/227 (11,8 %).

На втором этапе исследования неудовлетворительные результаты лечения, включающие отсутствие положительной динамики, ухудшение состояния или летальный исход составили 30,9 % (25/81 пациентов). Среди них у 14/25 (56,0%) детей выявлены генетические нарушения.

Следует учитывать, что наличие у ребенка асфиксии, недоношенности, инфекции не исключает наличие у него генетического заболевания. В нашей работе среди 26 обследованных с выявленными генетическими находками 50,0% (13/26) имели распространенные проблемы новорожденных: 4/26 (15,4%) рождены недоношенными со сроком гестации 28-36 нед.; 4/26 (15,4%) - в асфиксии с оценкой по Апгар на 1-минуте от 2 до 6 баллов; 5/26 (19,2 %) имели высокую концентрацию СРБ 25-100 мг/мл, как маркера воспалительного процесса; а у 6/25 (24%) было констатировано наличие активной вирусной инфекции, включая ЦМВ, ВПГ 1, 2 типа, а также вирус герпеса 6 типа.

На рисунке 8 представлен разработанный алгоритм диагностики моногенных заболеваний у детей,

## Алгоритмы диагностики наследственных заболеваний

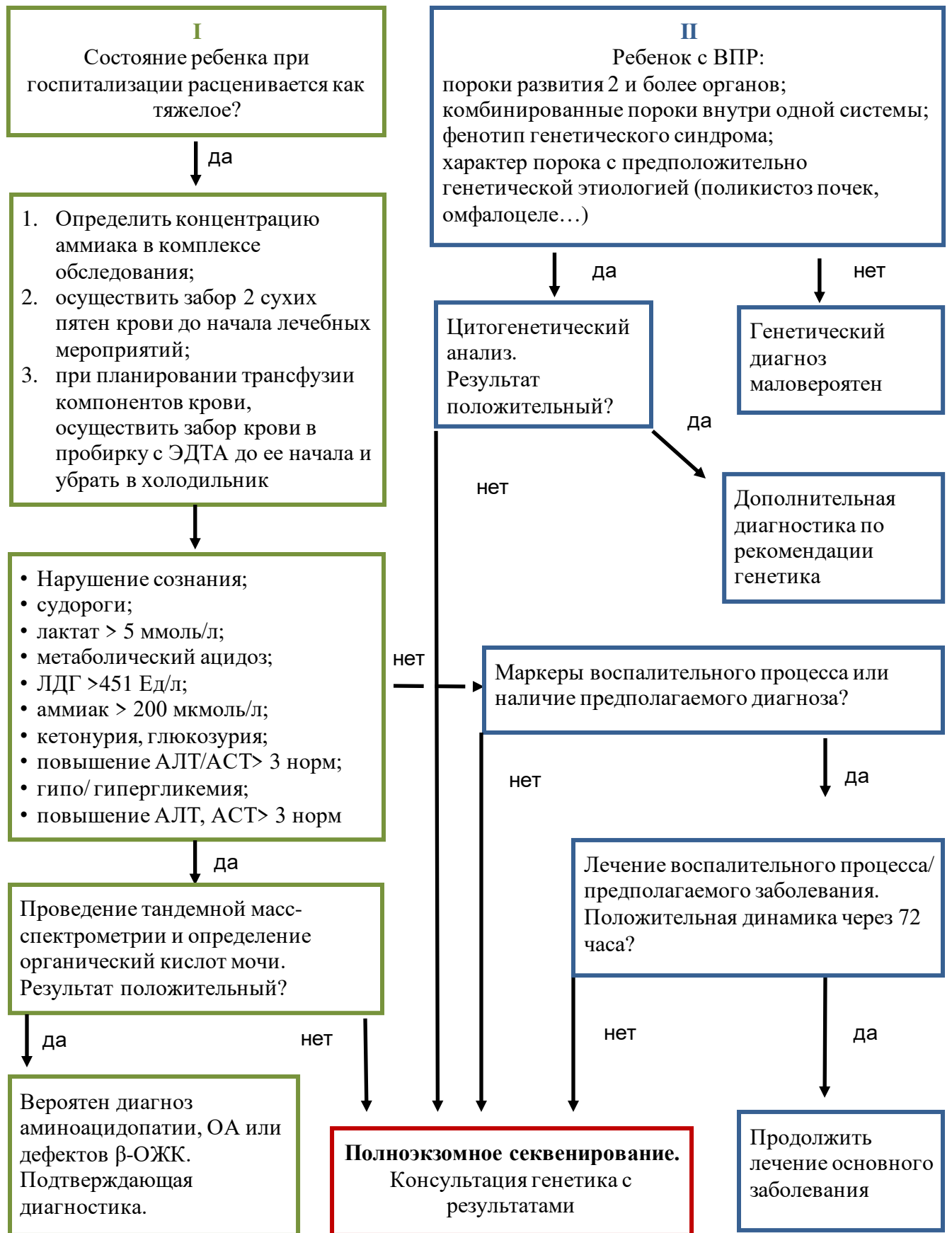


Рисунок 8 – Алгоритмы диагностики наследственных заболеваний

## Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Диагностика наследственных заболеваний, манифестирующих в периоде новорожденности, представляет сложную клиническую задачу [105]. Данная группа характеризуется крайне широким диапазоном состояний с варибельной клинической картиной и частым отсутствием патогномичных симптомов [72, 79]. Исследования, посвященные выявлению моногенных болезней, изучению их ранних клинико-лабораторных и инструментальных показателей являются актуальными ввиду редкой распространенности нозологий данной группы [92, 119].

В нашей работе проведено сравнение результатов селективного скрининга на наследственные заболевания методами ТМС и полноэкзомного секвенирования; описаны параметры, наблюдающиеся у детей с наследственными расстройствами.

Кроме этого, проанализированы симптомы дебюта нарушений аминокислотного обмена, которые были неспецифичными и представлены в первую очередь поражением ЦНС (угнетение сознания, вялость, мышечная гипотония, отказ от еды, судороги). Отмечено, что лабораторные и инструментальные изменения появлялись с некоторым опозданием от клинических проявлений и указывали на метаболическую декомпенсацию заболевания.

При отборе пациентов для проведения ТМС чаще встречались мультисистемные изменения, а при оценке вовлеченности систем - патология ЦНС. Среди детей, обследованных методом полноэкзомного секвенирования, самой большой группой включения в исследование стали дети с ВПР, но среди клинических симптомов также самыми частыми были изменения со стороны ЦНС. В опубликованных ранее работах также показана высокая распространенность отклонений ЦНС в дебюте наследственных заболеваний [92, 105].

В литературе встречаются описания пилотных проектов с применением генетического секвенирования, направленные на обследование как здоровых, так и

больных новорожденных [54, 96, 126]. В нашем исследовании проводился селективный скрининг среди пациентов, имеющих отклонения в состоянии здоровья.

В принципы, поставленные перед массовым скринингом, входит диагностика тех заболеваний, для которых разработаны методы лечения, и прогноз которых зависит от времени начала терапии [50, 85]. Проведение полноэкзомного секвенирования среди здоровых новорожденных ставит перед собой трудные задачи, как в сложности обработки и интерпретации полученных результатов у клинически здоровых детей, так и нерешенные этические проблемы в виде получения информации о заболевании, не имеющего разработанных методов лечения, и на прогноз которого повлиять невозможно. Кроме этого, если на текущий момент ребенок не имеет клинических проявлений, данная информация может создавать неблагоприятную психологическую атмосферу в семье [123, 128, 136, 140].

Проведение же скрининга с использованием полноэкзомного секвенирования у детей, имеющих отклонения в состоянии здоровья, лишено этического диссонанса, так как даже в случае диагностики заболевания, на исход которого повлиять невозможно, полученные результаты позволяют ответить на вопрос о причине текущего состояния и помогают осуществить его профилактику у будущих поколений.

Авторы приводят разные данные о частоте выявления патогенных вариантов, ассоциированных с развитием наследственных заболеваний в выборке среди здоровых детей, распространенность таких находок составляет от 1,6% до 7,8% [55, 126]. При этом ученые подчеркивают сложность интерпретации полученных вариантов, а также прогнозирование вероятности, тяжести и времени манифестации заболевания в популяции здоровых новорожденных из-за отсутствия или неясности фенотипа для многих расстройств при рождении. Значительной проблемой в использовании секвенирования в качестве скрининга является отсутствие данных об его аналитической и клинической эффективности в качестве прогностического теста. Мало что известно о положительной или

отрицательной ценности геномного и экзомного секвенирования у бессимптомных людей [96,126]. Следовательно, на текущем этапе накопленных знаний более оправданным как с этической, аналитической, так и с экономической точек зрения выглядит проведение генетического секвенирования у детей с патологическими изменениями, что позволит улучшить диагностику редких заболеваний, а также упростит и повысит эффективность анализа полученных данных.

В нашей выборке большинство пациентов рождены в срок, вне асфиксии и с хорошими весоростовыми параметрами. В работе Willing L. K. (2015 г.) также большая часть детей родились доношенными и с удовлетворительной оценкой по шкале Апгар [154]. В том же исследовании наиболее распространенными причинами для обследования были ВПР (26%) и нарушения со стороны нервной системы (20%), при этом отмечено, что новорожденные чаще имели сочетание клинических признаков [154]. В нашей работе пороки развития в группе пациентов, обследованных методом WES, имели 44% детей, а патологическая неврологическая симптоматика явилась основной причиной к проведению диагностики у 19 %. В нашем исследовании тоже большинство новорожденных имели сочетание клинических и лабораторных признаков. На сходные характеристики в своей работе указывает и Schofield D.B (2019 г.). В его серии большинство обследованных методом WES имели множественные врожденные аномалии и дисморфические особенности, нейрометаболические расстройства и скелетные дисплазии [135].

В нашем исследовании у 32 % детей, обследованных методом полноэкзомного секвенирования, обнаружены генетические изменения. При этом у 16 % на текущий момент подтверждено наследственное заболевание. В работе Dimmock D. и соавторы (2021 г.) приводят данные о диагностике генетических расстройств у 15 % среди всех пациентов, поступающих в отделения интенсивной терапии [67], что сопоставимо с нашими результатами. Также в исследовании Seyhan-Birsoy O. и соавторов (2019 г.) указывается о выявлении вариантов в генах, ответственных за развитие моногенных заболеваний у 15% пациентов отделений реанимаций [55]. Однако в работе Willing L. K. (2015 г.) частота

диагностированных патогенных аллелей среди новорожденных, находящихся в отделении интенсивной терапии выше и составила 57% среди обследованных [154]. Данное различие можно объяснить тем, что в нашу серию были включены пациенты, находящиеся не только в отделении реанимации, но и патологии, хирургии новорожденных; а исследования Dimmock D. (2021 г.) и Seyhan-Birsoy O. (2019 г.) включали всех детей, поступающих в отделения интенсивной терапии, в то время как Willing L. K. (2015 г.) с соавторами предварительно проводили селективный отбор больных.

Несмотря на то, что в нашей работе наибольшее число отправленных образцов принадлежало больным с ВПР, при оценке полученных результатов максимальное количество генетических находок (42,3%) было в группе пациентов с неврологическими нарушениями. Нельзя не отметить, что варианты разной степени значимости выявлены у 64,3% детей с судорожной активностью. Это указывает на высокую частоту наследственной этиологии судорог у новорожденных. Между тем, в группе детей, не обследованных методом полноэкзомного секвенирования, связь судорог с наследственным заболеванием обнаружена лишь в 6,4% случаях.

Дети с врожденными аномалиями также составили весомую часть пациентов генетическими находками (30,7%). Следует отметить, что большинство среди них имели аномалии двух и более систем организма, среди которых наиболее часто встречались пороки челюстно-лицевой области, скелета и ССС.

По данным Schofield D.V (2019 г.) и соавторов также наиболее часто среди врожденных аномалий наследственно опосредованными были комбинированные пороки ССС и костные аномалии. Хотя ВПР почек и мочевыводящих путей были самыми распространенными пороками, ни у одного пациента с изолированным поражением почек не установлена наследственная этиология.

По полученным нами данным частота случайных находок составила 4,9 % среди обследованных, что сопоставимо с материалами Roman T. S. (2020 г.), в работе которого выявлено 3,7 % случайных находок [126].

Необходимо отметить, что в нашем исследовании в первой группе пациентов, не обследованных методом полноэкзомного секвенирования, доля установленных генетических заболеваний составила лишь 4,1 %. При этом 3,4 % пришлось на долю НБО, 80 % которых выявлены по селективному скринингу с использованием ТМС. Приведенные данные явно указывают на гиподиагностику генетических заболеваний среди пациентов отделений неонатального профиля без использования молекулярно-генетических методов.

Высокую эффективность и клиническую значимость экзомного секвенирования подчеркивает и Schofield D. (2019 г.), опираясь на работы, демонстрирующие трех-четырекратное улучшение диагностики орфанных наследственных заболеваний при использовании WES [135].

Но в то же время Friedman J. M. (2017 г) полагает, что геномное и экзомное секвенирование не могут быть использованы на текущем этапе в качестве метода первой линии при выполнении массового скрининга новорожденных за счет результатов неопределенного клинического значения. Кроме этого, автор показывает в своей работе большую специфичность биохимических методов для ряда заболеваний в диагностике при выполнении массового скрининга и получении ложноотрицательных тестов WES [85].

Однако высокая эффективность биохимических маркеров правомочна в контексте здоровых новорожденных. Наша работа демонстрирует изменение метаболитов, определяемых по ТМС, при проведении лечебных мероприятий, в первую очередь парентерального питания. Это соотносится с данными других авторов [56, 110, 156]. Ввиду возможного изменения концентрации аминокислот и ацилкарнитинов у пациентов, получающих интенсивное лечение следует проводить исследование ТМС совместно с анализом органических кислот мочи.

Таким образом, ТМС пятен высушенной крови не должна быть единственным методом массового скрининга новорожденных, которые на момент обследования находятся в отделениях интенсивной терапии. Верность представленного суждения подкрепляется литературными данными,

указывающими на успешное внедрение скрининга с использованием экзомного секвенирования среди пациентов отделений реанимаций [42, 147].

В дополнении к вышеописанному, наше исследование подтверждает опубликованную информацию [63] о неустойчивой концентрации глицина крови как метаболита. В нашей работе колебания глицина крови между патологической и нормальной концентрацией были в течении одних суток. Патологическое соотношение глицина ликвора/глицину крови выявлено у обоих пациентов, однако сильно отличалось между собой. Учитывая неустойчивую концентрацию глицина крови, больные некетолической гиперглицинемией могут быть пропущены. Это указывает на необходимость проведения полноэкзомного секвенирования у всех новорожденных с судорогами.

У большинства детей с наследственными заболеваниями мы увидели повышение лактата и ЛДГ, превышающее частоту увеличения данных показателей у пациентов других нозологических групп, что можно объяснить наличием тканевой гипоксии у данной когорты.

Наша работа демонстрирует низкий охват определения концентрации аммиака среди пациентов неонатальных отделений (11,8%), хотя гипераммонемия является нередким патологическим состоянием у новорожденных [79,81].

В исследовании среди детей с выявленными генетическими находками, 50 % имели распространенную патологию новорожденных, такую как асфиксия при рождении, недоношенность, вирусная или бактериальная инфекции. Таким образом, наличие у ребенка «негенетического» заболевания не должно быть исключаяющим наследственную патологию.

Огромное число генетических расстройств [154], разнообразие клинических симптомов, вовлеченность в патологический процесс одновременно нескольких органов и систем [154], отсутствие сформированного фенотипа заболевания в периоде новорожденности [126] создают исключительную сложность диагностики наследственной патологии. В этой связи у детей без четко очерченного фенотипа проведение полноэкзомного секвенирования предпочтительнее панельному.

Размышляя на тему, может ли WES рассматриваться как метод массового скрининга новорожденных, вероятнее - да. Возможно, в будущем это позволит создать более персонализированный подход в медицине, опираясь на генетические особенности человека. Однако до этого необходимо решить много вопросов, касающихся анализа большого объема информации, создания материально-технической базы, этической стороны исследования. В связи с этим логичным и оправданным выглядит первым этапом внедрение экзомного секвенирования в стандарт диагностики больных детей. Селективный скрининг требует не столь большого количества материальных и кадровых затрат в сравнении с массовым из-за меньшего количества обследуемых, а также упрощает процедуру анализа полученных данных ввиду возможности соотнесения молекулярно-генетических результатов с фенотипом ребенка.

Генетически обусловленные заболевания, манифестирующие в неонатальном периоде, остаются актуальной сферой для молекулярно-генетических исследований [154,155]. На сегодняшний день проблема их ранней дифференциальной диагностики является крайне важной задачей [146]. Наша работа доказывает повышение эффективности диагностики наследственной патологии при использовании секвенирования всего экзома. Полноэкзомное секвенирование необходимо рассматривать как метод выбора первой линии в диагностике моногенных заболеваний у новорожденных с отклонениями в состоянии здоровья.

Подводя итог всему вышеизложенному, ранняя диагностика наследственных заболеваний, является важной и актуальной проблемой, решение которой позволит установить диагноз, разработать программу дополнительных исследований для пациента и/или его семьи, своевременно начать и скорректировать лечение. Диагностика наследственных заболеваний требует комплексного подхода и невозможна без использования молекулярно-генетических методов. Внедрение экзомного секвенирования в стандарт диагностических мероприятий может ускорить постановку диагноза и тем самым повысить точность лечения, будь то терапевтическое или паллиативное, и дать ответы о прогнозе и риске рецидива в

семье. Установленное наследственное заболевание не только позволяет улучшить прогноз у данного пациента, но и проводить профилактику у будущих поколений, используя пренатальную диагностику при последующих беременностях или вспомогательные репродуктивные технологии с предимплантационной диагностикой.

## ВЫВОДЫ

1. Наследственные заболевания диагностируются у 16 % детей первых месяцев жизни с тяжелой соматической патологией и в большинстве случаев сопровождаются признаками поражения центральной нервной системы, включающими синдром угнетения, нарушение сознания, судороги.

2. Установлено, что в случае клинической манифестации наследственных болезней обмена веществ в раннем неонатальном периоде, у всех пациентов наблюдаются симптомы поражения центральной нервной системы, более чем в половине случаев – повышение концентрации лактата и развитие метаболического ацидоза, и у 28,6 % - летальный исход в течение первого месяца жизни.

3. Генетические нарушения выявляются у 56,0 % пациентов первых месяцев жизни с тяжелой соматической патологией и неудовлетворительными результатами лечения, при этом выраженность гипокоагуляции в рамках синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания является наиболее достоверным предиктором неблагоприятного исхода госпитализации.

4. Повышение концентрации лактатдегидрогеназы и появление глюкозурии у пациентов с наследственными заболеваниями диагностируются достоверно чаще, в то же время констатировано отсутствие определенного клинико-биохимического симптомокомплекса, позволяющего достоверно отличить генетические расстройства от заболеваний других групп, что определяет необходимость проведения полноэкзомного секвенирования в качестве диагностического стандарта.

5. Среди детей с установленными наследственными заболеваниями высокий уровень лактата выявлен у 78,9 % и лактатдегидрогеназы - у 57,9 %, что превышало частоту увеличения данных показателей у пациентов других нозологических групп и послужило основанием их включения в диагностический алгоритм.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Проведение секвенирования всего экзома показано всем новорожденным с судорогами.

2. Полноэкзомное секвенирование рекомендовано новорожденным с комбинированными пороками ССС и врожденными пороками развития, затрагивающими 2 или более систем при отсутствии изменений по данным цитогенетического анализа.

3. Полноэкзомное секвенирование необходимо выполнять как дополнительный скрининговый тест у новорожденных, которые на момент забора крови для проведения массового скрининга находились в отделениях интенсивной терапии.

4. Определение концентрации аммиака нужно рассмотреть как скрининговый тест всем детям, требующим лечения в отделениях патологии, хирургии и реанимации новорожденных.

5. Наличие распространенных проблем новорожденных, таких как асфиксия, недоношенность, внутриутробная и постнатальная вирусная и бактериальная инфекции не должны рассматриваться как факторы, исключающие наследственное заболевание.

6. Рекомендовано превентивное проведение забора крови для выполнения tandemной масс-спектрометрии и полноэкзомного секвенирования на этапе поступления ребенка в отделения неонатального профиля, если состояние ребенка расценивается как тяжелое, особенно при наличии признаков поражения ЦНС. Так как начатое лечение, особенно парентеральное питание и гемотрансфузии могут приводить к искажению результатов у удлинять время диагностического поиска.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Перспективой развития данной работы может стать следующий этап оценки эффективности методов молекулярно-генетической диагностики у пациентов отделений неонатального профиля, а также проведение катamnестического наблюдения за пациентами с выявленными патогенными и вероятно патогенными вариантами в генах.

С целью определения возможной причины при неустановленном заболевании возможно проводить полногеномное секвенирование, а также исследования экзома или генома родителей для определения новых ген-ассоциаций.

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Приказ Минздрава России от 30.12.1993 № 316 «О дальнейшем развитии медико-генетической службы Министерства здравоохранения Российской Федерации»: офиц. текст. - М., 1993. - 29 с.
2. Приказ Министерства Здравоохранения России от 22.03.2006 № 185 «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания»: офиц. текст. - М., 2006. -5 с.
3. Приказ Министерства Здравоохранения РФ от 15 ноября 2012 г. № 917н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи больным с врожденными и (или) наследственными заболеваниями»: офиц. текст. - М., 2012. - 20 с.
4. Приказ Министерства Здравоохранения РФ от 21 апреля 2022 г. № 274н «Об утверждении порядка оказания медицинской помощи пациентам с врожденными (или) наследственными заболеваниями»: офиц. текст. - М., 2022. -57 с.
5. Указ Президента РФ от 29.05.2017 N 240 "Об объявлении в Российской Федерации Десятилетия детства»: офиц. текст. - М., 2017. -1 с.
6. Указ Президента РФ от 7 мая 2018 г. N 204 "О национальных целях и стратегических задачах развития Российской Федерации на период до 2024 года»: офиц. текст. - М., 2018. -11 с.
7. Постановление Правительства РФ от 26 апреля 2012 г. N 403 "О порядке ведения Федерального регистра лиц, страдающих жизнеугрожающими и хроническими прогрессирующими редкими (орфанными) заболеваниями, приводящими к сокращению продолжительности жизни граждан или их инвалидности, и его регионального сегмента»: офиц. текст. - М., 2012. - 6 с.
8. Приказ Министерства здравоохранения Свердловской области от 02.03.2012 г. № 166-п «О совершенствовании массового обследования новорожденных детей на наследственные заболевания на территории Свердловской области»: офиц. текст. - Екатеринбург, 2012. - 10 с.

9. Алиева, К.А. Актуальные вопросы массового скрининга на наследственные заболевания / К. А. Алиева, Н.Т. Гусейнова, Р.Ф. Мамедова // *Universum: химия и биология: электронный. науч. журн.* - 2022.- № 4 (94). - С. 40-44.

10. Антонец, А. В. Референсные значения концентрации аминокислот и ацилкарнитинов для массового обследования новорожденных на наследственные болезни обмена веществ методом тандемной масс-спектрометрии / А. В. Антонец, О. С. Оксенюк, С. С. Амелина [и др.] // *Вопросы диагностики в педиатрии.* - 2013. - № 2. - С. 22-27.

11. Байдакова, Г. В. Роль тандемной масс-спектрометрии в диагностике наследственных болезней обмена веществ / Г. В. Байдакова, Т. А. Иванова, Е. Ю. Захарова [и др.] // *Российский журнал детской гематологии и онкологии.* - 2018. - Т. 5, № 3. - С. 96–105.

12. Баранов, А. А. Тенденции младенческой и детской смертности в условиях реализации современной стратегии развития здравоохранения Российской Федерации / А. А. Баранов, Л. С. Намазова-Баранова, В. Ю. Альбицкий [и др.] // *Вестник РАМН.* - 2017. - Т. 72, № 5. - С. 375–382.

13. Баранов, А. А. Проблемы детской инвалидности в современной России / А. А. Баранов, Л. С. Намазова-Баранова, Р. Н. Терлецкая [и др.] // *Вестник РАМН.* - 2017. - Т. 72, № 4. - С. 305–312.

14. Бочков, Н. П. Наследственные болезни: национальное руководство / Н. П. Бочков, Е. К. Гинтер, В. П. Пузырев. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. - 936 с.

15. Воинова, В. Ю. Ресурсы оказания медицинской помощи больным с орфанными заболеваниями в различных странах / В. Ю. Воинова, М. А. Школьникова, Н. Б. Найговзина // *Доктор.Ру.* - 2018. - Т. 148, № 4. - С. 6–13.

16. Воронин, С. В. Неонатальный скрининг на наследственные заболевания в России: вчера, сегодня, завтра / С. В. Воронин, С. И. Куцев // *Неонатология: новости, мнения, обучение.* - 2022. - Т. 10, № 4. - С. 34–39.

17. Гурылева, М. Э. Проблемы оказания медицинской помощи больным орфанными заболеваниями / М. Э. Гурылева // Правовые вопросы в здравоохранении. - 2014. - № 2. - С. 50-57.

18. Гинтер Е. К. Медицинская генетика: национальное руководство / Е.К. Гинтер, В. П. Пузырев, С. И. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2022. - 896 с.

19. Дерябина, С. С. Неонатальный скрининг: этические вопросы расширения спектра скринируемых заболеваний / С.С. Дерябина // Вопросы современной педиатрии. - 2015. - Т. 14, № 6. - С. 714–723.

20. Захарова, Е. Ю. Программы массового скрининга: технические, социальные и этические вопросы / Е. Ю. Захарова // Медицинская генетика. - 2006. - № 3. - С. 21–23.

21. Захарова, Е. Ю. Массовый скрининг на наследственные болезни: Ключевые вопросы / Е. Ю. Захарова, В. Л. Ижевская, Г. В. Байдакова [и др.] // Медицинская генетика. - 2017. - Т. 16, № 10. - С. 3-13.

22. Колтунов, И. Е. Морозовская детская больница: 115 лет служения и взгляд в будущее / Колтунов И. Е., Петрайкина Н. В., Бузина Н. В. // Педиатрия. - 2018. - Т. 97, № 6. - С. 216-220.

23. Краснопольская, К. Д. Наследственные болезни обмена веществ: Справочное пособие для врачей / К. Д. Краснопольская. - М.: Фохат, 2005. - 364 с.

24. Куцев, С. И. Неонатальный скрининг: национальное руководство / С. И. Куцев. - М.: ГЭОТАР - Медиа, 2023. - 360 с.

25. Мамедов, И. С. Быстрая диагностика наследственных болезней обмена веществ у детей / И. С. Мамедов, О. А. Перевезенцев, И. В. Золкина // Вестник РГМУ. - 2010. - № 3. - С. 57–61.

26. Мамедов И.С. Оценка масс-спектрометрических показателей для дифференциальной диагностики наследственных нарушений обмена органических кислот у детей / И. С. Мамедов, В. С. Сухоруков, И. В. Золкина [и др.] // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2019. - Т. 64, № 1. - С. 61–67.

27. Мартынович, Н. Н. Клинико-лабораторные маркеры наследственных болезней обмена веществ у детей первого полугодия жизни / Н. Н. Мартынович, Н.

Э. Глобенко, С. Н. Кузнецова // Acta Biomedica Scientifica. - 2020. - Т. 5, № 4. - С. 73-78.

28. Матулевич, С. А. Организация неонатального скрининга на наследственные болезни обмена в Краснодарском крае и первые результаты обследования новорожденных на АГС, муковисцидоз и галактоземию / С. А. Матулевич // Медицинская генетика. - 2007. - № 1(43). - С. 45-49.

29. Матулевич, С. А. Компьютеризация и программное обеспечение неонатального скрининга на наследственные болезни обмена / С. А. Матулевич // Медицинская генетика. - 2009. - Т. 8, № 3 (81). - С. 35-38.

30. Михайлова, С. В. Нейрометаболические заболевания у детей и подростков: диагностика и подходы к лечению / С. В. Михайлова, Е. Ю. Захарова, А. С. Петрухин. - 2-е изд., перераб. и доп. - М.: Литтерра, 2017. - 386 с.

31. Николаева, Е. А. Современные технологии диагностики наследственных болезней обмена аминокислот / Е. А. Николаева, И. С. Мамедов, И. В. Золкина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2011. - № 4. - С. 20–30.

32. Николаева, Е. А. Современные возможности лечения наследственных заболеваний у детей / Е. А. Николаева, А. Н. Семячкина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. - 2018. - Т. 63, № 4. - С. 6–14.

33. Нифантова, Р. В. Национальный проект «Здоровье» в Уральском федеральном округе / Р. В. Нифантова, Т. П. Бессонова, О. О. Павленко // Экономика региона. - 2008. - № 2. - С. 100-108.

34. Печатникова, Н. Л. Наследственные болезни обмена веществ / Н. Л. Печатникова, Н. О. Брюханова, О. Е. Потехин [и др.] // Московская медицина. - 2017. - Т. 6, № 2. - С. 16–20.

35. Печатникова, Н. Л. Селективный скрининг на наследственные болезни обмена веществ: Метод. рекомендации / Н. Л. Печатникова, Н. О. Брюханова, О. Е. Потехин [и др.] - М.: ДЗМ, 2017. - 24 с.

36. Рыжкова, О. П. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового

параллельного секвенирования (MPS) / О. П. Рыжкова, О. Л. Кардымон, Е. Б. Прохорчук [и др.] // Медицинская генетика. - 2019. - Т. 18, № 2. - С. 3–23.

37. Семенова, Н. А. Эффективность и переносимость специализированного продукта диетического лечебного питания при нарушениях обмена жирных кислот с длинной и очень длинной углеродной цепью у детей / Н. А. Семенова, Е. А. Шестопалова, С. И. Куцев // РМЖ. Мать и дитя. - 2021. - Т. 4, № 1. - С.98–102.

38. Тебиева, И. С. Опыт мировой и отечественной практики неонатального скрининга на наследственные заболевания / И. С. Тебиева, Ф. К. Лагкуева, М. Ф. Логачев [и др.] // Педиатрия. - 2012. - Т. 91, № 1. - С. 128-132.

39. Шавалиев, Р. Ф. Профилактика редких болезней: современные аспекты и новые вызовы / Р. Ф. Шавалиев, С. Ш. Яфарова, С. Я. Волгина // Российский педиатрический журнал. - 2017. - Т. 20, № 4. - С. 226-232.

40. Шубина, Е. Использование экзомного секвенирования для проведения неонатального скрининга: возможности и ограничения / Е. Шубина, Н. С. Павлова, А. Е. Донников [и др.] // Неонатология: новости, мнения, обучение. - 2022. - Т. 10, №4.-С.40–46.

41. Adhikari, A.N. Genomic analysis of historical cases with positive newborn screens for short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency shows that a validated second-tier biochemical test can replace future sequencing / A. N. Adhikari, R. J. Currier, H. Tang // International journal of neonatal screening. - 2020. - Vol. 6, № 2. - P. 41.

42. Adhikari, A.N. The role of exome sequencing in newborn screening for inborn errors of metabolism / A. N. Adhikari, R. C. Gallagher, Y. Wang [et al.] // Nat. Med. - 2020. - Vol. 26, № 9. - P. 1392–1397.

43. Aliu, E. Amino acid disorders / E. Aliu, S. Kanungo, G. L. Arnold // Ann Transl Med. - 2018. - Vol. 6, № 24. - P. 471.

44. Al-Sadeq, D. W. The spectrum of mutations of homocystinuria in the mena region / D. W. Al-Sadeq, G. K. Nasrallah // Genes. - 2020. - Vol. 11, № 3. - P. 1–17.

45. Barbitoff, Y. A. Systematic dissection of biases in whole-exome and whole-genome sequencing reveals major determinants of coding sequence coverage / Y. A. Barbitoff, D. E. Plev, A. S. Glotov AS [et al.] // bioRxiv. - 2018. - P. 387639.

46. Berg, J. S. Newborn sequencing in genomic medicine and public health / J. S. Berg, P. B. Agrawal, D. B. Bailey [et al.] // *Pediatrics*. - 2017. - Vol. 139, № 2. - P. 20162252.
47. Berry, S. A. Newborn screening / S. A. Berry // *Clin Perinatol*. - 2015. - Vol. 42, № 2. - P. 441-53.
48. Beth, A. Welch state newborn screening in the tandem mass spectrometry era: more tests, more false-positive results / A. Beth, D. A. Christakis, H. Gilbert // *Pediatrics*. - 2006. - Vol. 118, № 2. - P. 448-456.
49. Bonomi, M. Klinefelter syndrome (KS): genetics, clinical phenotype and hypogonadism / M. Bonomi, V. Rochira, D. Pasquali [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* - 2017. - Vol. 40, № 2. - P. 123–134.
50. Burlina, A. New approach to objectively evaluate inherited metabolic diseases for inclusion on newborn screening programmes / A. Burlina, S. A. Jones, A. Chakrapani [et al.] // *International Journal of Neonatal Screening*. - 2022. - Vol. 2, № 2. - P. 25.
51. Castiñeras D. E. Newborn screening for metabolic disorders in Spain and worldwide / D. E. Castiñeras, M-L Couce, J. L. Marín [et al.] // *An Pediatr (Barc)*. - 2019. - Vol. 91, № 2. - P. 128e.1-128e.14.
52. Cicalini, I. Analytical evaluation of the ideal strategy for high-throughput flow injection analysis by tandem mass spectrometry in routine newborn screening / I. Cicalini, S. Valentinuzzi, D. Pieragostino [et al.] // *Metabolites*. - 2021. - Vol. 11, № 8. - P. 473.
53. Campos, H. D. Tandem mass spectrometry as screening for inborn errors of metabolism / H. D. Campos // *Rev Med Chil*. - 2011. - Vol. 139, № 10. - P. 1356-64.
54. Ceyhan-Birsoy, O. A curated gene list for reporting results of newborn genomic sequencing / O. Ceyhan-Birsoy, K. Machini, M. S. Lebo [et al.] // *Genet Med*. - 2017. - Vol. 19, № 7. - P. 809–818.
55. Ceyhan-Birsoy, O. Interpretation of Genomic Sequencing Results in Healthy and Ill Newborns: Results from the BabySeq Project / O. Ceyhan-Birsoy, J. B. Murry, K. Machini [et al.] // *Am. J. Hum. Genet.* - 2019. - Vol. 104, № 1. - P. 76–93.

56. Chace, D. H. Impact of second-tier testing on the effectiveness of newborn screening / D. H. Chace, W. H. Hannon // *Clin Chem.* - 2010. - Vol. 56, № 11. - P. 1653-1655.
57. Chace, D. H. The application of tandem mass spectrometry to neonatal screening for inherited disorders of intermediary metabolism / D. H. Chace, T. A. Kalas, E. W. Naylor // *Annu Rev Genomics Hum Genet.* - 2002. № 3. - P. 17-45.
58. Chan, M-J. Taiwan national newborn screening program by tandem mass spectrometry for mucopolysaccharidoses types I, II, and VI / M-J. Chan, H-C. Liao, M. H. Gelb // *J Pediatr.* - 2019. - № 205. - P. 176–182.
59. Chien, Y-H. Newborn screening for Morquio disease and other lysosomal storage diseases: results from the 8-plex assay for 70,000 newborns / Y-H. Chien, N-C. Lee, P-W. Chen // *Orphanet Journal of Rare Diseases.* - 2020. - Vol. 15, № 1. - P. 38.
60. Chinsky, J. M. Diagnosis and treatment of tyrosinemia type I: a US and Canadian consensus group review and recommendations / J. M. Chinsky, R. Singh, C. Ficicioglu [et al.] // *Genet Med.* - 2017. - Vol. 19, № 12. - P. 1–16.
61. Chokoshvili, D. Expanded carrier screening for monogenic disorders: where are we now? / D. Chokoshvili, D. Vears, P. Borry [et al.] // *Prenat. Diagn.* - 2018. - Vol. 38, № 1. - P. 59–66.
62. Couce, M.-L. Fifty years of neonatal screening for congenital diseases in Spain / M.-L. Couce // *An Pediatr (Barc).* - 2019. - Vol. 90, № 4. - P. 205-206.
63. Coughlin, C. R. The genetic basis of classic nonketotic hyperglycinemia due to mutations in GLDC and AMT / C. R. Coughlin, M. A. Swanson, K. Kronquist [et al.] // *Genet Med.* - 2017. - Vol. 19, № 1. - P. 104–11.
64. David, J. Epidemiology of rare diseases detected by newborn screening in the Czech republic / J. David, P. Chrastina, K. Pešková // *Cent Eur J Public Health.* - 2019. - Vol. 27, № 2. - P. 153–159.
65. Delot, E. C. Towards improved genetic diagnosis of human differences of sex development / E. C. Delot, E. Vilain // *Nat. Rev. Genet.* - 2021. - Vol. 22, № 9. - P. 588–602.

66. Dietzen, D. J. National academy of clinical biochemistry laboratory medicine practice guidelines: follow-up testing for metabolic disease identified by expanded newborn screening using tandem mass spectrometry; executive summary / D. J. Dietzen, P. Rinaldo, R. J. Whitley [et al.] // *Clinical chemistry*. - 2009. - Vol. 55, № 9. - P. 1615-1626.
67. Dimmock, D. Project Baby Bear: Rapid precision care incorporating rWGS in 5 California children's hospitals demonstrates improved clinical outcomes and reduced costs of care / D. Dimmock, S. Caylor, B. Waldman [et al.] // *Am. J. Hum. Genet. Elsevier Company*. - 2021. - Vol. 108, № 7. - P. 1231–1238.
68. Dhondt, J. L. Expanded newborn screening: social and ethical issues / J.L. Dhondt // *J Inherit Metab Dis*. - 2010. - Vol. 33, № 2. - P. 211-217.
69. Donati, M. A. Newborn screening in mucopolysaccharidoses / M. A. Donati, E. Pasquini, M. Spada [et al.] // *Italian Journal of Pediatrics*. - 2018. - Vol. 44, № 2. - P. 126.
70. Durieux-Smith, A. Universal newborn hearing screening: A question of evidence / A. Durieux-Smith, E. Fitzpatrick, J. Whittingham // *Int. J. Audiol*. - 2008. - Vol. 47, № 1. - P. 1–10.
71. Elfatih, A. Frequency and management of medically actionable incidental findings from genome and exome sequencing data: a systematic review / A. Elfatih, I. Mohammed, D. Abdelrahman [et al.] // *Physiol. Genomics*. - 2021. - Vol. 53, № 9. - P. 373–384.
72. El-Hattab, A.W. Inborn errors of metabolism/ A. W. El-Hattab // *Clin. Perinatol*. - 2015. - № 42. - P. 413–439.
73. El-Hattab, A. W. Newborn Screening History, Current Status, and Future Directions / A. W. El-Hattab, M. Almannai, V. R. Sutton // *Pediatr Clin N Am*. - 2018. - № 65. - P. 389–405.
74. Elliott S. Pilot study of newborn screening for six lysosomal storage diseases using tandem mass spectrometry / S. Elliott, N. Buroker, J. J. Cournoyer // *Mol Genet Metab*. - 2016. - Vol. 118, № 4. - P. 304–309.

75. Esquerda, M. Interdisciplinar En Bioetica G. Ethical questions concerning newborn genetic screening / M. Esquerda, F. Palau, D. Lorenzo [et al.] // Clin. Genet. - 2021. - Vol. 99, № 1. - P.93-98.

76. Fan, L. Molecular, biochemical, and clinical analyses of five patients with carbamoyl phosphate synthetase 1 deficiency / L. Fan, J. Zhao, L. Jiang [et al.] // J Clin Lab Anal. - 2020. - Vol. 34, № 4. - P. 1–9.

77. Feng, W. Case report: maple syrup urine disease with a novel DBT gene mutation/W. Feng, J. Jia, H. Guan[et al.]// BMC Pediatr. - 2019. - Vol. 19, № 1. - P. 1–5.

78. Ferlin, A. Strategies to improve early diagnosis of Klinefelter syndrome / A. Ferlin // Ex- pert Rev. Endocrinol. Metab. - 2020. - Vol. 15, № 6. - P. 375–378.

79. Ferreira, C. R. Inborn errors of metabolism / C. R. Ferreira, C. D. M. van Karnebeek // Handb Clin Neurol. - 2019. - Vol.162. - P. 449-481.

80.Ferreira, C. R. An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD) / C. R. Ferreira, S. Rahman, M. Keller, [et. al.] // J Inherit Metab Dis. - 2021.- Vol. 44, № 1. - P. 164-177.

81. Foschi, F. G. Urea cycle disorders: a case report of a successful treatment with liver transplant and a literature review / F. G. Foschi, M. C. Morelli, S Savini [et al.] // World J Gastroenterol. - 2015. - Vol. 21, № 13. - P. 4063–8.

82. Frankel, L. A. Potential psychosocial risks of sequencing newborns / L. A. Frankel, S. Pereira, A. L. McGuire // Pediatrics. - 2016. - Vol. 137, № 1. - P. 24-29.

83. Frasier, J. L. Methylmalonic and propionic acidemias: clinical management update / J. L. Frasier, C. P. Venditti // Curr Opin Pediatr. - 2016. - Vol. 28, № 6. - P. 682–93.

84. Frenkel, J. Familial Mediterranean fever: not to be missed / J. Frenkel, F. J. Bemelman, B. J. Potter van Loon [et al.] // Ned. Tijdschr. Geneesk. - 2013. - Vol. 157, № 18. - P. A5784.

85. Friedman, J. M. Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations / J. M. Friedman, M. C. Cornel, A. J. Goldenberg [et al.] // BMC Medical Genomics. - 2017. - Vol.10. - P. 9.

86. Garg, U. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects / U. Garg, M. Dasouki // *Clin Biochem.* - 2006. - Vol. 39, № 4. - P. 315-32.

87. Gelb, M. H. Direct multiplex assay of enzymes in dried blood spots by tandem mass spectrometry for the newborn screening of lysosomal storage disorders / M. H. Gelb, F. Turecek, C. R. Scott [et al.] // *J. Inherit. Dis.* - 2006. - Vol. 29. - P. 397-404.

88. Green, N. S. Newborn screening: Complexities in universal genetic testing / N. S. Green, S. M. Dolan, T. H. Murray // *Am J Public Health.* - 2006. - Vol. 96, № 11. - P. 1955–9.

89. Grody, W. W. ACMG position statement on prenatal/preconception expanded carrier screening / W. W. Grody, B. H. Thompson, A. R. Gregg [et al.] // *Genet Med.* - 2013. - Vol. 15, № 6. - P. 482–483.

90. Guo, M.H. Estimating yields of prenatal carrier screening and implications for design of expanded carrier screening panels / M. H. Guo, A. R. Gregg // *Genet. Med.* - 2019. - Vol. 21, № 9. - P. 1940–1947.

91. Guo, J. GJB2 gene therapy and conditional deletion reveal developmental stage-dependent effects on inner ear structure and function / J. Guo, X. Ma, J. M. Skidmore [et al.] // *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.* - 2021. - Vol. 23. - P. 319–333.

92. Guo, K. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism and genetic characteristics in a Chinese population / K. Guo, X. Zhou, X. Chen [et al.] // *Front. Genet.* - 2018. - Vol. 9. - 122.

93. Guthrie, R. The origin of newborn screening / R. Guthrie // *Screening.* - 1992. - № 1. - P. 5-15.

94. Guthrie, R. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants / R. Guthrie, A. Susi // *Pediatrics.* - 1963. - Vol. 32. - P. 338–343.

95. Hirst, L. Impact of dietary interventions in inborn errors of metabolism in paediatric dentistry: review of the literature and case series / L. Hirst, S. Mubeen, A. Chakrapani // *Clin. Case Rep.* - 2020. - Vol. 9, № 2. - P. 764-768.

96. Holm, I. A. The BabySeq project: implementing genomic sequencing in newborns / I. A. Holm, P. B. Agrawal, O. Ceyhan-Birsoy [et al.] // BMC pediatrics. - 2018. - Vol. 18, № 1. - P. 225.

97. Hong, X. Multiplex tandem mass spectrometry assay for newborn screening of X-linked adrenoleukodystrophy, biotinidase deficiency, and galactosemia with flexibility to assay other enzyme assays and biomarkers / X. Hong, A. B. Kumar, C. R. Scott // Mol Genet Metab. - 2018. - Vol. 124, № 2. - P. 101–108.

98. Howard, H. C. Whole-genome sequencing in newborn screening? A statement on the continued importance of targeted approaches in newborn screening programmes / H. C. Howard, B. M. Knoppers, M. C. Cornel [et al.] // European Journal of Human Genetics. - 2015. - Vol. 23, № 12. - P. 1593-1600.

99. Ibarra-González, I. Molecular analysis using targeted next generation DNA sequencing and clinical spectrum of Mexican patients with isovaleric acidemia / I. Ibarra-González, C. Fernández-Lainez, S. Guillén-López [et al.] // Clin Chim Acta. - 2020. - № 501. - P. 216–21.

100. Irwin, H. R. Blood phenylalanine levels of newborn infants A routine screening program for the hospital newborn nursery / H. R. Irwin, S. Notrica, W. Fleming // Calif Med. - 1964. - Vol. 101, № 5. - P. 331–333.

101. Ismail, I. T. Inborn errors of metabolism in the era of untargeted metabolomics and lipidomics / I. T. Ismail, M. R. Showalter, O. Fiehn // Metabolites. - 2019. - № 9. - P. 242.

102. Kanungo, S. Newborn screening and changing face of inborn errors of metabolism in the United States / S. Kanungo, D. R. Patel, M. Neelakantan, B. Ryali // Ann Transl Med. - 2018. - Vol. 6, № 24. - P. 468.

103. Knottnerus, S. Disorders of mitochondrial long-chain fatty acid oxidation and the carnitine shuttle / S. Knottnerus, J. Bleeker, R. T. Wüst [et al.] // Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders. - 2018. - Vol. 19, № 1. - P. 93–106.

104. Lanfranco, F. Klinefelter's syndrome / F. Lanfranco, A. Kamischke, M. Zitzmann [et al.] // Lancet. - 2004. - Vol. 364, № 9430. - P. 273–283.

105. Leonard, J. V. Diagnosis and early management of inborn errors of metabolism presenting around the time of birth / J. V. Leonard, A. A. Morris // *Acta Paediatr.* - 2006. - Vol. 95. - P. 6-14.

106. Lo, S. F. Identification of urine organic acids for the detection of inborn errors of metabolism using urease and gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) / S. F. Lo, K. Pierzchalski, V. Young [et al.] // *Methods in molecular biology* (Clifton, N. J.). - 2022. - Vol. 2546. - P. 335-350.

107. Ma, S. Expanded newborn screening for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry in newborns from Xinxiang city in China / S. Ma, Q. Guo, Z. Zhang // *J Clin Lab Anal.* - 2020. - № 34, № 5. - e.23159.

108. Mak, C. M. The first pilot study of expanded newborn screening for inborn errors of metabolism and survey of related knowledge and opinions of health care professionals in Hong Kong / C. M. Mak, E. C. Y. Law, H. H. C. Lee // *Hong Kong Med J.* - 2018. - Vol. 24, № 3. - P. 226-237.

109. Markosyan, R. Sex assignment in conditions affecting sex development / R. Markosyan, S. F. Ahmed // *J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol.* - 2017. - Vol. 9, № 2. - P. 106–112.

110. Matern, D. Reduction of the false-positive rate in newborn screening by implementation of MS/MS-based second-tier tests: the Mayo Clinic experience (2004-2007) / D. Matern, S. Tortorelli, D. Oglesbee [et al.] // *J. Inherit. Metab. Dis.* - 2007. - Vol. 30. - P. 585-592.

111. Merritt, J. L. Fatty acid oxidation disorders / J. L. Merritt, M. Norris, S. Kanungo // *Ann Transl Med.* - 2018. - Vol. 6, № 24. - P. 473.

112. Meyer-Bahlburg, H.F.L. Gender monitoring and gender reassignment of children and adolescents with a somatic disorder of sex development / H. F. L. Meyer-Bahlburg // *Child. Adolesc. Psychiatr. Clin. N. Am.* - 2011. - Vol. 20, № 4. - P. 639–649.

113. Miller, D.T. 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) / D. T. Miller, K. Lee, W. K. Chung [et al.] // *Genet. Med.* - 2021. - Vol. 23, № 8. - P. 1381–1390.

114. Millington, D.S. Tandem mass spectrometry: a new method for acylcarnitine profiling with potential for neonatal screening for inborn errors of metabolism / D. S. Millington, N. Kodo, D. L. Norwood [et al.] // *J. Inherit. Metab. Dis.* - 1990. - Vol. 13, № 3. - P. 321–324.

115. Minter Baerg, M. M. Precision newborn screening for lysosomal disorders / M. M. Minter Baerg, S. D. Stoway, J. Hart // *Genetics in Medicine.* - 2018. - Vol. 20, № 8. - P. 847-854.

116. Moat, S. J. Use of dried blood spot specimens to monitor patients with inherited metabolic disorders / S. J. Moat, R. S. George, R. S. Carling // *Int J Neonatal Screen.* - 2020. - Vol. 6, № 2. - P. 26.

117. Morris A. Guidelines for the diagnosis and management of cystathionine beta-synthase deficiency / A. Morris, V. Kožich, S. Santra [et al.] // *J Inherit Metab Dis.* - 2017. - Vol. 40, № 1. - P. 49–74.

118. Morrow, G. Biochemical and clinical aspects of hereditary tyrosinemia type 1 / G. Morrow, R. M. Tanguay // *Adv Exp Med Biol.* - 2017. - № 959. - P. 9–21.

119. Mujamammi, A. H. Insights into National laboratory newborn screening and future prospects / A. H. Mujamammi // *Medicina (Kaunas).* - 2022. - Vol. 58, № 2. - P.272.

120. Nagamani, S. Argininosuccinate lyase deficiency / S. Nagamani, A. Erez, B. Lee // *Genet Med.* - 2012. - Vol. 14, № 5. - P. 501–7.

121. Pasterski, V. Increased cross-gender identification independent of gender role behavior in girls with congenital adrenal hyperplasia: results from a standardized assessment of 4- to 11-year-old children / V. Pasterski, K. J. Zucker, P. C. Hindmarsh [et al.] // *Arch. Sex. Behav.* - 2015. - Vol. 44, № 5. - P. 1363–1375.

122. Pereira, S. Perceived benefits, risks, and utility of newborn genomic sequencing in the BabySeq Project Group / S. Pereira, J. O. Robinson, A. M. Gutierrez [et al.] // *Pediatrics.* - 2019. - Vol. 143, № 1. - P. S6 -13.

123. Pereira, S. Psychosocial effect of newborn genomic sequencing on families in the BabySeq Project: a randomized clinical trial / S. Pereira, H. S. Smith, L. A. Frankel [et al.] // *JAMA Pediatrics.* - 2021. - Vol. 175, № 11. - P. 1132 - 1141.

124. Powell, C. M. What is Newborn Screening? / C. M. Powell // NCMJ. - 2019. - Vol. 80, № 1. - P. 32-36
125. Ramsay, J. Organic acid disorders / J. Ramsay, J. Morton, M. Norris [et al.] // Ann Transl Med. - 2018. - Vol. 6, № 24. - P. 472.
126. Roman T.S. Genomic Sequencing for Newborn Screening: Results of the NC NEXUS Project / T. S. Roman, S. B. Crowley, M. I. Roche [et al.] // Am. J. Hum. Genet. - 2020. - Vol. 107, № 4. - P. 596–611.
127. Romero, P. Computational prediction of human metabolic pathways from the complete human genome / P. Romero, J. Wagg, M. L. Green [et al.] // Genome Biol. - 2004. - Vol. 6, № 1. - R. 2.
128. Ross, L. F. Ethical Issues in Newborn Sequencing Research: The Case Study of BabySeq / L. F. Ross, E. W. Clayton // Pediatrics. - 2019. - Vol. 144, № 6. - P. e20191031.
129. Sarar, M. Incidence of newborn screening disorders among 56632 infants in Central Saudi Arabia. A 6-year study / M. Sarar, W. Elsheikh, A. I. Al-Aqeel [et al.] // Saudi Med J. - 2020. - Vol. 41, № 7. - P. 703-708.
130. Sarker, S. K. Age-specific cut-off values of amino acids and acylcarnitines for diagnosis of inborn errors of metabolism using liquid chromatography tandem mass spectrometry / S.K. Sarker, T. Islam, A. Biswas // BioMed Research International // - 2019. - e3460902.
131. Sassi, F. Calculating QALYs, comparing QALY and DALY calculations / F. Sassi // Health Policy Plan. - 2006. - Vol. 21, № 5. - P. 402–408.
132. Savy, N. Acute pediatric hyperammonemia: current diagnosis and management strategies / N. Savy, D. Brossier, C. Brunel-Guitton [et al.] // Heat. Med. - 2018. - Vol. 10. - P. 105-115.
133. Saudubray J. M. Inborn errors of metabolism. Overview pathophysiology, manifestations, evaluation, and management / J.M. Saudubray, À. Garcia-Cazorla // Pediatr Clin. - 2018. - № 65. - P. 179–208.
134. Schlune, A. Aspects of newborn screening in isovaleric acidemia / A. Schlune, A. Riederer, E. Mayatepek [et al.] // J Neonatal Screen. - 2018. - Vol. 4, № 1. - P. 1-12.

135. Schofield, D. Long-term economic impacts of exome sequencing for suspected monogenic disorders: diagnosis, management, and reproductive outcomes / D. Schofield, L. Rynehart, R. Shrestha [et al.] // *Genet. Med.* - 2019. - Vol. 21, № 11. - P. 2586–2593.
136. Schwartz, T. S. Effects of participation in a U.S. trial of newborn genomic sequencing on parents at risk for depression / T. S. Schwartz, K. D. Christensen, M. K. Uveges [et al.] // *Journal of genetic counseling.* - 2022. - Vol. 31, № 1. - P. 218-229.
137. Shibata, N. Diversity in the incidence and spectrum of organic acidemias, fatty acid oxidation disorders, and amino acid disorders in Asian countries: selective screening vs. expanded newborn screening / N. Shibata, Y. Hasegawa, K. Yamada [et al.] // *Molecular Genetics and Metabolism Reports.* - 2018. - № 16. - P. 5–10.
138. Spivak, L. Newborn Hearing Screening Follow-Up: Factors affecting hearing aid fitting by 6 months of age / L. Spivak, H. Sokol, C. Auerbach [et al.] // *Am. J. Audiol.* - 2009. - Vol. 18, № 1. - P. 24–33.
139. Strauss, K. A. Maple Syrup Urine Disease / K. A. Strauss, E. G. Puffenberger, V. J. Carson // *GeneReviews.* - 2020. - P. 1–33.
140. Tarini, B. A. State newborn screening in the tandem mass spectrometry era: more tests, more false-positive results / B. A. Tarini, D. A. Christakis, H. G. Welch // *Pediatrics.* - 2006. - Vol. 118. - P. 448.
141. Tarini, B. A. Ethical issues with newborn screening in the genomics era / B. A. Tarini, A. J. Goldenberg // *Annu Rev. Genomics Hum. Genet.* - 2012. - Vol. 13. - P. 381-393.
142. Tezcan, M. E. MEFV gene testing may guide physicians for early diagnosis of familial Mediterranean fever / M. E. Tezcan, M. Avci, R. Mercan [et al.] // *Int. J. Rheum. Dis.* - 2018. - Vol. 21, № 7. - P. 1452–1457.
143. Therrell, B. L. Current status of newborn screening worldwide: 2015 / B. L. Therrell, C. D. Padilla, J. G. Loeber [et al.] // *Semin Perinatol.* - 2015. - Vol. 39, № 3. - P. 171-187.
144. Tufan, A. Familial Mediterranean fever, from pathogenesis to treatment: a contemporary review / A. Tufan, H. J. Lachmann // *Turk. J. Med. Sci.* - 2020. - Vol. 50, № 7. - P. 1591–1610.

145. Van El, C. G. Whole-genome sequencing in health care / C. G. Van El, M. C. Cornel, P. Borry [et al.] // *Hum. Genet.* - 2013. - Vol. 21. - P. 580.

146. VanNoy, G. E. Challenging the current recommendations for carrier testing in children / G. E. VanNoy, C. A. Genetti, A. L. McGuire [et al.] // *Pediatrics.* - 2019. - Vol. 143, № 1. - P. S 27-32.

147. Veldman, A. Towards next-generation sequencing (NGS)-based newborn screening: a technical study to prepare for the challenges ahead / A. Veldman, M. B. G. Kiewiet, M. R. Heiner-Fokkema // *Int. J. Neonatal. Screen.* - 2022. - Vol. 8, № 1. - P. 17.

148. Vishwanath, V. A. Fatty acid beta-oxidation disorders: a brief review / V. A. Vishwanath // *Ann Neurosci.* - 2016. - Vol. 23, № 1. - P. 51–55.

149. Wasserstein, M. P. The New York pilot newborn screening program for lysosomal storage diseases: report of the first 65,000 infants / M. P. Wasserstein, M. Caggana, S. M. Bailey // *Genet Med.* - 2019. - Vol. 21, № 3. - P. 631–640.

150. Watson, M. S. Newborn screening: Toward a uniform screening panel and system / M. S. Watson, M. Y. Mann, M. A. Lloyd-Puryear [et al.] // *Genet Med.* - 2006. - Vol. 8, № 5. - P. 1S-11S.

151. Watson, M. S. Newborn screening: Toward a uniform screening panel and system / M. S. Watson, M. Y. Mann, M. A. Lloyd-Puryear [et al.] // *Genet Med.* - 2006. - Vol. 8, № 5. - P. 12S-252S

152. Weber, S. Identification of 47 novel mutations in patients with Alport syndrome and thin basement membrane nephropathy / S. Weber, K. Strasser, S. Rath [et al.] // *Pediatr. Nephrol.* - 2016. - Vol. 31, № 6. - P. 941–955.

153. Wiley, V. Screening Pathways through China, the Asia Pacific Region, the World / V. Wiley, D. Webster, G. Loeber // *Int. J. Neonatal Screen.* - 2019. - Vol. 5, № 3. - P. 26.

154. Willing, L. K. Whole-genome sequencing for identification of Mendelian disorders in critically ill infants: a retrospective analysis of diagnostic and clinical findings / L. K. Willing, J. E. Petrikin, L. D. Smith [et al.] // *The Lancet. Respiratory medicine.* - 2015. - Vol. 3, № 5. - P. 377 -387.

155. Wojcik, M. H. Discordant results between conventional newborn screening and genomic sequencing in the BabySeq Project / M. H. Wojcik, T. Zhang, O. Ceyhan-Birsoy [et al.] // *Genet. Med.* - 2021. - Vol. 23, № 7. - P. 1372–1375.

156. Ziegler, S. G. Inborn errors of amino acid metabolism – from underlying pathophysiology to therapeutic advances / S.G. Ziegler, J. Kim, J. T. Ehmsem [et al.] // *Disease Models & Mechanisms.* - 2023. - Vol. 16. - dmm050233.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АВК - атриовентрикулярный канал

АК - аминокислоты

АЛТ - аланинаминотрансфераза

АСТ - аспартатаминотрансфераза

ВДКН - врожденная дисфункция корды надпочечников

ВПР - врожденный порок развития

ГГТ - гамма-глутамилтранспептидазы

ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖК - жирные кислоты

КВР - косо-вертикальный размер

КФК - креатинфосфокиназа

КЩС - кислотно-щелочное состояние

ЛДГ - лактатдегидрогеназа

ММА - метилмалоновая ацидурия

МРТ - магнитно-резонансная терапия

НБО - наследственные болезни обмена веществ

НРС - нарушений ритма сердца

НСГ - нейросонография

ОА - органические ацидурии (аминоацидурии)

ОК - органические кислоты

ОЖК - окисление жирных кислот

ССС - сердечно-сосудистая система

СРБ - С-реактивный белок

ТМС - тандемная масс-спектрометрия

ЦНС - центральная нервная система

ФКУ - фенилкетонурия

ЩФ - щелочная фосфатаза

LPAT - likely pathogenic variant (вероятно патогенный вариант)

NGS - массовое параллельное секвенирование

PAT - pathogenic variant (патогенный вариант)

VUS – variant with unknown significant (вариант неопределенной клинической значимости)

WES – whole exome sequencing (полноэкзомное секвенирование)

WGS - whole genome sequencing (полногеномное секвенирование)

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Классификация наследственных болезней обмена веществ

(Carlos R. Ferreira et al., 2021) [80]



## ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Метаболиты, выявляемые в крови при проведении тандемной масс-спектрометрии при наследственных болезнях обмена [11].

№	Заболевание	Сокращенное название	Тандемная масс-спектрометрия		Ген
			Основной метаболит, мкмоль/л	Дополнительные метаболиты (мкмоль/л) и соотношения	
<i>Аминоацидопатии</i>					
1	Фенилкетонурия	ФКУ, PKU	Phe↑	Phe/Tyr↑	<i>PAH</i>
2	Тирозинемия 1-го типа	TYR1	SA↑	Tyr↑	<i>FAH</i>
3	Болезнь с запахом кленового сиропа мочи	Лейциноз, MSUD	Leu/Ile↑	Val↑, Leu/Phe↑, Leu/Ala↑	<i>BCKDHA, BCKDHB</i>
4	Некетотическая гиперглицинемия	NKH	Gly↑		<i>GLDC, GCST, GCSH</i>
5	Гомоцистинурия/недостаточность цистатионин-β-синтетазы	НСУ	Met↑	Met/Phe↑	<i>CBS</i>
6	Гомоцистинурия/недостаточность метилентетрагидрофолатредуктазы	НСУ	Met↓	Met/Phe↓	<i>MTHFR</i>
<i>Заболевания, связанные с нарушением цикла мочевины (Кребса–Гензелейта)</i>					
7	Недостаточность карбамилфосфат-синтазы	CPS I	Cit↓		<i>CPS1*</i>
8	Недостаточность орнитин транскарбамилазы	OTC	Cit↓		<i>OTC</i>
9	Аргининянтарная ацидурия/недостаточность аргининосукцинат-лиазы	ACA	Cit↑, Arg↑		<i>ASL</i>

## Продолжение таблицы приложения 2

10	Недостаточность N-ацетилглутамат-синтазы	NAGS	Cit↓ (не во всех случаях)	Ala↑	NAGS
11	Недостаточность аргиназы	ARG	Arg↑		ARG1, ARG2
12	Цитруллинемия 1-го типа	CTLN1	Cit↑	Cit/Arg↑	ASS
<b>Органическая ацидурия</b>					
13	Изовалериановая ацидемия/недостаточность изовалерил-КоА-дегидрогеназы	IVA	C5↑	C0↓, C5/C2↑, C5/C0↑, C5/C3↑	IVD
14	Пропионовая ацидемия/недостаточность пропионил-КоА-карбоксилазы	PA	C3↑	C0↓, C3/C2↑, C3/C0↑	PCCA, PCCB
15	Метилмалоновая ацидемия	MMA	C3↑	C4DC↑, C3/C2↑, C0↓, C3/C0↑	MUT, MMAA, MMAB, MMACHC, MMADHC
16	Недостаточность биотинидазы	BTD	C5OH↑		BTD
17	Глутаровая ацидемия 1-го типа/недостаточность глутарил-КоА-дегидрогеназы 1-го типа	GA1	C5DC↑	C5DC/C16↑	GCDH
<b>Нарушения митохондриального ОЖК</b>					
18	Недостаточность короткоцепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот	SCAD	C4↑		C4↑
19	Недостаточность среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот	MCAD	C8↑, C6↑, C10:1↑	C10↑, C8/C10↑	ACADM

### ПРИЛОЖЕНИЕ 3

#### Перечень заболеваний, выявляемых при проведении массового неонатального скрининга в Российской Федерации [4, 17].

Заболевание	Код по МКБ - 10
Заболевания, выявляемые по неонатальному скринингу до 2023 г.	
<b>Фенилкетонурия</b>	E70.0
<b>Врождённый гипотиреоз</b> (врождённый гипотиреоз с диффузным зобом; врождённый гипотиреоз без зоба; дисгормональный зоб; другие уточненные болезни щитовидной железы)	E03.0; E03.1; E07.1; E07.8
<b>Муковисцидоз</b> (кистозный фиброз с легочными проявлениями; кистозный фиброз с кишечными проявлениями; кистозный фиброз с другими проявлениями; кистозный фиброз неуточненный)	E84.0; E84.1; E84.8; E84.9
<b>Галактоземия</b> (нарушения обмена галактозы)	E74.2
<b>Адреногенитальный синдром</b> (врожденные адреногенитальные нарушения, связанные с дефицитом ферментов; другие адреногенитальные нарушения; адреногенитальное нарушение неуточненное)	E25.0; E25.8; E25.9
Заболевания, вошедшие в расширенный неонатальный скрининг с 2023 г	
Наследственные болезни обмена веществ	
<b>Дефицит синтеза биоптерина</b> (тетрагидробиоптерина) (другие виды гиперфенилаланинемии)	E70.1
Дефицит реактивации биоптерина (тетрагидробиоптерина) (другие виды гиперфенилаланинемии)	E70.1
<b>Тирозинемия, тип I</b> (нарушения обмена тирозина)	E70.2
<b>Болезнь с запахом кленового сиропа мочи</b> (болезнь "кленового сиропа")	E71.0
<b>Гомоцистинурия</b> (нарушения обмена серосодержащих аминокислот)	E72.1
<b>Пропионовая ацидемия</b> (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1

## Продолжение таблицы приложения 3

Метилмалоновая ацидемия (метилмалонил КоА-мутаза недостаточность) (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Метилмалоновая ацидемия</b> (недостаточность кобаламина А) (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Метилмалоновая ацидемия</b> (недостаточность кобаламина В) (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Метилмалоновая ацидемия</b> (недостаточность кобаламина С) (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Метилмалоновая ацидемия</b> (недостаточность кобаламина D) (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Метилмалоновая ацидемия</b> (дефицит метилмалонил КоА-эпимеразы) (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Изовалериановая ацидемия</b> (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>3-гидрокси-3-метилглутаровая ацидурия</b> (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Глутаровая ацидемия, тип I</b> (нарушения обмена лизина и гидроксилизина)	E72.3
<b>Глутаровая ацидемия, тип II</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Первичная карнитиновая недостаточность</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Недостаточность среднецепочечной ацил-КоА дегидрогеназы жирных кислот</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Длинноцепочечная 3-ОН ацил-КоА дегидрогеназная недостаточность</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Очень длинноцепочечная ацил-КоА дегидрогеназная недостаточность</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3

## Продолжение таблицы приложения 3

<b>Недостаточность митохондриального трифункционального белка</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Недостаточность карнитин-пальмитоилтрансферазы, тип I</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Недостаточность карнитин-пальмитоилтрансферазы, тип II</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Недостаточность карнитин-ацилкарнитинтранслоказы</b> (нарушения обмена жирных кислот)	E71.3
<b>Цитруллинемия, тип I</b> (нарушения обмена цикла мочевины)	E72.2
<b>Аргиназная недостаточность</b> (нарушения обмена цикла мочевины)	E72.2
<b>Бета-кетотиолазная недостаточность</b> (другие виды нарушений обмена аминокислот с разветвленной цепью)	E71.1
<b>Недостаточность синтетазы голокарбоксилаз</b> (недостаточность других уточненных витаминов группы B)	E53.8
<b>Спинальная мышечная атрофия</b>	
<b>Спинальная мышечная атрофия</b> (детская спинальная мышечная атрофия, I тип [Верднига-Гоффмана]; другие наследственные спинальные мышечные атрофии; спинальная мышечная атрофия неуточненная)	G12.0; G12.1; G12.9
<b>Первичные иммунодефициты</b>	
<b>Первичные иммунодефициты</b> (иммунодефициты с преимущественной недостаточностью антител; комбинированные иммунодефициты; иммунодефициты, связанные с другими значительными дефектами; другие иммунодефициты)	D80; D81; D82; D84