

Научно-исследовательский клинический институт педиатрии  
и детской хирургии имени академика Ю.Е. Вельтищева  
ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России

На правах рукописи

**МАМЕДОВ**

**Ильгар Салех оглы**

**Хромато-масс-спектрометрическая диагностика  
наследственных болезней метаболизма у детей**

3.3.8 – клиническая лабораторная диагностика

диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Научный консультант:  
доктор медицинских наук,  
профессор Сухоруков В.С.

Москва – 2023

## Оглавление

|  |     |
|--|-----|
| ВВЕДЕНИЕ .....   | 4   |
| 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ .....  | 17  |
| 1.1. Современная диагностика наследственных болезней обмена веществ .....  | 17  |
| 1.2. Применение хромато-масс-спектрометрических методов анализа в лабораторной диагностике .....   | 19  |
| 1.3. Наследственные болезни обмена аминокислот.....  | 24  |
| 1.4. Наследственные болезни обмена органических кислот.....  | 34  |
| 1.5. Наследственные болезни обмена жирных кислот .....   | 41  |
| 1.6. Наследственные болезни обмена пуриновых и пиримидиновых оснований .....   | 53  |
| 1.7. Референсные интервалы диагностических маркеров для здоровой детской популяции ....  | 58  |
| 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....   | 63  |
| 2.1. Группы пациентов .....  | 63  |
| 2.2. Методики количественного определения биохимических маркеров методами хромато-масс-спектрометрии .....   | 66  |
| 2.2.1. <i>Методика количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией</i> .....  | 66  |
| 2.2.2. <i>Методика количественного определения органических кислот в моче методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией</i> .....  | 74  |
| 2.2.3. <i>Методика количественного определения длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией</i> .....   | 79  |
| 2.2.4. <i>Методика количественного определения пуринов и пиримидинов в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией</i> .....   | 82  |
| 2.3. Методы статистического анализа.....   | 89  |
| 3. РЕЗУЛЬТАТЫ.....   | 91  |
| 3.1. Результаты анализа биохимических маркеров наследственных болезней обмена аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией .....               | 91  |
| 3.1.1. <i>Определение референсных интервалов аминокислот и ацилкарнитинов в крови у детей разных возрастных групп</i> .....  | 91  |
| 3.1.2. <i>Определение референсных интервалов органических кислот в образцах мочи детей разных возрастных групп методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией</i> .....   | 95  |
| 3.1.3. <i>Характеристика данных, полученных при анализе образцов сухих пятен крови и мочи пациентов с помощью валидированных методик количественного определения аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот</i> ..... | 98  |
| 3.1.4. <i>Биохимические маркеры наследственных болезней обмена аминокислот и ацилкарнитинов</i> .....  | 99  |
| 3.1.5. <i>Биохимические маркеры наследственных болезней обмена органических кислот</i> .....   | 103 |
| 3.1.6. <i>Валидация диагностической значимости разработанных методик количественного</i>   |     |

|  |     |
|--|-----|
| <i>определения маркеров наследственных болезней обмена аминокислот и органических кислот</i> .....   | 105 |
| <b>3.2. Результаты анализа биохимических маркеров пероксисомных болезней методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией</b> .....   | 108 |
| <i>3.2.1. Определение референсных интервалов длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови детей разных возрастных групп</i> .....   | 108 |
| <i>3.2.1. Характеристика данных, полученных при анализе образцов плазмы крови пациентов с помощью валидированной методики количественного определения длинноцепочечных жирных кислот</i> ..... | 109 |
| <i>3.2.2. Биохимические маркеры пероксисомных болезней</i> .....   | 110 |
| <b>3.3. Результаты анализа биохимических маркеров наследственных болезней обмена пуринов и пиримидинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией</b> .....      | 114 |
| <i>3.3.1. Определение референсных интервалов пуринов и пиримидинов в образцах мочи детей разных возрастных групп</i> .....   | 114 |
| <i>3.3.2. Характеристика данных, полученных при анализе образцов мочи пациентов с помощью валидированной методики количественного определения пуринов и пиримидинов</i> .....                  | 115 |
| <i>3.3.3. Биохимические маркеры наследственных болезней обмена пуринов и пиримидинов</i> .....   | 116 |
| <b>3.4. Примеры эффективного применения хромато-масс-спектрометрических методов анализа при проведении диагностики различных наследственных болезней обмена веществ у детей</b> .....          | 119 |
| <b>3.5. Диагностическая значимость МС-маркеров наследственных болезней обмена веществ</b> ..   | 125 |
| <i>3.5.1. Подтверждение диагностической значимости основных (классических) маркеров, определяемых хромато-масс-спектрометрическими методами</i> .....  | 125 |
| <i>3.5.2. Диагностическая значимость дополнительных маркеров, определяемых хромато-масс-спектрометрическими методами</i> .....   | 131 |
| <b>3.6. Включение хромато-масс-спектрометрических методов исследования в алгоритмы диагностики наследственных болезней обмена веществ</b> .....  | 142 |
| <b>4. ОБСУЖДЕНИЕ</b> .....   | 150 |
| <b>4.1. Вариабельность значений референсных интервалов диагностических маркеров наследственных нарушений метаболизма для здоровой детской популяции</b> .....                                  | 150 |
| <b>4.2. Патологические значения маркерных метаболитов наследственных болезней обмена веществ у детей</b> .....   | 156 |
| <b>5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ</b> .....   | 162 |
| <b>6. ВЫВОДЫ</b> .....   | 169 |
| <b>7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ</b> .....  | 173 |
| <b>8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....  | 175 |
| <b>ПРИЛОЖЕНИЕ А</b> .....  | 209 |

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность исследования

В современной педиатрии одной из главных проблем является проблема ранней диагностики наследственных болезней обмена веществ. Хотя большинство данных заболеваний являются редкими в популяции, они всё равно лидируют в структуре детской патологии и детской смертности [6, 9, 19, 20]. Вариабельность клинических симптомов, тяжесть течения, отсутствие этиологического лечения на уровне генома, а также генетическая гетерогенность – всё это делает проблему врожденных нарушений обмена веществ очень актуальной для педиатров. Для многих нозологических форм уже имеются адекватные методы патогенетической терапии (специальные диеты, терапия различными формами энзимов, генетическое редактирование и пр.), которые, позволяют смягчить тяжесть заболевания, особенно на ранних этапах, и даже, достигнуть стойкой ремиссии или относительного выздоровления. Для правильного ведения терапии требуется максимально точно и быстро [20, 26, 83, 130] провести диагностику.

Индивидуальная патогенетическая картина нарушений обмена аминокислот, органических кислот, ацилкарнитинов, жирных кислот, пуринов и пиримидинов осложнена тем, что отдельные клинические признаки в различных сочетаниях и в разной степени выраженности, могут проявляться при отдельных типах нарушения обмена. В результате, только своевременная лабораторная диагностика, с помощью высокотехнологичных методов хроматографического анализа, может помочь в выявлении пациентов с данными патологиями [20, 24, 26].

Современные методы жидкостной/газовой хроматографии с масс-спектрометрией позволяют селективно и точно выявлять врожденные болезни обмена по количественному содержанию биохимических диагностических маркеров в крови и моче. В комплексе диагностических процедур анализ крови и мочи с помощью тандемной масс-спектрометрии имеет важнейшее значение

[105, 250]. В то же время, нет полных алгоритмов диагностики при подозрении на наследственные болезни обмена. Известно, что, лабораторная диагностика на разных уровнях развития патогенеза врожденного заболевания может использоваться не только для подтверждения предварительного клинического диагноза, но и для массового неонатального скрининга наследственной патологии метаболизма в детских популяциях [20], но зачастую не всегда эти диагностические инструменты реализуются в полной мере [19, 83, 134, 239]. Не стандартизированы спектры биохимических маркеров для большинства болезней обмена. Отсутствуют общепринятые нормы (референсные интервалы) для здоровой популяции детей. Содержание этих веществ в биологических жидкостях организма достаточно вариативно и зависит от множества факторов даже у здоровых лиц. Несмотря на это, многие клиницисты используют для диагностики данные литературы, последние зачастую значительно разнятся у разных авторов. Патологические значения маркеров заболеваний обычно значительно отличаются от нормальных диапазонов, но, к сожалению, нет четкой границы между «нормальными» и патологическими значениями этих веществ [141], что в свою очередь также может затруднять процесс интерпретации полученных лабораторных данных для правильной и быстрой диагностики [29, 30].

Поэтому чрезвычайно актуально совершенствование детекции ряда маркеров наследственных нарушений обмена, а также расчет собственных референсных диапазонов для каждой лаборатории, которая занимается диагностикой наследственных болезней обмена [20] или массовым скринингом на наследственные заболевания у детей [30]. При этом особенно важна стандартизация лабораторной практики с учетом различия показателей в зависимости от возраста. По данным литературы, исследование различий в возрастных педиатрических группах проводилось в малом количестве исследований и не всегда с полной градацией по возрастам [239]. В итоге успехи лабораторной медицины не всегда находят достаточное и полное применение в медицинской, в том числе педиатрической, практике, хотя они имеют для нее первоочередное значение [10, 240].

## Степень разработанности

Тяжелая степень протекания патологического процесса, несвоевременно назначенное лечение, вариабельность клинических симптомов – все эти причины делают очень актуальной проблему врожденных болезней обмена веществ в педиатрии. Одна из значительных проблем современной лабораторной медицины – ранняя диагностика наследственных болезней обмена [20] (НБО) веществ. Благодаря тому, что такие современные хроматографические методы исследования как жидкостная (ВЭЖХ-МС/МС) и газовая хроматография (ГХ-МС) с масс-спектрометрическим детектированием способны быстро и точно количественно определять содержание диагностически значимых маркерных метаболитов в биологических жидкостях, они имеют важнейшее значение в области клинической лабораторной диагностики.

В настоящее время опубликован целый ряд результатов исследований по определению диагностических маркеров НБО аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, жирных кислот, пуринов и пиримидинов такими методами, как ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС. При анализе этих данных обращают на себя внимание некоторые особенности. Так, согласно данным литературы диагностика нарушений обмена аминокислот и ацилкарнитинов с применением хромато-масс-спектрометрических методов анализа в мире была начата в 90-х годах прошлого столетия. В данных работах подробно описываются особенности методологии метода для применения в лабораторной диагностике врожденных нарушений обмена аминокислот и ацилкарнитинов [70–72, 85, 162, 268]. С начала 2000-х годов начинается публикация результатов научных работ в аспекте сравнения методологии детектирования аминокислот. Так, выходит несколько статей по сравнению типов хроматографирования и детекции [52, 85, 88, 90], а также целый ряд статей, посвященных детектированию аминокислот в пятнах крови с использованием новой методики пробоподготовки – без дериватизации искомым анализом [189, 193, 194, 255, 268]. Аналогичная ситуация складывается при изучении литературных данных по определению ацилкарнитинов в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС [59]. В основном, в опубликованных статьях содержится

информация о методологии определения концентраций ацилкарнитинов [59, 201]. Также, как и в случае аминокислот, публикуются результаты работ, посвященных детектированию ацилкарнитинов в пятнах крови с использованием новой методики пробоподготовки – без дериватизации искомым анализом, а также результаты исследований по стабильности ацилкарнитинов в пятнах крови [100, 108, 150]. В настоящее время почти все развитые страны проводят диагностику аминокислот и ацилкарнитинов с применением тандемной масс-спектрометрии [69, 84, 137, 145, 146, 149, 158, 245, 262, 266].

Большое количество статей о применении метода ГХ-МС для диагностики НБО органических кислот опубликовано в 90-х годах двадцатого столетия. В этих источниках приведены особенности пробоподготовки и дериватизации анализом, хроматографирования и масс-спектрометрии, а также перечислены клинические случаи, которые были диагностированы с помощью данных методик [1, 74, 148, 184]. В настоящее время метод газовой хроматографии с масс-спектрометрией является «золотым стандартом» для количественного определения органических кислот [36, 124].

Анализ литературных данных показал, что опубликованы несколько статей с описанием методологии анализа и варианты применения хромато-масс-спектрометрических методов анализа для количественного определения длинноцепочечных жирных кислот в биологических жидкостях [36, 76, 164, 165, 252]. В работе [167] выявлены зависимости содержания данных анализом в плазме крови от диеты обследованных.

При диагностике нарушений обмена пуринов и пиримидинов, в основном для их количественного определения применяется метод ВЭЖХ-МС/МС. Эти работы были опубликованы в начале 2000-х годов при активном внедрении этого метода в мировую научную и лабораторную практику. В литературных источниках содержится информация о методологии определения концентраций веществ, в некоторых статьях также приводятся различные варианты пробоподготовки образцов мочи пациентов [25, 118, 127].

Таким образом, важность своевременной диагностики нарушений обмена у

детей не вызывает сомнений, мы получаем объективные основания для назначения адекватного лечения, что способствует снижению уровня инвалидизации и улучшению состояния здоровья детского населения [6]. Но отсутствие полных алгоритмов дифференциальной диагностики и несовершенство используемых в них методов, а также отсутствие в литературе данных о РИ широкого спектра диагностически значимых маркеров НБО аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, наследственных нарушений обмена органических кислот, длинноцепочечных жирных кислот, пуринов и пиримидинов в детской популяции Российской Федерации не позволяет полностью решить эту проблему в настоящее время.

### **Цель исследования**

Определить значение и эффективность хромато-масс-спектрометрии в лабораторной диагностике наследственных болезней обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, жирных кислот, пуринов и пиримидинов, оценить референсные интервалы для этих показателей, а также разработать соответствующие алгоритмы клинико-лабораторного анализа врожденных метаболических нарушений у детей.

### **Задачи исследования**

1. Выявить методы хромато-масс-спектрометрического анализа, эффективные для обнаружения наиболее диагностически значимых маркеров наследственных нарушений метаболизма аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, очень длинноцепочечных жирных кислот, пуринов и пиримидинов.
2. Определить и рассчитать референсные интервалы диагностических маркеров аминоацидопатий, ацидурий, пероксисомных болезней, нарушений обмена пуринов и пиримидинов в здоровой детской популяции в различных возрастных группах с использованием метода тандемной хромато-масс-спектрометрии и газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

3. Оценить эффективность определения основных (классических) маркеров нарушений обмена аминокислот, органических кислот, ацилкарнитинов, очень длинноцепочечных жирных кислот, пуринов и пиримидинов, полученные хромато-масс-спектрометрическими методами, и создать специфические диагностические панели наиболее информативных показателей.
4. Выявить новые масс-спектрометрические диагностически значимые маркеры наследственных нарушений обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, очень длинноцепочечных жирных кислот, пуринов и пиримидинов.
5. Определить последовательность диагностических шагов на биохимическом уровне и разработать алгоритм лабораторной диагностики наследственных болезней обмена аминокислот у детей разного возраста.
6. Определить алгоритм лабораторной диагностики наследственных нарушений обмена органических кислот у детей различных возрастов с применением метода газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.
7. Разработать алгоритм лабораторной диагностики наследственных нарушений очень длинноцепочечных жирных кислот в зависимости от возраста с использованием анализа содержания ацилкарнитинов в сухом пятне крови методом тандемной хромато-масс-спектрометрии.
8. Оценить диагностическую роль определения очень длинноцепочечных жирных кислот и их соотношений при пероксисомных болезнях и разработать соответствующий алгоритм для их лабораторной диагностики у детей разного возраста.
9. Разработать диагностический алгоритм выявления наследственных нарушений обмена пуринов и пиримидинов с помощью определения уровня данных нуклеотидов в моче пациентов методом тандемной масс-спектрометрии, а также определить диапазоны патологических концентраций для группы орфанных заболеваний пуринового и пиримидинового обмена у детей разных возрастных групп.
10. Определить потенциальную диагностическую эффективность выявления

взаимосвязей между масс-спектрометрическими показателями у детей с наследственными болезнями обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, очень длинноцепочечных жирных кислот, пуринов и пиримидинов.

### **Научная новизна исследования**

Впервые в комплексном лабораторном исследовании определена эффективность мультиплексного определения актуальных метаболитов различными валидированными хроматографическими методами с масс-спектрометрическим детектированием для ранней и точной диагностики наследственных нарушений обмена аминокислот, органических кислот, ацилкарнитинов, ОДЦЖК, пуринов и пиримидинов у детей, с использованием малого объема материала.

Впервые установлены референсные интервалы диагностических маркеров (аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ОДЦЖК, пуринов и пиримидинов) наследственных нарушений обмена в здоровой детской популяции Российской Федерации в различных возрастных группах. Выявлено, что для большинства аминокислот, органических кислот и ацилкарнитинов различная концентрация их в крови зависит от возраста ребенка, тогда как для ОДЦЖК и пуринов и пиримидинов их концентрация в крови и моче не зависит от возраста.

Доказана ценность диагностики с применением масс-спектрометрии у пациентов с дефицитом дигидропиримидиназы и первичного системного дефицита карнитина при нарушениях клеточных органелл, впервые доказано ценность определения патологических значений маркерных метаболитов (свободный и связанный карнитин, урацил, тимин) при этих нарушениях.

Разработаны научные обоснования для алгоритмов диагностики наследственных болезней обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ОДЦЖК и пуринов, и пиримидинов. Определена более высокая диагностическая эффективность применяемых алгоритмов по сравнению с существующими.

Впервые для детской популяции в нашей стране разработан диагностический

алгоритм выявления нарушений обмена нуклеотидов с помощью определения концентраций пуриновых и пиримидиновых оснований в моче пациентов методом тандемной хромато-масс-спектрометрии.

Впервые между концентрациями некоторых маркеров выявлена статистически достоверная взаимосвязь. Наличие статистически достоверных внутригрупповых корреляций между различными лабораторными показателями определяет потенциальную эффективность научного использования этих множеств данных, как объекта для дальнейших исследований метаболизма и разработки новых маркеров нарушений обмена веществ.

### **Практическая значимость**

Доказано, что мультиплексное лабораторное количественное определение актуальных метаболитов из микрообъема биологических проб различными валидированными хроматографическими методами имеет высокую диагностическую эффективность. На основании этого для использования в лабораторной диагностике рекомендуются следующие хромато-масс-спектрометрические методики: анализ пятен крови методом тандемной хромато-масс-спектрометрии, анализ плазмы крови методом газовой хроматографии и масс-спектрометрии, анализ мочи методом тандемной хромато-масс-спектрометрии и газовой хроматографии-масс-спектрометрии.

Рассчитанные новые референсные диапазоны диагностических маркеров наследственных болезней обмена у детей увеличивают диагностические возможности. Показано, что хромато-масс-спектрометрический анализ наследственных болезней обмена может успешно использоваться в программах по изучению патогенеза наследственных нарушений обмена. Он может применяться широко как для диагностики нарушений обмена у детей различных возрастных групп, так и в рамках неонатального скрининга.

В настоящее время в Российской Федерации действует программа Расширенного неонатального скрининга (с 01.2022) на выявление наследственных болезней обмена, основным применяемым методом диагностики в рамках программы, метод хромато-масс-спектрометрии. Полученные в настоящей работе данные о РИ

и новых диапазонах патологических концентраций были опубликованы в наших статьях [20, 21, 23, 25, 27] и использованы в диагностике, а также при составлении программы этого скрининга на различные виды нарушений обмена. Полученные в работе результаты могут учитываться при разработке индивидуальных диагностических процедур в различных лабораториях Российской Федерации.

Разработаны алгоритмы лабораторной диагностики наследственных заболеваний аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, пуринов и пиримидинов, ОДЦЖК на основе мультиплексных профилей этих маркеров. Представленные алгоритмы, включают в себя многоэтапный анализ биоматериала скрининговыми методами (ВЭЖХ-МС/МС или ГХ-МС), с учетом клинических данных и семейного анамнеза пациента. Описаны схемы действий проведения дифференциальной диагностики с другими видами нарушений обмена.

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

1. Для эффективной диагностики наследственных нарушений обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ОДЦЖК, пуринов и пиримидинов требуется применение валидированных хроматографических методик количественного определения маркеров данных нарушений с использованием высокоэффективной хроматографии с различными типами детекции, тандемной жидкостной хромато-масс-спектрометрии, газовой хроматографии масс-спектрометрии.
2. Хромато-масс-спектрометрические методы являются эффективными для комплексной оценки основных (классических) маркеров различных наследственных нарушений обмена со сходной клинической картиной. Из минимального количества биологического материала можно получить множество биохимических показателей, который невозможно получить другими аналитическими методами.
3. Клинико-лабораторный расчет референсных значений маркеров наследственных нарушений обмена должен проводиться с учетом возрастных особенностей для каждой группы маркеров. Так, для определения референсных значений маркеров аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот

целесообразно выделять пять возрастных групп, а для очень длинноцепочечных жирных кислот и пуринов/пиримидинов значения РИ не зависят от возраста.

4. В настоящей работе были определены референсные интервалы маркеров заболеваний обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ОДЦЖК, пуринов и пиримидинов; полученные диапазоны могут быть использованы в дальнейшем, в качестве ориентира для соответствующих нормативных показателей, определяемых в диагностических лабораториях, работающих в рамках программы расширенного неонатального скрининга и других лабораторий.
5. Созданы панели биохимических показателей. Для диагностики конкретных нарушений обмена использование мультиплексных профилей маркеров значительно повышает эффективность дифференциальной диагностики.
6. Выявлены ориентировочные патологические концентрации диагностических маркеров наследственных нарушений обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ОДЦЖК, пуринов и пиримидинов.
7. Предложенные алгоритмы применения хромато-масс-спектрометрических методов повышают эффективность диагностики наследственных болезней обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ОДЦЖК, пуринов и пиримидинов.

### **Степень достоверности результатов исследования**

Степень достоверности результатов исследования обеспечивается изучением корректного числа обследованных (695 пациентов) и подтверждается предоставлением всех исходных экспериментальных данных. Для достижения цели исследования в полном объеме решены все поставленные задачи с привлечением современных высокотехнологических методов исследования и статистических методов обработки данных. Выводы, сформулированные после детального анализа и систематизации собственных экспериментальных и расчетных результатов, обоснованы и подтверждают причинно-следственные связи между всеми разделами выполненного исследования.

Выполнение диссертационного исследования одобрено Этическим

Комитетом РГМУ (протокол № 94 от 14.12.09г.).

### **Методология и методы исследования**

Методология исследования основана на принципах доказательной медицины. Применены апробированные клинические, инструментальные и статистические методы исследования, проведен анализ литературы.

### **Внедрение результатов работы в практическое здравоохранение**

Практические рекомендации, составленные по результатам проведенного исследования, внедрены в лабораторию молекулярной и биохимической диагностики Научно-исследовательского клинического института педиатрии имени академика обособленном структурном подразделении ФГБУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в клиническую лабораторию Федерального центра неонатального скрининга на наследственные болезни ФГУ «МНИИ педиатрии и детской хирургии» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, в Центр внедрения инновационных и фармацевтических технологий ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, в Российскую детскую клиническую больницу ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, в Университетскую клиническую больницу №1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, в научно-лабораторный комплекс ООО «Лаборатория хроматографических систем».

### **Апробация работы**

Апробация работы проведена на заседании кафедры клинической лабораторной диагностики ФДПО ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н. И. Пирогова Минздрава России (протокол №8 от 11.12.2023г.). Материалы исследования доложены на ежегодных конференциях: Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (12–16 апреля 2010г., Москва, Россия), Всероссийском конгрессе «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии» (19–21 апреля 2010г., Москва, Россия), Международном Конгрессе по перинатальной

медицине и VI Ежегодном конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технологии и качество» (16–18 июня 2011г., Москва, Россия), Всероссийском форуме «Национальные дни лабораторной медицины России-2011» (4–6 октября 2011г., Москва, Россия), 8-th International conference on Tissue Science and regenerative medicine (11–12 сентября 2017г., Сингапур), 8th Edition of International Conference on Mass Spectrometry (12–13 марта 2018г., Лондон, Великобритания), The 5th annual European congress of the association for mass spectrometry: applications to the clinical lab (MSACL) (9–13 сентября 2018г., Зальцбург, Австрия), 1-м Форуме по масс-спектрометрии на РКЛМ-2018 (3—5 октября 2018 г., Москва, Россия), 2-м Форуме по масс-спектрометрии на РКЛМ-2019 (11-13 сентября 2019 г., Москва, Россия), конференции «Молекулярная диагностика-2021» (9–11 ноября 2021г., Москва, Россия), на международной научно-практической конференции “Молекулярная диагностика 2023”, на всероссийской конференции с международным участием “Масс-спектрометрия и ее прикладные проблемы” г.Москва, (30 октября – 03 ноября 2023 года).

### **Личный вклад автора**

Автор лично участвовал на всех этапах подготовки диссертации и выполнении исследований. Лично автором сформулированы цель исследования и задачи для ее достижения, а также обсуждение результатов, заключение, выводы и практические рекомендации после получения, обработки и обобщения всех теоретических и практических результатов выполненного исследования.

Автор принимал активное участие в подготовке научных публикаций по результатам проведенного исследования, выступал с научными докладами на российских и международных конференциях, участвовал в оформлении документации для получения двух новых медицинских технологий.

### **Публикации по теме диссертации**

По итогам работы опубликовано 56 научных трудов, из них 32 научные работы представлены в журналах, входящих в перечень ведущих рецензируемых

научных журналов, включенных Высшей аттестационной комиссией России в список изданий, рекомендуемых для опубликования основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата и доктора наук, 1 методическое пособие для врачей, 1 монография, зарегистрированы 2 новые медицинские технологии.

### **Соответствие диссертации паспорту специальности**

Диссертация соответствует паспорту научной специальности 3.3.8 – Клиническая лабораторная диагностика, область исследования п. 7 «Методы лабораторной диагностики. Оптимизация и разработка новых методов исследования химического и клеточного состава биоматериалов, определение требований и показаний к условиям их применения; установление референтных величин, предела колебаний каждого параметра биологических жидкостей и нормальных колебаний для отдельных контингентов (по возрасту, полу, роду занятий, среде обитания); определение диагностической информативности лабораторных тестов и их колебаний».

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, главы, описывающей, материалы и методы, используемые в работе, главы с собственными экспериментальными и расчетными результатами, главы с обсуждением полученных результатов, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, списка литературы и приложения. Работа представлена на 265 страницах машинописного текста, включает 36 таблиц и 43 рисунков, а также Приложение А, включающее 16 таблиц и 18 рисунков. Список литературы содержит 268 источников, из которых 43 отечественных и 225 иностранных.

## 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Современная диагностика наследственных болезней обмена веществ

Наследственные нарушения обмена веществ требуют быстрой, надежной и качественной диагностики. Чтобы диагностика была максимально эффективной существуют определенные подходы, включающие в себя несколько основных этапов [20, 27].

**Первый этап – клинический**, который осуществляется врачами-педиатрами на первичном осмотре пациента, со сбором анамнеза. В зависимости от того какие органы и системы затронуты заболеванием пациента, то направляют к профильным специалистам, а окончательный диагноз обязательно ставится врачом-генетиком. Можно отметить, что разные типы наследственных нарушений обмена веществ характеризуются сходной клинической картиной и разнообразием симптомов [9, 19–21, 222]. Поэтому постановка диагноза на первом клиническом этапе достаточно проблематична и важную диагностическую роль играет второй этап – лабораторный.

**Второй этап – лабораторный этап.** Диагностика НБО основана на выявлении тех лабораторных маркеров, которые являются характерными метаболитами, появление или превышение которых говорит о дефиците фермента, участвующего в метаболизме того или иного соединения. Эта поломка фермента «включает» побочный или альтернативный путь метаболизма, в результате чего субстрат и побочные метаболиты, которые не образуются при нормальной функции фермента. Образующие вещества оказывают токсическое действие на органы и ткани, чем обуславливают тяжелые клинические проявления. Описанные биохимические процессы максимально точно отражают основной закон молекулярной биологии, сформулированный Гарродом: «Один ген – один фермент» [20, 55, 99]. Для диагностики наследственных болезней обмена веществ используются следующие лабораторные методы (таблица 1).

Таблица 1 – Методы, используемые для проведения диагностики наследственных болезней обмена веществ на разных патогенетических уровнях этих заболеваний [27]

| Методы диагностики  | Объект исследования  |
|---|--|
| <b>БИОХИМИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ (патология фермента)</b>   |  |
| <b>Первичный уровень<br/>(нарушение функционирования фермента или ферментного комплекса)</b>  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Тандемная масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС, ГХ-МС);</li> <li>• иммуноферментный метод;</li> <li>• ВЭЖХ с различными способами детекции.</li> </ul>                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Изменение активности фермента или ферментного комплекса;</li> <li>• определение концентрации фермента и/или его кофакторов в различных биологических средах.</li> </ul> |
| <b>Вторичный уровень<br/>(нарушение функционирования метаболического пути, включение патологических метаболических путей)</b>   |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Тандемная масс-спектрометрия (ВЭЖХ-МС/МС, ГХ-МС);</li> <li>• иммуноферментный метод;</li> <li>• ВЭЖХ с различными способами детекции;</li> <li>• ПМР.</li> </ul> | <p>Определение концентраций спектра маркерных метаболитов в биологических средах.</p>  |
| <b>МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ УРОВЕНЬ (патология гена)</b>  |  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• ПЦР с детекцией электрофорезом;</li> <li>• ПЦР в реальном времени;</li> <li>• Прямое секвенирование;</li> <li>• Капиллярный электрофорез.</li> </ul>             | <p>Мутации и полиморфизмы в генах, кодирующих ферменты и вспомогательные белки.</p>  |

**Примечание.** ВЭЖХ-МС/МС – высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием;  
 ГХ-МС – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием;  
 ПМР – протонно-магнитный резонанс;  
 ПЦР – полимеризация цепной реакции.

Так как причиной НБО являются генетические патологии, то диагностика идет по пути выявления дефектного фермента, нарушения функционирования метаболического пути и, собственно, выявление мутации в гене молекулярно-генетическими методами [22, 212]. Причем, применяемые методы являются взаимно подтверждающими друг друга, так для метода ВЭЖХ/МС подтверждающим является энзимодиагностика и/или ДНК-диагностика [2, 37]. Поэтому, все методы и уровни лабораторной диагностики как отдельные, так и в различных сочетаниях, могут использоваться для максимально быстрого выявления нарушений обмена веществ, что необходимо для своевременного назначения терапии.

## 1.2. Применение хромато-масс-спектрометрических методов анализа в лабораторной диагностике

Во многих развитых странах мира масс-спектрометрия является самым востребованным методом лабораторной медицины. Масс-спектрометрия позволяет детально изучить метаболом и протеом человека, что практически невозможно сделать другими методами. Эти возможности очень полезны для развития технологий персонализированной и превентивной медицины. Так, масс-спектрометрия подходит для проведения углубленных профилактических, скрининговых обследований, нацеленных на выявление ранних проявлений изменения метаболизма [21, 22, 82, 134, 185].

В современной лабораторной диагностике существует метод «золотого стандарта» среди биохимических методов – это метод тандемной хромато-масс-спектрометрии. Для определения различных групп диагностических маркеров этот метод используется в различных вариациях: жидкостная (ВЭЖХ-МС/МС) и газовая (ГХ-МС) хроматография с масс-спектрометрическим определением [124, 134]. Основными преимуществами этих методов являются следующие технологические характеристики:

- высокая диагностическая чувствительность и специфичность;
- возможность получения информации о структуре изучаемых/определяемых веществ;
- высокая селективность, позволяющая определять аналиты в сложных многокомпонентных смесях;
- высокая скорость анализа;
- комплексные исследования;
- приемлемая себестоимость анализа.

Хромато-масс-спектрометр представляет собой сложный комплекс аналитического оборудования, состоящий из хроматографической системы и масс-спектрометра. Хроматографическая система предназначена для хроматографирования – разделения веществ в различных смесях (например,

биологических образцах). В зависимости от способа разделения хроматография подразделяется на жидкостную и газовую, их название говорит о том, каким образом происходит разделение веществ: в жидкой или газовой фазе [82, 156, 203].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) на данный момент широко используется в различных областях медицины и биологии. С помощью этого метода анализируется большой круг веществ, как органических, так и неорганических [5, 21, 103, 203, 239].

Принцип работы жидкостной хроматографической системы основывается на разделении жидких смесей между подвижной и неподвижной фазами: жидкая фаза – элюент и твердая фаза с привитыми функциональными группами. Объект исследования, который должен быть предварительно подготовлен, в жидком виде вводится в блок инъекции жидкостного хроматографа. Специальная система насосов перекачивает поток подвижной фазы с образцом в хроматографическую колонку, где и происходит разделение веществ в исследуемой смеси между поверхностью неподвижной фазы и компонентами жидкой подвижной фазы. Вещества в анализируемой смеси имеют разное сродство с компонентами колонки и жидкой фазы, поэтому они адсорбируются и элюируются с колонки с разной скоростью. Различные методики ВЭЖХ варьируют по характеристикам хроматографических колонок – размер зерна сорбента (от 1.6 до 10 мкм), а также параметрам разделения - диапазон давления (400–1500 бар) в зависимости от того какие смеси необходимо разделять (хроматографировать) [159].

В отличие от жидкостной хроматографии, в газовой хроматографии подвижной фазой является инертный газ. Эта подвижная фаза под давлением также переносит исследуемый образец в хроматографическую колонку (неподвижную фазу) [156]. Также, как и в жидкостной колонке образец разделяется на компоненты, которые элюируются с разной скоростью, и в итоге попадают в детектор.

Масс-спектрометр (МС) - это основной блок оборудования, который является детектором веществ, определяемых в процессе анализа, и после разделения

веществ в жидкостной или газовой хроматографической системе исследуемый образец попадает в детектор.

Масс-спектрометр имеет источник ионизации, и на рисунке 1 представлены методы ионизации пробы в жидкой и газовой фазах в хромато-масс-спектрометрии [239]. В лабораторной диагностике наиболее часто используется ионизация электроспреем (ESI), а также химическая ионизация при атмосферном давлении, из-за удобства их сочетания с жидкостными хроматографами, для анализа жидких смесей [122, 204, 258].



Рисунок 1 – Методы ионизации пробы в жидкой (а) и газовой (б) фазах в хромато-масс-спектрометрии.

После разделения в жидкостной хроматографической системе, исследуемый образец попадает в капилляр источника ионизации масс-спектрометра, который находится под высоким напряжением. В этот капилляр одновременно поступает газ-распылитель, который способствует распылению поступающего раствора до образования аэрозоля, состоящего из электростатически заряженных капель. В процессе движения капель раствора происходит испарение растворителя и капли распадаются, когда силы отталкивания превышают силы поверхностного натяжения. Из-за повторяющихся процессов испарения и распада капель образуется мелкодисперсный аэрозоль, и в результате ионы образца переходят в газовую фазу [93, 95]. Схема работы тандемного хромато-масс-спектрометра

представлена на рисунке 2 [239].



Рисунок 2 – Схема работы тандемного масс-спектрометра.

В процессе другого типа ионизации - химической при атмосферном давлении, образец после разделения в жидкостной системе направляется в капилляр источника ионизации масс-спектрометра. В этом блоке происходит нагревание газа-распылителя, и образца до температуры 300–500°C. Ионизация происходит под воздействием коронирующего разряда высокого напряжения, в процессе ионно-молекулярных реакций молекул образца с ионами растворителя. Затем ионизированный образец поступает дальше в масс-спектрометр, проходя через линию десольватации, расположенную под углом 90° к источнику ионизации, в первую вакуумную камеру, где образец далее фокусируется ионной оптикой. Если для анализа применяется масс-спектрометр с тройным квадруполем, то ионы, образовавшиеся на первом квадруполе, далее поступают в ячейку соударений – второй квадруполь, куда также подается инертный газ. В результате ионы, попавшие в ячейку, при соударениях с молекулами инертного газа подвергаются фрагментации. Затем, фрагменты попадают в третий квадруполь, где они разделяются по соотношению массы к заряду ( $m/z$ ), и полученные сигналы обрабатываются программным обеспечением аналитического оборудования [204].

В газовой хромато-масс-спектрометрии самым распространенным способом ионизации в ГХ-МС является «электронный удар», и в меньшей степени применяются положительная/отрицательная химическая ионизация. Также, как и в случае жидкостной хромато-масс-спектрометрии в результате ионизации молекулы веществ распадаются на характерные фрагменты, соответствующие конкретному определяемому веществу [139].

В настоящее время опубликованы результаты многих исследований по определению диагностических маркеров НБО (аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, жирных кислот, пуринов и пиримидинов) хроматографическими методами с масс-спектрометрическим детектированием. При анализе этих данных обращают на себя внимание некоторые особенности. Так, согласно данным литературы диагностика нарушений обмена аминокислот и ацилкарнитинов с применением хромато-масс-спектрометрических методов анализа в мире была начата в 90-х годах прошлого столетия. В данных работах подробно описываются особенности методологии метода для применения в лабораторной диагностике врожденных нарушений обмена аминокислот и ацилкарнитинов [70–72, 85, 268]. С начала 2000-х годов начинается публикация результатов научных работ в аспекте сравнения методологии детектирования аминокислот. Так, выходит несколько статей по сравнению типов хроматографирования и детекции [85, 88, 90], а также целый ряд статей, посвященных детектированию аминокислот в пятнах крови с использованием новой методики пробоподготовки – без дериватизации искомым анализом [189, 194, 255]. Аналогичная ситуация складывается при изучении литературных данных по определению ацилкарнитинов в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС [59]. В основном, в опубликованных статьях содержится информация о методологии определения концентраций ацилкарнитинов [59, 106]. Также, как и в случае аминокислот, публикуются результаты работ, посвященных детектированию ацилкарнитинов в пятнах крови с использованием новой методики пробоподготовки – без дериватизации искомым анализом, а также результаты исследований по стабильности ацилкарнитинов в пятнах крови [100, 108, 150]. В настоящее время почти все развитые страны проводят диагностику аминокислот и ацилкарнитинов с применением тандемной масс-спектрометрии [69, 84, 137, 145, 146, 149, 158, 199, 245, 262, 266].

Большое количество статей о применении метода ГХ-МС для диагностики НБО органических кислот опубликовано в 90-х годах двадцатого столетия. В этих источниках приведены особенности пробоподготовки и дериватизации анализом,

хроматографирования и масс-спектрометрии, а также перечислены клинические случаи, которые были диагностированы с помощью данных методик [1, 4, 74, 148, 184]. В настоящее время метод газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием является эталоном для определения органических кислот [124].

Анализ литературных источников показал, что опубликован ряд работ с описанием методологии и возможностей применения хромато-масс-спектрометрических методов анализа для количественного определения длинноцепочечных жирных кислот в биологических жидкостях [76, 164, 165, 252].

Данные литературы о диагностике нарушений обмена пуринов и пиримидинов показывают, что наиболее часто для их количественного определения применяется метод ВЭЖХ-МС/МС. Эти работы были опубликованы в начале 2000-х годов при активном внедрении этого метода в мировую научную и лабораторную практику. В этих источниках содержится информация о методологии определения концентраций веществ, в некоторых статьях также приводятся различные варианты пробоподготовки образцов мочи пациентов [118, 127].

### **1.3. Наследственные болезни обмена аминокислот**

**Аминокислоты** – это органические соединения, в составе которых имеются и карбоксильные (-COOH) и аминогруппы (-NH<sub>2</sub>), благодаря чему они обладают свойствами и кислот, и оснований. Аминокислоты являются необходимыми веществами – источниками синтеза всех белков человеческого организма, в том числе белков костей, мышц, связок, сухожилий, ногтей, волос и внутренних органов. Аминокислоты являются субстратом для синтеза всех гормонов, ферментов и нейромедиаторов [64, 147, 169, 222].

Врожденные нарушения обмена аминокислот (аминоацидопатии) – это группа метаболических нарушений, в основе патогенеза которых лежат генетические дефекты обмена аминокислот. В результате генетической мутации нарушается синтез определенного фермента, который участвует в метаболизме

АК, что влечет за собой накопление либо субстрата, либо токсичных метаболитов. Например, алкаптонурия – первое заболеваний этой группы, которое впервые описал Скрибониус (Scribonius) в 1584 году, но только спустя 300 лет было идентифицировано вещество, выделяемое с мочой этих пациентов – гомогентизиновая кислота, которая и является биохимическим маркером данного заболевания [57, 173, 188].

**Частота встречаемости.** Общая распространенность нарушений метаболизма аминокислот достаточно разнородна, и отличается в зависимости от типов нарушений. По некоторым опубликованным данным она составляет от 1:3000 до 1:5000 патологий новорожденных [37, 65].

**Классификация.** Принцип классификации аминоацидопатий основан на группах аминокислот, дефект обмена которых является причиной заболевания [6, 75, 206, 213, 243]. Некоторые аминоацидопатии могут быть вызваны врожденным дефицитом нескольких ферментов, поэтому для некоторых заболеваний выделяются несколько типов, являющихся самостоятельными нозологиями, например, тирозинемия I–III типов. Из основных групп аминоацидопатий можно выделить следующие [66, 101, 114, 133, 218]:

- патологии обмена серосодержащих аминокислот;
- патологии обмена аминокислот, участвующих в цикле синтеза мочевины;
- патологии обмена ароматических аминокислот;
- дефекты транспорта аминокислот;
- патологии обмена аминокислот с разветвленной цепью.

**Тип наследования.** Большинство нарушений обмена АК наследуются по аутосомно-рецессивному типу. Этим заболеваниям подвержены лица обоих полов. Родители больных детей могут быть здоровы, но при этом являться гетерозиготными носителями мутантного гена. Носительство может быть обусловлено родством родителей, или их происхождение из одной, зачастую, достаточно изолированной местности. Часто, в родословных детей с аминоацидопатиями встречаются случаи сходной патологии или ранней смерти в

младенчестве братьев и сестер пробанда.

**Патогенез аминокислотопатий** обусловлен биохимическими нарушениями, которые развиваются вследствие дефицита фермента, участвующего в метаболизме аминокислоты. В результате происходит накопление АК или ее производных в биологических жидкостях и тканях, что оказывает неблагоприятное действие на организм пациента, так как зачастую, производные имеют токсические свойства (таблица 2). Отдельно можно выделить группу заболеваний, причиной которых являются дефекты транспорта аминокислот в кишечнике и почках, в результате чего развивается недостаточность аминокислот [54, 81, 113, 126, 154, 155].

Выделяют основные патогенетические сценарии [17, 18, 46, 47, 67, 142]:

- нарушение поступления АК в ткани, недостаточность мембранного транспорта аминокислот в клетки головного мозга;
- прямое токсическое действие накапливающихся АК (при гомоцистинурии); или накопление их токсичных метаболитов (сукцинилацетона и сукцинилацетоацетата при тирозинемии I типа; или гомогентизиновой кислоты при алкаптонурии);
- токсическое действие аммиака на ткани головного мозга и внутренних органов, из-за нарушения его утилизации и образования мочевины (при дефектах ферментов, участвующих в цикле синтеза мочевины);
- дефицит АК тирозина и нейромедиаторов (при фенилкетонурии); дефицит аргинина (при аргининянтарной ацидемии, цитруллинемии I типа,);
- дефицит АК из-за нарушения их всасывания в ЖКТ и реабсорбции в почках (при болезни Хартнупа, лизинурической непереносимости белка, гидроксикинуруринии);
- ингибирование синапсов ЦНС, рецепторов мозговой ткани (при некототической гиперглицинемии);
- вторичное ингибирование ферментов: энзимов глюконеогенеза (при дефектах цикла синтеза мочевины, тирозинемии I типа), дегидратазы 5-аминолевулиновой кислоты (при тирозинемии I типа).

Таблица 2 – Уровень аминокислот в биологических жидкостях и изменение других лабораторных показателей при наследственных аминоацидопатиях с разными нозологическими формами [36]

| Уровень аминокислот   |   | Изменение лабораторных показателей  |
|---|---|---|
| в крови   | в моче  |   |
| 1   | 2   | 3   |
| <b>1. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ</b>                          |   |   |
| <b>1.1. Фенилкетонурия, обусловленная дефицитом фенилаланингидроксилазы</b> |   |   |
| Высокое содержание фенилаланина, низкий уровень тирозина                    | Высокая экскреция фенилаланина                      | Присутствие в моче фенилпировиноградной, фенилмолочной, фенилуксусной кислот  |
| <b>1.2. Фенилкетонурия кофакторная</b>                                      |   |   |
| Высокое содержание фенилаланина, низкий уровень тирозина                    | Высокая экскреция фенилаланина                      | Присутствие в моче фенилпировиноградной, фенилмолочной, фенилуксусной кислот; экскреция неактивных форм дигидробиоптерина, биоптерина и предшественников тетрагидробиоптерина; низкое содержание в ликворе гомованилиновой и 5-гидроксииндолуксусной кислот                                   |
| <b>1.3. Алкаптонурия</b>  |   |   |
| –   | –   | Высокая экскреция гомогентизиновой кислоты  |
| <b>1.4. Тирозинемия I типа</b>  |   |   |
| Высокое содержание тирозина, фенилаланина и метионина                       | Высокая экскреция тирозина, фенилаланина, метионина | Высокая экскреция 4-гидроксифенилмолочной, 4-гидроксифенилпировиноградной кислот, <i>N</i> -ацетилтирозина, фумарилацетоацетата, малеилацетоацетата, сукцинилацетона, сукцинилацетоацетата и 5-аминолевулиновой кислоты; высокий уровень $\alpha$ -фетопротеина в крови; нарушения коагуляции |
| <b>1.5. Тирозинемия II типа</b>   |   |   |
| Высокое содержание тирозина, иногда фенилаланина                            | Высокая экскреция тирозина, иногда фенилаланина     | Высокая экскреция 4-гидроксифенилпировиноградной, 4-гидроксифенилмолочной, 4-гидроксифенилуксусной, фенилуксусной кислот, <i>N</i> -ацетилтирозина  |
| <b>1.6. Хавкинсурия (тирозинемия III типа)</b>                              |   |   |
| Высокое содержание тирозина   | Высокая экскреция тирозина                          | Метаболический ацидоз, высокая экскреция 4-гидроксифенилмолочной, 4-гидроксифенилпировиноградной, 4-гидроксифенилуксусной кислот и хавкинсина – (2- <i>L</i> -цистеин- <i>S</i> -yl-1,4-dihydroxycyclohex-5-en-1-yl)-уксусная кислота   |
| <b>2. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ, УЧАСТВУЮЩИХ В ЦИКЛЕ СИНТЕЗА МОЧЕВИНЫ</b>  |   |   |
| <b>2.1. Гипераммониемия с дефицитом <i>N</i>-ацетилглутаматсинтетазы</b>    |   |   |
| Высокое содержание аланина, глутамина                                       | Высокая экскреция аланина, глутамина                | Высокое содержание аммиака в крови  |
| <b>2.2. Гипераммониемия с дефицитом карбамоилфосфатсинтетазы</b>            |   |   |
| Высокое содержание аланина, глутамина и лизина                              | Высокая экскреция аланина, глутамина и лизина       | Высокое содержание аммиака в крови  |

## Продолжение таблицы 2

| 1   | 2   | 3  |
|---|---|--|
| <b>2.3. Гипераммониемия с дефицитом орнитинкарбамоилтрансферазы</b>   |   |  |
| Высокое содержание аланина, глутамина и лизина  | Высокая экскреция аланина, глутамина и лизина                               | Высокое содержание аммиака в крови и оротовой (урацилкарбоновой) кислоты в моче  |
| <b>2.4. Цитруллинемия</b>   |   |  |
| Высокое содержание цитруллина, низкий уровень аргинина  | Высокая экскреция цитруллина  | Высокое содержание аммиака в крови и оротовой кислоты в моче   |
| <b>2.5. Аргининянтарная ацидемия</b>  |   |  |
| Высокое содержание аргининянтарной кислоты, цитруллина и глутамина, низкий уровень аргинина и аспарагиновой кислоты | Высокая экскреция аргининянтарной кислоты, цитруллина и глутамина           | Высокое содержание аммиака в крови   |
| <b>2.6. Аргининемия</b>   |   |  |
| Высокое содержание аргинина   | Высокая экскреция аргинина, лизина, орнитина, цистина, глицина              | Умеренное увеличение уровня аммиака в крови  |
| <b>2.7. Синдром гиперорнитинемии, гипераммониемии, гомоцитруллинурии</b>  |   |  |
| Увеличение содержания орнитина, а также глутамина и аланина   | Увеличена экскреция гомоцитруллина  | Повышение уровня аммиака в крови, активности трансаминаз и щелочной фосфатазы, нередко снижение уровня VII и X-факторов свертывания; увеличение экскреции оротовой кислоты |
| <b>2.8. Гиперорнитинемия с дольчатой атрофией сосудистой оболочки и сетчатки глаза</b>                              |   |  |
| Высокое содержание орнитина при умеренном снижении уровня лизина, глутамина и глутаминовой кислоты                  | Умеренно увеличена экскреция аргинина и лизина                              | —  |
| <b>3. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА СЕРОСОДЕРЖАЩИХ АМИНОКИСЛОТ</b>   |   |  |
| <b>3.1. Гомоцистинурия, обусловленная дефицитом <math>\beta</math>-цистатининсинтазы</b>                            |   |  |
| Увеличение содержания метионина, снижение цистина, наличие гомоцистина  | Увеличена экскреция метионина, снижение уровня цистина, наличие гомоцистина | —  |
| <b>3.2. Гомоцистинурия, обусловленная дефицитом N(5,10)-метилентетрагидрофолатредуктазы</b>                         |   |  |
| Низкий уровень метионина, наличие гомоцистина   | Низкая экскреция метионина, наличие гомоцистина                             | —  |
| <b>3.3. Гомоцистинурия, обусловленная нарушениями метаболизма кобаламина</b>  |   |  |
| Низкий уровень метионина, наличие гомоцистина   | Низкая экскреция метионина, наличие гомоцистина                             | Мегалобластическая анемия, при ряде форм повышена экскреция метилмалоновой, формиминоглутаминовой кислот   |

## Продолжение таблицы 2

| 1   | 2  | 3   |
|---|--|---|
| <b>3.4. Гиперметионинемия, обусловленная дефицитом метионаденозилтрансферазы</b>  |  |   |
| Высокое содержание метионина  | Высокая экскреция метионина                                  | Запах «кипящей капусты»   |
| <b>3.5. Гиперметионинемия, обусловленная дефицитом S-аденозилгомоцистеингидролаз</b>  |  |   |
| Высокое содержание метионина, умеренное повышение уровня гомоцистина  | Высокая экскреция метионина                                  | В крови повышение уровня креатинфосфокиназы, трансаминаз, снижение уровня альбумина, увеличение протромбинового времени |
| <b>3.6. Гиперметионинемия, обусловленная дефицитом глицин N-метилтрансферазы</b>  |  |   |
| Высокое содержание метионина  | Высокая экскреция метионина                                  | В сыворотке крови повышена активность трансаминаз и уровень S-аденозилметионина   |
| <b>3.7. Цистатионинурия</b>   |  |   |
| Высокое содержание цистатионина   | Высокая экскреция цистатионина                               | Присутствие в крови и моче N-ацетилцистатионина   |
| <b>4. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА ГИСТИДИНА, ГЛИЦИНА И ЛИЗИНА</b>  |  |   |
| <b>4.1. Гистидинемия</b>  |  |   |
| Высокое содержание гистидина  | Высокая экскреция гистидина                                  | Присутствие в моче имидазолпировиноградной, имидазолмолочной, имидазолуксусной кислот                                   |
| <b>4.2. Некетотическая гиперглицинемия</b>  |  |   |
| Высокое содержание глицина  | Высокая экскреция глицина                                    | Высокое содержание глицина в ликворе  |
| <b>4.3. Гиперлизинемия</b>  |  |   |
| Высокое содержание лизина   | Высокая экскреция лизина, реже гомоаргинина и гомоцитруллина | Умеренная гипераммониемия, повышенная экскреция сахаропина  |
| <b>5. БОЛЕЗНИ, СВЯЗАННЫЕ С ТРАНСПОРТОМ АМИНОКИСЛОТ</b>  |  |   |
| <b>5.1. Лизинурическая непереносимость белка</b>  |  |   |
| Низкое содержание лизина, аргинина и орнитина, повышение уровня аланина и глутамина, иногда серина, глицина, пролина и цитруллина | Высокая экскреция лизина, аргинина и орнитина                | Умеренная гипераммониемия, повышенная экскреция оротовой кислоты  |
| <b>5.2. Болезнь Хартнупа</b>  |  |   |
| Умеренно сниженное или нормальное содержание аминокислот  | Генерализованная гипераминоацидурия                          | Индолурия, индиканурия  |
| <b>5.3. Гидроксикинуренурия</b>   |  |   |
| —   | —  | Высокая экскреция кинуренина, ксантуруеновой и кинуреновой кислот, низкая экскреция никотиновой кислоты и никотинамида  |

**Клиническая картина.** Аминоацидопатии имеют сходную клиническую картину: задержка физического и психомоторного развития, атаксия, судороги, нарушение мышечного тонуса, увеличение печени, дерматит, поражение органов зрения. Особенно тяжело патологии протекают при манифестации в неонатальном периоде [3, 30, 115]. Эти заболевания можно разделить по характеру проявления: с умеренно прогрессирующим течением (фенилкетонурия, гистидинемия, гиперлизинемия, тирозинемия II типа, алкаптонурия и др.), и с приступообразным течением, быстрым ухудшением общего состояния и высокой летальностью (тирозинемия I типа, некетотическая гиперглицинемия, дефекты цикла синтеза мочевины и др.). Летальность, зачастую, обусловлена тяжелыми метаболическими нарушениями:

- кризы гипераммониемии (дефекты цикла синтеза мочевины),
- угнетение ЦНС (некетотическая гиперглицинемия),
- порфирии (тирозинемия I типа),
- печеночная недостаточность (тирозинемия I типа).

Достаточно благоприятным течением характеризуется хавкинсурия, для которой проявляется состоянием метаболического ацидоза, в первые месяцы жизни [243].

**Диагностика** НБО аминокислот основывается на оценке результатов клинического осмотра и лабораторных исследований. Для разработки плана дифференциальной диагностики необходимо учитывать: анамнез, родословную, данные клинического осмотра с описанием характера течения заболевания, и особенностей клинических симптомов [8, 32, 35, 36, 41, 58, 68].

**Лабораторная диагностика.** При подозрении на аминокацидопатии вначале назначают стандартные рутинные лабораторные тесты, по которым можно диагностировать следующие нарушения: нейтропения, тромбоцитопения, анемия; метаболический алкалоз/ацидоз, кетонурия; повышение активности трансаминаз, щелочной фосфатазы; снижение уровня альбумина, кальция, фосфора, общего белка, глюкозы в крови; нарушение свертываемости крови; повышение уровня аммиака в крови; увеличение почечной экскреции кальция, фосфора; [30, 36, 67].

Далее необходимо назначение исследований по количественному определению уровня АК в крови и/или моче [30, 36, 42, 67, 75, 161, 192, 213, 229, 248]. Для аминокислотнопатий характерна картина высоких уровней маркерных АК в крови и/или моче. В случаях «классической» картины патологии концентрации АК превышают верхний предел референсного диапазона более чем в 2–3 раза (например, при фенилкетонурии уровень фенилаланина возрастает в 5–10 раз) [36]. И превышения имеют долгосрочный характер, то есть высокая концентрация АК сохраняется в динамике.

При относительно легких формах аминокислотнопатий концентрации АК в биологических жидкостях (крови и моче) увеличиваются умеренно и это может помешать при постановке правильного диагноза, особенно если четкий алгоритм диагностики не утвержден. В таких случаях рекомендуется повторить исследование несколько раз повторить для подтверждения тенденции и выявленных отклонений. Также, применительны провокационные тесты, которые обычно проводят в сложных диагностических случаях, под медицинским наблюдением и при легких формах заболевания: определение концентраций АК после нагрузочного теста с белком или аминокислотами. При назначении этих диагностических тестов необходимо помнить и неблагоприятных реакциях, и возможном ухудшении состояния ребенка [3, 36, 67, 243].

В настоящее время основным методом определения аминокислот в биологических жидкостях считается метод ВЭЖХ-МС/МС с ионизацией электроспреем. Этот метод широко распространен в развитых странах мира (Японии, Германии, Италии, США), где его применяют для массового скрининга новорожденных [69, 84, 89, 99, 119, 162, 235]. Японская государственная программа скрининга новорожденных включает диагностику 20 врожденных заболеваний метаболизма методом ВЭЖХ-МС/МС; а в Германии и США по программе скрининга новорожденных диагностируется более 30 дефектов метаболизма [19, 22, 136, 196, 241].

В настоящее время количественное определение концентраций аминокислот и ацилкарнитинов на следовом уровне методами ВЭЖХ-МС/МС и

ионнообменной жидкостной хроматографии являются наиболее специфичными и чувствительными [72, 209], но, именно метод ВЭЖХ-МС/МС является наиболее эффективным для проведения первичного скрининга у новорожденных, так как позволяет сократить время анализа биологического образца до 3 минут, что делает возможным анализ более 300 образцов пациентов с определением концентрации более 30 веществ-маркеров в сутки [16, 19, 36, 134].

***Диагностика и дифференцирование болезней обмена аминокислот с использованием дополнительных лабораторных тестов.*** Для определения некоторых нозологических форм патологий помимо определения концентраций аминокислот и органических кислот в биологических жидкостях могут потребоваться дополнительные диагностические тесты. Так, для дифференциальной диагностики нозологических форм ФКУ или тирозинемии I–III типов. Для дифференцирования нозологических форм фенилкетонурии требуется определение биоптеринов в моче: при дефиците дигидроптеринредуктазы в моче детектируются метаболиты тетрагидробиоптерина – дигидробиоптерин, биоптерин, а при дефиците 6-пирувоилтетрагидро-птеринсинтазы в моче обнаруживаются дигидронеоптеринтрифосфат и неоптерин. Для дифференциальной диагностики кофакторной фенилкетонурии помогает пероральный нагрузочный тест с тетрагидробиоптерином (доза 7.5 мг/кг), после которого в крови снижается уровень фенилаланина и повышается уровень тирозина, а при ФКУ, обусловленной дефицитом фенилаланингидроксилазы, этих изменений не происходит [36, 38, 73, 172, 187, 213].

Для дифференциальной диагностики тирозинемии I типа проводят дополнительное определение  $\alpha$ -фетопротеина в крови и сукцинилацетона в моче. При этом учитывают наличие клинических признаков характерных для тирозинемии I типа: тяжелое физиологическое состояние детей, рахитические деформации, прогрессирующее поражение печени. Для тирозинемии II типа характерны следующие признаки: сочетание поражения кожи (ладонно-подошвенный кератоз), кератита и нарушение нервно-психического развития [17,

33]. Дифференцирование хавкинсурии от других дефектов обмена тирозина имеет решающее значение, так как эта патология отличается достаточно благоприятным течением и не требует массивной лекарственной терапии, и подтверждается наличием в моче специфического маркера – хавкинсина (таблица 2) [36].

Первичным лабораторным маркером при диагностике заболеваний из группы нарушений цикла мочевины является высокий уровень аммиака в крови [66], но для дифференциальной диагностики отдельных форм этой группы патологий необходимо измерение аминокислот и оротовой кислоты. Так, при дефиците орнитинкарбамоилтрансферазы и цитруллинемии наблюдается высокая экскреция оротовой кислоты с мочой, но при цитруллинемии оротовая ацидурия также сопровождается увеличением концентрации цитруллина в крови. При аргининянтарной ацидемии повышен уровень и цитруллина, и аргининянтарной кислоты в крови, при отсутствии в моче оротовой кислоты [36].

Таким образом, несомненно, что высокая значимость точной и быстрой диагностики аминокислотопатий помогает назначению своевременного адекватного лечения пациентам, предупреждения рождения больных детей, способствует снижению уровня инвалидизации и улучшению состояния здоровья детского населения. Но неполные алгоритмы диагностики и несовершенство используемых в них методов, а также отсутствие в литературе референсных интервалов широкого спектра диагностических маркеров наследственных аминокислотопатий в детской популяции Российской Федерации не позволяют полностью решить эту проблему в настоящее время [4, 9, 10, 36].

### 1.4. Наследственные болезни обмена органических кислот

**Органические кислоты** – это низкомолекулярные соединения, которые являются продуктами обмена аминокислот, жирных кислот, углеводов, катехоламинов. Повышенные уровни их концентрации в различных биологических жидкостях, чаще всего, в моче, являются специфичными лабораторными маркерами наследственных нарушений обмена веществ. Характерным признаком этих заболеваний является резкое нарушение развития детей с тяжелым течением, что часто является причиной инвалидности и детской смертности [20, 27, 181, 182, 214].

Основным биохимическим путем получения энергии из белков, жиров и углеводов является цикл Кребса. Это конечный путь окисления ацетильных групп (ацетил-КоА) в клетках организма, которые являются продуктами катаболизма большей части органических молекул (рисунок 3).

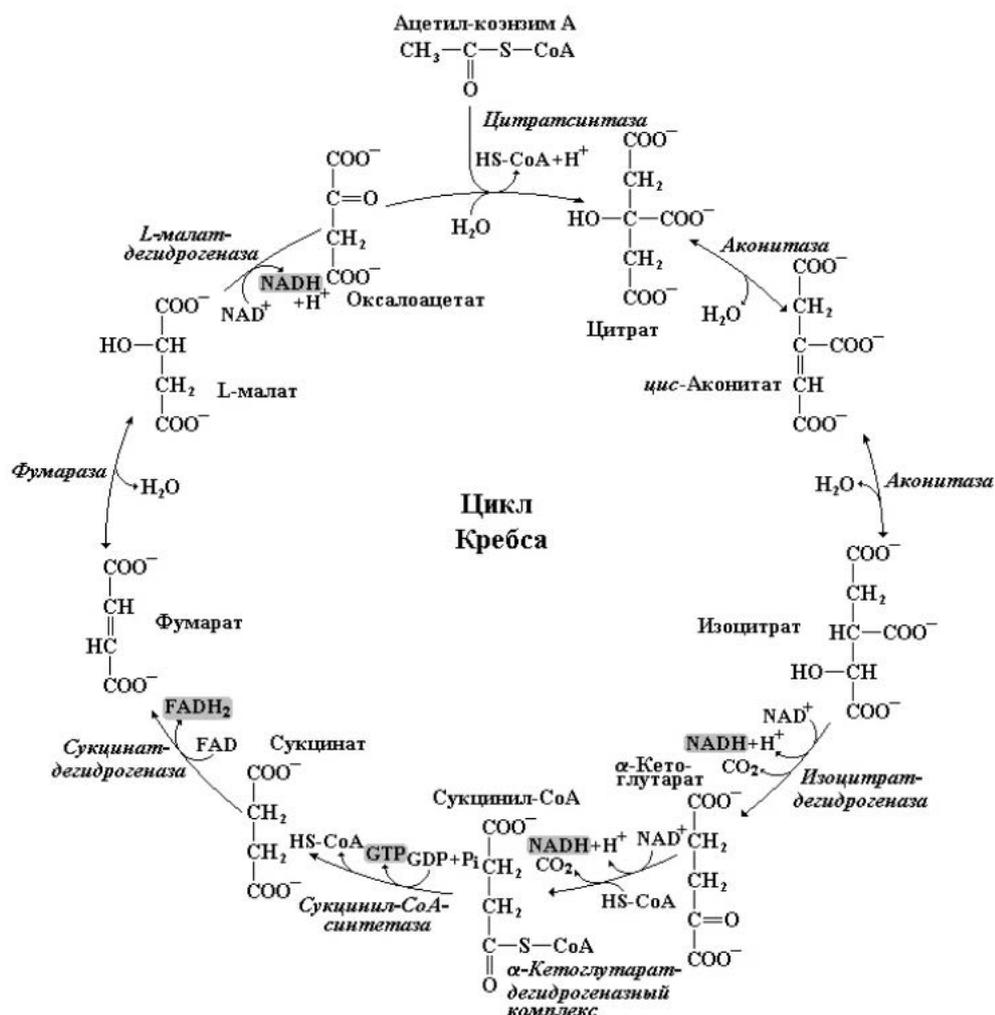


Рисунок 3 – Схема цикла Кребса [15, 147, 171].

Органические ацидемии/ацидурии – это наследственные заболевания, вызванные нарушениями метаболизма органических кислот, что вызывает их чрезмерное накопление в биологических жидкостях. Большая часть органических ацидемий – это нарушения в процессах биохимической трансформации катаболизма аминокислот, а также большинство митохондриальных заболеваний, которые вызваны дефектами фермента [11, 27, 217].

**Частота встречаемости.** Группа нарушений метаболизма ОК встречается с частотой 1:1000 новорожденных, что является нередкой патологией. Чаще всего эти патологии проявляются в период новорожденности [4, 37, 218].

**Классификация** органических ацидемий/ацидурий основана на нарушениях метаболизма следующих групп веществ [12, 62, 99, 138, 249]:

- ароматические аминокислоты (например, алкаптонурия, тирозинемия, ФКУ);
- аминокислоты с разветвленной углеродной цепью (например, болезнь «кленового сиропа», дефицит 3-метилглутаконил-КоА-гидратазы, дефицит биотин-резистентной 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы, изовалериановая ацидемия, метилмалоновая ацидемия);
- двухосновные аминокислоты (например, гипероксалурия I и II типа);
- органические кислоты (например, пропионовая ацидемия, дефицит кетотиолазы, глутаровая ацидемия тип I (ГА I));
- жирные кислоты (например, глутаровая ацидемия II типа).

**Тип наследования.** Основной тип наследования органических ацидурий – аутосомно-рецессивный. Родители являются гетерозиготными носителями, без симптомов заболевания. Вероятность рождения больного ребенка в таком случае равна 25%, существует 25% вероятность рождения здорового ребенка, и в 50% случаев есть вероятность рождения ребенка с бессимптомным носительством [140, 178].

**Патогенез** этой группы заболеваний связан с накоплением органических кислот из-за дефектов ферментов, участвующих в их метаболизме на различных

уровнях. Накопление органических кислот оказывает токсическое действие, которое ведет к тяжелому метаболическому кетоацидозу, вторичной гипераммониемии, гиперглицинемии, гипогликемии. Органические кислоты при этих состояниях обнаруживаются и в крови, и в моче из-за высокой почечной экскреции [27, 174, 214].

**Клиническая картина.** При рождении младенцы, с патологическими нарушениями метаболизма органических кислот, нормотипичны и не вызывают беспокойства. Первые клинические признаки появляются позднее, в первые дни жизни и включают в себя:

- проявления со стороны ЖКТ (рвота, сниженный аппетит или отказ от еды);
- неврологическую симптоматику (судороги, аномальный тонус, летаргия, которая может перейти в кому).

Эта симптоматическая картина может быть принята за асфиксию новорожденных или плохое грудное вскармливание. Врачи должны принимать во внимание семейный анамнез и предыдущие случаи неонатальной смерти, что должно навести врача на предположение о возможном наличии наследственной органической ацидемии/ацидурии. Диагноз должен быть поставлен как можно скорее [43, 44, 53, 207].

Некоторые органические ацидемии проявляются только неврологическими симптомами без характерных биохимических изменений типа ацидоза и гипераммониемии, как в случае: 4-гидроксимасляной ацидурии, D-2-гидроксиглутаровой ацидурии, 3-метилглутаровой ацидурии, малоновой ацидурии.

Некоторые патологии проявляются задержкой развития, снижением интеллекта, гипотонией, атаксией (метилмалоновая ацидурия (V<sub>12</sub>-зависимая форма), дефицит 3-метилкротонилкарбоксилазы).

При органических ацидуриях наблюдается разнообразие МРТ-аномалий: аномалии бледного шара (метилмалоновая ацидемия), изменение белого вещества (болезнь «кленового сиропа»), характерные повреждения базальных ганглиев и

микроцефалии (глутаровая ацидемия I типа) [216].

**Клиническая лабораторная диагностика.** При диагностике заболеваний этой группы по «рутинным» лабораторным показателям выявляется картина ацидоза, гипераммонемии, гипогликемии, кетоза, нейтропении, а также изменений в показателях функции печени. В настоящее время для диагностики НБО органических кислот на биохимическом уровне применяются высокотехнологичные методы ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС, для определения в крови и моче органических кислот и их метаболитов [27, 92, 125, 186, 251]. Во многих странах эти методы широко применяются для диагностики ацидезий, тогда как в Российской Федерации они используются не часто и, как следствие, установленные референсные интервалы для маркерных метаболитов заболеваний этого типа отсутствуют [30].

В таблице 3 представлены основные заболевания, которые могут быть диагностированы на биохимическом уровне методами масс-спектрометрии, по определению маркеров этих органических ацидезий [20, 31, 186, 234].

Для некоторых нозологических форм существует два типа маркеров метаболизма. *Первичные* маркеры отражают те этапы метаболизма, которые привязаны к определенному патологически измененному ферменту. Поэтому, они являются наиболее диагностически значимыми. *Вторичные* маркеры являются или метаболитами первичных, или представляют собой соотношение концентрации одного маркера к другому. Но, в каждом конкретном случае диагностики нозологической формы наследственного нарушения метаболизма необходимо учитывать значения концентраций как первичных, так и вторичных маркеров особенно, если эти показатели находятся на границе референсного интервала данного вещества [20, 72, 88, 186].

Таблица 3 – Основные наследственные болезни обмена органических кислот и концентрации маркерных метаболитов, диагностируемых на биохимическом этапе методом ВЭЖХ-МС/МС [36, 124, 186, 234]

| Краткие сведения о заболевании   | Маркер метаболизма   | Показатели метаболизма (мкмоль/л) |                   |                     |
|--|--|-----------------------------------|-------------------|---------------------|
|  |  | норма                             | патология         | критический уровень |
| 1  | 2  | 3                                 | 4                 | 5                   |
| <b>Кобаламин А (cbIA) и/или кобаламин В (cbIB) метилмалоновая ацидемия (ММА)</b>   |  |                                   |                   |                     |
| АР.<br>Связано с дефицитом метилмалонил-КоА-мутазы (МСМ), витамин В <sub>12</sub> -зависимого фермента. Дефицит МСМ приводит к накоплению метилмалонил-КоА и появлению метилмалоновой кислоты в плазме крови и моче. | Пропионилкарнитин (С3)<br><i>(первичный)</i>               | < 6.0                             | ≥ 6.0 –<br>< 8.0  | ≥ 8.0               |
|  | Метилмалонилкарнитин (С4DC)<br><i>(вторичный)</i>          | < 1.0                             | ≥ 1.0 –<br>< 1.5  | ≥ 1.5               |
|  | Соотношение С3/С2<br><i>(вторичный)</i>                    | < 0.32                            | ≥ 0.32            | при С3 ≥ 8.0        |
| <b>Дефицит метилмалоновой КоА-мутазы с полным (MUT0) или частичным (MUT-) отсутствием активности фермента, метилмалоновая ацидемия (ММА)</b>   |  |                                   |                   |                     |
| АР.<br>Связано с истинным дефицитом МСМ.   | Пропионилкарнитин (С3)<br><i>(первичный)</i>               | < 6.0                             | ≥ 6.0 –<br>< 8.0  | ≥ 8.0               |
|  | Метилмалонилкарнитин (С4DC)<br><i>(вторичный)</i>          | < 1.0                             | ≥ 1.0 –<br>< 1.5  | ≥ 1.5               |
|  | Соотношение С3/С2<br><i>(вторичный)</i>                    | < 0.32                            | ≥ 0.32            | при С3 ≥ 8.0        |
| <b>Дефицит β-кетотиолазы (митохондриальной ацетоацетил-КоА-тиолазы) (ВКТ)</b>  |  |                                   |                   |                     |
| АР.<br>Связано с нарушением катаболизма изолейцина, характеризуется экскрецией с мочой 2-метил-3-гидрокси-бутировой кислоты, 2-метилацетоуксусной кислоты, тиглилглицина и 2-бутанона.                               | 3-Метилкротонил-карнитин (С5:1)<br><i>(первичный)</i>      | < 0.33                            | ≥ 0.33 –<br>< 1.0 | ≥ 1.0               |
|  | 3-Гидрокси-изовалерилкарнитин (С5ОН)<br><i>(вторичный)</i> | < 1.0                             | ≥ 1.0 –<br>< 2.0  | ≥ 2.0               |
| <b>Глутаровая ацидемия I типа (GA I)</b>   |  |                                   |                   |                     |
| АР.<br>Связано с дефицитом глутарил-КоА-дегидрогеназы – фермента, участвующего в катаболизме триптофана, лизина и гидроксизина.  | Глутарилкарнитин (С5DC)                                    | < 0.3                             | ≥ 0.3             | ≥ 0.3               |
| <b>Дефицит 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-лиазы (HMG)</b>  |  |                                   |                   |                     |
| Является не только дефектом катаболизма лейцина, но и дефектом образования кетоновых тел. Нарушается деградация лейцина и жирных кислот до кетоновых тел с накоплением 3-гидроксиметилглутарил-КоА.                  | 3-Гидрокси-изовалерилкарнитин (С5ОН)                       | < 1.0                             | ≥ 1.0 –<br>< 2.0  | ≥ 2.0               |

Продолжение таблицы 3

| 1   | 2  | 3      | 4                    | 5                 |
|---|--|--------|----------------------|-------------------|
| <b>Изовалериановая ацидемия/изовалериановая ацидурия (IVA) (болезнь Бессманп–Болдуина)</b>  |  |        |                      |                   |
| Заболевание, связанное с дефицитом изовалерил-КоА-дегидрогеназы (фермента катаболизма лейцина). Происходит накопление изовалериановой кислоты.  | Изовалерилкарнитин (C5)                                    | < 0.87 | $\geq 0.87 - < 1.62$ | $\geq 1.62$       |
| <b>Дефицит 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы (ЗММС или ЗМСС)</b>   |  |        |                      |                   |
| АР.<br>Связано с нарушением катаболизма лейцина. Происходит накопление 3-метилкротонил-КоА.   | 3-Гидрокси-изовалерилкарнитин (C5OH)                       | <1.0   | $\geq 1.0 - < 2.0$   | $\geq 2.0$        |
| <b>Множественный дефицит КоА-карбоксилаз (MCD)</b>  |  |        |                      |                   |
| АР.<br>Связано с дефицитом фермента голокарбоксилазо-синтазы (HS). Это комплекс из трех ферментов, осуществляющий активацию 4-карбоксилаз (пируваткарбоксилазы, пропионил-КоА-карбоксилазы, $\beta$ -метилкротонил-КоА-карбоксилазы и ацетил-КоА-карбоксилазы) путем присоединения к ним кофактора биотина – части комплекса витамина В. Таким образом, данное заболевание связано с уменьшением активности биотин-зависимых карбоксилаз. | Пропионилкарнитин (C3)<br><i>(первичный)</i>               | < 6.0  | $\geq 6.0 - < 8.0$   | $\geq 8.0$        |
|   | 3-Гидрокси-изовалерилкарнитин (C5OH)<br><i>(вторичный)</i> | < 1.0  | $\geq 1.0 - < 2.0$   | $\geq 2.0$        |
| <b>Пропионовая ацидемия (РА)</b>  |  |        |                      |                   |
| АР.<br>Связано с нарушением метаболизма аминокислот с разветвленной цепью (дефицитом фермента пропионил-КоА карбоксилазы). В результате накапливается пропионовая кислота   | Пропионилкарнитин (C3)<br><i>(первичный)</i>               | < 6.0  | $\geq 6.0 - < 8.0$   | $\geq 8.0$        |
|   | Соотношение C3/C2<br><i>(вторичный)</i>                    | < 0.32 | $\geq 0.32$          | При C3 $\geq 8.0$ |

**Примечание.** АР – аутосомно-рецессивный тип наследования.

Чаще всего, диагностику органических ацидурий проводят по определению органических кислот в моче методом ГХ-МС [1, 27, 74, 148, 184]. Повышенный уровень органических кислот в моче часто детектируется у пациентов в стадии декомпенсации, однако, при некоторых патологиях маркерные метаболиты могут

определяться и в пределах референсных значений, или обнаруживаться только в период обострения заболевания. В таблице А.1 в приложении перечислены нозологические формы с соответствующими уровнями маркерных органических кислот в моче, диагностируемых методом ГХ-МС [232].

Некоторые заболевания из группы органических ацидемий/ацидурий имеют характерный профиль органических кислот, которые являются маркерами заболеваний, вызванных не ферментопатиями, а нарушением биохимических процессов метаболизма различных веществ [12, 215]:

- при нарушении биосинтеза холестерина изменяется концентрация мевалоновой кислоты в моче – мевалоновая ацидурия;
- нарушение окисления ЖК приводит к аномальному уровню в моче этилмалоновой, глутаровой кислоты, конъюгатов глицина с декарбоксилированными кислотами со средней длиной углеродной цепи – глутаровая ацидурия II типа ([110, 201]);
- неполное окисление ЖК и нарушение их транспорта способствует появлению конъюгатов жирных кислот с ацетил-КоА-глицином – дефицит среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы [112].
- при нарушении рециркуляции биотина возникает биотинидазная недостаточность, при которой повышается уровень метилмалоновой, 3-гидроксивалериановой, 3-гидроксипроприоновой, 3-гидроксибутиратной, 3-метилкротоновой кислоты и ацетоацетата [27, 175]).
- Митохондриальные заболевания с нарушением окислительного фосфорилирования часто сопровождаются повышенными уровни 3-метилглутаровой и этилмалоновой кислот, а также лактата, 2-гидроксибутирата, 3-гидроксибутирата, 2-метил-3-гидроксибутират [27, 138].

Дифференциальную диагностику необходимо проводить между различными причинами ацидоза, включая наследственные нарушения метаболизма лактата, пирувата и окислительного фосфорилирования, а также почечным тубулярным ацидозом. Нарушение в биохимических реакциях в цикле Кребса, обычно

сопровождающейся метаболическим ацидозом с повышением концентраций фумаровой и 2-кетоглутаровой кислот [205].

Таким образом, высокая значимость правильной и своевременной диагностики нарушений обмена органических кислот у детей, несомненна, что дает основание для назначения адекватного лечения пациентов, предупреждения рождения больных детей, а также способствует снижению уровня инвалидности и улучшению состояния здоровья детского населения [36]. Но отсутствие полных алгоритмов дифференциальной диагностики и несовершенство используемых в них методов, а также отсутствие в литературе данных о РИ широкого спектра диагностически значимых маркеров наследственных нарушений обмена органических кислот в детской популяции Российской Федерации не дает полностью решить эти проблемы в настоящее время.

### **1.5. Наследственные болезни обмена жирных кислот**

В процессе изучения структуры и функций субклеточных образований процессах жизнедеятельности организма была выделена группа «болезней клеточных органелл»: болезни митохондрий, лизосомные болезни и пероксисомные болезни.

Многие биологические активные вещества участвуют в сложных биоэнергетических процессах в митохондриях. Например, карнитин, который впервые идентифицирован в мышечной ткани в начале двадцатого века [40, 86, 151, 254, 263]. Это вещество необходимо в клетке для транспорта жирных кислот (ЖК) из цитозоля в митохондрии, где происходит их последующее  $\beta$ -окисление. Дефицит карнитина ведет к нарушению получения энергии из ЖК и снижению кетогенеза. Дефицит карнитина снижает возможность организма использовать ЖК в качестве топлива в периоды голодания или стресса [61, 264]. Липиды являются наиболее энергоемкими источниками синтеза АТФ и их катаболизм очень важен при метаболических стрессовых состояниях, при дефиците углеводов, во время интеркуррентных инфекций и других физиологических процессов [56, 140].

Карнитин также регулирует в энергетическом метаболизме в тканях, влияет на соотношение ацил-КоА/свободный КоА в митохондриях, освобождает КоА (кофермент А), связывая ацильный радикал, и тем самым активирует энергетический обмен. Кроме того, карнитин выполняет и детоксикационную функцию, связывая и выводя из клеток органические кислоты, которые являются промежуточными продуктами процессов окисления разных веществ. Накапливаясь в цитоплазме и митохондриях клеток, эти метаболиты оказывают мембранотоксическое действие и ингибируют активность некоторых ферментов, а карнитин выводит эти токсические вещества из организма в виде ацилкарнитинов через почки [24, 17, 123, 223].

**Классификация патологий.** К подгруппе митохондриальных болезней относятся заболевания, связанные с мутациями ядерной ДНК, которые приводят к нарушению  $\beta$ -окисления ЖК. В 1976 году учеными были впервые описаны пациенты с дефицитом ацил-КоА-дегидрогеназы, среднецепочечных ЖК и глутаровой ацидемии II типа. В настоящее время эта группа НБО включает не менее 12 самостоятельных нозологических форм, патогенез которых связан с генетически обусловленными нарушениями трансмембранного транспорта ЖК (дефицит карнитинпальмитоилтрансфераз I и II, дефицит карнитин-ацилкарнитин транслоказы, первичный системный дефицит связывания карнитина) и их митохондриального  $\beta$ -окисления (дефицит ацил-КоА-дегидрогеназ и 3-гидрокси-ацил-КоА-дегидрогеназ ЖК с различной длиной углеродной цепи, глутаровая ацидемия II типа) [24, 109, 111].

**Частота встречаемости** данной группы заболеваний достаточно редка, например, распространенность дефицита фермента ацил-КоА-дегидрогеназы среднецепочечных ЖК составляет 1 случай на 8900 новорожденных, а частота других форм патологии на данный момент даже не установлена [60].

**Тип наследования.** Преимущественно эти заболевания имеют аутосомно-рецессивный тип наследования, за исключением множественного дефицита ацил-КоА-дегидрогеназ, который наследуется по рецессивному типу, сцепленному с X-хромосомой, типу [60, 109].

**Патогенез** этой группы заболеваний связан с ограниченным поступлением углеводов в условиях метаболического стресса (при хирургическом вмешательстве, интеркуррентных инфекционных болезнях, голодании, физической или эмоциональной перегрузке), и тогда, именно липиды, являются источником энергии для восстановления потребностей организма. При этом запускаются дефектные процессы транспорта и  $\beta$ -окисления ЖК, активируется  $\omega$ -окисление и происходит накопление токсичных производных и конъюгатов карнитина – дикарбоновых кислот в биологических жидкостях, в результате чего развивается вторичная карнитиновая недостаточность [24, 34, 212].

**Клиническая картина.** Все заболевания из группы наследственных нарушений обмена ЖК имеют большое сходство по клиническим признакам. Эти заболевания характеризуются приступообразным течением и подразделяются на тяжелую (раннюю, генерализованную) и легкую (позднюю, мышечную) формы в зависимости от времени проявления симптомов, степени дефицита фермента или его тканевой локализации [12].

Тяжелая форма проявляется в период новорожденности, когда до 20% случаев сопровождаются летальностью и риском внезапной детской смерти. Основными симптомами такой формы заболеваний являются:

- прогрессирующие вялость, сонливость, общая мышечная гипотония,
- генерализованные судороги или инфантильные спазмы, рвота,
- расстройство сердечной деятельности (нарушение ритма или кардиомиопатия),
- увеличение печени (синдром Рея),
- нарушение сознания (в некоторых случаях – кома).

Легкая форма обычно проявляется намного позднее – у детей в школьном возрасте, у подростков. При этом наблюдаются основные симптомы: слабость, утомляемость, нарушение координации, боли в мышцах, темная окраска мочи (при миоглобинурии) [48, 238].

При некоторых заболеваниях (дефицит фермента 3-гидрокси-ацил-КоА-дегидрогеназы ЖК с длинной углеродной цепью) наблюдаются пигментный

ретинит и периферическая нейропатия, а у будущих матерей детей с этим ферментным дефектом течение беременности достаточно часто осложняется развитием жировой инфильтрации печени, тромбоцитопении, и повышением активности трансаминаз. Для всех заболеваний этой группы характерен синдром органической ацидурии [24, 34, 87].

**Лабораторная диагностика.** При диагностике нарушений обмена ЖК по лабораторным показателям можно выявить следующие биохимические состояния: метаболический ацидоз, гипокетотическую гипогликемию, повышение активности трансаминаз и креатинфосфокиназы, увеличение содержания в крови аммиака, молочной кислоты, низкий уровень общего карнитина в крови при увеличении содержания его эстерифицированных форм в моче. Также, в моче обычно обнаруживают высокую экскрецию дикарбоновых кислот с соответствующей длиной углеродной цепи, их гидроксильных производных и ацилкарнитинов [139].

При этих заболеваниях концентрации ацилкарнитинов в биологических жидкостях могут быть умеренно повышенными, что создает трудности для уточнения диагноза, особенно при проведении дифференциальной лабораторной диагностики. В таких случаях наиболее часто врачами рекомендуются повторные исследования для определения тенденции в течение заболевания и подтверждения обнаруженных нарушений. Дифференциальную лабораторную диагностику необходимо проводить с другими НБО и для подтверждения/исключения органических ацидезий, митохондриальных энцефаломиопатий, кардиомиопатий другого происхождения, различных видов эпилепсии, ацетонемической рвоты [36]. Самым высокочувствительным и селективным методом диагностики нарушений обмена ЖК является метод ВЭЖХ-МС/МС, который позволяет в минимальных количествах биологического материала выявлять маркеры нескольких форм наследственных заболеваний из групп дефектов митохондриального  $\beta$ -окисления [50, 106, 211, 236, 237, 246]. В таблице 4 приведены биохимические маркеры, детектируемые в крови пациентов с нарушениями обмена ЖК данным методом [108, 160].

Таблица 4 – Основные наследственные болезни обмена жирных кислот с разной длиной углеродной цепи и концентрации их маркеров, диагностируемых на биохимическом уровне методом ВЭЖХ-МС/МС

| Краткие сведения о заболевании  | Маркер метаболизма   | Показатели метаболизма (мкмоль/л) |                      |                     |
|---|--|-----------------------------------|----------------------|---------------------|
|   |  | норма                             | патология            | критический уровень |
| <b>Дефект связывания карнитина (CUD), дефект транспорта карнитина (CTD)</b>   |  |                                   |                      |                     |
| АР.<br>Связан с дефектом окисления жирных кислот. Причина – дефект трансмембранного транспорта карнитина из плазмы крови.   | Свободный карнитин («C0»)                                  | > 7.0                             | < =7.0               | < =3.0              |
| <b>Дефицит ацил-КоА дегидрогеназы длинноцепочечных жирных кислот (LCHADD)</b>   |  |                                   |                      |                     |
| АР.<br>Связан с дефектом митохондриального $\beta$ -окисления жирных кислот с длинной углеродной цепью (C14–C18). Относится к митохондриальным заболеваниям.                  | 3-Гидрокси-пальмитоилкарнитин (C16OH) ( <i>первичный</i> ) | < 0.10                            | $\geq 0.10$ – < 0.19 | $\geq 0.19$         |
|   | Пальмитоилкарнитин (C16) ( <i>вторичный</i> )              | < 7.79                            | $\geq 7.79$ – < 10.8 | $\geq 10.8$         |
|   | 3-Гидроксиолеилкарнитин (C18:1OH) ( <i>вторичный</i> )     | < 0.11                            | $\geq 0.11$ – < 0.5  | $\geq 0.5$          |
| <b>Дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы среднецепочечных жирных кислот (MCHADD)</b>   |  |                                   |                      |                     |
| АР.<br>Связан с дефектом митохондриального $\beta$ -окисления жирных кислот со средней углеродной цепью (C8 и соотношение C8/C10). Относится к митохондриальным заболеваниям. | Октаноилкарнитин (C8) ( <i>первичный</i> )                 | < 0.59                            | $\geq 0.59$ – < 1.0  | $\geq 1.0$          |
|   | Деканоилкарнитин (C10) ( <i>вторичный</i> )                | < 0.55                            | $\geq 0.55$ – < 0.9  | $\geq 0.9$          |
|   | Гексаноилкарнитин (C6) ( <i>вторичный</i> )                | < 0.59                            | $\geq 0.59$ – < 1.0  | $\geq 1.0$          |
|   | Соотношение C8/C10 ( <i>вторичный</i> )                    | < 3.0                             | $\geq 3.0$           | При C8 $\geq 1.0$   |
| <b>Дефицит трифункционального белка (TFPD)</b>  |  |                                   |                      |                     |
| АР.<br>Связан с ферментным дефицитом $\beta$ -окисления жирных кислот с длинной углеродной цепью (C14–C18).   | 3-Гидрокси-пальмитоилкарнитин (C16OH)                      | < 0.10                            | $\geq 0.10$ – < 0.19 | $\geq 0.19$         |
| <b>Дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы очень длинноцепочечных жирных кислот (VLCADD)</b>   |  |                                   |                      |                     |
| АР.<br>Нарушена последняя стадия катаболизма очень длинноцепочечных жирных кислот.  | Тетрадеценилкарнитин (C14:1) ( <i>первичный</i> )          | < 0.66                            | $\geq 0.66$ – < 1.5  | $\geq 1.5$          |
|   | Тетрадеканоилкарнитин C14 ( <i>вторичный</i> )             | < 0.70                            | $\geq 0.70$ – < 0.92 | $\geq 0.92$         |
|   | Пальмитоилкарнитин (C16) ( <i>вторичный</i> )              | < 7.79                            | $\geq 7.79$ – < 10.8 | $\geq 10.8$         |

**Примечание.** АР – аутосомно-рецессивный тип наследования.

**Лечение.** Главный способ лечения врожденных болезней нарушения окисления и транспорта ЖК – диетотерапия, основанная на двух принципах: исключение голодания (сокращение промежутков между приемами пищи) и обогащение пищевого рациона углеводами при значительном ограничении приема жиров [14, 49, 260].

**Пероксисомные болезни.** На данный момент самой неизученной группой НБО жирный кислот остается группа пероксисомных болезней [166, 256]. В пероксисомах происходит  $\beta$ -окисление очень длинноцепочечных жирных кислот (ОДЦЖК, 24–26 и более атомов углерода) и дикарбоновых ЖК (26 и более атомов углерода). ОДЦЖК не входят в состав липидов, поэтому при поступлении с пищей в организм, подлежат разрушению, как, например, фитановая кислота, которая содержится в животных жирах и растениях. Пероксисомное окисление ОДЦЖК под воздействием фермента ацил-КоА-оксидазы происходит в различных органах и тканях: печени, жировой ткани, почках, кишечнике, надпочечниках, легких, селезенке. Также в пероксисомах происходит катаболизм полиаминов, простагландинов и деградация некоторых ксенобиотиков [23, 197].

В пероксисомах под воздействием пероксисомной оксидазы происходит трансаминирование глиоксилатов, которые далее метаболизируются до щавелевой кислоты, а наследственный дефицит аланинглиоксилатаминотрансферазы в пероксисомах печени приводит к развитию гипероксалурии I типа [144].

Нарушение одной или нескольких функций пероксисом может стать причиной развития метаболических нарушений – пероксисомных болезней (ПБ) [23, 24, 256]. В зависимости от типа функциональных нарушений в биологических жидкостях и тканях накапливаются характерные маркерные метаболиты, что сопровождается дисфункцией или отсутствием пероксисом. Показатели накопления этих метаболитов используются для дифференциальной диагностики пероксисомных нарушений, особенно у новорожденных детей, например, при синдроме Цельвегера, если диагноз не будет поставлен на ранних стадиях

развития болезни, то ребёнок может погибнуть спустя несколько месяцев после рождения от тяжелой гипотонии, нарушения питания, поражения печени и сердца, судорог [79].

До настоящего времени не существовало единой классификации пероксисомных болезней, из-за ограниченного количества знаний о патогенезе заболеваний, функциях пероксисом. Были попытки сделать классификацию по морфологическим признакам (отсутствие или наличие пероксисом в клетках), но они оказались безуспешными. В последние годы ученые стали склоняться к классификации этой группы болезней на основе первичных биохимических и генных дефектов таких процессов, как  $\alpha$ - и  $\beta$ -окисление ЖК, биосинтез эфирсодержащих липидов и детоксикация глиоксилата [121].

В настоящее время ПБ классифицируют по морфологическому (отсутствие или наличие пероксисом в печени) и биохимическому (нарушение одной или нескольких функций пероксисом) критериям, которые оценивают параллельно [210, 228]. Исходя из этой классификации выделяют 3 группы ПБ:

**1-я группа ПБ** – болезни, связанные с генерализованным нарушением биологических функций пероксисом и отсутствием или значительным уменьшением их количества в печени. К ним относятся: синдром Целвегера (СЦ), гиперпипеколлавая ацидемия, неонатальная адренолейкодистрофия, инфантильная форма болезни Рефсума, точечная остехондродисплазия, ряд форм амавроза Лебера, ризомелическая точечная хондродисплазия (РТОХД) I типа и др. Для этих патологий характерно нарушение биогенеза пероксисом в различной степени [63, 79, 259]. При РТОХД I типа биогенез пероксисом нарушен частично (затронуты только биосинтез  $\alpha$ -окисление фитановой кислоты и эфирсодержащих липидов), а при СЦ нарушены почти все пероксисомные функции, что приводит к накоплению целого ряда пероксисомных метаболитов в плазме крови [2, 23, 39, 135, 177].

**2-я группа ПБ** – болезни, которые вызваны нарушением нескольких биологических функций пероксисом при их достаточном количестве в печени. К ним относятся цельвегероподобный синдром, синдром недостаточности D-

бифункционального белка [96], синдром псевдоцельвегера и др. [79].

**3-я группа ПБ** включает болезни, при которых нарушена только одна биологическая функция пероксисом и имеется их достаточное содержание в печени. Эта группа подразделяется на подгруппы по следующим типам:

- нарушение биосинтеза эфирсодержащих липидов (недостаточность дигидрокси-ацетонфосфатацилтрансферазы и алкилдигидроксиацетонфосфатсинтазы [135]);
- нарушение пероксисомного  $\beta$ -окисления (недостаточность белка, транспортирующего стирол) [67], X-сцепленная адrenoлейкодистрофия, недостаточность фермента ацил-КоА-оксидазы I [96, 168], недостаточность 2-метил-ацил-КоА-редуктазы [83]);
- нарушение  $\alpha$ -окисления фитановой кислоты (взрослая форма болезни Рефсума);
- нарушение детоксикации глиоксилата (гипероксалурия I типа) [177]).

**Частота встречаемости.** Пероксисомные болезни достаточно редки, и самой распространенной является X-сцепленная адrenoлейкодистрофия (X-АЛД), которая встречается с частотой 1:17000 [104]. Суммарная частота встречаемости остальных пероксисомных болезней составляет 1:50000 новорожденных.

**Тип наследования.** Все пероксисомные болезни наследуются по аутосомно-рецессивному типу, кроме X-АЛД, которая наследуется по рецессивному типу (по типу сцепления с X-хромосомой) [191].

**Патогенез.** Основной признак нарушения биогенеза пероксисом – отсутствие или уменьшение количества пероксисом в клетках. При патологии эти органеллы состоят только из мембранных белков без матрикса (так называемые тени пероксисом). Нарушение биогенеза пероксисом сопровождается недостаточностью множества ферментов, которые синтезируются в клетке, но, не попадая в пероксисомы, быстро разрушаются. Таким образом, нарушение функций пероксисом приводит к многочисленным и разнообразным патологическим изменениям в организме: характерные дефекты миграции

нейронов, кисты почек, микроузелковый цирроз печени, точечные хондродисплазии, врожденные пороки сердца и дизморфические проявления, ретинопатия, помутнение роговицы, катаракта и глаукома [198].

**Клиническая картина.** Клинические признаки и симптомы ПБ характеризуются различными вариациями [97, 98]. Наиболее тяжело протекает СЦ, который сопровождается тяжелой генерализованной мышечной гипотонией, судорогами, нейросенсорной глухотой, патологией со стороны органов зрения, гипербилирубинемией, гепатомегалией с дисфункцией печени. В среднем большинство детей умирает в возрасте 12.5 недель от аспирационной пневмонии и сердечной недостаточности, а часть детей – позже от судорожного синдрома и поражения печени [79, 93, 104, 191]. Средняя тяжесть болезни наблюдается при Х-АЛД, легкая симптоматика достаточно часто отмечается у новорожденных при болезни Рефсума. Клиническая картина также различается по времени манифестации, тяжести поражения центральной нервной системы и продолжительности жизни [79, 104]. Инфантильная форма болезни Рефсума – это гетерогенный синдром, сходный по симптоматике с СЦ, но с более легким течением и большей продолжительностью жизни новорожденного (продолжительность жизни не превышает 1.5–3 лет). Существует также взрослая форма болезни Рефсума, при которой в результате поражения периферической нервной системы наблюдаются мозжечковая атаксия, глухота, снижение интеллекта, значительное ухудшение зрения, изменение кожи по типу ихтиоза и кардиомиопатия [93].

У большинства пероксисомных болезней ярко выражена неврологическая симптоматика: задержка раннего психомоторного развития, нейросенсорное снижение слуха, мышечная гипотония, в также ретинопатия (дефекты пигментации сетчатки и побледнение дисков зрительных нервов), катаракта и черепно-лицевой дисморфизм. В редких случаях могут наблюдаться аномалии развития скелета и ризомелический тип укорочения конечностей [256].

Клиническая картина пероксисомных болезней очень сходна между подгруппами, поэтому она не позволяет непосредственно различить типы генных

дефектов.

**Лабораторная диагностика.** При подозрении на болезни митохондриальной и пероксисомной природы проводят морфологическое исследование клеток печени, скелетных мышц и лимфоцитов крови с использованием электронно-оптических методов визуализации и гистохимических методов оценки активности митохондриальных ферментов (НАДФ-Н-редуктазы, сукцинатдегидрогеназы, цитохром С-оксидазы, АТФ-азы) и ферментов пероксисом [12].

С помощью этих лабораторных методов исследования можно выявить следующие типы нарушений биогенеза пероксисом:

- снижение числа или полное отсутствие пероксисом;
- присутствие каталазы в цитозоле;
- нарушение синтеза и снижение тканевого уровня плазмалогенов;
- нарушение окисления и чрезмерное накопление ОДЦЖК;
- нарушение окисления и зависимое от возраста накопление фитановой и пристановой кислот;
- нарушение некоторых этапов образования желчных кислот и накопление промежуточных продуктов их синтеза;
- повышенная экскреция дикарбоновых кислот с мочой.

При проведении дифференциальной диагностики ПБ анализируют сочетание данных клинических обследований, результатов лабораторных исследований и данных морфологической оценки:

- клинические данные: выраженная неврологическая симптоматика, надпочечниковая и печеночная недостаточность, снижение остроты зрения и слуха;
- результаты общих лабораторных исследований: повышение в плазме крови уровня ОДЦЖК, фитановой и пристановой кислот, связанного билирубина, трансаминаз, а также подтверждение диагноза гипохолестеринемии;
- морфологический и физиологический критерии: количество пероксисом

и снижение их функции.

Для диагностики пероксисомных болезней применяется информативный и высокотехнологичный метод ГХ-МС [23, 24, 168, 190, 221, 233]. В табл. 5 приведены группы пероксисомных нарушений и уровни их маркеров, определяемых этим методом.

По данным, приведенным в таблице 5 можно сказать, что содержание ОДЦЖК обычно повышено при СНЦ и СЦ, X-АЛД, дефиците ацил-КоА-оксидазы, недостаточности *D*-бифункциональных белков.

Таблица 5 – Пероксисомные нарушения и уровни очень длинноцепочечных (ОДЦЖК), пристановой и фитановой кислот в плазме крови, определяемые на биохимическом уровне методом ГХ-МС [24, 135]

| Группы пероксисомных заболеваний  | ОДЦЖК    | Пристановая кислота | Фитановая кислота |
|---|----------|---------------------|-------------------|
| <b>Группа 1 (болезни, связанные с генерализованным нарушением биологических функций пероксисом и отсутствием или значительным уменьшением количества пероксисом в печени)</b> |          |                     |                   |
| Синдром Целвегера (СЦ)  | ↑        | <i>N</i> -↑*        | <i>N</i> -↑*      |
| Ризомелическая точечная хондродисплазия (РТОХД) I типа  | <i>N</i> | <i>N</i> -↑         | <i>N</i> -↑*      |
| <b>Группа 2 (болезни, вызванные нарушением нескольких биологических функций пероксисом при нормальном количестве пероксисом в печени)</b>                                     |          |                     |                   |
| Спектр нарушений Целвегера (СНЦ)  | ↑        | <i>N</i> -↑*        | <i>N</i> -↑*      |
| Недостаточность <i>D</i> -бифункциональных белков   | ↑        | <i>N</i> -↑*        | <i>N</i> -↑*      |
| <b>Группа 3 (болезни, при которых нарушена одна биологическая функция пероксисом и имеется нормальное содержание пероксисом в печени)</b>                                     |          |                     |                   |
| <b>3.1. Пероксисомные нарушения β-окисления</b>   |          |                     |                   |
| X-сцепленная адренолейкодистрофия (X-АЛД)   | ↑        | <i>N</i>            | <i>N</i>          |
| Недостаточность ацил-КоА-оксидазы   | ↑        | <i>N</i>            | <i>N</i>          |
| Недостаточность белка, транспортирующего стирол (СТБ)   | <i>N</i> | <i>N</i> -↑*        | <i>N</i> -↑*      |
| Недостаточность 2-метилацил-КоА-редуктазы (МАКоАР)  | <i>N</i> | <i>N</i> -↑*        | <i>N</i> -↑*      |
| <b>3.2. Нарушения биосинтеза эфиросодержащих липидов</b>  |          |                     |                   |
| РТОХД II типа   | <i>N</i> | <i>N</i>            | <i>N</i>          |
| РТОХД III типа  | <i>N</i> | <i>N</i>            | <i>N</i>          |
| <b>3.3. Нарушения α-окисления фитановой кислоты</b>   |          |                     |                   |
| Болезнь Рефсума   | <i>N</i> | ↑                   | <i>N</i> -↑*      |
| <b>3.4. Нарушение детоксикации глиоксилата</b>  |          |                     |                   |
| Гипероксалурия I типа   | <i>N</i> | <i>N</i>            | <i>N</i>          |

**Примечание.**

*N* – нормальный уровень;

↑ – повышенный уровень;

\* – уровень содержания может варьироваться от нормального до повышенного в зависимости от возраста и питания пациента.

Концентрации ОДЦЖЖ могут быть в норме при других заболеваниях, включая дефицит СТБ и дефиците МАКоАР, но при данных патологиях происходит накопление пристановой кислоты, а также желчных кислот, являющихся промежуточными метаболитами ди- и тригидроксихолестановых кислот. Уровень пристановой кислоты также повышается при СНЦ, РТОХД I типа и болезни Рефсума, а уровень фитановой кислоты повышается при наличии практически всех заболеваний этой группы [23, 24, 135].

Таким образом, одновременный анализ пристановой, фитановой кислот и ОДЦЖЖ является эффективным методом для выявления больных с пероксисомными болезнями, хотя при нарушении биосинтеза эфиросодержащих липидов (РТОХД II и III типов, гипероксалурии I типа) необходимо дополнительное исследование других маркерных метаболитов, в том числе, уровня плазмалогенов в эритроцитах, а также уровня глиоксилата, гликолата и оксалата в моче [24, 252].

**Лечение.** Способы лечения пероксисомных болезней в настоящее время окончательно не отработаны. Положительные результаты можно достичь применением диетотерапии с ограничением жиров и дополнительным введением эфиров эруковой и олеиновой кислот при X-АЛД и болезни Рефсума взрослого типа [167, 191, 202]. В некоторых случаях положительная динамика наблюдалась при использовании процедур плазмофереза [12].

Проанализировав данные в таблице 5, можно с уверенностью сказать, что анализ ОДЦЖЖ, пристановой и фитановой кислот имеет большое значение для проведения правильной и своевременной диагностики нарушений обмена ЖК у детей. Результаты этого анализа являются основанием для начала определенного лечения пациентов, предупреждения рождения больных детей, способствуя тем самым снижению уровня инвалидизации и улучшению состояния здоровья детского населения [36]. Отсутствие в литературе референсных интервалов для многих диагностически значимых маркеров нарушений обмена жирных кислот, несовершенство используемых в них методов, неразработанность полных алгоритмов диагностики не позволяет решить эти проблемы для детской

популяции в Российской Федерации в настоящее время.

### **1.6. Наследственные болезни обмена пуриновых и пиримидиновых оснований**

Пурины и пиримидины – это гетероциклические азотистые основания, являющиеся исходными структурными элементами нуклеозидов и нуклеотидов. Нуклеотиды принимают участие во множестве биохимических процессов особенно, в качестве мономеров-предшественников при биосинтезе ДНК и РНК. Рибонуклеотиды являются универсальными источниками энергии (АТФ), регуляторными сигналами, переносчиками метильных групп (*S*-аденозилметионин), макроэргическими посредниками в углеводном обмене и синтезе липидов, а также входят в состав коферментов (ФАД, НАД, НАДФ). Обмен пуринов и пиримидинов в организме состоит из трех основных этапов: синтеза, катаболизма и взаимопревращений нуклеозидов и нуклеотидов. Дефекты ферментов, принимающих участие в метаболизме пуринов и пиримидинов, могут приводить к развитию генетически обусловленных нарушений обмена этих оснований [25, 28, 132, 224].

Дефекты метаболизма пуриновых оснований изучены достаточно хорошо, тогда как группа нарушений обмена пиримидиновых оснований была описана совсем недавно. Так как дефекты метаболизма пуринов и пиримидинов ассоциированы с дефектами ферментов, катализирующих реакции реутилизации этих оснований, то в результате этих нарушений происходит накопление субстрата блокированной ферментной реакции, что может оказывать токсическое действие на организм и представлять опасность для жизни пациента [94].

**Частота встречаемости.** Отдельные формы наследственных болезней обмена пуринов и пиримидинов встречаются редко или крайне редко, можно отметить диапазон от 1:10000 до 1:1000000 новорожденных. Для многих патологий частота встречаемости не определена [120, 178].

**Тип наследования.** Подавляющее большинство форм нарушений обмена пуринов и пиримидинов наследуется по аутосомно-рецессивному типу.

**Патогенез.** Патогенетические механизмы различных нозологических форм

наследственных нарушений обмена пуринов и пиримидинов обусловлены нарушением активности ферментов, участвующих в обмене этих соединений, что приводит к накоплению субстратов этих ферментов в клетках и биологических жидкостях. Избыток субстратов метаболизируется в альтернативных биохимических путях с образованием токсических продуктов, что оказывает негативное действие на клетки и ткани, а также неблагоприятно влияет на транспорт азотистых оснований внутрь клетки, нарушая функции отдельных клеточных структур и оказывает генотоксическое действие [25, 113, 153].

**Клиническая диагностика.** Симптоматика наследственных патологий пуринового и пиримидинового обмена различается по степени тяжести. [25, 225].

Характерные клинические признаки позволяют разделить данную группу заболеваний по клиническим проявлениям и ведущим симптомокомплексам [25, 117, 129, 157, 219, 226, 230, 244]:

- с преимущественным поражением центральной нервной системы (задержка или отставание психического, или психомоторного развития различной степени (от легкой до глубокой), в сочетании с эпилептическими приступами, мышечной гипотонией или гипертонусом, аутизмом);
- с преимущественным поражением почек (развитие острой почечной недостаточности);
- с сочетанным тяжелым поражением центральной нервной системы и почек (сочетание раннего развития подагрического артрита с неврологическими нарушениями: сенсоневральной тугоухостью, экстрапирамидными расстройствами, атаксией);
- с патологией системы крови (наследственные анемии);
- с патологией системы иммунитета (наследственные иммунодефициты).

Первоначальные клинические симптомы этих заболеваний могут проявляться в различном возрасте – с первых дней жизни и до взрослого периода. Преобладание в клинической картине признаков поражения той или иной системы организма позволяет выделить несколько групп наследственных нарушений обмена пуринов и пиримидинов (таблица 6).

Таблица 6 – Основные клинические проявления, тип наследования, сроки манифестации и частота встречаемости наследственных заболеваний, обусловленных нарушением обмена пуринов и пиримидинов [25, 225]

| Заболевание / тип наследования  | Сроки манифестации                              | Основные клинические проявления   | Частота встречаемости              |
|---|---|---|------------------------------------|
| 1   | 2   | 3   | 4                                  |
| <b>1. Болезни, протекающие с преимущественным поражением центральной нервной системы</b>                                  |   |   |                                    |
| Дефицит аденилосукцинат-лиазы (АДСЛ) / АР   | Период новорожденности – ранний детский возраст | Задержка/отставание психоречевого и/или двигательного развития. Непостоянные признаки: эпилепсия и/или аутизм.  | Не установлена                     |
| Дефицит АICAR-трансформилазы / ИМФ-циклогидролазы (АТIC) / предположительно АР  |   |   | Не установлена                     |
| Дефицит дигидропиримидин-дегидрогеназы / АР   |   |   | Не установлена                     |
| Дигидропиримидинурия (дефицит дигидропиримидиназы) / АР   |   |   | 1:10000                            |
| Дефицит $\beta$ -уреидопропионазы / АР  |   |   | Не установлена                     |
| <b>2. Болезни, протекающие с преимущественным поражением почек</b>  |   |   |                                    |
| Парциальный дефицит активности гипоксантин-гуанин-фосфорибозил-трансферазы (ГФРТ) – синдром Келли-Зигмиллера / X          | С детского возраста и старше                    | Дизметаболическая нефропатия и/или мочекаменная болезнь, обусловленные образованием кристаллов из трудно растворимых соединений (мочевой кислоты, ксантина и 2,8-дигидроксиаденина).                                      | Не установлена                     |
| Гиперактивность фосфорибозил-пирофосфат-синтазы I типа (ФРПС I) / X   | С детского возраста и старше                    | Непостоянные признаки: артропатия/подагра, двигательные расстройства и/или задержка/отставание психоречевого развития.  | Не установлена                     |
| Наследственная ксантинурия (дефицит ксантин-дегидрогеназы (ксантиноксидазы)) / АР   | С 6 месяцев и старше                            |   | 1:6000 – 1:69000                   |
| Дефицит аденин-фосфорибозил-трансферазы (АФРТ) / АР   | С периода новорожденности и старше              |   | 1:33000 – 1:250000                 |
| <b>3. Болезни с сочетанным тяжелым поражением центральной нервной системы и почек</b>                                     |   |   |                                    |
| Синдром Леша-Нихана, обусловленный отсутствием активности фермента гипоксантин-гуанин-фосфорибозил-трансферазы (ГФРТ) / X | С 3–4 месяцев до 1 года                         | Дистоническая форма детского церебрального паралича в сочетании с аутоагрессией и уратной нефропатией   | 1: 235000 – 1:380000 живорожденных |
| <b>4. Болезни, для которых характерна патология системы крови (наследственные анемии)</b>                                 |   |   |                                    |
| Наследственная оротовая ацидурия / АР   | С 1.5 месяцев до 7 лет                          | Анемия, устойчивая к терапии препаратами железа, витамином В <sub>12</sub> и фолиевой кислотой. Непостоянные признаки: задержка/отставание психомоторного развития, задержка физического развития; гемолитическая анемия. | Не установлена                     |
| Дефицит пиримидин-5-прайм-нуклеотидазы / АР   | С детского возраста и старше                    |   | Не установлена                     |
| <b>5. Болезни, для которых характерна патология системы иммунитета (наследственные иммунодефициты)</b>                    |   |   |                                    |
| Дефицит аденозин-дезаминазы (АДА) / АР  | С рождения до школьного возраста                | Рецидивирующие тяжелые инфекции. Непостоянные признаки: неврологические нарушения.  | 1:1000000 новорожденных            |
| Дефицит пуринов-нуклеозид-фосфорилазы (ПНФ) / АР  | С 1–6 лет, иногда в более старшем возрасте      |   | Не установлена                     |

**Примечание.** АР – аутосомно-рецессивный тип наследования; X – X-сцепленный тип наследования.

**Лабораторная диагностика.** Биохимическая диагностика включает в себя «рутинные» и высокотехнологичные методы исследования [91, 131, 247]. Так как для всех наследственных болезней обмена характерны неспецифичные клинические симптомы и многие заболевания сходны по клиническим проявлениям, то проведение точной диагностики возможно только с помощью лабораторных методов.

Основным лабораторным признаком болезней данной группы является изменение содержания пуриновых и пиримидиновых оснований, нуклеозидов и их производных в различных биологических жидкостях и лизатах клеток [25, 127, 128, 131]. Мочевая кислота является конечным продуктом катаболизма пуринов, и по изменению ее концентрации в сыворотке крови и моче можно заподозрить ряд патологий, обусловленных нарушением обмена пуринов.

Основными биохимическими признаками для исследования на нарушение обмена пуринов являются:

- низкое содержание мочевой кислоты в сыворотке крови в сочетании со снижением ее экскреции с мочой;
- повышенное содержание мочевой кислоты в сыворотке крови в сочетании с ее повышенной экскрецией с мочой;
- снижение значения коэффициента суточной экскреции уратов с мочой (Ur) по отношению к содержанию креатинина (Cr) в анализе суточной мочи (Ur/Cr).

Рутинное определение количественного содержания мочевой кислоты в биологических жидкостях в биохимических лабораториях большинства поликлиник и многопрофильных стационаров проводится с помощью доступного энзиматического колориметрического метода. Для определения содержания метаболитов пиримидинов доступных «рутинных» методов биохимических исследований не существует.

Для подтверждения диагноза большинства наследственных болезней нарушений метаболизма пуринов и пиримидинов необходимо определение их

специфических метаболитов в биологических жидкостях (преимущественно в моче) или в клетках крови методом ВЭЖХ-МС/МС, который, является самым специфичным, точным и быстрым для диагностики нарушений этого типа обмена [25, 118, 242]. Наследственные дефекты обмена пуринов и пиримидинов, выявляемых данным методом, представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Наследственные нарушения обмена пуринов и пиримидинов, выявляемые методом ВЭЖХ-МС/МС [25, 118, 242]

| Заболевание  | Специфические метаболиты пуринов и пиримидинов в биологических жидкостях  |
|--|---|
| <b>1. Болезни, протекающие с преимущественным поражением центральной нервной системы</b>               |   |
| Дефицит аденилосукцинат-лиазы (АДСЛ)   | в моче: ↑↑ сукциниладенозин (S-Ado); ↑<br>↑ сукцинил-аминоимидазолкарбоксамидо-рибозид (SAICAR)   |
| Дефицит AICAR-трансформилазы/<br>ИМФ-циклогидролазы (АТИС)   | в моче: ↑↑ аминокимидазолкарбоксамидо-рибозид<br>(AICA-рибозид); ↑ сукциниладенозин (S-Ado);<br>↑ сукцинил-аминоимидазолкарбоксамидо-рибозид (SAICAR) |
| Дефицит дигидропиримидин-дегидрогеназы   | в моче: ↑↑ урацил и тимин   |
| Дефицит дигидропиримидиназы  | в моче: ↑↑ дигидроурацил; ↑↑ дигидротимин; ↑ урацил; ↑ тимин  |
| Дефицит β-уреидопропионазы   | в моче: ↑ β-уреидопропионат; ↑ β-уреидоизобутират;<br>±↑ дигидроурацил; ±↑ дигидротимин; ±↑ урацил; ±↑ тимин  |
| <b>2. Болезни, протекающие с преимущественным поражением почек</b>                                     |   |
| Синдром Келли-Зигмиллера   | в моче: ↑↑ мочевого кислоты   |
| Гиперактивность фосфорибозил-пирофосфат-синтазы I (ФРПС I)   | в моче: ↑ гипоксантин, ↑ ксантин  |
| Наследственная ксантинурия   | в моче: ↑↑ ксантин; ↑ гипоксантин   |
| Дефицит аденин-фосфорибозил-трансферазы (АФРТ)   | в моче: ↑ 2,8-дигидроксиаденин  |
| <b>3. Болезни с сочетанным тяжелым поражением центральной нервной системы и почек</b>                  |   |
| Синдром Леша-Нихана  | в моче: ↑↑ мочевого кислоты; ↑ гипоксантин  |
| <b>4. Болезни, для которых характерна патология системы крови (наследственные анемии)</b>              |   |
| Наследственная оротовая ацидурия I типа  | в моче: ↑↑ оротовая кислота   |
| Дефицит пиримидин-5-прайм-нуклеотидазы   | в эритроцитах: ↑ пиримидиновых нуклеотидов – уридина<br>и цитидина трифосфатов  |
| <b>5. Болезни, для которых характерна патология системы иммунитета (наследственные иммунодефициты)</b> |   |
| Дефицит аденозин-дезаминазы (АДА)  | в моче: ↑ аденозин; ↑ дезоксиаденозин   |
| Дефицит пуринов-нуклеозид-фосфорилазы (ПНФ)  | в моче: ↑ инозин; ↑ гуанозин; ↑ дезоксиинозин;<br>↑ дезоксигуанозин   |

**Примечание.** ↑ – повышение концентрации;  
↑↑ – значительное повышение концентрации;  
± – непостоянные изменения.

При необходимости подтверждения диагноза также проводят определение активности ферментов в эритроцитах и культурах клеток пациентов и молекулярно-генетические исследования, которые позволяют выявить мутации в генах, кодирующих ферменты, участвующие в обмене пуринов и пиримидинов [25]. Алгоритм диагностики заболеваний данной группы до настоящего времени

мало изучен не только в России, но и в мире. В связи с тем, что некоторые заболевания из этой группы поддаются лечению, разработка алгоритма их диагностики становится особенно актуальной.

**Лечение** наследственных болезней пуринового и пиримидинового обмена остается мало разработанным и до настоящего времени многие формы заболеваний этого типа часто лечатся симптоматически.

Таким образом, широкое применение метода ВЭЖХ-МС/МС для диагностики нарушений обмена пуриновых и пиримидиновых оснований у детей позволит выявлять заболевания данного типа на ранней стадии. Однако, в настоящее время применение этого метода в лабораторной практике достаточно ограничено. При этом имеющиеся алгоритмы диагностики данного типа нарушений не позволяют выявлять индивидуальные заболевания. При этом в литературе приведены референсные интервалы не для всех диагностических маркеров болезней этого типа в детской популяции в Российской Федерации. На основании этого можно сделать вывод, что разработка алгоритма диагностики и расчет референсных интервалов для маркеров болезней этого типа – актуальная и важная задача лабораторной медицины.

### **1.7. Референсные интервалы диагностических маркеров для здоровой детской популяции**

Клиническая диагностика НБО веществ, как и любых других заболеваний, основана на интерпретации результатов исследований по сравнению с «нормальными значениями». Согласно мнению авторов: «в настоящее время термин «нормальные значения» все чаще заменяется на более корректное определение – «референсный интервал». Референсный или референтный интервал/диапазон (РИ/РД) – это статистически рассчитанный интервал значений, в который включены данные, полученные от большой выборки пациентов с характеристиками, которые аналогичны характеристикам референсной группы (с минимальным количеством ложноположительных и ложноотрицательных результатов), при этом РИ должен учитывать разные популяции обследуемых.

Необходимо понимать, что РИ – это статистические данные 95% популяции, при этом у 5% здоровых лиц лабораторные показатели могут выходить за пределы интервала, но не все значения, выходящие за область нормальных, являются патологическими.

В середине 1990-х годов Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам (NCCLS) выпустил рекомендации по процедуре самостоятельного определения РИ для клинических лабораторий для всех видов исследований, которые применяются для лабораторной диагностики населения. Использование рассчитанных в лаборатории, «локальных» РИ должно уменьшить частоту ложноположительных и ложноотрицательных результатов, и повысить вероятность ранней диагностики патологий в обследуемой популяции. Причем, при расчете РИ для каждой индивидуальной группы (возрастной или половой) с применением непараметрических методов статистики требуется как минимум 120 наблюдений» (М. С. Казакова, С. А. Луговская, В. В. Долгов, Референсные значения показателей общего анализа крови взрослого работающего населения // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. - №6. – с.43-49).

Лабораторная медицина в педиатрии имеет ряд особенностей и сложностей, связанных с разными периодами развития, разными видами питания, постоянным ростом организма и протеканием различных заболеваний в разные периоды младенчества, детства и юности. К педиатрическим пациентам необходим уникальный медицинский подход, так как у них существуют значительные различия в развитии заболеваний, особенностях забора биоматериала и интерпретации результатов исследований. Для точной интерпретации данных клинического обследования и результатов лабораторных анализов педиатрам необходимы РИ маркерных метаболитов, соответствующие возрастной группе детской популяции данной этнической группы [208].

По данным Международной федерации клинической химии и лабораторной Медицины (IFCC) референсные интервалы определяются как 95% интервал, соответствующий 2.5–97.5% перцентильям распределения значений в эталонной

популяции. Для того чтобы использовать определенные лабораторные маркеры для диагностики нарушений метаболизма, необходимо осуществить процедуру расчета их РИ при обследовании популяций здоровых лиц разных возрастов, полов и национальностей. Хотя специалисты в области здравоохранения понимают важность установления РИ, многие лаборатории до сих пор не имеют собственных, «локальных» РИ, особенно для детской популяции [208].

На практике лаборатории часто используют РИ, приведенные в различных источниках (научные статьи, медицинские справочники, электронные базы данных), но при этом не учитывают, что эти РИ могут быть определены для другой популяции (с расовыми, географическими и этническими особенностями), а также при использовании другого лабораторного оборудования. Все это может привести к значительным ошибкам при интерпретации результатов исследований. Литературный поиск показал, что на данный момент в России проведены единичные научные исследования по определению РИ диагностических маркеров НБО веществ для педиатрической популяции.

Основной объем информации, касаемо РИ для диагностических маркеров врожденных нарушений обмена веществ, определяемых с помощью метода ВЭЖХ-МС/МС, опубликован в 90-х годах прошлого столетия, как для здоровых популяций детей, так и для групп детей с врожденными патологиями обмена [143, 195, 231]. Однако, в этих работах приведены оценка и расчет РИ для аминокислот с участием групп обследованных с минимальным числом пациентов и здоровых лиц [70, 72, 85], и преимущественно только для новорожденных, так как данный метод диагностики используется, в первую очередь, для неонатального скрининга [71, 268]. Только в ограниченном числе источников приведены РИ аминокислот для всех возрастных педиатрических групп здоровых детей [176, 213]. С начала 2000-х годов начинается публикация результатов научных исследований РИ для аминокислот при диагностике других патологических состояний: низкорослости, аутизма и т.д. [220, 257]. Похожую тенденцию можно отметить при изучении литературных данных по определению РИ для ацилкарнитинов в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС – оценка и расчет их РИ для разных педиатрических

групп представлены в ограниченном числе источников [152, 179, 180].

При анализе литературных источников, в которых приводятся результаты исследований по установлению РИ для органических кислот в моче детей, обращает на себя внимание, что только в некоторых источниках подробно описаны характеристики маркеров и патологии, которые можно диагностировать с помощью их определения в биологических жидкостях, но РИ для нормы и патологии приводятся без дифференциации по возрастам [49, 214]. В ограниченном числе работ приведены РИ большинства диагностических маркеров данных заболеваний для различных возрастных педиатрических групп [78, 116].

Литературный поиск показал, что имеется достаточно ограниченное количество статей с данными о РИ для ОДЦЖК для педиатрической популяции. Материал, представленный в этих работах, имеет акцент на методологию их количественного определения в биологических жидкостях или указание их биологической роли в организме [165, 252]. Также опубликованы результаты работы, где описывается зависимость содержания данных кислот в плазме крови пациентов от их диеты [167]. При анализе литературных данных установлено, что только в ограниченном числе работ имеется информация о РИ для таких диагностически значимых маркеров заболеваний данной группы, как бегеновая (C22:0), лигноцереновая (C24:0), гексакозановая (C26:0), пристановая и фитановая кислоты, а также соотношений C24:0/C22:0 и C26:0/C22:0 [165, 253].

По данным литературы диагностике нарушений обмена пуринов и пиримидинов посвящено мало исследований, при этом можно отметить, что в них содержится мало информации об их РИ [91, 118, 127, 224]. Отмечено, что изученные выборки пациентов для расчета РИ не были сформированы по возрастам. Также опубликован ряд исследований, в которых приводятся результаты по количественному определению характеристических маркеров при диагностике различных врожденных патологиях обмена пуринов и пиримидинов (например, дефицита уреидопропионазы I) [51]. В основных источниках РИ пуринов и пиримидинов для педиатрической популяции они приведены без разделения на возрастные группы [91, 118, 224].

Обобщив все выше изложенное, можно сказать, что в настоящее время в Российской Федерации имеется острая необходимость проведения правильной и своевременной диагностики наследственных болезней обмена аминокислот, органических кислот, ацилкарнитинов, жирных кислот, пуриновых и пиримидиновых оснований. Применение современного инструментария в виде методов ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС позволило бы снизить уровень инвалидности и улучшить состояние здоровья детского населения. В связи с этим разработка полных диагностических алгоритмов и установление РИ для диагностически значимых маркеров нарушений обмена этих веществ для педиатрической популяции в РФ является актуальной задачей лабораторной медицины.

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Группы пациентов

В период с января 2009 по март 2015 года обследовано 695 пациентов с момента рождения и до 18 лет. Были определены лабораторные показатели спектров аминокислот, ацилкарнитинов, длинноцепочечных жирных кислот, органических кислот, пуринов и пиримидинов в пятнах крови, плазме крови и моче у 695 детей, из которых 157 – пациенты с различными заболеваниями со сходной клинической картиной, характерной для врожденных метаболических заболеваний, 95 – практически здоровые дети, вошедшие в контрольную группу, и 443 – практически здоровые дети для расчета референсных интервалов.

#### **Характеристики групп обследованных**

**Первую группу** больных составили дети с подозрением на аминокислотопатии и органические ацидурии/ацидемии, а также с диагностически недифференцированными патологиями обмена веществ. Возраст пациентов, вошедших в группу, составил от 6 месяцев до 16 лет. По полу группа пациентов распределялась следующим образом: 48 мальчиков и 32 девочки.

**Критерии включения:** дети с момента рождения и до 18 лет, в анамнезе, которых присутствовала следующая симптоматика: судороги, задержка психомоторного и физического развития, нарушение мышечного тонуса, атаксия, наличие комплексной симптоматики с дерматитом, увеличением печени, снижением остроты зрения.

**Критерии исключения:** несоответствие критериям включения (возраст старше 18 лет, наличие сопутствующих заболеваний с тяжелым течением, которое могло осложнить выполнение условий обследования или могло навредить пациенту).

Группой сравнения для этой группы больных были 35 детей с подозрением на пероксисомные болезни обмена. Контрольная группа состояла из 40 практически здоровых детей разных возрастных групп.

**Вторая группа** включала больных с подозрением на пероксисомные патологии, а также с диагностически недифференцированными патологиями

обмена. Возраст пациентов, вошедших в группу, составил от 4 месяцев до 6 лет. По полу группа пациентов распределялась следующим образом: 19 мальчиков и 16 девочек.

**Критерии включения:** дети с момента рождения и до 18 лет, в анамнезе, которых присутствовала следующая симптоматика: резкие и характерные дефекты миграции нейронов, микроузелковый цирроз печени, кисты почек, точечные хондродисплазии, помутнение роговицы, катаракта, глаукома и ретинопатия, врожденные пороки сердца и дизморфические проявления.

**Критерии исключения:** несоответствие критериям включения (возраст старше 18 лет, наличие сопутствующих заболеваний с тяжелым течением, которое могло осложнить выполнение условий обследования или могло навредить пациенту).

Группой сравнения для этой группы больных были 35 детей с подозрением на болезни обмена пуриновых и пиримидиновых оснований. Контрольная группа состояла из 25 практически здоровых детей разных возрастных групп.

**Третья группа** – дети с подозрением на нарушение обмена пуринов и пиримидинов, а также с диагностически недифференцированными патологиями обмена. Возраст пациентов, вошедших в группу, составил от 8 месяцев до 12 лет. По полу группа пациентов распределялась следующим образом: 23 мальчиков и 19 девочек.

**Критерии включения:** дети с момента рождения и до 18 лет, в анамнезе, которых присутствовала следующая симптоматика: выраженные нарушения функций ЦНС, почек и системы крови.

**Критерии исключения:** несоответствие критериям включения (возраст старше 18 лет, наличие сопутствующих заболеваний с тяжелым течением, которое могло осложнить выполнение условий обследования или могло навредить пациенту).

Группой сравнения для этой группы больных были 35 детей с подозрением на болезни обмена аминокислот и органических кислот. *Контрольная группа*

состояла из 30 практически здоровых детей разных возрастных групп.

**Контрольная группа** – практически здоровые дети разных возрастных групп.

**Критерии включения:** дети с момента рождения и до 18 лет, отсутствие клинических проявлений и установленных диагнозов НБО веществ, отсутствие на момент обследования острого заболевания или обострения хронического заболевания.

Характеристика групп пациентов, участвующих в настоящем исследовании, представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Характеристика групп пациентов, участвующих в настоящем исследовании

| Метод диагностики  | Биоматериал        | Количество пациентов | Группа сравнения        | Контрольная группа |
|--|--------------------|----------------------|-------------------------|--------------------|
| <b>1 группа (подозрения на аминокислотопатии, органические ацидемии/ацидурии)</b>  |                    |                      |                         |                    |
| ВЭЖХ-МС/МС, ГХ-МС  | Пятна крови + моча | 80                   | 2 группа (35 пациентов) | 40 детей           |
| <b>2 группа (подозрения на болезни клеточных органелл – пероксисомные болезни)</b> |                    |                      |                         |                    |
| ГХ-МС  | Плазма крови       | 35                   | 3 группа (35 пациентов) | 25 детей           |
| <b>3 группа (подозрения на нарушения обмена пуринов и пиримидинов)</b>             |                    |                      |                         |                    |
| ВЭЖХ-МС/МС   | Моча               | 42                   | 1 группа (35 пациентов) | 30 детей           |

В исследование были включены дети, проживающие в Московском регионе и Европейской части России. Биоматериал от детей был получен в НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Вельтищева МЗ РФ, Российской детской клинической больнице и научно-лабораторном комплексе ООО «ХромсистемсЛаб». Предварительно от родителей всех детей было получено письменное согласие на проведение исследования.

Стационарное наблюдение за пациентами проводилось врачами-педиатрами и врачами-генетиками; все экспериментальные результаты получены в лаборатории общей патологии НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Вельтищева МЗ РФ.

**Определение референсных интервалов.** В настоящем исследовании для расчета РИ был использован «косвенный» ретроспективный метод набора референсной группы. Достоинствами этого метода, заключающегося в обработке

результатов, уже собранных и сохраненных в базе данных лаборатории, являются их большой объем и доступность. Для расчета РИ были использованы результаты анализов 443 практически здоровых детей разных возрастных групп. При помощи лабораторной информационной системы «АльфаЛаб» отслеживалась история и результаты сделанных анализов пациентов. По результатам комплексных анализов, при отсутствии отклонений в спектрах аминокислот, органических кислот, ацилкарнитинов, пуринов и пиримидинов, жирных кислот, и при отсутствии отклонений в результатах общего анализа крови и мочи принималось решение о включении результатов анализов по данным анализам в статистическую обработку.

## **2.2. Методики количественного определения биохимических маркеров методами хромато-масс-спектрометрии**

### ***2.2.1. Методика количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией***

Одной из последних инноваций в Российской Федерации является применение в медицинской практике методики количественного определения 12 аминокислот и 30 ацилкарнитинов в сухих пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС [72, 170, 196, 267]. В настоящем исследовании данная методика была модифицирована: для повышения чувствительности оптимизированы параметры масс-спектрометрического детектирования всех анализов, а для сокращения времени анализа единичного образца – увеличена скорость потока элюента.

**Стандартные образцы:** лиофилизированная смесь внутренних стандартов MassChrom<sup>®</sup> AminoAcids and Acylcarnitines (Chromsystems, Германия).

**Реактивы:** ацетонитрил (LC/MS Grade) (Fisher Scientific, США), бутанол-1 (ч.д.а., Химмед, Россия), *n*-бутилацетат (ч.д.а., Химмед, Россия), соляная кислота (ч.д.а., Химмед, Россия), метанол (ч.д.а., Sigma-Aldrich, Германия).

**Лабораторные посуда и материалы:** фильтровальная бумага для отбора биопроб Whatman 903<sup>®</sup> (Whatman, США), 96-луночный микропланшет с

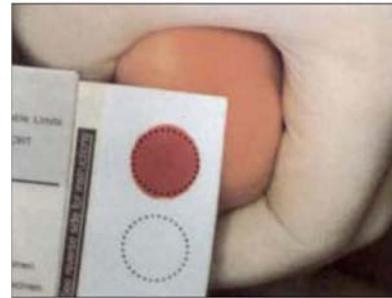
защитной адгезионной пленкой (Eppendorf, Германия).

**Лабораторное оборудование:** панчер DSB Puncher (PerkinElmer, США), термошейкер ST-3 (ELMI, Латвия), испарительная система (модель EVA EC-S) (VLM, Германия), дозаторы механические одноканальные Sartorius (модель Biohit Proline) (Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия) следующих объемов: 0–100.0 мкл, 0–200.0 мкл с оригинальными одноразовыми наконечниками.

**Забор биоматериала.** Образец крови из пятки новорожденного или пальца пациента более старшего возраста наносился на специальную бумагу Whatman 903® и сушился при комнатной температуре до полного высыхания (рисунок 4). Пропитанная биоматериалом специальная бумага хранилась при комнатной температуре.



а)



б)

Рисунок 4 – Общее (а) и детальное изображение (б) процедуры забора крови из пятки новорожденного на фильтровальную бумагу для отбора биопроб.

**Пробоподготовка биоматериала.** Для проведения анализа из сухого пятна пробы крови, при помощи панчера (специального дырокола) вырезался круг диаметром 3.1 мм (соответствует 3.2 мкл образца крови), который помещался в лунку микропланшета. Для экстракции к нему добавлялось 200.0 мкл смеси внутренних стандартов (предварительно растворенной в ацетонитриле), далее микропланшет для избежания испарения и разбрызгивания образца закрывался защитной адгезионной пленкой и перемешивался на шейкере при 600 об/мин в течение 20 минут при комнатной температуре. Для упаривания с микропланшета удалялась защитная пленка, после чего образец упаривался при 60°С в токе воздуха досуха. Для дериватизации образца к его сухому остатку в микро-планшете добавлялось 60.0 мкл дериватизирующего реагента (смесь

бутанола-1, *n*-бутилацетата, соляной кислоты в объемном соотношении 7:2:1), после этого микропланшет закрывался защитной пленкой и инкубировался при 60°C и 600 об./мин в течение 15 минут. Для концентрирования образца с микропланшета удалялась защитная пленка, и он упаривался в токе воздуха досуха. Заключительный этап пробоподготовки – пере растворение сухого остатка в 10.0 мкл метанола, после чего образец перемешивался при 600 об./мин в течение 1 минуты при комнатной температуре. В ВЭЖХ-систему вводилось 10.0 мкл подготовленного образца.

Примеры дериватизации некоторых аминокислот и ацилкарнитинов приведены на рисунках 5 и 6 соответственно.

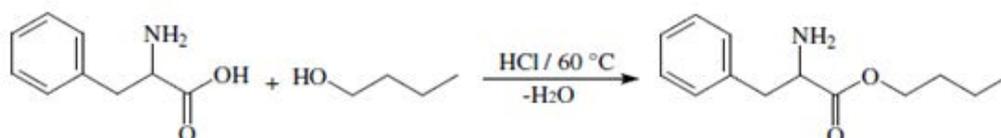


Рисунок 5 – Дериватизация фенилаланина до бутилового эфира фенилаланина.

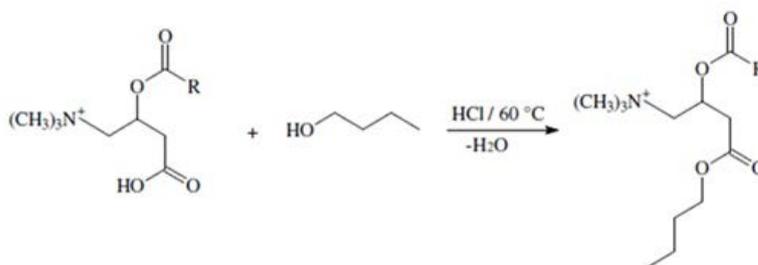


Рисунок 6 – Дериватизация ацилкарнитинов до бутилового эфира ацилкарнитина (R = алкильный радикал, например, R = CH<sub>3</sub> для ацетилкарнитина).

**Хроматографические условия.** Анализ выполнялся с использованием ВЭЖХ-системы, которая состояла из двойного градиентного насоса Agilent 1200, вакуумного дегазатора, термостата хроматографических колонок и автосэмплера CTC HTS PAL, соединенных с масс-детектором Agilent 6410 QQQ (Agilent Technologies, США). В качестве колонки использовалась муфта-переходник.

В качестве мобильной фазы и раствора для промывки иглы инжектора использовался ацетонитрил. Настройки ВЭЖХ-системы: объем инъекции – 10.0 мкл, время анализа – 1.7 мин, скорость потока подвижной фазы во время

уравновешивания системы – 0.5 мл/мин. Градиентный профиль подвижной фазы для элюирования образцов представлен в таблице 9.

Таблица 9 – Градиентный профиль подвижной фазы в методике количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС

|                       |     |      |      |      |      |      |      |
|-----------------------|-----|------|------|------|------|------|------|
| <b>Время, мин</b>     | 0   | 0.24 | 0.25 | 1.24 | 1.25 | 1.50 | 1.51 |
| <b>Поток, мкл/мин</b> | 200 | 200  | 20   | 20   | 600  | 200  | 200  |

**Параметры тандемного масс-спектрометра.** Распыляющий газ – азот (степень чистоты 99.9%), газ в ячейке соударений – аргон (степень чистоты 99.9%), метод ионизации – электроспрей.

Тандемный масс-спектрометр состоит из двух последовательно соединенных масс-спектрометров. В первом масс-спектрометре (МС1) ионы разделяются по соотношению массы к заряду ( $m/z$ ). Далее они достигают реакционной ячейки, где после столкновения с молекулами аргона, распадаются на фрагменты. После этого второй масс-спектрометр (МС2) снова анализирует характерные фрагменты распада по соотношению массы к заряду. В методике использовались режимы работы тандемного масс-спектрометра, представленные ниже.

**Мониторинг множественных реакций (MRM).** В режиме MRM каждый МС настроен на определенное значение  $m/z$ ; при этом МС1 выбирает молекулярный ион, выводя из системы молекулярные ионы с другими значениями  $m/z$ . После фрагментации в реакционной ячейке МС2 детектирует характерные фрагменты молекулярного иона. Таким образом, режим MRM обеспечивает высокую селективность и чувствительность обоих МС.

**Сканирование потерь нейтральных частиц (NLS).** Многие бутилированные аминокислоты фрагментируются в реакционной ячейке путем выделения масляного эфира муравьиной кислоты с массой 102 единицы (рисунок 7), поэтому при определении аминокислот в режиме NLS расстояние сканирования МС1 и МС2 составляет 102 единицы массы. Так обеспечивается селективность в масс-спектре для многих кислых аминокислот. Тем не менее, в данном режиме возможна детекция не всех аминокислот. Например, цитруллин и орнитин, кроме масляного эфира муравьиной кислоты выделяют аммиак, поэтому эти аминокислоты в режиме NLS детектируются с расстоянием 119 (102

+ 17) единиц массы. Тогда как глицин в режиме NLS следует определять с расстоянием 56, а аргинин с расстоянием 161 единица массы.

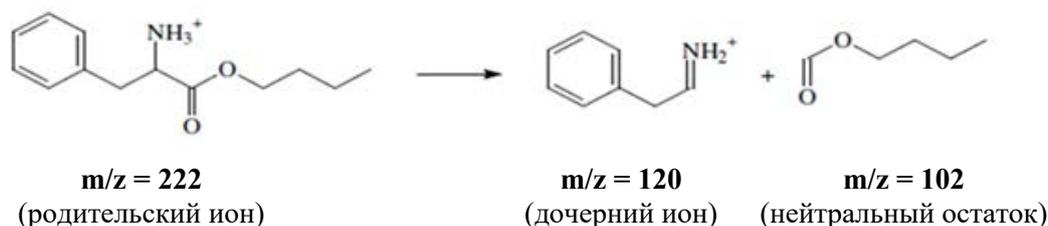


Рисунок 7 – Фрагментация иона бутилового эфира фенилаланина при отщеплении бутилового эфира муравьиной кислоты с образованием нейтрального остатка с массой 102 единицы массы.

**Сканирование родительского иона (PIS).** Бутилированные ацилкарнитины образуют в реакционной ячейке характерный фрагментарный ион с  $m/z = 85$ . Поэтому для их определения режиме работы тандемного масс-спектрометра MS2 настраивается на  $m/z = 85$ , в то время, как MS1 сканирует молекулярные ионы. Это обеспечивает селективный масс-спектр дериватизированных ацилкарнитинов и свободного карнитина (рисунок 8).

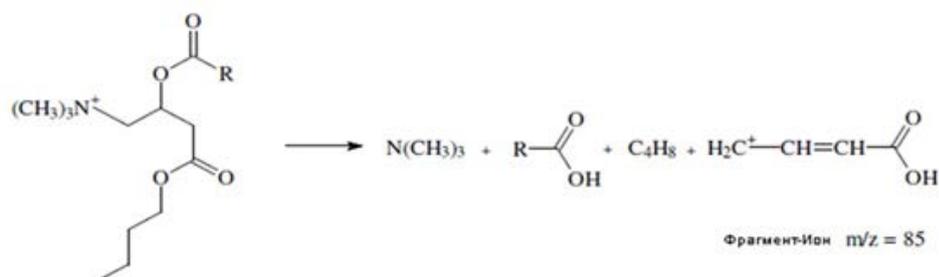


Рисунок 8 – Фрагментация ионов бутилированных ацилкарнитинов при отщеплении характеристичного иона с  $m/z = 85$  (где R – алкильный радикал).

В таблице 10 представлены параметры масс-детектора, используемые в данном исследовании после оптимизации методики.

Таблица 10 – Параметры масс-детектора для количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС

| № п/п               | АНАЛИТ   |               | ВНУТРЕННИЙ СТАНДАРТ |               | Режим работы ТМС |
|---------------------|----------|---------------|---------------------|---------------|------------------|
|                     | название | переход массы | название            | переход массы |                  |
| 1                   | 2        | 3             | 4                   | 5             | 6                |
| <b>Аминокислоты</b> |          |               |                     |               |                  |

|   |                       |           |                          |           |         |
|---|-----------------------|-----------|--------------------------|-----------|---------|
| 1 | Аланин                | 146 > 44  | Аланин-D4                | 150 > 48  | NLS 102 |
| 2 | Аспарагиновая кислота | 246 > 144 | Аспарагиновая кислота-D3 | 249 > 147 | NLS 102 |
| 3 | Глутаминовая кислота  | 260 > 158 | Глутаминовая кислота-D5  | 265 > 163 | NLS 102 |

*Продолжение таблицы 10*

| 1  | 2                  | 3         | 4                | 5         | 6       |
|--|--------------------|-----------|------------------|-----------|---------|
| 4  | Лейцин + Изолейцин | 188 > 86  | Лейцин-D3        | 191 > 89  | NLS 102 |
| 5  | Метионин           | 206 > 104 | Метионин-D3      | 209 > 107 | NLS 102 |
| 6  | Фенилаланин        | 222 > 120 | Фенилаланин-D5   | 227 > 125 | NLS 102 |
| 7  | Тирозин            | 238 > 136 | Тирозин-D4       | 242 > 140 | NLS 102 |
| 8  | Валин              | 174 > 72  | Валин-D8         | 182 > 80  | NLS 102 |
| 9  | Аргинин            | 231 > 70  | Аргинин-D7       | 238 > 77  | MRM     |
| 10   | Цитруллин          | 232 > 113 | Цитруллин-D2     | 234 > 115 | MRM     |
| 11   | Глицин             | 132 > 76  | Глицин-13C2-15N  | 135 > 79  | MRM     |
| 12   | Орнитин            | 189 > 70  | Орнитин-D6       | 195 > 76  | MRM     |
| <b><i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i></b> |                    |           |                  |           |         |
| 1  | Карнитин           | 218 > 85  | Карнитин-D9      | 227 > 85  | PIS 85  |
| 2  | C2-Карнитин        | 260 > 85  | C2-Карнитин-D3   | 263 > 85  | PIS 85  |
| 3  | C3-Карнитин        | 274 > 85  | C3-Карнитин-D3   | 277 > 85  | PIS 85  |
| 4  | C3DC-Карнитин      | 248 > 85  | C3-Карнитин-D3   | 277 > 85  | PIS 85  |
| 5  | C4-Карнитин        | 288 > 85  | C4-Карнитин-D3   | 291 > 85  | PIS 85  |
| 6  | C4DC-Карнитин      | 262 > 85  | C4-Карнитин-D3   | 291 > 85  | PIS 85  |
| 7  | C4OH- Карнитин     | 248 > 85  | C4-Карнитин-D3   | 291 > 85  | PIS 85  |
| 8  | C5-Карнитин        | 302 > 85  | C5-Карнитин-D9   | 311 > 85  | PIS 85  |
| 9  | C5DC-Карнитин      | 388 > 85  | C5DC-Карнитин-D6 | 394 > 85  | PIS 85  |
| 10   | C5:1-Карнитин      | 244 > 85  | C5-Карнитин-D9   | 311 > 85  | PIS 85  |
| 11   | C5OH-Карнитин      | 262 > 85  | C5-Карнитин-D9   | 311 > 85  | PIS 85  |
| 12   | C6-Карнитин        | 316 > 85  | C6-Карнитин-D3   | 319 > 85  | PIS 85  |
| 13   | C8-Карнитин        | 344 > 85  | C8-Карнитин-D3   | 347 > 85  | PIS 85  |
| 14   | C8:1-Карнитин      | 286 > 85  | C8-Карнитин-D3   | 347 > 85  | PIS 85  |
| 15   | C10-Карнитин       | 372 > 85  | C10-Карнитин-D3  | 375 > 85  | PIS 85  |
| 16   | C10:1-Карнитин     | 314 > 85  | C10-Карнитин-D3  | 375 > 85  | PIS 85  |
| 17   | C12-Карнитин       | 400 > 85  | C12-Карнитин-D3  | 403 > 85  | PIS 85  |
| 18   | C14-Карнитин       | 428 > 85  | C14-Карнитин-D3  | 431 > 85  | PIS 85  |
| 19   | C14:1-Карнитин     | 370 > 85  | C14-Карнитин-D3  | 431 > 85  | PIS 85  |
| 20   | C14:2-Карнитин     | 368 > 85  | C14-Карнитин-D3  | 431 > 85  | PIS 85  |
| 21   | C14OH-Карнитин     | 388 > 85  | C14-Карнитин-D3  | 431 > 85  | PIS 85  |
| 22   | C16-Карнитин       | 456 > 85  | C16-Карнитин-D3  | 459 > 85  | PIS 85  |
| 23   | C16:1-Карнитин     | 398 > 85  | C16-Карнитин-D3  | 459 > 85  | PIS 85  |
| 24   | C16:1OH-Карнитин   | 414 > 85  | C16-Карнитин-D3  | 459 > 85  | PIS 85  |
| 25   | C16OH-Карнитин     | 416 > 85  | C16-Карнитин-D3  | 459 > 85  | PIS 85  |
| 26   | C18-Карнитин       | 484 > 85  | C18-Карнитин-D3  | 487 > 85  | PIS 85  |
| 27   | C18:1-Карнитин     | 426 > 85  | C18-Карнитин-D3  | 487 > 85  | PIS 85  |
| 28   | C18:1OH-Карнитин   | 442 > 85  | C18-Карнитин-D3  | 487 > 85  | PIS 85  |
| 29   | C18:2OH-Карнитин   | 440 > 85  | C18-Карнитин-D3  | 487 > 85  | PIS 85  |
| 30   | C18OH-Карнитин     | 444 > 85  | C18-Карнитин-D3  | 487 > 85  | PIS 85  |

*Примечание.* ТМС – тандемный масс-спектрометр.

**Обработка данных** выполнялась в программном обеспечении MassHunter®  
(Agilent Technologies, США).

**Количественное определение** аналитов проводилось по методу внутреннего стандарта. Концентрация каждого аналита в образце вычислялась по формуле (1) как отношение интенсивности его аналитического сигнала в образце к интенсивности аналитического сигнала соответствующего внутреннего стандарта в этом же образце, с последующим умножением на концентрацию данного внутреннего стандарта в смеси внутренних стандартов (калибровочной смеси):

$$c_{A,mkmol/l} = \frac{A_A}{A_{IS}} \times c_{IS,mmol/l} \quad , \quad (1)$$

где  $c_{A,mkmol/l}$  – концентрация аналита в образце (мкмоль/л);

$A_A$  – интенсивность аналитического сигнала аналита в образце;

$c_{IS,mmol/l}$  – концентрация внутреннего стандарта в калибровочной смеси (мкмоль/л);

$A_{IS}$  – интенсивность аналитического сигнала внутреннего стандарта в образце.

Концентрации всех внутренних стандартов в смеси MassChrom® AminoAcids and Acylcarnitines (Chromsystems, Германия) были приведены в соответствующей сопроводительной документации.

**Валидационные характеристики методики.** В зависимости от аналита степень извлечения аминокислот и ацилкарнитинов из сухих пятен крови составила 69–97%; предел обнаружения для аминокислот варьировался от 2.0 до 15.6 мкмоль/л, для ацилкарнитинов – от 0.1 до 1.6 мкмоль/л; коэффициент вариации для всех аналитов был в диапазоне от 3.4 до 15.6%; диапазон линейности аминокислот доходил до 2000 мкмоль/л, ацилкарнитинов – до 200 мкмоль/л.

**Валидация диагностической значимости** методики количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС, используемой в настоящем исследовании, была проведена с помощью метода ионообменной хроматографии для подтверждения патологий обмена аминокислот и метода ГХ-МС для подтверждения патологий обмена органических кислот.

**Реактивы:** 5 мМ ацетатный буферный раствор (Химмед, Россия), раствор нингидрина (Химмед, Россия), ацетонитрил (LC/MS Grade) (Fisher Scientific,

США).

**Лабораторное оборудование:** микропробирка типа Эппендорф (2.0 мл) (SSI, США), центрифуга медицинская (модель CM-6MT) (ELMI, Латвия), встряхиватель медицинский вибрационного типа Vortex (модель V-3) (ELMI, Латвия), дозатор механический одноканальный Sartorius (модель Biohit Proline) (Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия) объемом 0–1000 мкл с оригинальными одноразовыми наконечниками.

**Забор биоматериала.** В вакуумную пробирку (консервант – лития гепарин) забиралась проба крови, которая сразу после отбора центрифугировалась при 3000 об./мин в течение 10 минут. После этого отбиралась плазма крови (верхний слой), которая замораживалась и хранилась до проведения анализа при температуре не выше  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**Пробоподготовка биоматериала.** В микропробирку типа Эппендорф отбиралось 500.0 мкл плазмы крови, к которой добавлялось 1000.0 мкл ацетонитрила. Полученная смесь перемешивалась в течение 2 минут, после чего центрифугировалась при 10000 об/мин в течение 10 минут. В ВЭЖХ-систему вводилось 20.0 мкл подготовленного образца (надосадочной жидкости).

**Хроматографические условия.** Анализ аминокислот выполнялся с использованием аминокислотного анализатора AAA400 (INGOS, Чехия). Данная методика предусматривает количественное определение 32 аминокислот после их разделения на ионно-обменной хроматографической колонке с постколоночной дериватизацией нингидрином с помощью спектрофотометрического детектора в видимой области спектра (длина колонки 30 см). В качестве мобильной фазы применялся 5 мМ ацетатный буферный раствор. В методике использовались следующие настройки анализатора: объем инъекции – 20 мкл, скорость потока в режиме уравнивания системы – 0.5 мл/мин, время анализа – 75 мин.

**Обработка данных** выполнялась с помощью программного обеспечения CHROMuLAN<sup>®</sup> (INGOS, Чехия).

## 2.2.2. Методика количественного определения органических кислот в моче методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией

Для подтверждения нарушений обмена органических кислот применялась методика количественного определения 28 органических кислот методом ГХ-МС [116, 232]. В настоящем исследовании для улучшения детекции аналитов в МС были изменены дериватизирующий реагент при проведении пробоподготовки биоматериала и некоторые параметры настройки газового хроматографа.

Для методики использовались **стандартные образцы** органических кислот следующих компаний (содержание основного вещества указано в скобках):

- Sigma-Aldrich (Германия): глицериновая кислота (в виде дигидрата кальциевой соли *D*-глицериновой кислоты, 99.0%); 3-метил-2-оксовалериановая кислота (в виде натриевой соли 3-метил-2-оксовалериановой кислоты, 95.0%); пировиноградная кислота (98.0%); изовалериановая кислота (99.0%); адипиновая кислота (99.0%); 3-метилглутаровая кислота (99.0%); 3-гидрокси-3-метилглутаровая кислота (95.0%); метилмалоновая кислота (99%); фенилмолочная кислота (в виде *D*-3-фенилмолочной кислоты, 98.0%); 4-гидроксифенилмолочная кислота (в виде *DL*-4-гидроксифенилмолочной кислоты, 97.0%); гомогентизиновая кислота (97.0%); сукциновая кислота (в виде динатревой соли сукциновой кислоты, 99.0%); гиппуровая кислота (98.0%); себациновая кислота (99.0%); 2-гидроксиизокапроновая кислота (99.0%); глутаровая кислота (99.0%); фенилпировиноградная кислота (98.0%); субериновая кислота (98.0%); 4-гидроксифенилпировиноградная кислота (98.0%); 4-гидроксифенилуксусная кислота (98.0%); 4-метил-2-оксовалериановая кислота (98.0%); фенацетин (использовался в качестве внутреннего стандарта, 98.0%);
- Toronto Research Chemicals (Канада): мевалоновая кислота (в виде гидрата 5-фосфата мевалоновой кислоты, 99.0%), 2-метил-3-гидроксимасляная кислота (99.0%); *N*-ацетиласпартиковая кислота (в виде *N*-ацетил-*L*-аспартиковой кислоты, 99.0%);
- Acros Organics: молочная кислота (в виде *DL*-молочной кислоты, 85.0%);

гликолевая кислота (99.0%);

- Alfa Aesar (Великобритания): 3-гидроксимасляная кислота (98.0%); этил-малоновая кислота (98.0%).

При приготовлении растворов стандартных образцов учитывалось содержание основного вещества (%) и его присутствие в виде соли и/или гидрата. Стандартные образцы индивидуальных веществ растворялись в воде. Для приготовления смеси органических кислот смешивались их стандартные растворы, после чего полученная смесь разбавлялась водой до необходимого объема.

**Реактивы:** вода для хроматографии (LC-MS Grade) (Sigma-Aldrich, Германия), гидроксид натрия (ч.д.а., Химмед, Россия), гидроксилламин (ч.д.а., Sigma-Aldrich, Германия), хлорид натрия (ч.д.а., Химмед, Россия), этилацетат (HPLC-grade, Sigma-Aldrich, Германия), соляная кислота (х.ч., Химмед, Россия), *N*-метил-*N*-триметилсилил-трифторацетамид (MSTFA) (Macherey-Nagel, Германия), пиридин (ч.д.а., Sigma-Aldrich, Германия).

**Лабораторные посуда и материалы:** пробирки с винтовой горловиной (материал – боросиликатное стекло Pyrex<sup>®</sup> тип I, 15.5 мл) с завинчивающимися крышками (материал – ПП) (Corning, США), виалы EPA/VOA с винтовой горловиной (материал – темное стекло, 20 мл) с завинчивающимися крышками с прокалываемыми септами (материал крышки – ПП; материал септы – силикон/ПТФЭ) (ALWSCI, США).

**Лабораторное оборудование:** центрифуга медицинская (модель CM-6MT) (ELMI, Латвия), встряхиватель медицинский вибрационного типа Vortex (модель V-3) (ELMI, Латвия), термостат твердотельный типа TDB (модель QBD4) (Grant Instruments, Великобритания), шейкер медицинский S-3.02 (ELMI, Латвия), испарительная система (модель EVA EC-S) (VLM, Германия), дозаторы механические одноканальные Sartorius (модель Biohit Proline) (Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия) следующих объемов: 0–100.0 мкл, 0–200.0 мкл, 0–1000.0 мкл, 0–5000.0 мкл с оригинальными одноразовыми наконечниками.

Автоматический биохимический анализатор Metrolab 2300 (UV-VIS Metrolab S.A., Аргентина) (для определения креатинина в моче).

**Забор биоматериала.** Отбиралось 100 мл разовой порции мочи в стерильный пластиковый контейнер с крышкой. До проведения анализа проба хранилась при температуре не выше  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**Пробоподготовка биоматериала.** В пробирку отбиралось 1000.0 мкл образца мочи, к которой добавлялось 100.0 мкл раствора внутреннего стандарта (раствор фенаcetина, 1 ммоль/100 мл воды), 10.0 мкл раствора гидроксида натрия (5N) и 200.0 мкл раствора гидроксиламина (15г растворено в 200 мл воды). После этого пробирка плотно закрывалась крышкой, перемешивалась и инкубировалась в термостате при  $60^{\circ}\text{C}$ , после чего охлаждалась до комнатной температуры. Для экстракции в пробирку добавлялись 1000.0 мкл насыщенного раствора хлорида натрия, 100.0 мкл соляной кислоты (5N) и 4000.0 мл этилацетата, после чего смесь встряхивалась на шейкере при 350 об/мин в течение 10 минут. Затем пробирка центрифугировалась при 3000 об/мин в течение 5 минут, после этого отбиралась верхняя фаза. Процедура экстракции повторялась 2 раза, после чего нижняя (водная) фаза переносилась в вialу и упаривалась в токе воздуха досуха. Далее сухой остаток перерастворялся в 600.0 мкл этилацетата, после чего образец снова упаривался в токе воздуха досуха. Затем к сухому остатку добавлялось 50.0 мкл пиридина и 50.0 мкл MSTFA, после этого смесь инкубировалась при комнатной температуре в течение 10 минут. Объем инъекции составлял 1.0 мкл.

**Хроматографические условия.** Анализ осуществлялся на газовом хроматографе с масс-спектрометром SHIMADZU QP2010 (Shimadzu, Япония) и капиллярной колонке HP-5MS (30м×0.32мм×2.5мкм) (Agilent Technologies, США). Параметры системы для количественного определения органических кислот методом ГХ-МС представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Параметры системы для количественного определения органических кислот в моче методом ГХ-МС с капиллярной колонкой HP-5MS (30м×0.32мм×2.5мкм)

| Параметры системы                                  | Показатель         |
|--|--------------------|
| Режим ввода пробы                                  | Без деления потока |
| Скорость потока газовой фазы (гелия)               | 1.0 мл/мин         |
| Объемная скорость потока гелия в ячейке соударений | 0.5 мл/мин         |

## Продолжение таблицы 11

|  |            |
|--|------------|
| Объемная скорость потока азота в ячейке соударений | 2.0 мл/мин |
| Температура колонки на входе в систему             | 80°C       |
| Температура МС                                     | 280°C      |
| Режим детекции МС                                  | Scan       |
| Время анализа                                      | 80 мин     |

Хроматографическое разделение аналитов достигалось при использовании следующей температурной программы колонки: на начальном этапе колонка нагревалась до 80°C в течение 5 мин, после этого со скоростью 4°C/мин она нагревалась до 300°C, установленный температурный режим поддерживался в течение 20 минут. Параметры масс-спектрометра для количественного определения органических кислот приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Параметры масс-спектрометра для детекции органических кислот в моче методом ГХ-МС с капиллярной колонкой HP-5MS (30м×0.32мм×2.5мкм)

| №  | Название аналита                       | Отношение<br>m/z | Время<br>удерживания, мин |
|----|--|------------------|---------------------------|
| 1  | Молочная кислота                       | 117.0            | 5.82                      |
| 2  | Гликолиевая кислота                    | 108.0            | 6.23                      |
| 3  | 3-Гидроксимасляная кислота             | 104.0            | 7.82                      |
| 4  | Глицериновая кислота                   | 116.0            | 8.85                      |
| 5  | 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 143.0            | 9.43                      |
| 6  | Пировиноградная кислота                | 147.0            | 11.35                     |
| 7  | Изовалериановая кислота                | 189.0            | 11.98                     |
| 8  | Адипиновая кислота                     | 166.0            | 12.63                     |
| 9  | 3-Метилглутаровая кислота              | 146.0            | 13.16                     |
| 10 | Этилмалоновая кислота                  | 160.0            | 15.53                     |
| 11 | Мевалоновая кислота                    | 214.0            | 17.17                     |
| 12 | 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 148.0            | 18.96                     |
| 13 | 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 126.0            | 19.74                     |
| 14 | Метилмалоновая кислота                 | 259.0            | 19.77                     |
| 15 | Фенилмолочная кислота                  | 218.0            | 21.74                     |
| 16 | Гидроксифенилмолочная кислота          | 242.0            | 25.85                     |
| 17 | N-ацетиласпартиковая кислота           | 274.0            | 28.56                     |
| 18 | Гомогентизиновая кислота               | 196.0            | 35.25                     |
| 19 | Сукциновая кислота                     | 300.0            | 37.51                     |
| 20 | Гиппуровая кислота                     | 189.0            | 38.52                     |
| 21 | Себациновая кислота                    | 317.0            | 38.53                     |
| 22 | 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 152.0            | 42.31                     |
| 23 | Глутаровая кислота                     | 216.0            | 44.88                     |
| 24 | Фенилпировиноградная кислота           | 173.0            | 46.32                     |
| 25 | Субериновая кислота                    | 317.0            | 49.15                     |
| 26 | 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 182.0            | 58.60                     |
| 27 | 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 247.0            | 60.01                     |
| 28 | 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 217.0            | 70.27                     |

**Обработка данных** проводилась с помощью программного обеспечения LabSolutions® (Shimadzu, Япония).

**Количественное определение** аналитов проводилось по методу внутреннего стандарта по соответствующим калибровочным кривым, построенных с помощью метода наименьших квадратов. Концентрация аналита в образце вычислялась по формуле (2) как отношение интенсивности его аналитического сигнала в образце к интенсивности аналитического сигнала внутреннего стандарта в этом же образце, с последующим умножением на концентрацию внутреннего стандарта:

$$c_{A,mkmol/l} = \frac{A_A}{A_{IS}} \times c_{IS,mmol/l} \quad , \quad (2)$$

где  $c_{A,mkmol/l}$  – концентрация аналита в образце мочи (мкмоль/л);  
 $A_A$  – интенсивность аналитического сигнала аналита в образце мочи;  
 $c_{IS,mmol/l}$  – концентрация внутреннего стандарта (фенацетина) (мкмоль/л);  
 $A_{IS}$  – интенсивность аналитического сигнала внутреннего стандарта (фенацетина) в образце мочи.

Конечная концентрация каждого метаболита в образце мочи пересчитывалась на концентрацию креатинина по формуле (3):

$$c_{mmol/mol creat} = \frac{c_{A,mkmol/l}}{c_{creat}} \quad , \quad (3)$$

где  $c_{mmol/mol creat}$  – концентрация аналита в образце мочи (ммоль/моль креатинина);  
 $c_{A,mkmol/l}$  – концентрация аналита в образце мочи (мкмоль/л);  
 $c_{creat}$  – концентрация креатинина в образце мочи (моль/л).

**Валидационные характеристики методики** (до пересчета на концентрацию креатинина). В зависимости от аналита степень извлечения органических кислот из мочи составила 72–95%; предел обнаружения всех аналитов составил 0.005 мкмоль/л, коэффициент вариации был в диапазоне от 5.4 до 12.3%; диапазон линейности для всех аналитов находился в пределах концентраций (0.01–500) мкмоль/л.

### **2.2.3. Методика количественного определения длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией**

Данная методика предусматривает количественное определение 5 длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови [265]. В настоящем исследовании для улучшения разделения аналитов в МС были изменены органические растворители в процедуре пробоподготовки биоматериала и некоторые параметры настройки газового хроматографа.

**Стандартные образцы** (содержание основного вещества указано в скобках) органических кислот были приобретены в следующих компаниях:

- Sigma-Aldrich (Германия): пристановая кислота (98.0%), фитановая кислота (96.0%), бегеновая кислота (99.0%), лигноцериновая кислота (99.0%);
- Acros Organics: гексакозановая кислота (98.0%).

При приготовлении растворов стандартных образцов учитывалось содержание основного вещества (%).

**Реактивы:** изопропанол (ч.д.а., Химмед, Россия), дихлорметан (ч.д.а., Химмед, Россия), метанол (LC/MS Grade) (Fisher Scientific, США), соляная кислота (х.ч., Химмед, Россия), гексан (ч.д.а., Химмед, Россия), пиридин (ч.д.а., Sigma-Aldrich, Германия), *N*-метил-бис-трифторацетамид (MBTFA) (Macherey-Nagel, Германия).

**Лабораторные посуда и материалы:** пробирки с винтовой горловиной (материал – боросиликатное стекло Pyrex<sup>®</sup> тип I, 15.5 мл) с завинчивающимися крышками (материал – ПП) (Corning, США); виалы EPA/VOA с винтовой горловиной (материал – темное стекло, 20 мл) с завинчивающимися крышками с прокалываемыми септами (материал крышки – ПП; материал септы – силикон/ПТФЭ) (ALWSCI, США).

**Лабораторное оборудование:** центрифуга медицинская (модель CM-6MT) (ELMI, Латвия), шейкер медицинский S-3.02 (ELMI, Латвия), термостат твердотельный типа TDB (модель QBD4) (Grant Instruments, Великобритания), испарительная система (модель EVA EC-S) (VLM, Германия), дозаторы механи-

ческие одноканальные Sartorius (Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия) следующих объемов: 0–200.0 мкл, 0–1000.0 мкл, 0–5000.0 мкл с оригинальными одноразовыми наконечниками.

**Забор биоматериала.** В вакуумную пробирку (консерванты –  $K_2$ -ЭДТА,  $K_3$ -ЭДТА) отбиралась проба крови, которая сразу после отбора центрифугировалась при 3000 об/мин в течение 10 минут. После этого отбиралась плазма крови (верхний слой), замораживалась и хранилась при температуре не выше  $-20^{\circ}C$  до проведения анализа.

**Пробоподготовка биоматериала.** В пробирку к 200.0 мкл плазмы добавлялся изопропанол и дихлорметан в объемном соотношении 1:30:14.4, полученная смесь перемешивалась на шейкере при 350 об/мин в течение 10 минут. Затем фаза органических растворителей переносилась в чистую пробирку и упаривалась в токе гелия досуха. Далее в эту пробирку добавлялось 1.2 мл метанола и 200.0 мкл соляной кислоты (5N). После чего пробирка инкубировалась при температуре  $80^{\circ}C$  в течение 40 минут, затем охлаждалась до комнатной температуры. Для экстракции в пробирку добавлялось 5000.0 мкл гексана, после чего смесь встряхивалась на шейкере при 350 об/мин в течение 10 минут. Затем пробирка центрифугировалась при 3000 об/мин в течение 5 минут, после чего отбиралась верхняя фаза в виалу. После этого экстракт упаривался в токе гелия досуха. Затем к сухому остатку добавлялось 25 мкл пиридина и 50.0 мкл MBTFA, после чего виала закрывалась крышкой и инкубировалась при температуре  $80^{\circ}C$  в течение 30 минут. На последнем этапе к пробе добавлялось 150.0 мкл гексана, после чего она перемешивалась на шейкере. Объем инъекции составлял 2.0 мкл.

**Хроматографические условия.** Анализ осуществлялся на газовом хроматографе с масс-спектрометром Agilent 7820 (Agilent Technologies, Германия) с разделением на капиллярной колонке HP-5MS (30м×0.32мм×2.5мкм) (Agilent Technologies, США). Параметры газового хроматографа для определения жирных кислот представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Параметры системы для количественного определения длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови методом ГХ-МС с капиллярной колонкой HP-5MS (30м×0.32мм×2.5мкм)

| Параметры настройки                                | Показатель              |
|--|-------------------------|
| Скорость потока газовой фазы (гелия)               | 0.9 мл/мин              |
| Объемная скорость потока гелия в ячейке соударений | 0.5 мл/мин              |
| Объемная скорость потока азота в ячейке соударений | 2.0 мл/мин              |
| Температура колонки на входе в систему             | 250°C                   |
| Температура МС                                     | 230°C                   |
| Режим ввода пробы                                  | Без деления потока      |
| Режим детекции МС                                  | ТІС (полный ионный ток) |
| Время анализа                                      | 25 мин                  |

Хроматографическое разделение анализов достигалось при использовании следующей температурной программы колонки: на начальном этапе колонка нагревалась до 80°C в течение 1 мин, после этого со скоростью 20°C/мин она нагревалась до 280°C, установленный температурный режим поддерживался в течение 14 минут. В таблице 14 приведены времена удерживания определяемых длинноцепочечных жирных кислот.

Таблица 14 – Времена удерживания длинноцепочечных жирных кислот при количественном определении методом ГХ-МС с капиллярной колонкой HP-5MS (30м×0.32мм×0.25мкм)

| № | Название аналита               | Время удерживания, мин |
|---|--------------------------------|------------------------|
| 1 | Пристановая кислота            | 11.20                  |
| 2 | Фитановая кислота              | 11.89                  |
| 3 | Бегеновая кислота (C22:0)      | 11.34                  |
| 4 | Лигноцериновая кислота (C24:0) | 12.30                  |
| 5 | Гексакозановая кислота (C26:0) | 13.39                  |

**Обработка данных** проводилась с помощью программного обеспечения ChemStation® (Agilent Technologies, США).

**Количественное определение** анализов проводилось по методу внешнего стандарта по соответствующим калибровочным кривым, построенных с помощью метода наименьших квадратов. Концентрация аналита в образце вычислялась по формуле (4) как отношение интенсивности аналитического сигнала аналита в образце к угловому коэффициенту соответствующей калибровочной кривой:

$$c_{A, \text{mkmol/l}} = \frac{A_A}{b}, \quad (4)$$

где  $c_{A, \text{mkmol/l}}$  – концентрация аналита в образце (мкмоль/л);

- $A_d$  – интенсивность аналитического сигнала аналита в образце (абсолютные единицы);
- $b$  – угловой коэффициент соответствующей калибровочной кривой (интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах  $\times$  л/мкмоль);

Свободный член в уравнении  $a$  в калибровочных кривых всех аналитов был статически не значим, поэтому он не учитывался в формуле (4) при их количественном определении в моче.

**Валидационные характеристики методики.** Степень извлечения жирных кислот из плазмы крови составила 65–92% в зависимости от аналита; предел обнаружения каждого аналита составил 0.005 мкмоль/л, коэффициент вариации был в диапазоне от 2.4 до 10.1%; диапазон линейности для всех соединений находился в пределах концентраций (0.01–20) мкмоль/л.

#### ***2.2.4. Методика количественного определения пуринов и пиримидинов в моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией***

Для определения пуринов и пиримидинов использовалась методика их количественного определения методом ВЭЖХ-МС/МС [118]. В настоящем исследовании для увеличения степени извлечения определяемых веществ из образцов мочи были внесены изменения в процедуру экстракции.

**Стандартные образцы** (содержание основного вещества не менее 98.0%) пуринов и пиримидинов были приобретены в следующих компаниях:

- Calbiochem (США): аденин, аденозин, гуанин, гуанозин, ксантин, инозин, тимидин, тимин, уридин, цитидин;
- P-L Biochemicals (США): дезоксиаденозин;
- Sigma-Aldrich (Германия): 5-гидрометилурацил, мочева кислота (99.0%), оротовая кислота (98.0%), уреидопропионовая кислота (98.0%), дезокси-гуанозин (в виде моногидрата 2'-дезоксигуанозина, 99.0%), дезоксиуридин (98.5%);
- Fluka (Германия): дигидроурацил (99.0%), урацил (99.0%);

- Cambridge Isotope Laboratories (США): рибозо-1-<sup>13</sup>С-уридин, 1,3-<sup>15</sup>Н<sub>2</sub>-урацил, <sup>13</sup>С<sub>4</sub>,<sup>15</sup>Н<sub>2</sub>-дигидроурацил, 1,3-<sup>15</sup>Н<sub>2</sub>-оротовая кислота, рибозо-1-<sup>13</sup>С-аденин, 8-<sup>13</sup>С-аденин, рибозо-1-<sup>13</sup>С-аденозин, α,α,α,β-<sup>2</sup>Н<sub>4</sub>-тимин, СН<sub>3</sub>-<sup>13</sup>С-тимидин.

При приготовлении растворов стандартных образцов учитывалось содержание основного вещества (%) и его присутствие в виде соли и/или гидрата. Стандартные образцы индивидуальных веществ растворялись в воде. Для приготовления смесей пуринов и пиримидинов смешивались их стандартные растворы, после чего полученная смесь разбавлялась 5М раствором ацетата аммония в 0.1% (об.) муравьиной кислоте до необходимого объема.

**Реактивы:** ацетат аммония (содержание основного вещества не менее 99.0%, Sigma-Aldrich, Германия), вода для хроматографии (Merck, Германия), муравьиная кислота (содержание основного вещества не менее 99.0%, Merck, Германия), метанол (LC/MS Grade) (Fisher Scientific, США).

**Лабораторные посуда и материалы:** мембранный фильтр для фильтрации образцов (материал – ПВДФ, размер дисков 47 мл, размер пор 0.45 мкм) (Millipore, США), стрипы фильтровальной бумаги (тип 2992, 12мм×40мм, Whatman, Германия), микропробирка типа Эппендорф (2.0 мл) (SSI, США), 96-луночный микропланшет с покровным матом (Eppendorf, Германия), виалы ЕРА/VOA с винтовой горловиной (материал – темное стекло, 20 мл) с завинчивающимися крышками с прокалываемыми септами (материал крышки – ПП; материал септы – силикон/ПТФЭ) (ALWSCI, США), хроматографические виалы для автосэмплера с винтовой горловиной (материал – прозрачное стекло, 2.0 мл) с завинчивающимися крышками с прокалываемыми септами (крышка: материал – ПП; септа: материал – силикон/ПТФЭ) (Agilent Technologies, США).

**Лабораторное оборудование:** встряхиватель медицинский вибрационного типа Vortex (модель V-3) (ELMI, Латвия), испарительная система (модель EVA EC-S) (VLM, Германия), ультразвуковая ванная (модель ПСБ-28120-05) (ПСБ-Галс, Россия), центрифуга (модель MiniSpin plus) (Eppendorf, Германия), дозаторы

механические одноканальные Sartorius (модель Biohit Proline) (Sartorius Biohit Liquid Handling Oy, Финляндия) следующих объемов: 0–100.0 мкл, 0–1000.0 мкл с оригинальными одноразовыми наконечниками.

Автоматический биохимический анализатор Metrolab 2300 (UV-VIS Metrolab S.A., Аргентина) (для определения креатинина в моче).

**Забор биоматериала.** Для анализа использовался биоматериал: моча или стрип (полоска) фильтровальной бумаги, пропитанный мочой. В пластиковый стерильный контейнер с крышкой отбиралось 100 мл мочи (разовая порция). Образец мочи хранился при температуре от +2 до +4°C, если анализировался в течение 7 дней, для более длительного хранения его необходимо было хранить при температуре не выше -20°C. Перед анализом образец мочи подвергался центрифугированию при 10000g в течение 10 минут.

Полоска фильтровальной бумаги полностью погружалась в образец мочи с последующим удалением ее избытков путем вытирания полоски о стенки контейнера. Стрип, пропитанный биоматериалом, сушился до полного высыхания и хранился при комнатной температуре.

### **Пробоподготовка биоматериала**

***Пробоподготовка образца мочи.*** В микропробирку типа Эппендорф к 500.0 мкл мочи добавлялось 1.5 мл раствора ацетата аммония 5мМ, затем полученная смесь перемешивалась на вортексе в течение 2 минут и переносилась на микрофильтр (фильтрат собирался в чистую микропробирку типа Эппендорф). Затем 200.0 мкл отфильтрованной пробы переносилось в микропланшет. В ВЭЖХ-систему инжесктировалось 10.0 мкл подготовленного образца.

***Пробоподготовка стрипа фильтровальной бумаги, пропитанного мочой.*** На пропитанный мочой стрип наносилось 20.0 мкл смеси внутренних стандартов. После полного высыхания при комнатной температуре стрип переносился в микропробирку типа Эппендорф, в которую добавлялось 1.5 мл метанола (75% (об./об.)). Далее микропробирка со стрипом подвергалась воздействию ультразвуком в течение 10 мин. Далее полученный экстракт переносился в виалу,

после чего упаривался в токе азота при 40°C досуха. Затем сухой остаток перерастворялся в 200.0 мкл 50 мМ уксусной кислоты (pH 4.0) и подвергался воздействию ультразвуком в течение 5 мин, после чего переносился в чистую микропробирку типа Эппендорф. После чего образец центрифугировался при 1600g в течение 5 мин. Заключительным этапом был перенос супернатанта в хроматографическую виалу, и перед вводом в ВЭЖХ-систему образец центрифугировали при 10000g в течение 2 мин. Объем инъекции составлял 20.0 мкл.

**Хроматографические условия.** Анализ проводился с использованием ВЭЖХ-системы, которая включала в себя: двойной градиентный насос серии Agilent 1200, вакуумный дегазатор, термостат хроматографической колонки и автосэмплер CTC HTS PAL, и все блоки соединялись с масс-спектрометром Agilent 6410 QQQ Triple quad (Agilent Technologies, США). Хроматографическое разделение проводилось с помощью хроматографической колонки Zorbax Eclipse XDB8-C18 (150мм×4.0мм×5мкм, Agilent Technologies, США).

Подвижная фаза А представляла собой 5мМ раствор ацетата аммония в 0.1% (об.) муравьиной кислоте, подвижная фаза В получалась при смешении подвижной фазы А с метанолом в объемном соотношении 9:1. В методике использовались следующие настройки ВЭЖХ-системы: объем инъекции – 10.0 мкл, время анализа – 25 минут. Градиентный профиль подвижной фазы для элюирования образцов представлен в таблице 15.

Таблица 15 – Градиентный профиль подвижной фазы в методике количественного определения пуринов и пиримидинов в образцах мочи методом ВЭЖХ-МС/МС

| Время, мин | Элюент В, % | Скорость потока, мл/мин |
|------------|-------------|-------------------------|
| 0          | 0           | 0.5                     |
| 5          | 0           | 0.5                     |
| 15         | 100         | 0.5                     |
| 17         | 100         | 0.5                     |
| 18         | 0           | 0.6                     |
| 25         | 0           | 0.6                     |

**Параметры тандемного масс-спектрометра.** Распыляющий газ – азот (степень чистоты 99.9%); газ в ячейке соударений – аргон (степень чистоты

99.9%, давление в ячейке 0.3 Па); метод ионизации – электроспрей (применялась положительная ионизация, кроме оротовой кислоты). Температура капилляра была 300°C, а приложенное напряжение составляло 4 кВ. Режим работы детектора – MRM. Хроматографические времена удерживания и параметры настройки масс-детектора при количественном определении пуринов и пиримидинов приведены в таблицах 16 и 17 соответственно.

Таблица 16 – Времена удерживания пуринов и пиримидинов при градиентом элюировании с хроматографической колонки Zorbax Eclipse XDB8-C18 (150мм×4.0мм×5мкм)

| №  | Название аналита          | Время удерживания, мин | Внутренний стандарт  |
|----|---------------------------|------------------------|--|
| 1  | 2                         | 3                      | 4  |
| 1  | Гуанин                    | 2.70                   | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-уридин   |
| 2  | Урацил                    | 2.87                   | 1,3- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> -урацил                                  |
| 3  | Дигидроурацил             | 3.35                   | <sup>13</sup> C <sub>4</sub> , <sup>15</sup> N <sub>2</sub> -дигидроурацил |
| 4  | Оротовая кислота          | 3.41                   | 1,3- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> -оротовая кислота                        |
| 5  | Мочевая кислота           | 3.60                   | 1,3- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> -оротовая кислота                        |
| 6  | Ксантин                   | 3.66                   | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-аденин   |
| 7  | Уреидопропионовая кислота | 3.89                   | 8- <sup>13</sup> C-аденин  |
| 8  | 5-Гидроксиметилурацил     | 4.89                   | 1,3- <sup>15</sup> N <sub>2</sub> -урацил                                  |
| 9  | Аденин                    | 6.01                   | 8- <sup>13</sup> C-аденин  |
| 10 | Цитидин                   | 6.51                   | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-уридин   |
| 11 | Дезоксиаденозин           | 9.78                   | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-аденозин   |
| 12 | Уридин                    | 10.24                  | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-уридин   |
| 13 | Тимин                     | 10.7                   | α,α,α,6- <sup>2</sup> H <sub>4</sub> -тимин                                |
| 14 | Дезоксиуридин             | 13.49                  | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-уридин   |
| 15 | Инозин                    | 16.12                  | 8- <sup>13</sup> C-аденин  |
| 16 | Гуанозин                  | 16.76                  | 8- <sup>13</sup> C-аденин  |
| 17 | Дезоксигуанозин           | 18.10                  | 8- <sup>13</sup> C-аденин  |
| 18 | Тимидин                   | 19.01                  | CH <sub>3</sub> - <sup>13</sup> C-тимидин                                  |
| 19 | Аденозин                  | 21.67                  | Рибозо-1- <sup>13</sup> C-аденозин   |

Таблица 17 – Параметры масс-детектора при количественном определении пуринов и пиримидинов в образце мочи методом ГХ-МС в режиме положительного электроспрея (ESI) (для оротовой кислоты в режиме негативного электроспрея ESI).

| №                             | Название аналита          | Родительский ион (m/z) | Дочерний ион (m/z) | Энергия соударений, эВ |
|-------------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------|------------------------|
| 1                             | Гуанин                    | 152.0                  | 135.0              | 20                     |
| 2                             | Урацил                    | 113.1                  | 70.0               | 18                     |
| 3                             | Дигидроурацил             | 115.1                  | 73.0               | 20                     |
| 4                             | Оротовая кислота          | 157.1                  | 111.0              | 10                     |
| 5                             | Мочевая кислота           | 169.1                  | 96.1               | 10                     |
| 6                             | Ксантин                   | 153.1                  | 110.0              | 20                     |
| 7                             | Уреидопропионовая кислота | 133.1                  | 90.1               | 15                     |
| <i>Продолжение таблицы 17</i> |                           |                        |                    |                        |
| 8                             | 5-Гидроксиметилурацил     | 143.1                  | 82.1               | 15                     |

|    |                 |       |       |    |
|----|-----------------|-------|-------|----|
| 9  | Аденин          | 136.1 | 119.0 | 20 |
| 10 | Цитидин         | 244.1 | 112.0 | 15 |
| 11 | Дезоксиаденозин | 252.1 | 136.1 | 15 |
| 12 | Уридин          | 245.1 | 113.0 | 10 |
| 13 | Тимин           | 127.1 | 110.0 | 15 |
| 14 | Дезоксиуридин   | 229.1 | 113.0 | 10 |
| 15 | Инозин          | 269.1 | 137.1 | 20 |
| 16 | Гуанозин        | 284.2 | 152.2 | 20 |
| 17 | Дезоксигуанозин | 268.2 | 152.1 | 10 |
| 18 | Тимидин         | 243.2 | 127.1 | 10 |
| 19 | Аденозин        | 268.2 | 136.1 | 15 |

**Обработка данных** выполнялась в программном обеспечении MassHunter® (Agilent Technologies, США).

**Количественное определение** аналитов проводилось по методу внутреннего стандарта по соответствующим калибровочным кривым, построенных с помощью метода наименьших квадратов. Концентрация аналита в образце вычислялась по формуле (5) как отношение интенсивности его аналитического сигнала в образце к интенсивности аналитического сигнала внутреннего стандарта в этом же образце, с последующим умножением на концентрацию внутреннего стандарта:

$$C_{A,mkmol/l} = \frac{A_A}{A_{IS}} \times C_{IS,mmol/l} \quad , \quad (5)$$

где  $C_{A,mkmol/l}$  – концентрация аналита в образце мочи (мкмоль/л);  
 $A_A$  – интенсивность аналитического сигнала аналита в образце мочи;  
 $C_{IS,mmol/l}$  – концентрация внутреннего стандарта (фенацетина) (ммоль/л);  
 $A_{IS}$  – интенсивность аналитического сигнала внутреннего стандарта (фенацетина) в образце мочи.

Конечная концентрация каждого аналита в образце мочи пересчитывалась на концентрацию креатинина в этом образце по формуле (6):

$$C_{mmol/mol creat} = \frac{C_{A,mkmol/l}}{C_{creat}} \quad , \quad (6)$$

где  $C_{mmol/mol creat}$  – концентрация аналита в образце мочи (ммоль/моль креатинина);  
 $C_{A,mkmol/l}$  – концентрация аналита в образце мочи (мкмоль/л);  
 $C_{creat}$  – концентрация креатинина в образце мочи (моль/л).

**Валидационные характеристики методики** (до пересчета на концентрацию креатинина). В зависимости от аналита степень извлечения пуринов и пиримидинов из образца мочи составила 74–98%; предел обнаружения составил 20 нг/мл каждого анализируемого вещества; коэффициент вариации был в диапазоне от 2.2 до 9.7%; для всех соединений диапазон линейности находился в пределах концентраций 50 нг/мл – 1 мкг/мл, а для мочевой кислоты диапазон концентраций составлял 0.5–10 мкг/мл.

### 2.3. Методы статистического анализа

Согласно ГОСТу 53022.3.2008 «Технологии лабораторные клинические. Требования к качеству клинических лабораторных исследований. Часть 3. Правила оценки клинической информативности лабораторных тестов» референсный интервал – ограниченный референтными пределами и статистически охарактеризованный диапазон значений результатов лабораторных исследований определенного аналита, полученных при обследовании одного индивидуума или группы лиц, отобранных по специальным критериям, часто – интервал, который определяет 95%-ный предел референтных значений, полученных в референтной популяции. За границы референсного интервала с вероятностью 95% принимают 2.5 и 97.5 перцентили.

Перцентиль – накопленный (суммированный) процент встречаемости определенного результата, который складывается из процента встречаемости выбранного результата и всех предшествующих ему результатов, то есть стоящих ниже данного по своей величине. Таким образом, перцентиль является одним из показателей частоты встречаемости результата среди всех результатов в выборке.

Значение перцентиля рассчитывается по формуле (7):

$$P_j = x_{nP_j} + i_{P_j} \times \frac{1}{100} \times \frac{\sum f_i - S_{P_{j-1}}}{f_{P_j}}, \quad (7)$$

где  $P_j$  – значение  $j$ -го перцентиля;

$x_{nP_j}$  – нижняя граница перцентильного интервала;

$i_{P_j}$  – ширина перцентильного интервала;

$\sum f_i$  – сумма всех частот;

$S_{P_{j-1}}$  – накопленная частота интервала, предшествующего перцентильному;

$f_{P_j}$  – частота перцентильного интервала.

Для оценки различий между возрастными группами использовался непараметрический метод сравнения множества независимых групп – *метод Краскела-Уоллиса*, который является непараметрической альтернативой одномерному (межгрупповому) дисперсионному анализу. Чаще всего он

используется для сравнения трех или более выборок, так как он проверяет нулевые гипотезы, согласно которым различные выборки были взяты из одного и того же распределения, или из распределений с одинаковыми медианами. Сравнение средних значений проводилось по *критерию Манна-Уитни*.

Для доказательства диагностической значимости использовался *метод построения ROC-кривых* [261]. Также использовался иерархический кластерный анализ и тепловые карты на основе корреляции по Спирмену.

Корреляционный анализ проводился с помощью языка программирования *R*. Также проводилось сравнение значений медиан с интерквартильными диапазонами. Расчеты проводились с помощью статистической программы *Morpheus* и пакета статистических и прикладных программ для персонального компьютера *SPSS Statistics 23<sup>®</sup>* (IBM Corporation, США), *Statistica 6.0<sup>®</sup>* (StatSoftInc., США), *Excel'2007<sup>®</sup>* (MicroSoft Corp., США).

### 3. РЕЗУЛЬТАТЫ

#### 3.1. Результаты анализа биохимических маркеров наследственных болезней обмена аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией

##### 3.1.1. *Определение референсных интервалов аминокислот и ацилкарнитинов в крови у детей разных возрастных групп*

В ходе ретроспективного анализа результатов образцов сухих пятен крови 443 детей из контрольной группы были определены РИ для 12 аминокислот и 30 ацилкарнитинов, детектируемых методом ВЭЖХ-МС/МС (таблица 18). Границы РИ были определены как пределы, соответствующие 2.5–97.5% разбросу каждого показателя в выборке результатов обследованных детей, которые были распределены по четырем возрастным группам: первая неделя жизни, от 8 дней до 1 месяца, 1–23 месяца, 2–17 лет. В связи с большей диагностической значимостью верхней границы РИ тренд изменения концентрации каждого показателя в зависимости от возрастной группы обследованных оценивался именно по ее величине. При анализе полученных данных обращает на себя внимание тот факт, что для некоторых аминокислот различно их содержание в крови в зависимости от возраста обследованных. Например, для аланина (Ala) характерно снижение концентрации к концу первого месяца жизни, но при этом нижняя граница его РИ возрастает от 0 до 83 мкмоль/л. Содержание аргинина (Arg) в крови к концу первого месяца значительно увеличивается (на 100 мкмоль/л) и далее с возрастом практически не изменяется. И наоборот, концентрация аспарагиновой кислоты (Asp), к концу первого месяца жизни немного снижается, а затем, в течение взросления организма изменяется незначительно. Концентрация суммарного показателя лейцина и изолейцина (Xle), валина (Val) и цитруллина (Cit) с возрастом постепенно возрастает. В количественном содержании глутаминовой кислоты (Glu), тирозина (Tyr) и глицина (Gly) наблюдается другая тенденция: их концентрация максимальна в первую неделю жизни, затем она снижается, и в более взрослом возрасте, может быть меньше начальной в 2 раза.

Таблица 18 – Референсные интервалы аминокислот и ацилкарнитинов в крови обследованных разных возрастных групп (значения концентраций аналитов представлены в мкмоль/л; в скобках указаны медианы)

| Название аналита                          | Возрастные группы<br>(количество обследованных) |                                    |                         |                   | Уровень<br>значимости*<br>(p) |
|---|---|------------------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------------|
|   | менее<br>8 дней<br>(35)                         | от 8 дней –<br>до 1 месяца<br>(43) | 1–23<br>месяца<br>(120) | 2–17 лет<br>(245) |                               |
| <i>1</i>                                  | <i>2</i>  | <i>3</i>                           | <i>4</i>                | <i>5</i>          | <i>6</i>                      |
| <b>Аминокислоты</b>                       |   |                                    |                         |                   |                               |
| Аланин<br>(Ala)                           | 0–743<br>(462)                                  | 83–710<br>(525)                    | 119–523<br>(359)        | 157–543<br>(362)  | 0.0022                        |
| Аспарагиновая кислота<br>(Asp)            | 0–270<br>(113)                                  | 2–220<br>(110)                     | 2–214<br>(108)          | 1–218<br>(90)     | 0.0027                        |
| Глутаминовая кислота<br>(Glu)             | 150–710<br>(512)                                | 105–694<br>(496)                   | 107–459<br>(294)        | 100–535<br>(308)  | < 0.0001                      |
| Лейцин+Изолейцин<br>(Xle)                 | 0–270<br>(164)                                  | 10–290<br>(180)                    | 45–300<br>(220)         | 50–310<br>(226)   | 0.005                         |
| Метионин<br>(Met)                         | 0–22<br>(11)                                    | 3–45<br>(26)                       | 6–50<br>(30)            | 6–37<br>(27)      | 0.0051                        |
| Фенилаланин<br>(Phe)                      | 0–92<br>(40)                                    | 10–79<br>(41)                      | 11–92<br>(51)           | 12–86<br>(46)     | 0.15                          |
| Тирозин<br>(Tyr)                          | 21–225<br>(63)                                  | 33–160<br>(61)                     | 24–125<br>(81)          | 23–108<br>(69)    | < 0.0001                      |
| Валин<br>(Val)                            | 40–198<br>(122)                                 | 57–250<br>(142)                    | 64–354<br>(237)         | 85–307<br>(225)   | 0.002                         |
| Аргинин<br>(Arg)                          | 0–35<br>(14)                                    | 0–135<br>(19)                      | 6–133<br>(27)           | 10–128<br>(25)    | 0.0031                        |
| Цитруллин<br>(Cit)                        | 0–33<br>(24)                                    | 3–45<br>(27)                       | 4–50<br>(36)            | 9–52<br>(31)      | 0.0021                        |
| Глицин<br>(Gly)                           | 0–717<br>(312)                                  | 133–409<br>(306)                   | 103–386<br>(275)        | 138–349<br>(262)  | < 0.0001                      |
| Орнитин<br>(Orn)                          | 0–350<br>(132)                                  | 29–268<br>(140)                    | 19–239<br>(121)         | 33–203<br>(134)   | 0.0018                        |
| <b>Ацилкарнитины и свободный карнитин</b> |   |                                    |                         |                   |                               |
| Свободный карнитин<br>(C0)                | 7.0–30.3<br>(22)                                | 12.0–40<br>(27)                    | 15.0–50<br>(33)         | 19–45.0<br>(34)   | 0.0016                        |
| Ацетилкарнитин<br>(C2)                    | 3–42<br>(13.9)                                  | 2.5–54<br>(14.5)                   | 2.5–50<br>(16.4)        | 2.0–50<br>(18.3)  | 0.36                          |
| Пропионилкарнитин<br>(C3)                 | < 6<br>(1.7)                                    | < 6<br>(1.7)                       | < 5.5<br>(1.6)          | < 5<br>(1.9)      | 0.48                          |
| Малонилкарнитин<br>(C3DC)                 | < 0.21<br>(0.1)                                 | < 0.26<br>(0.12)                   | < 0.23<br>(0.12)        | < 0.32<br>(0.14)  | 0.004                         |
| Бутирилкарнитин<br>(C4)                   | < 0.46<br>(0.22)                                | < 1.06<br>(0.5)                    | < 0.83<br>(0.52)        | < 0.95<br>(0.5)   | 0.0052                        |
| Метилмалонилкарнитин<br>(C4DC)            | < 0.6<br>(0.3)                                  | < 0.8<br>(0.5)                     | < 1.2<br>(0.6)          | < 1.4<br>(0.7)    | < 0.0001                      |
| Гидроксibuтирилкарнитин<br>(C4OH)         | < 0.6<br>(0.12)                                 | < 0.52<br>(0.21)                   | < 0.54<br>(0.22)        | < 0.59<br>(0.29)  | 0.321                         |
| Изовалерилкарнитин<br>(C5)                | < 0.38<br>(0.2)                                 | < 0.63<br>(0.28)                   | < 0.51<br>(0.3)         | < 0.56<br>(0.33)  | 0.0017                        |

Продолжение таблицы 18

| 1  | 2                | 3                | 4                | 5                 | 6        |
|--|------------------|------------------|------------------|-------------------|----------|
| Глутарилкарнитин<br>(C5DC)                   | < 0.3<br>(0.12)  | < 0.3<br>(0.06)  | < 0.3<br>(0.23)  | < 0.3<br>(0.2)    | 0.610    |
| 3-Гидроксиизовалерилкарнитин<br>(C5OH)       | < 0.6<br>(0.33)  | < 0.42<br>(0.26) | < 0.39<br>(0.22) | < 0.52<br>(0.39)  | 0.0054   |
| 3-Метилкротонилкарнитин<br>(C5:1)            | < 0.1<br>(0.06)  | < 0.2<br>(0.08)  | < 0.3<br>(0.11)  | < 0.33<br>(0.13)  | < 0.0001 |
| Гексаноилкарнитин<br>(C6)                    | < 0.14<br>(0.08) | < 0.23<br>(0.13) | < 0.17<br>(0.12) | < 0.19<br>(0.12)  | 0.0016   |
| Октаноилкарнитин<br>(C8)                     | < 0.19<br>(0.07) | < 0.25<br>(0.08) | < 0.38<br>(0.18) | < 0.44<br>(0.2)   | 0.005    |
| Октеноилкарнитин<br>(C8:1)                   | < 0.48<br>(0.19) | < 0.91<br>(0.34) | < 0.88<br>(0.35) | < 0.86<br>(0.32)  | 0.0021   |
| Деканоилкарнитин<br>(C10)                    | < 0.27<br>(0.16) | < 0.31<br>(0.18) | < 0.38<br>(0.23) | < 0.45<br>(0.21)  | 0.002    |
| Деценоилкарнитин<br>(C10:1)                  | < 0.25<br>(0.12) | < 0.46<br>(0.18) | < 0.47<br>(0.17) | < 0.47<br>(0.18)  | 0.0014   |
| Додеcanoилкарнитин<br>(C12)                  | < 0.35<br>(0.19) | < 0.35<br>(0.22) | < 0.26<br>(0.16) | < 0.28<br>(0.2)   | 0.006    |
| Тетрадеcanoилкарнитин<br>(C14)               | < 0.7<br>(0.18)  | < 0.8<br>(0.19)  | < 0.7<br>(0.24)  | < 0.7<br>(0.23)   | 0.521    |
| Тетрадеценоилкарнитин<br>(C14:1)             | < 0.16<br>(0.07) | < 0.35<br>(0.2)  | < 0.24<br>(0.15) | < 0.28<br>(0.18)  | 0.0031   |
| Тетрадекадиеноилкарнитин<br>(C14:2)          | < 0.09<br>(0.04) | < 0.13<br>(0.08) | < 0.18<br>(0.15) | < 0.22<br>(0.16)  | < 0.0001 |
| 3-Гидрокситетрадеcanoилкарнитин<br>(C14OH)   | < 0.04<br>(0.02) | < 0.05<br>(0.03) | < 0.08<br>(0.06) | < 0.09<br>(0.06)  | < 0.0001 |
| Гексадеcanoилкарнитин<br>(C16)               | < 7.79<br>(1.8)  | < 10<br>(2.6)    | < 5<br>(1.4)     | < 5.5<br>(2.2)    | 0.0033   |
| Гексадеценоилкарнитин<br>(C16:1)             | < 0.37<br>(0.19) | < 0.45<br>(0.22) | < 0.2<br>(0.13)  | < 0.24<br>(0.13)  | 0.002    |
| 3-Гидроксигексадеценоилкарнитин<br>(C16:1OH) | < 0.78<br>(0.37) | < 0.36<br>(0.23) | < 0.06<br>(0.04) | < 0.08<br>(0.06)  | < 0.0001 |
| 3-Гидроксигексадеcanoилкарнитин<br>(C16OH)   | < 0.1<br>(0.06)  | < 0.07<br>(0.04) | < 0.06<br>(0.05) | < 0.06<br>(0.045) | 0.0046   |
| Стеароилкарнитин<br>(C18)                    | < 2.6<br>(1)     | < 2.4<br>(0.8)   | < 2.6<br>(1.1)   | < 2.8<br>(1.2)    | 0.41     |
| Олеилкарнитин<br>(C18:1)                     | < 3.1<br>(1.22)  | < 4.0<br>(1.43)  | < 3.5<br>(1.31)  | < 3.4<br>(1.25)   | 0.421    |
| 3-Гидроксиолеилкарнитин<br>(C18:1OH)         | < 0.11<br>(0.06) | < 0.15<br>(0.11) | < 0.18<br>(0.14) | < 0.21<br>(0.15)  | 0.0022   |
| 3-Гидроксиолеилкарнитин<br>(C18:2OH)         | < 1.12<br>(0.54) | < 1.15<br>(0.57) | < 1.15<br>(0.58) | < 1.16<br>(0.63)  | 0.21     |
| 3-Гидроксиоктадеcanoил<br>(C18OH)            | < 0.14<br>(0.05) | < 0.39<br>(0.21) | < 0.31<br>(0.17) | < 0.54<br>(0.22)  | 0.0012   |

**Примечание.** \* – статистически значимыми считались различия, для которых уровень значимости  $p < 0.0051$ .

Самая высокая концентрация метионина (Met) и фенилаланина (Phe) наблюдается в возрастной группе 1–23 месяца, после чего она практически не изменяется до 18 лет. Содержание орнитина (Orn) имеет тенденцию к снижению с взрослением организма.

По полученным данным сложилась картина по возрастной динамике концентраций ацилкарнитинов и свободного карнитина в крови. Так, концентрация свободного карнитина (C0) увеличивается почти в 1.5 раза к концу первого месяца жизни и изменяется незначительно до 18 лет. Можно также отметить, что концентрации ацетилкарнитина (C2), пропионилкарнитина (C3), бутирилкарнитина (C4), изовалерилкарнитина (C5) и тетрадеcanoилкарнитина (C14) увеличиваются к концу первого месяца жизни, но затем их содержание в крови уменьшается примерно на 10% и до 18 лет остается практически неизменным. Содержание гексаноилкарнитин (C16) и гексадеcanoилкарнитин (C16:1) увеличивается с рождения и до первого месяца, а затем снижается примерно в 2 раза и до 18 лет практически не изменяется (рисунок 9).

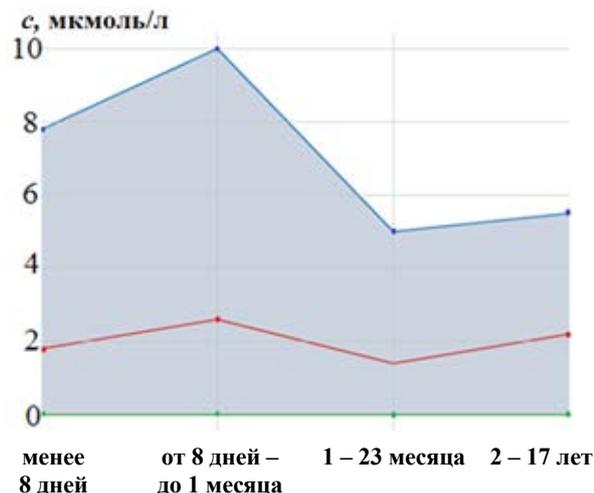


Рисунок 9 – Динамика изменений референсного интервала (РИ) гексадеcanoилкарнитина (C16) от возрастной группы обследованных (синим цветом отмечена верхняя граница РИ, зеленым – нижняя граница РИ, красным – медиана РИ).

На основании того, что изменение концентраций глутарилкарнитина (C5DC), 3-гидроксидеcanoилкарнитина (C16OH) и 3-гидроксилинолеилкарнитина (C18:2OH) с рождения и до 18 лет незначимо, можно сказать, что их

концентрации не зависят от возраста. Обращает на себя внимание, что у таких ацилкарнитинов как малонилкарнитин (C3DC), 3-метилкротонилкарнитин (C5:1), октаноилкарнитин (C8), деканоилкарнитин (C10), метилмалонилкарнитин (C4DC), тетрадекадиеноилкарнитин (C14:2), 3-гидрокситетрадеканоилкарнитин (C14OH), 3-гидроксиоктадеценилкарнитина (C18OH) и 3-гидроксиолеилкарнитин (C18:1OH) имеется тенденция к увеличению их концентрации с рождения и до 18 лет. Концентрации гексаноилкарнитина (C6), октаноилкарнитина (C8:1), деценилкарнитина (C10:1), тетрадеценилкарнитина (C14:1), олеилкарнитина (C18:1) увеличиваются к концу первого месяца жизни, затем снижаются или практически не изменяются до 18 лет. Содержание додеценилкарнитина (C12) максимально в первый месяц жизни, затем он снижается примерно на 20% и не изменяется до 18 лет. Концентрации 3-гидроксибутирилкарнитина (C4OH), 3-гидроксиизовалерилкарнитина (C5OH) и стеароилкарнитина (C18) изменяются примерно на 10–20% в сторону как, снижения, так и увеличения в течение первых 18 лет жизни. Содержание 3-гидроксигексадеценилкарнитина (C16:1OH) максимально в первую неделю жизни, к первому месяцу оно снижается примерно в 2 раза, а после уменьшается примерно в 10 раз.

### ***3.1.2. Определение референсных интервалов органических кислот в образцах мочи детей разных возрастных групп методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией***

На основании ретроспективного анализа результатов образцов мочи детей из контрольной группы (443 пациента) также были определены РИ для 28 органических кислот, детектируемых методом ГХ-МС (таблица 19). Границы РИ были вычислены как пределы, соответствующие 2.5–97.5% разбросу каждого показателя в выборке результатов детей из контрольной группы, которые были распределены по четырем возрастным группам: первая неделя жизни, от 8 дней до 1 месяца, 1–23 месяца, 2–17 лет. В связи с большей диагностической значимостью верхней границы РИ тренд изменения концентраций показателей в зависимости от возрастной группы обследованных оценивался именно по ней.

Таблица 19 – Референсные интервалы органических кислот в образцах мочи обследованных разных возрастных групп (значения концентраций аналитов представлены в ммоль/моль креатинина; в скобках указаны медианы)

| Название аналита                     | Возрастные группы<br>(количество обследованных) |                                    |                      |                   | Уровень<br>значимости*<br>(p) |
|--------------------------------------|---|------------------------------------|----------------------|-------------------|-------------------------------|
|                                      | менее<br>8 дней<br>(35)                         | от 8 дней –<br>до 1 месяца<br>(43) | 1–23 месяца<br>(120) | 2–17 лет<br>(245) |                               |
| <i>1</i>                             | <i>2</i>  | <i>3</i>                           | <i>4</i>             | <i>5</i>          | <i>6</i>                      |
| Молочная кислота                     | 15–27<br>(22)                                   | 18–34<br>(26)                      | 25–518<br>(119)      | 6–61<br>(20)      | <0.0001                       |
| Гликолиевая кислота                  | 6–61<br>(32)                                    | 8–82<br>(45)                       | 22–143<br>(43)       | 14–114<br>(39)    | < 0.0001                      |
| 3-Гидроксимасляная кислота           | 1.5–8.0<br>(4.7)                                | 1.0–7.0<br>(2.9)                   | 0.5–6.0<br>(2.3)     | 0–4.0<br>(0.9)    | < 0.0001                      |
| Глицериновая кислота                 | < 2<br>(0.1)                                    | < 3<br>(0.12)                      | < 8<br>(3.4)         | < 9<br>(3)        | < 0.0001                      |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота    | < 1.0<br>(0)                                    | < 1.0<br>(0)                       | < 1.0<br>(0)         | 0.1–1.2<br>(0.6)  | 0.362                         |
| Пировиноградная кислота              | 10–59<br>(22.4)                                 | 8–52<br>(19.4)                     | 4–58.0<br>(16.7)     | 2.0–35<br>(6)     | 0.0017                        |
| Изовалериановая кислота              | < 5.0<br>(2.1)                                  | < 5.0<br>(2.2)                     | 1.0–7.0<br>(3.1)     | < 5.0<br>(2.7)    | < 0.0001                      |
| Адипиновая кислота                   | 22–164<br>(52.2)                                | 30–184<br>(58.9)                   | 46–138<br>(62.4)     | 11–60<br>(9)      | < 0.0001                      |
| 3-Метилглутаровая кислота            | < 2.5<br>(0.48)                                 | < 3<br>(0.52)                      | < 7<br>(0.81)        | < 7<br>(0.56)     | < 0.0001                      |
| Этилмалоновая кислота                | < 2.5<br>(1.2)                                  | < 2.5<br>(1)                       | < 4<br>(1.6)         | < 5<br>(1.8)      | 0.0032                        |
| Мевалоновая кислота                  | < 2<br>(0.21)                                   | < 2<br>(0.19)                      | < 2<br>(0.23)        | < 2<br>(0.16)     | 0.523                         |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота | 19–102.0<br>(54)                                | 13–81.0<br>(37)                    | 6.0–15<br>(11.5)     | 2.0–25<br>(8)     | < 0.0001                      |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота   | < 1.5<br>(0.3)                                  | < 2.5<br>(0.4)                     | < 8<br>(0.7)         | < 10<br>(0.7)     | < 0.0001                      |
| Метилмалоновая кислота               | < 2<br>(0.7)                                    | < 2<br>(0.7)                       | < 2<br>(0.8)         | < 2<br>(0.5)      | 0.478                         |
| Фенилмолочная кислота                | < 1.5<br>(0.3)                                  | < 2<br>(0.3)                       | < 10<br>(1.5)        | < 2<br>(0.07)     | 0.0048                        |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота      | < 8.4<br>(4.6)                                  | < 7.2<br>(3.1)                     | 2.7–5.3<br>(3.6)     | 0.4–7.3<br>(3.3)  | < 0.0001                      |
| N-ацетиласпартиковая кислота         | < 2<br>(0.7)                                    | < 2<br>(0.8)                       | < 6<br>(2.2)         | < 2<br>(0.3)      | 0.0029                        |
| Гомогентизиновая кислота             | < 2<br>(0.15)                                   | < 2<br>(0.1)                       | < 2.5<br>(0.35)      | < 2<br>(0)        | 0.0055                        |
| Сукциновая кислота                   | 42–623<br>(172)                                 | 30–486<br>(122)                    | 4.0–27.0<br>(11)     | 2.0–20.0<br>(4)   | < 0.0001                      |
| Гиппуровая кислота                   | 130–1750<br>(920)                               | 120–1800<br>(870)                  | 100–1620<br>(840)    | 60–300<br>(170)   | < 0.0001                      |
| Себациновая кислота                  | < 2<br>(0.16)                                   | < 2<br>(0.18)                      | < 2<br>(0.2)         | < 2<br>(0.02)     | 0.488                         |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота      | < 3.5<br>(0.23)                                 | < 3<br>(0.18)                      | < 3<br>(0.15)        | < 2<br>(0.06)     | 0.0057                        |

Продолжение таблицы 19

| 1                                      | 2               | 3               | 4              | 5             | 6        |
|--|-----------------|-----------------|----------------|---------------|----------|
| Глутаровая кислота                     | < 3<br>(1.0)    | < 5<br>(1.2)    | < 2<br>(0.4)   | < 2<br>(0.3)  | 0.0036   |
| Фенилпировиноградная кислота           | < 2.5<br>(0.08) | < 2.5<br>(0.12) | < 3<br>(0.08)  | < 4<br>(0)    | 0.0031   |
| Субериновая кислота                    | < 2<br>(0.8)    | < 2<br>(0.9)    | < 2<br>(1.1)   | < 2<br>(0.5)  | 0.623    |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | < 2<br>(0.2)    | < 2<br>(0.2)    | < 10<br>(1.4)  | < 2<br>(0.3)  | 0.0021   |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 12–81<br>(25)   | 10–74<br>(22)   | 18–270<br>(43) | 12–93<br>(10) | < 0.0001 |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | < 0.6<br>(0)    | < 0.7<br>(0)    | < 0.7<br>(0)   | < 0.04<br>(0) | < 0.0001 |

**Примечание.** \* – статистически значимыми считались различия, для которых уровень значимости  $p < 0.0051$ .

При анализе полученных данных, видно, что для некоторых органических кислот характерна различие концентраций в моче в зависимости от возраста обследованных. Так, для молочной, гликолиевой, фенилмолочной, 4-гидроксифенилпировиноградной, 4-гидроксифенил-уксусной кислот имеется тенденция к повышенному их содержанию к концу второго года жизни, а в старшей возрастной группе – к снижению концентраций этих кислот в моче. Концентрации *N*-ацетил-аспартиковой, гомогентизиновой и глутаровой кислот также возрастают к концу второго года жизни и до 18 лет снижаются незначительно, т.е практически не изменяются.

Динамика концентраций некоторых кислот имеет тенденцию к возрастанию в возрастных группах 1–23 месяца и 2–17 лет (пировиноградная, изовалериановая и 3-метилглутаровая кислоты). Концентрация 3-гидрокси-3-метилглутаровой, сукциновой и адипиновой кислот максимальна с рождения и до конца первого месяца жизни, а с взрослением она постепенно снижается. Обращает на себя внимание, что для таких кислот как глицериновая и 2-метил-3-гидроксимасляная характерна тенденция к увеличению их содержания в моче с периода новорожденности и до 18 лет. Противоположная тенденция наблюдается у 2-гидроксиизокапроновой кислоты: ее концентрация снижается с рождения и до 18 лет, при этом верхняя граница ее РИ также снижается.

Концентрации этилмалоновой и фенилпировиноградной кислот с рождения и до конца первого месяца жизни отмечаются на самом низком (следовом) уровне, а затем во время взросления организма их содержание постепенно увеличивается. В количественном содержании 3-метил-2-оксвалериановой, метилмалоновой, мевалоновой, себаценовой и субериновой кислот возрастных изменений не наблюдается. Можно отметить, что концентрации 4-метил-2-оксвалериановой кислоты до 2 лет изменяются незначительно, а в возрастной группе 2–17 лет наблюдается значимое снижение ее концентрации, до 10 раз.

Для гиппуровой кислоты характерна другая тенденция: с рождения и до 2 лет ее РИ практически не изменяются, а в возрастной группе 2–17 лет отмечается не только снижение ее содержания, но и сужение границ ее РИ. Концентрации 4-гидроксифенилмолочной и 3-гидроксимасляной кислот в разные возрастные этапы изменяются как в сторону снижения, так и увеличения. Так, верхняя граница РИ для 3-гидроксимасляной кислоты изменяется от 4.0 до 8.0 ммоль/моль креатинина, а у 4-гидроксифенилмолочной – от 5.3 до 8.4 ммоль/моль креатинина.

### ***3.1.3. Характеристика данных, полученных при анализе образцов сухих пятен крови и мочи пациентов с помощью валидированных методик количественного определения аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот***

После сравнения хроматограмм сухих пятен крови 80 пациентов из первой группы с подозрением на аминокислотопатию и органические ацидемии/ацидурии и обследованных из контрольной группы (детей с доказанным отсутствием НБО веществ) можно сказать, что между ними имеются значимые различия, которые можно оценить даже визуально, не прибегая к количественной обработке полученных данных. В приложении на рисунке А.1 и А.2 представлены характерные масс-спектры хроматограмм образцов с повышенным содержанием аминокислот и ацилкарнитинов соответственно. Также, в качестве подтверждающих примеров, в приложении на рисунках А.3–А.5 приведено

сравнение хроматограмм образцов сухих пятен крови, обследованных из контрольной группы и пациентов из первой группы с некоторыми выявленными заболеваниями. При сравнении результатов анализов сухих пятен крови, обследованных из контрольной группы и пациентов с выявленными патологиями, обращает на себя внимание тот факт, что концентрации определяемых показателей у последних значимо отличаются.

При сравнении хроматограмм образцов мочи, полученных методом ГХ-МС, от обследованных из контрольной группы с таковыми от детей с различными нарушениями обмена органических кислот также выявлены значимые различия, которые часто можно оценить даже визуально. Так в приложении на рисунках А.6 и А.7 представлены хроматограммы образцов мочи с нормальным и повышенным содержанием органических кислот соответственно. Тенденция, выявленная для аминокислот и ацилкарнитинов, сохраняется и для органических кислот – у пациентов с выявленными заболеваниями наблюдается значимое увеличение аналитического сигнала пиков диагностических маркеров при сравнении с таковыми у обследованных из контрольной группы (рисунки А.8–А.10 в приложении) и, как следствие, значимое увеличение концентраций этих маркеров.

Полученные экспериментальные данные подтверждают надежность и диагностическую эффективность методов ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС при проведении диагностики нарушений обмена аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот.

#### ***3.1.4. Биохимические маркеры наследственных болезней обмена аминокислот и ацилкарнитинов***

По результатам анализа сухих пятен крови 80 детей из первой группы с подозрением на аминокислотопатии и органические ацидемии/ацидурии на основании характерных клинико-лабораторных данных выявлено 54 пациента с моногенными заболеваниями: аминокислотопатиями, органическими ацидемиями, дефектами окисления жирных кислот и дефектом транспорта карнитина (таблица 20).

Таблица 20 – Заболевания, выявленные в первой группе пациентов с подозрением на аминокислотопатию и органические ацидемии/ацидурии, по результатам анализа образцов сухих пятен крови и мочи хромато-масс-спектрометрическими методами

| Нозологическая форма  | Изменение уровня содержания маркера(-ов)                                  | Количество пациентов |
|---|---|----------------------|
| <i>Заболевания, диагностированные по результатам анализов образцов сухих пятен крови пациентов методом ВЭЖХ-МС/МС</i> |   |                      |
| Фенилкетонурия, обусловленная дефицитом фенилаланингидроксилазы   | Повышение фенилаланина, понижение тирозина                                | 7                    |
| Гомоцистинурия, обусловленная нарушениями метаболизма кобаламина  | Понижение метионина, наличие гомоцистина                                  | 5                    |
| Аргининемия   | Повышение аргинина  | 4                    |
| Кобаламин А (cblA) и кобаламин В (cblB) метилмалоновая ацидемия (ММА)   | Повышение пропионилкарнитина (C3) и метилмалонилкарнитина (C4DC)          | 5                    |
| Дефицит среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы (МСAD)  | Повышение ацилкарнитинов со средней длиной цепи (C6, C8, C10)             | 3                    |
| Дефект транспорта карнитина (СUD)   | Понижение свободного карнитина (C0)                                       | 1                    |
| Глутаровая ацидемия I типа (GA I)   | Повышение глутарилкарнитина (C5DC)  | 3                    |
| Тирозинемия I типа  | Повышение тирозина, фенилаланина и метионина                              | 3                    |
| Тирозинемия II типа   | Повышение тирозина  | 1                    |
| Гипераммониемия с дефицитом N-ацетилглутаматсинтетазы   | Повышение аланина   | 5                    |
| Цитруллинемия   | Повышение цитруллина, понижение аргинина                                  | 2                    |
| Изовалериановая ацидемия/ изовалериановая ацидурия (IVA)  | Повышение изовалерилкарнитина (C5)  | 2                    |
| Пропионовая ацидемия (РА)   | Повышение пропионилкарнитина (C3) и соотношения C3/C2                     | 2                    |
| Некетотическая гиперглицинемия  | Повышение глицина   | 5                    |
| Болезнь «кленового сиропа» (лейцинурия) (MSUD)  | Повышение суммарного показателя (лейцин+изолейцин)                        | 6                    |
| <i>Заболевания, диагностированные по результатам анализов образцов мочи пациентов методом ГХ-МС</i>                   |   |                      |
| Дефицит длинноцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ  | Повышение субериновой и себаценовой кислот                                | 5                    |
| Дефицит короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ   | Повышение этилмалоновой кислоты   | 4                    |
| Хавкинсурия (тирозинемия III типа)  | Повышение 4-гидроксифенилпировиноградной и 4-гидроксифенилмолочной кислот | 2                    |
| Алкаптонурия  | Повышение гомогентизиновой кислоты  | 1                    |
| Глутаровая ацидурия II типа (множественный дефицит ацил-КоА-дегидрогеназ)   | Повышение этилмалоновой, глутаровой, адипиновой и субериновой кислот      | 4                    |
| Метилмалоновая ацидемия   | Повышение метилмалоновой кислоты  | 5                    |
| Дефицит малонил-КоА-декарбоксилазы  | Повышение метилмалоновой и малоновой кислот                               | 3                    |
| Глутаровая ацидурия I типа  | Повышение глутаровой кислоты  | 3                    |
| Болезнь Канавана  | Повышение N-ацетиласпартиковой кислоты                                    | 3                    |
| Гипероксалурия I типа   | Повышение гликолевой кислоты  | 4                    |

Результаты анализа сухих пятен крови пациентов из первой группы с выявленными заболеваниями и соответствующей группы сравнения приведены в таблице А.2 в приложении. В семи случаях была выявлена фенилкетонурия, в крови пациентов уровень первичного маркерного метаболита данного заболевания – фенилаланина (Phe) колебался от 220 до 1224 мкмоль/л, уровень вторичного маркерного метаболита – тирозина (Tyr) в четырех случаях был незначительно выше нижней границы РИ, а в одном случае – ниже нижней границы РИ.

У пяти детей была выявлена гомоцистинурия, в трех случаях это заболевание было диагностировано на ранних стадиях в субклинической фазе. Уровень метионина (Met) у четырех пациентов был снижен по сравнению с возрастной нормой, а у одного пациента – незначительно превышал нижнюю границу его РИ.

У четырех пациентов была подтверждена аргининемия. Уровень аргинина (Arg) в крови пациентов колебался от 177 и 225 мкмоль/л.

У пяти детей была подтверждена метилмалоновая ацидемия, концентрация пропионилкарнитина (C3), первичного маркера этого заболевания, у данных пациентов варьировалась от 3 до 40 мкмоль/л, тогда как концентрация ацетилкарнитина (C2), вторичного маркера, только у двух пациентов была на верхней границе РИ.

У трех пациентов был выявлен дефицит ацил-КоА-дегидрогеназы среднецепочечных жирных кислот (MCAD), так как у них были повышены уровни всех маркерных метаболитов данной патологии: гексаноилкарнитина (C6), октаноилкарнитина (C8) и деканоилкарнитина (C10). Концентрации C6 в крови пациентов были 1.5, 3.6 и 2.2 мкмоль/л, а концентрации C8 и C10 были 2.5, 3.2, 4.0 мкмоль/л и 2.4, 1.8, 3.8 мкмоль/л соответственно. Также был выявлен один пациент с дефектом транспорта карнитина (CUD). Концентрация свободного карнитина была 5.6 мкмоль/л, что в 3.4 раза ниже значения нижней границы его РИ.

У трех детей был подтвержден диагноз глутаровой ацидемии I типа, причем у двух пациентов концентрация маркерного метаболита глутарилкарнитина (C5DC) более чем в 10 раз превышала верхнюю границу его РИ.

У трех пациентов был выявлен диагноз тирозинемии I типа, концентрации тирозина (Tyr) в крови которых были 525, 321 и 581 мкмоль/л. Также был выявлен один пациент с диагнозом тирозинемия II типа, уровень тирозина (Tyr) в его крови был 661 мкмоль/л.

В пяти случаях был подтвержден диагноз гипераммониемии с дефицитом *N*-ацетилглутаматсинтетазы, уровень маркерного метаболита данного заболевания – аланина (Ala) у этих пациентов колебался от 725 до 1201 мкмоль/л.

У двух детей была подтверждена цитруллинемия. Содержание цитруллина (Cit) было выше нормы у обоих пациентов, а содержание аргинина (Arg), дополнительного маркера данной патологии, ниже нормы только у одного из них.

У двух пациентов была выявлена изовалериановая ацидемия, концентрации изовалерилкарнитина (C5) у этих пациентов были 1.12 и 1.98 мкмоль/л. Также у двух детей была подтверждена пропионовая ацидемия по показателям основного маркера пропионилкарнитина (C3) и вторичного маркера соотношения C3/C2, причем у одного из пациентов показатель C3 был на верхней границе нормы, а показатель C3/C2 был повышен в 2 раза.

У пяти детей был выявлен диагноз некетотической гиперглицинемии, у этих пациентов в четырех случаях концентрация глицина (Gly) была выше возрастной нормы в 1.5–2 раза, в одном случае – на верхней границе его РИ.

В шести случаях была подтверждена болезнь «кленового сиропа» – лейцинурия, уровень суммарного показателя (лейцин+изолейцин) (Xle) у данных пациентов варьировался от 338 до 552 мкмоль/л.

По результатам анализа пятен крови 35 детей из группы сравнения (пациенты с подозрением на пероксисомные болезни) у пятерых пациентов выявлен низкий уровень свободного карнитина (C0) в крови, что может говорить о наличии у них других нарушений метаболизма. Для подтверждения данного предположения необходимо дальнейшее проведение дифференциальной диагностики. У остальных пациентов все показатели были в пределах РИ или на их верхней границе (таблице А.2 в приложении). Результаты анализа сухих пятен крови 40 детей из контрольной группы подтвердили, что в нее вошли практически

здоровые дети, так как у всех детей все исследуемые показатели были в пределах РИ (таблице А.8 в приложении).

У всех пациентов диагнозы были поставлены на основании характерных клинико-лабораторных данных, а позднее они были подтверждены результатами молекулярно-генетических исследований, которые также подтвердили наличие патогенных мутаций. Большое количество пациентов с выявленными и подтвержденными патологиями (54 из 80) объясняется тем, что в эту группу пациентов вошли дети, которые были прицельно отобраны для проведения данного исследования с учетом узкой специализации учреждения.

### ***3.1.5. Биохимические маркеры наследственных болезней обмена органических кислот***

После анализа образцов мочи 80 детей из первой группы с подозрением на аминокислотопатию и органические ацидемии/ацидурии на основании характерных клинико-лабораторных данных у 34 пациентов выявлены заболевания, перечисленные в таблице 20. Диагнозы у всех пациентов были подтверждены дальнейшими молекулярно-генетическими исследованиями. Также необходимо отметить, что у восьми пациентов диагноз был дополнительно подтвержден и по анализу сухих пятен крови методом ВЭЖХ-МС/МС (метилмалоновая ацидемия и глутаровая ацидемия I типа). Результаты анализа образцов мочи пациентов из первой группы с выявленными заболеваниями и соответствующей группы сравнения приведены в таблице А.3 в приложении.

В пяти случаях был выявлен дефицит длинноцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ, маркерными метаболитами которого являются себациновая и субериновая кислоты; в образцах мочи этих пациентов уровень субериновой кислоты варьировал от 4 до 33 ммоль/моль креатинина, а уровень себациновой кислоты был в диапазоне от 3.3 до 15.6 ммоль/моль креатинина. У пяти детей был выявлен дефицит короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ, у этих пациентов в образцах мочи концентрация этилмалоновой кислоты варьировалась от 128 до 521 ммоль/моль креатинина.

У двух пациентов был подтвержден диагноз хавкинсурии (тирозинемии III типа), концентрации 4-гидроксифенилпировиноградной и 4-гидроксифенилмолочной кислот, в моче которых были 881 и 1089 ммоль/моль креатинина и 525 и 88 ммоль/моль креатинина соответственно. Также был выявлен один пациент с диагнозом алкаптонурии, уровень гомогентизиновой кислоты в моче – основного маркера данной патологии был 686 ммоль/моль креатинина, что значительно выше верхней границы РИ.

В четырех случаях был поставлен диагноз глутаровой ацидурии II типа. У пациентов с данным заболеванием наблюдались повышенные концентрации таких маркерных метаболитов в моче, как этилмалоновая (диапазон концентраций 8.2–1205 ммоль/моль креатинина), глутаровая (диапазон концентраций 224–1504 ммоль/моль креатинина), адипиновая (диапазон концентраций 331–1312 ммоль/моль креатинина) и субериновая кислоты (диапазон концентраций 55–289 ммоль/моль креатинина).

В пяти случаях, после анализа сухих пятен крови методом ВЭЖХ-МС/МС, по анализу образцов мочи методом ГХ-МС был подтвержден диагноз метилмалоновой ацидемии/ацидурии, во всех случаях уровень метилмалоновой кислоты значительно превышал верхнюю границу РИ.

У трех детей был выявлен диагноз дефицит малонил-КоА-декарбоксилазы; у этих пациентов наблюдались значительное увеличение концентраций метилмалоновой кислоты (88, 51 и 96 ммоль/моль креатинина) и мевалоновой кислоты (331, 245 и 558 ммоль/моль креатинина); при том, что РИ для этих кислот 0–2 ммоль/моль креатинина. У трех пациентов был также выявлен диагноз глутаровой ацидурии I типа, во всех трех случаях уровень глутаровой кислоты значительно превышал верхнюю границу РИ.

У трех детей был выявлена болезнь Канавана, основным маркером которой является *N*-ацетиласпартиковая кислота. Концентрации данного маркера у этих пациентов были 628, 1896 и 2021 ммоль/моль креатинина, что значительно выше верхней границы РИ.

У четырех пациентов была выявлена гипероксалурия I типа. В моче этих

пациентов концентрация гликолиевой кислоты была либо на верхней границе РИ (122 и 97 ммоль/моль креатинина), либо превышала ее (231 и 290 ммоль/моль креатинина).

Проанализированы образцы мочи 35 детей из группы сравнения (пациенты с подозрением на пероксисомные болезни) (таблица А.3 в приложении). В группе сравнения в образцах мочи двух пациентов были выявлены незначительные превышения уровней субериновой и себаценовой кислот, что может свидетельствовать о наличии у этих пациентов других типов нарушений метаболизма. Для подтверждения данного предположения необходимо проведение дальнейшей дифференциальной диагностики. У остальных пациентов все показатели были в пределах РИ или на их верхней границе.

Также проанализированы образцы мочи 40 детей из контрольной группы (обследованных с доказанным отсутствием НБО веществ). У всех детей исследуемые показатели были в пределах или на верхней границе РИ (таблице А.8 в приложении).

### ***3.1.6. Валидация диагностической значимости разработанных методик количественного определения маркеров наследственных болезней обмена аминокислот и органических кислот***

Для 38 пациентов с диагностированными нарушениями обмена аминокислот была проведена дополнительная диагностика подтверждающим методом ионно-обменной хроматографии (таблице А.4 в приложении). Образцы плазмы крови данных пациентов были проанализированы уже с оценкой определенных аминокислот, превышение которых было обнаружено при их анализе методом ВЭЖХ-МС/МС. Дополнительная диагностика проводилась для подтверждения диагноза таких заболеваний как фенилкетонурия, обусловленная дефицитом фенилаланин-гидроксилазы, аргининемия, тирозинемия I типа, гомоцистинурия, тирозинемия II типа, цитруллинемия, обусловленная нарушениями метаболизма кобаламина, гипераммониемия с дефицитом N-ацетилглютаматсинтазы, неклеточная гиперглицинемия и болезнь «кленового сиропа» (лейцинурия).

У семи пациентов был подтвержден диагноз фенилкетонурии, уровень

фенилаланина (Phe) у них колебался от 226 до 1056 мкмоль/л, а концентрация тирозина была 20 – 40 мкмоль/л.

У пяти детей был подтвержден диагноз гомоцистинурии, уровень метионина (Met) был в диапазоне 2.0–7.2 мкмоль/л, что ниже или на нижней границе его РИ. Также у этих пациентов была измерена концентрация дополнительного диагностического маркера гомоцистина (Hcys), который не может быть определен методом ВЭЖХ-МС/МС. Его концентрация колебалась в диапазоне 10.2–15.2 мкмоль/л, что превышает верхнюю границу его РИ.

У четырех пациентов была подтверждена аргининемия, концентрация аргинина (Arg) у этих пациентов находилась в диапазоне 184–224 мкмоль/л.

У трех пациентов была подтверждена тирозинемия I типа, концентрация основного маркера – тирозина (Tyr) у них составляла 338, 536 и 561 мкмоль/л, показатели дополнительных маркеров – фенилаланина (Phe) и метионина (Met) также были повышены. Также у одного пациента был подтвержден диагноз тирозинемии II типа, уровень тирозина в его плазме крови был 672 мкмоль/л.

У пяти пациентов был подтвержден диагноз гипераммониемии с дефицитом *N*-ацетилглутаматсинтетазы, концентрация диагностического маркера данного заболевания аланина (Ala) находилась в диапазоне 752–1124 мкмоль/л.

В двух случаях была подтверждена цитруллинемия, у обоих пациентов концентрация основного маркера – цитруллина (Cit) была выше верхней границы РИ (97 и 133 мкмоль/л), а концентрация дополнительного маркера – аргинина (Arg) была в норме (10 и 36 мкмоль/л).

У пяти пациентов была подтверждена некототическая гиперглицинемия, концентрация глицина (Gly) у них находились в диапазоне 462–895 мкмоль/л.

У шести детей был подтвержден диагноз – болезнь «кленового сиропа» (лейцинурия), уровень лейцина был определен в диапазоне от 226 до 415 мкмоль/л, а уровень изолейцина – в диапазоне от 121 до 287 мкмоль/л. Необходимо отметить, что у всех пациентов сумма концентраций лейцина и изолейцина, определенная методом ионно-обменной хроматографии, сравнима с таковой, но определенной методом ВЭЖХ-МС/МС.

Концентрации диагностических маркеров, полученные основным методом ВЭЖХ-МС/МС и подтверждающим методом ионно-обменной хроматографией, для всех выявленных патологий практически совпадают, но при проведении дополнительной диагностики методом ионно-обменной хроматографии благодаря эффективному разделению лейцина и изолейцина возможно индивидуальное количественное определение этих маркеров. В связи с этим, в тех случаях, когда по результатам диагностики основным методом ВЭЖХ-МС/МС суммарный показатель (лейцин+изолейцин) превышает верхнюю границу своего РИ, обязательно проведение дополнительной диагностики подтверждающим методом ионно-обменной хроматографии, позволяющим определить концентрации этих маркеров индивидуально.

Для пациентов с диагностированными наследственными нарушениями обмена ацилкарнитинов для выявления повышенного содержания дополнительных маркеров данных заболеваний была проведена подтверждающая диагностика методом ГХ-МС. Дополнительная диагностика проводилась для подтверждения диагноза метилмалоновой ацидемии/ацидурии и глутаровой ацидемии/ацидурии I типа (таблице А.3 в приложении).

У пяти пациентов был подтвержден диагноз метилмалоновой ацидемии/ацидурии, причем уровень метилмалоновой кислоты, во всех случаях, значительно превышал РИ. У трех детей был также выявлен диагноз глутаровой ацидурии I типа, во всех трех случаях уровень глутаровой кислоты также значительно превышал верхнюю границу РИ.

Результаты анализа образцов плазмы крови и мочи пациентов из первой группы с подозрением на аминокислотопатии и органические ацидемии/ацидурии позволяют сказать, что диагностическая значимость методики количественного определения аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС подтверждена методом ионообменной хроматографии для патологий обмена аминокислот и методом ГХ-МС для патологий обмена органических кислот. Таким образом, одновременное применение этих высокотехнологичных методов при проведении диагностики наследственных

болезней обмена данных веществ позволит не только минимизировать ошибки при постановке диагноза пациентам, но и дополнительно подтвердить правильность его постановки.

### 3.2. Результаты анализа биохимических маркеров пероксисомных болезней методом газовой хроматографии с масс-спектрометрией

#### 3.2.1. Определение референсных интервалов длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови детей разных возрастных групп

На основании ретроспективного анализа результатов образцов плазмы крови 369 детей из контрольной группы были определены РИ для 5 длинноцепочечных жирных кислот (ДЦЖК) и их 2 диагностически значимых соотношений, детектируемых методом ГХ-МС (таблица 21).

Таблица 21 – Референсные интервалы длинноцепочечных жирных кислот и их диагностически значимых соотношений в образцах плазмы крови обследованных разных возрастных групп (значения концентраций аналитов представлены в мкмоль/л; в скобках указаны медианы)

| Название аналита               | Возрастные группы<br>(количество обследованных) |                                    |                         |                     | Уровень<br>значимости*<br>(p) |
|--------------------------------|---|------------------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------------|
|                                | менее<br>8 дней<br>(30)                         | от 8 дней –<br>до 1 месяца<br>(37) | 1–23<br>месяца<br>(101) | 2–17 лет<br>(201)   |                               |
| Бегеновая кислота (C22:0)      | 40–118<br>(78)                                  | 41–118<br>(78)                     | 43–122<br>(81)          | 40–119<br>(76)      | 0.126                         |
| Лигноцериновая кислота (C24:0) | 33–83<br>(56)                                   | 32–82<br>(56)                      | 35–86<br>(56)           | 33–83<br>(55)       | 0.145                         |
| Гексакозановая кислота (C26:0) | 0.46–1.34<br>(0.87)                             | 0.44–1.33<br>(0.86)                | 0.47–1.36<br>(0.88)     | 0.45–1.32<br>(0.87) | 0.057                         |
| Фитановая кислота              | 2.10–4.20<br>(3.16)                             | 2.12–4.23<br>(3.17)                | 2.21–4.32<br>(3.26)     | 2.14–4.23<br>(3,18) | 0.128                         |
| Пристановая кислота            | < 3.10<br>(1.54)                                | < 3.14<br>(1.55)                   | < 3.27<br>(1.61)        | < 3.08<br>(1,53)    | 0.062                         |
| Соотношение C24:0/C22:0        | 0.55–0.94<br>(0.71)                             | 0.54–0.94<br>(0.72)                | 0.55–0.92<br>(0.69)     | 0.57–0.92<br>(0.72) | 0.125                         |
| Соотношение C26:0/C22:0        | 0.01–0.02<br>(0.01)                             | 0.01–0.02<br>(0.01)                | 0.01–0.02<br>(0.01)     | 0.01–0.02<br>(0.01) | 0.082                         |

*Примечание.* \* – статистически значимыми считались различия, для которых уровень значимости  $p < 0.0170$ .

Границы РИ были вычислены как пределы, соответствующие 2.5–97.5% разбросу каждого показателя в выборке результатов детей из контрольной группы, которые были распределены по четырем возрастным группам: первая неделя жизни, от 8 дней до 1 месяца, 1–23 месяца, 2–17 лет. В связи с большей диагностической значимостью верхней границы РИ тренд изменения концентрации каждого показателя в зависимости от возрастной группы обследованных оценивался именно по ее величине.

В результате ретроспективного анализа результатов образцов плазмы крови детей из контрольной группы выявлена единая тенденция для всех ДЦЖК и их диагностически значимых соотношений. На основании того, что различие в границах РИ для бегеновой (C22:0), лигноцериновой (C24:0), гексакозановой (C26:0), фитановой и пристановой кислот, а также соотношений C24:0/C22:0 и C26:0/C22:0 для возрастной группы 1–23 месяца и остальными возрастными группами незначимо (менее 5%), можно сказать, что данные показатели не зависят от возраста обследованных.

### ***3.2.1. Характеристика данных, полученных при анализе образцов плазмы крови пациентов с помощью валидированной методики количественного определения длинноцепочечных жирных кислот***

В приложении представлены хроматограммы образцов плазмы крови обследованных с нормальным (рисунок А.11) и повышенным (рисунок А.12) содержанием ДЦЖК соответственно. При сравнении хроматограмм образцов плазмы крови пациентов с пероксисомными болезнями с таковыми для обследованных из контрольной группы (детей с доказанным отсутствием НБО веществ) очевидно, что между ними имеются значительные различия, которые можно оценить даже визуально, без количественной обработки полученных данных. Также на хроматограммах образцов плазмы крови пациентов с данной патологией обращает на себя внимание увеличение аналитического сигнала пиков диагностических маркеров. В приложении на рисунках А.13 и А.14 проведено сравнение хроматограмм образцов плазмы крови, обследованных из контрольной

группы и пациентов с некоторыми выявленными заболеваниями. При количественной обработке полученных экспериментальных данных установлено, что концентрации ДЦЖК и их двух диагностически значимых соотношений у пациентов с пероксисомными болезнями значительно превышают таковые у здоровых детей из контрольной группы. Полученные экспериментальные данные, определенно, демонстрируют диагностическую эффективность данного метода при проведении диагностики данного типа наследственного нарушения метаболизма.

### **3.2.2. Биохимические маркеры пероксисомных болезней**

По результатам анализа образцов плазмы крови 35 детей из второй группы с подозрением на пероксисомные болезни на основании характерных клинико-лабораторных данных выявлено 17 пациентов с данной патологией (таблица 22). Результаты анализа образцов плазмы крови пациентов из второй группы с выявленными заболеваниями и соответствующей группы сравнения приведены в приложении в таблицах А.5 и А.6 соответственно.

Таблица 22 – Заболевания, выявленные во второй группе пациентов с подозрением на пероксисомные болезни, по результатам исследования образцов плазмы крови методом ГХ-МС

| <b>Нозологическая форма</b>                           | <b>Изменение уровня содержания маркера(-ов)</b>                           | <b>Количество пациентов</b> |
|---|---|-----------------------------|
| Синдром Целвегера (СЦ)                                | Повышение C26:0 и соотношения C26:0/C22:0, пристановой и фитановой кислот | 3                           |
| Х-сцепленная адренолейкодистрофия (Х-АЛД)             | Повышение C24:0 и соотношения C26:00/C22:0                                | 3                           |
| Недостаточность белка, транспортирующего стирол (СТБ) | Повышение пристановой и фитановой кислот                                  | 2                           |
| Болезнь Рефсума (инфантильная форма)                  | Значительное повышение фитановой кислоты                                  | 5                           |
| Болезнь Рефсума (взрослая форма)                      | Повышение фитановой кислоты   | 2                           |
| Ризомелическая точечная хондродисплазия (РТХД) I типа | Незначительное повышение фитановой кислоты, понижение пристановой кислоты | 2                           |

У трех пациентов был выявлен синдром Целвегера (СЦ), концентрация гексакозаноевой кислоты (C26:0) у этих пациентов была равна 3.58, 9.22 и 12.8 мкмоль/л, что превышает верхнюю границу ее РИ в 3–10 раз. Только у одного пациента концентрации бегеновой (C22:0) и лигноцериновой (C24:0) кислот превышали верхнюю границу своих РИ. У всех трех пациентов показатель

соотношения С24:0/С22:0 был в пределах РИ, а показатель соотношения С26:0/С22:0 – значительно превышал верхнюю границу РИ. Также у всех пациентов наблюдалось увеличение концентрации пристановой и фитановой кислот относительно верхней границы РИ в 2–5 раз.

В трех случаях был подтвержден диагноз X-сцепленной аденолейкодистрофии (X-АЛД). Только у одного из трех пациентов были превышены уровни кислот С24:0 и С22:0. Необходимо отметить, что для кислоты С24:0 наблюдается значительное перекрытие между уровнями ее содержания у обследованных из контрольной группы и пациентов с выявленным заболеванием. У всех пациентов показатель соотношения С24:0/С22:0 был в пределах РИ, тогда как показатель соотношения С26:0/С22:0 превышал верхнюю границу своего РИ. У всех пациентов концентрации С26:0, фитановой и пристановой кислот входила в РИ.

У двух пациентов был подтвержден диагноз недостаточности белка, транспортирующего стирол (СТБ), концентрации фитановой и пристановой кислот были 18.7, 29.8 и 15.3, 22.8 мкмоль/л соответственно. Уровни других ДЦЖК и их соотношений находились в пределах, соответствующих РИ.

У пяти пациентов был подтвержден диагноз болезнь Рефсума в инфантильной форме. Концентрация диагностического маркера фитановой кислоты находилась в диапазоне 525–1458 мкмоль/л, что значительно превышает верхнюю границу ее РИ. При сравнении хроматограмм, представленных на рисунке 10, видно, что у пациентов с данной патологией аналитический сигнал фитановой кислоты в 10 раз превышает таковой у обследованных из контрольной группы. При этом из-за дефицита фитаноил-КоА-гидролазы был отмечен очень низкий уровень пристановой кислоты. Уровни других ДЦЖК и их соотношений определялись в пределах своих РИ.

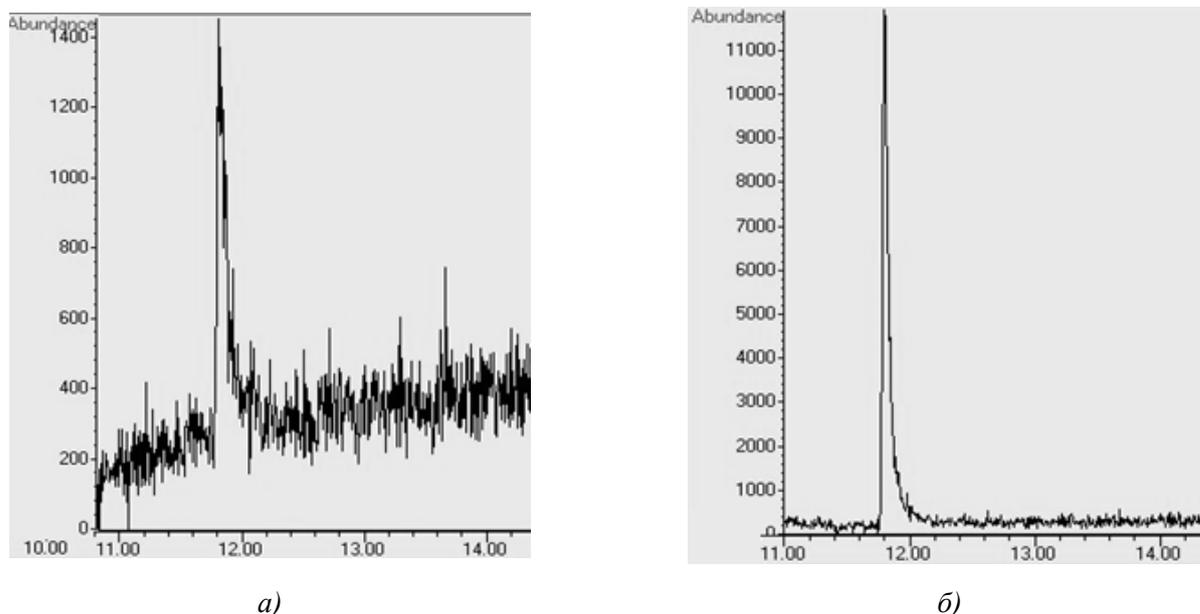


Рисунок 10 – Сравнение хроматограмм образцов плазмы крови у обследованного из контрольной группы (а) и у пациента с болезнью Рефсума в инфантильной форме (б) (диагностический маркер – фитановая кислота; по оси X указано время хроматографирования в минутах, по оси Y указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

У двух детей в возрасте 3 и 4.5 года была выявлена болезнь Рефсума во взрослой форме, концентрация фитановой кислоты была 622 и 128 мкмоль/л, что выше возрастной нормы, но не так значительно, как у пациентов с инфантильной формой данного заболевания.

В двух случаях был подтвержден диагноз ризомелической точечной хондродисплазии (РТХД) I типа. При этом у пациентов наблюдалось незначительное повышение уровня фитановой кислоты (911 и 412 мкмоль/л) и понижение уровня пристановой кислоты (0.2 и 0.8 мкмоль/л).

У всех пациентов с выявленными патологиями дополнительно были проведены исследования фибробластов, которые также подтвердили наличие у этих пациентов пероксисомной дисфункции. Необходимо отметить, что у восемнадцати пациентов были выявлены незначительные превышения уровней ДЦЖК, фитановой и пристановой кислот. В частности, у двух пациентов определялись повышенные уровни кислот C24:0 и C26:0, у трех пациентов концентрация фитановой кислоты была в диапазоне 16.3–35.8 мкмоль/л, у двух пациентов уровень пристановой кислоты был 15.8 и 12.3 мкмоль/л. Проведенные дополнительные исследования фибробластов у этих пациентов не подтвердили

наличия пероксисомной дисфункции.

Проанализированы образцы плазмы крови 35 детей из группы сравнения (пациенты из третьей группы с подозрением на нарушения обмена пуринов и пиримидинов). На верхней границе РИ у пяти пациентов был уровень С24:0, у трех пациентов – уровень С26:0. У большинства пациентов был понижен или незначительно превышал нижнюю границу РИ уровень фитановой кислоты, но у двух пациентов он превышал верхнюю границу РИ в 3.3–7.5 раз (были равны 13 и 30 мкмоль/л). Остальные показатели у пациентов этой группы были в пределах РИ или на их верхней границе.

Также были проанализированы образцы мочи 25 детей из контрольной группы (обследованных с доказанным отсутствием НБО веществ). У всех обследованных исследуемые показатели были в пределах РИ или незначительно превышали их верхние границы (таблице А.8 в приложении).

### 3.3. Результаты анализа биохимических маркеров наследственных болезней обмена пуринов и пиримидинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией

#### 3.3.1. Определение референсных интервалов пуринов и пиримидинов в образцах мочи детей разных возрастных групп

На основании ретроспективного анализа результатов образцов мочи 369 детей из контрольной группы были определены РИ для 19 пуриновых и пиримидиновых оснований, детектируемых методом ВЭЖХ-МС/МС (таблица 23). Границы РИ были вычислены как пределы, соответствующие 2.5–97.5% разбросу каждого показателя в выборке результатов детей из контрольной группы, которые были распределены по четырем возрастным группам: первая неделя жизни, от 8 дней до 1 месяца, 1–23 месяца, 2–17 лет.

В связи с большей диагностической значимостью верхней границы РИ тренд изменения концентрации каждого показателя в зависимости от возрастной группы обследованных оценивался именно по ее величине.

Таблица 23 – Референсные интервалы пуриновых и пиримидиновых оснований в образцах мочи обследованных разных возрастных групп (значения концентраций аналитов представлены в ммоль/моль креатинина; в скобках указаны медианы)

| Название аналита          | Возрастные группы<br>(количество обследованных) |                                    |                         |                       | Уровень значимости*<br>(p) |
|---------------------------|---|------------------------------------|-------------------------|-----------------------|----------------------------|
|                           | менее<br>8 дней<br>(30)                         | от 8 дней –<br>до 1 месяца<br>(37) | 1–23<br>месяца<br>(101) | 2–17 лет<br>(201)     |                            |
| <i>1</i>                  | <i>2</i>  | <i>3</i>                           | <i>4</i>                | <i>5</i>              | <i>6</i>                   |
| Гуанин                    | < 2.86<br>(1.42)                                | < 2.79<br>(1.40)                   | < 2.76<br>(1.38)        | < 2.72<br>(1.38)      | 0.269                      |
| Урацил                    | < 25.48<br>(12.57)                              | < 25.32<br>(12.46)                 | < 25.30<br>(12.45)      | < 25.31<br>(12.45)    | 0.285                      |
| Дигидроурацил             | < 14.32<br>(7.12)                               | < 14.21<br>(7.10)                  | < 14.20<br>(7.12)       | < 14.34<br>(7.17)     | 0.456                      |
| Оротовая кислота          | 0.05–6.03<br>(2.81)                             | 0.07–5.95<br>(2.75)                | 0.12–6.07<br>(2.86)     | 0.2–6.22<br>(2.89)    | 0.312                      |
| Мочевая кислота           | 87–695<br>(374)                                 | 90–710<br>(377)                    | 91–708<br>(376)         | 90–704<br>(378)       | 0.256                      |
| Ксантин                   | 5.62–29.42<br>(17.22)                           | 5.58–29.67<br>(17.31)              | 5.54–29.73<br>(17.72)   | 5.64–29.32<br>(17.43) | 0.223                      |
| Уреидопропионовая кислота | < 10.26<br>(5.32)                               | < 10.32<br>(5.30)                  | < 10.34<br>(5.36)       | < 10.41<br>(5.51)     | 0.259                      |
| 5-Гидроксиметилурацил     | < 10.02<br>(5.24)                               | < 10.08<br>(5.27)                  | < 10.12<br>(5.25)       | < 9.85<br>(5.18)      | 0.125                      |

Продолжение таблицы 23

| 1               | 2                 | 3                 | 4                 | 5                | 6     |
|-----------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|-------|
| Аденин          | < 2.41<br>(1.11)  | < 2.38<br>(1.09)  | < 2.35<br>(1.08)  | < 2.46<br>(1.14) | 0.224 |
| Цитидин         | < 10.24<br>(4.64) | < 10.52<br>(4.73) | < 10.25<br>(4.60) | < 9.89<br>(4.55) | 0.258 |
| Дезоксиаденозин | < 2.04<br>(0.96)  | < 2.06<br>(0.97)  | < 2.08<br>(1.00)  | < 2.05<br>(0.99) | 0.423 |
| Уридин          | < 3.56<br>(1.64)  | < 3.45<br>(1.60)  | < 3.47<br>(1.58)  | < 3.53<br>(1.60) | 0.145 |
| Тимин           | < 1.71<br>(0.91)  | < 1.72<br>(0.91)  | < 1.79<br>(0.95)  | < 1.73<br>(0.92) | 0.327 |
| Дезоксиуридин   | < 2.04<br>(1.15)  | < 2.00<br>(1.13)  | < 1.96<br>(1.12)  | < 1.98<br>(1.12) | 0.148 |
| Инозин          | < 3.16<br>(1.52)  | < 3.20<br>(1.53)  | < 3.21<br>(1.55)  | < 3.22<br>(1.55) | 0.126 |
| Гуанозин        | < 1.53<br>(0.73)  | < 1.52<br>(0.73)  | < 1.53<br>(0.74)  | < 1.55<br>(0.75) | 0.089 |
| Дезоксигуанозин | < 2.04<br>(1.13)  | < 2.06<br>(1.14)  | < 2.08<br>(1.14)  | < 2.09<br>(1.16) | 0.326 |
| Тимидин         | < 0.21<br>(0.12)  | < 0.20<br>(0.12)  | < 0.19<br>(0.11)  | < 0.23<br>(0.12) | 0.136 |
| Аденозин        | < 2.02<br>(1.04)  | < 2.04<br>(1.05)  | < 2.05<br>(1.05)  | < 2.04<br>(1.05) | 0.098 |

*Примечание.* \* – статистически значимыми считались различия, для которых уровень значимости  $p < 0.0170$ .

Обращает на себя внимание тот факт, что при ретроспективном анализе РИ, рассчитанных для детей из контрольной группы, практически для всех пуринов и пиримидинов в образцах мочи различие в границах РИ для возрастной группы 1–23 месяца и остальными возрастными группами незначимо (менее 5%). На основании этого можно сказать, что данные показатели не зависят от возраста обследованных.

### **3.3.2. Характеристика данных, полученных при анализе образцов мочи пациентов с помощью валидированной методики количественного определения пуринов и пиримидинов**

В приложении представлены хроматограммы образцов мочи обследованных с нормальным (рисунок А.15) и повышенным (рисунок А.16) содержанием пуринов и пиримидинов соответственно. При сравнении хроматограмм образцов мочи пациентов с нарушениями обмена пуринов и пиримидинов с таковыми для обследованных из контрольной группы (детей с доказанным отсутствием НБО

веществ) очевидно, что между ними имеются значительные различия, которые можно оценить даже визуально, без количественной обработки полученных данных – на хроматограммах образцов мочи пациентов с данной патологией обращает на себя внимание значительное увеличение аналитического сигнала пиков диагностических маркеров. Также в приложении на рисунках А.17 и А.18 приведено сравнение хроматограмм образцов мочи, обследованных из контрольной группы и пациентов с некоторыми выявленными заболеваниями. При количественной обработке полученных экспериментальных данных установлено, что концентрации пуринов и пиримидинов у пациентов с данным нарушением обмена значительно превышают таковые у здоровых детей из контрольной группы. Полученные экспериментальные данные, определенно, показывают диагностическую эффективность данного метода при проведении диагностики данного типа наследственного нарушения метаболизма.

### ***3.3.3. Биохимические маркеры наследственных болезней обмена пуринов и пиримидинов***

По результатам анализа образцов мочи 42 детей с подозрением на нарушения обмена пуринов и пиримидинов (третья группа), на основании характерных клинико-лабораторных данных выявлено 18 пациентов с данными нарушениями (таблица 24). Результаты анализа образцов мочи пациентов из третьей группы с выявленными заболеваниями и соответствующей группы сравнения приведены в приложении в таблице А.7.

Таблица 24 – Заболевания, выявленные в третьей группе пациентов с подозрением на нарушения обмена пуринов и пиримидинов по результатам анализа образцов мочи методом ВЭЖХ-МС/МС

| <b>Нозологическая форма</b>                                | <b>Изменение уровня содержания маркера(-ов)</b>                    | <b>Количество пациентов</b> |
|--|--|-----------------------------|
| Дефицит дигидропиримидин-дегидрогеназы                     | Повышение урацила и тимина   | 2                           |
| Дефицит дигидропиримидиназы                                | Значительное повышение дигидро-урацила; повышение урацила и тимина | 3                           |
| Синдром Леша-Нихана  | Значительное повышение мочевой кислоты                             | 3                           |
| Гиперактивность фосфорибозил-пирофосфат-синтазы I (ФРПС I) | Повышение ксантина   | 1                           |
| Наследственная ксантинурия                                 | Повышение ксантина   | 3                           |
| Дефицит пурин-нуклеозид-фосфорилазы                        | Повышение инозина, гуанозина, дезоксигуанозина                     | 2                           |
| Наследственная оротовая ацидурия I типа                    | Повышение оротовой кислоты   | 4                           |

В двух случаях у пациентов был выявлен дефицит дигидропиримидин-дегидрогеназы. У этих пациентов концентрации урацила превышали верхнюю границу РИ примерно в 10 раз (были равны 325 и 228 ммоль/моль креатинина) и концентрации тимина превышали верхнюю границу РИ в 12–15 раз (были равны 25 и 29 ммоль/моль креатинина) (рисунок 11).

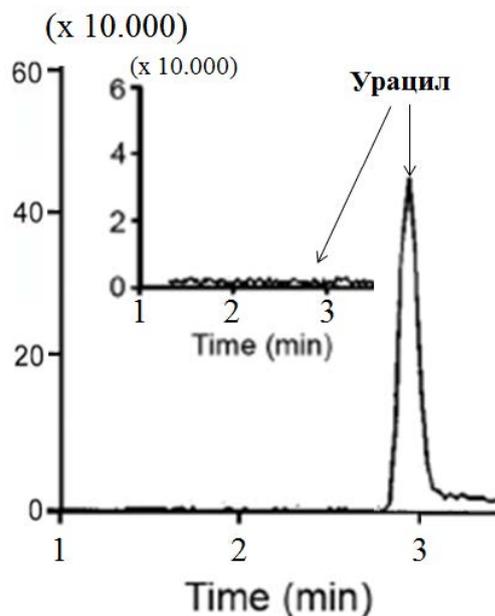


Рисунок 11 – Сравнение хроматограмм образцов мочи у обследованного из контрольной группы (малый график) и у пациента с дефицитом дигидропиримидин-дегидрогеназы (большой график) (диагностический маркер – урацил; метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси X указано время хроматографирования в минутах, по оси Y указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

В трех случаях был подтвержден диагноз дефицита дигидропиримидиназы; концентрации дигидроурацила были 189, 202 и 263 ммоль/моль креатинина, что превышает верхнюю границу РИ более чем в 10 раз. Также в моче этих пациентов наблюдалось повышенное содержание тимина, его концентрация определялась в диапазоне 12–23 ммоль/моль креатинина. Только у двух из трех пациентов с данным диагнозом был превышен уровень урацила, причем у одного пациента, он незначительно превышал верхнюю границу РИ (36 ммоль/моль креатинина), а у второго пациента превышение концентрации урацила было более чем в 3 раза по сравнению с верхней границей его РИ (82 ммоль/моль креатинина).

У трех пациентов был выявлен синдром Леша-Нихана, и концентрации мочевой кислоты составляли 1325, 958 и 1411 ммоль/моль креатинина, что

значительно превышало верхнюю границу РИ. Концентрации остальных пуринов и пиримидинов у этих пациентов находились в пределах РИ.

У одного ребенка был выявлен диагноз гиперактивности фосфорибозил-пирофосфат-синтазы I (ФРПС I); концентрация ксантина превышала верхнюю границу РИ примерно в 2 раза и составляла 64 ммоль/моль креатинина. Уровни остальных пуриновых и пиримидиновых оснований находились в пределах РИ.

У трех пациентов был выявлен диагноз наследственной ксантинурии, причиной которого является дефицит ксантин-оксидоредуктазы. Диагностический метаболит данного заболевания – ксантин, и его концентрации у пациентов составили 98, 44 и 58 ммоль/моль креатинина, что превышало верхнюю границу РИ в 1.4–3 раза.

У двух детей был выявлен дефицит пурин-нуклеозил-фосфорилазы. У пациентов с данным заболеванием наблюдалось многократное повышение нескольких маркерных метаболитов: гуанозина (23 и 39 ммоль/моль креатинина), инозина (15 и 29 ммоль/моль креатинина) и дезоксигуанозина (24 и 26 ммоль/моль креатинина).

У четырех пациентов была выявлена наследственная оротовая ацидурия I типа, и концентрация оротовой кислоты варьировала от 380 до 1540 ммоль/моль креатинина, что значимо превышало верхнюю границу РИ.

У всех пациентов с выявленными нарушениями обмена пуринов и пиримидинов дополнительно были проведены молекулярно-генетические исследования, которые также подтвердили наличие патогенных мутаций.

У остальных двадцати четырех пациентов были выявлены незначительные превышения уровней некоторых пуриновых и пиримидиновых оснований в моче. В частности, у четырех пациентов уровень оротовой кислоты находился в диапазоне 12–25 ммоль/моль креатинина, у трех пациентов был определен повышенный уровень уреидопропионовой кислоты (от 15.2 до 19.1 ммоль/моль креатинина), а у двух детей концентрации аденозина были 6.3 и 8.6 ммоль/моль креатинина. Кроме того, у четырех пациентов наблюдались повышенные уровни цитидина в диапазоне 15.6–20.1 ммоль/моль креатинина. Концентрации

остальных пуринов и пиримидинов у всех двадцати четырех пациентов были пределах, соответствующих РИ или, незначительно превышали их верхние границы.

Проанализированы образцы мочи 35 детей из группы сравнения (пациенты из первой группы с подозрением на аминокислотопатию, органические ацидемии/ацидурии). У всех пациентов этой группы все показатели были в пределах РИ или на их верхней границе.

Также были проанализированы образцы мочи 30 детей из контрольной группы (обследованных с доказанным отсутствием НБО веществ). У всех обследованных исследуемые показатели были в пределах РИ или на их верхней границе (таблице А.8 в приложении).

### **3.4. Примеры эффективного применения хромато-масс-спектрометрических методов анализа при проведении диагностики различных наследственных болезней обмена веществ у детей**

**Синдром Леша-Нихана.** Ребенок с нарушениями развития, мальчик, родился в срок, от третьих родов, масса тела при рождении 4,8 кг, длина – 57 см; оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Кровное родство родителями отрицалось. С 3-го месяца жизни стала заметна задержка двигательного развития, и с этого возраста ребенок стал постоянно наблюдаться у невролога), с 8-го месяца появились гиперкинезы, диагностированные как атетоз, а в возрасте 1 года и 1 месяца ребенку был поставлен диагноз ДЦП (в форме спастического тетрапареза).

Речь у ребенка появилась после трех лет, была нечеткой и отмечалась выраженная дизартрия. В 5 лет появилась аутоагрессия (кусание пальцев рук) и несколько отмечалась макрогематурия.

До 8 лет мальчик имел выраженную задержку моторного развития: не мог самостоятельно сидеть, делать шаги, брать в руки предметы. Из терапии ребенок получал курсы ноотропных препаратов для снижения гипертонуса мышц (Баклофен®, Мидокалм®, Сирдалуд®), но без выраженного положительного эффекта. С 8 лет мальчик потерял способность сидеть и ходить с поддержкой,

манипуляции с предметами стали невозможны. Появились приступы, которые были определены как эпилептические, и для них было характерно: резкое выгибание туловища назад, продолжительные волнообразные движения в конечностях, выраженный гипертонус и тремор, в результате чего была назначена терапия антиконвульсантами. Была зарегистрирована фокальная эпилептиформная активность на ЭЭГ-видеомониторинге, что послужило основанием для продолжения лечения антиконвульсантами, но описанные приступы сохранялись. К 9 годам аутоагрессия усугубилась: кусание языка, внутренней поверхности щек, губ. Результаты проведенной лабораторной диагностики свидетельствовали о том, что с четырех лет у ребенка отмечалось повышенное содержание солей мочевой кислоты в моче, а с 8 лет стала наблюдаться динамика повышения уровня мочевой кислоты в крови. В возрасте 8.5 лет неврологом, на основании совокупности клинической картины и лабораторных данных (гиперурикемия и гиперурикозурия), впервые был заподозрен синдром Леша–Нихана. В 9 лет ребенок поступил в НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Вельтищева МЗ РФ, в отделение наследственных и врожденных заболеваний с нарушением психики для углубленного обследования. Физическое развитие ребенка оценивалось как среднее, гармоничное. В неврологическом статусе определялись гипотония мышц (в руках и проксимальных отделах ног) и спастический гипертонус (в дистальных отделах ног). При УЗИ почек обнаружены гиперэхогенные включения до 2 мм, некоторые из них с акустической тенью. Впервые было проведено исследование мочи методом ВЭЖХ-МС/МС, которое выявило повышенный уровень мочевой кислоты (958 ммоль/моль креатинина), что подтвердило подозрения на диагноз синдрома Леша-Нихана, и для окончательного диагноза было рекомендовано проведение молекулярно-генетического исследования. В лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ РАМН (профессором А.В. Поляковым) методом прямого автоматического секвенирования гена HPRT1 выявлена делеция трех нуклеотидов с.24\_26delCGT в первом экзоне гена в гомозиготном состоянии. У матери ребенка данная мутация

обнаружена в гетерозиготном состоянии, у сестры пробанда мутация не выявлена.

Таким образом, сочетание характерных симптомов позволило заподозрить синдром Леша–Нихана, но только проведение исследования методом ВЭЖХ-МС/МС помогло поставить диагноз, подтвержденный результатами молекулярно-генетического исследования.

**Дефект транспорта карнитина (CUD).** Мальчик, родился от родственного брака (родители – двоюродные сибсы), от первой беременности, протекавшей с токсокозом, после срочных родов, с внутриутробной гипотрофией; масса тела при рождении 2600 г, длина – 48 см. На первом году жизни наблюдалась задержка физического и психомоторного развития (самостоятельно ходить начал с 1,5 лет). В это же время по лабораторным показателям была выявлена тяжелая анемия (Hb – 37 г/л), и была назначена терапия: препараты железа коротким курсом, преднизолон – 15 мг/сут, переливание крови. В возрасте 1 года и 10 месяцев, через 1 месяц после перенесенного ОРВИ, произошло ухудшение состояния: появились одышка, слабость, повторная рвота. Ребенка госпитализировали в стационар, где были выявлены кардиологические изменения: тахикардия, приглушенность тонов, расширение границ сердца влево. После выписки самочувствие улучшилось, но через 2 недели вновь появилась одышка. На консультации в НЦССХ им. А.Н.Бакулева МЗ РФ, признаков врожденного порока сердца не обнаружено, но были выявлены гипертрофия и дилатация левого желудочка, и снижение сократительной способности миокарда на 55–58%, по данным ЭХО-КГ. В возрасте 2-х лет ребенок был направлен на обследование и лечение в НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Вельтищева МЗ РФ. Он поступил в отделение кардиологии в тяжелом состоянии с проявлениями острого бронхита (жалобами на влажный кашель, насморк, одышку, утомляемость). По результатам лабораторных анализов были выявлены следующие отклонения: анемия, ускорение СОЭ (до 20 мм/ч), сдвиг лейкоцитарной формулы в сторону нейтрофилов, умеренное повышение креатинфосфокиназы (КФК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аспаратаминотрансферазы (АСТ). На рентгенограмме грудной клетки выражены

признаки обструктивного синдрома: сердце проекционно смещено влево, верхушка округлена, дуги по левому контуру сглажены.

На ЭКГ были выявлены правопредсердная аритмия (ЧСС 84–110 уд/мин), горизонтальная ЭОС, перегрузка левого желудочка, транзиторное замедление внутрижелудочкового проведения, гипоксия миокарда (элевация ST, высокие зубцы T). На ЭХО-КГ выявлены признаки дилатационной кардиомиопатии с умеренной гипертрофией левого желудочка и снижением сократительной способности миокарда. По данным УЗИ размеры и структура печени не изменены. После всех инструментальных обследований был поставлен основной диагноз: подострый миокардит, недостаточность кровообращения 1 степени; и сопутствующий диагноз – острый бронхит. Проведена антибиотикотерапия (6 дней), курс противовоспалительной терапии преднизолоном и поддерживающая кофакторная терапия препаратами: Актовегин®, Панангин®, Капотен®, Элькар®, Предуктал®. При выписке наблюдалась значительная положительная динамика в виде нормализации сократительной функции миокарда, размеров полости левого желудочка, уменьшения степени гипертрофии миокарда левого желудочка. Через 2 месяца при контрольном ЭХО-КГ на фоне острого бронхита отмечено ухудшение всех параметров без признаков сердечной недостаточности. Для исключения аутоиммунного процесса на фоне хронического течения миокардита было проведено определение аутоантител к миокарду, и по полученным результатам был назначен повторный курс преднизолона (20 мг/сут), что практически сразу привело к положительной динамике. Подобные ухудшения систематически повторялись при заболевании ОРВИ или бронхитом. На фоне антибиотикотерапии и терапии преднизолоном (12.5 мг/сут) состояние всегда улучшалось с нормализацией показателей ЭХО-КГ. Ребенок проконсультирован эндокринологом и был установлен диагноз: соматогенная задержка роста, вторичный гипокортицизм, была назначена терапия препаратом Кортэф® (гидрокортизон), на котором отмечена положительная динамика – ребенок стал активнее, снизилась утомляемость.

Однако в возрасте 3-х лет была отмечена резкая отрицательная динамика

состояния, и ребенок был вновь госпитализирован в отделение кардиологии НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Вельтищева МЗ РФ. Состояние при поступлении – средней тяжести. При впервые проведенном исследовании спектра аминокислот и ацилкарнитинов крови методом ВЭЖХ-МС/МС был отмечен очень низкий уровень свободного карнитина – 2.9 мкмоль/л при норме 20–60 мкмоль/л, низкое содержание ацетилкарнитина – 1.9 мкмоль/л (норма 2–50 мкмоль/л) и суммарное содержание ацилкарнитинов также было резко снижено – 2.7 мкмоль/л при норме > 18 мкмоль/л. Изменение этих лабораторных маркеров дало основание заподозрить заболевание из группы наследственных дефектов обмена жирных кислот.

С лечебной и диагностической целью ребенку был назначен лекарственный препарат Элькар® (левокарнитин, 500 мг/сут). При повторном исследовании через 10 дней обнаружено незначительное повышение уровня свободного карнитина в крови до 5.6 мкмоль/л, при отсутствии накопления отдельных ацилкарнитинов, и суммарное количество ацилкарнитинов оставалось низким. Анализ органических кислот мочи не выявил дикарбоновую ацидурию, что позволило исключить все формы дефектов транспорта и окисления ЖК и указывало на наличие у мальчика первичного системного дефицита карнитина. Таким образом, у ребенка, родившегося от родственного брака, в клиническом статусе имели место клинические и лабораторные признаки, характерные для системного дефицита карнитина: слабость, утомляемость, дилатационная кардиомиопатия, задержка физического развития, мышечная гипотония, увеличение размеров печени, анемия, гипогликемия, гиперферментемия с повышением активности КФК, ЛДГ и АСТ, крайне низкий уровень всех соединений карнитина (общего, свободного и связанного ацетилкарнитина). В лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ РАМН (профессором А.В. Поляковым) было осуществлено молекулярно-генетическое исследование гена SLC22A5 и выявлена делеция в гомозиготном состоянии, затрагивающая экзоны 8, 9, 10, что подтвердило установленный диагноз. Таким образом, кардиомиопатия, отставание физического развития и другие клинические нарушения имели метаболическое происхождение и были

обусловлены наличием первичного системного дефицита карнитина.

Из-за того, что клиническая картина не позволяла однозначно поставить диагноз и предположить наличие у ребенка наследственного заболевания обмена, то только проведение исследования методом ВЭЖХ-МС/МС помогло поставить правильный диагноз, подтвержденный результатами молекулярно-генетического исследования. В Российской Федерации диагноз системного дефицита карнитина был установлен впервые, соответствующие данные в литературе отсутствовали.

**Дефицит дигидропиримидиназы.** Ребенок, родился от первых родов в срок (плановое кесарево сечение), масса тела при рождении 3,5 кг, длина – 57 см; оценка по шкале Апгар 8/9 баллов. Родители ребенка в кровном родстве не состояли. На 3–4 день после рождения отмечалась неонатальная желтуха, с пиковым уровнем билирубина 254 мкмоль/л, который нормализовался после фототерапии. В возрасте 2-х лет из-за задержки речевого развития и плохого зрительного контакта был отправлен в отделение генетики НИКИ педиатрии и детской хирургии имени академика Вельтищева МЗ РФ. В анамнезе присутствовали: задержка психоречевого развития с признаками аутизма, физическое и двигательное развитие соответствовало возрастным нормам, неврологических отклонений выявлено не было.

Показатели клинического и биохимического анализа крови были в норме. Анализ пуриновых и пиримидиновых оснований в моче методом ВЭЖХ-МС/МС показал наличие повышенной экскреции дигидроурацила, урацила, тимина. После проведения биохимической диагностики с подозрением на дефицит дигидропиримидиназы, было назначено генетическое тестирование мутаций в гене DPYS. В лаборатории ДНК-диагностики МГНЦ РАМН (профессором А.В. Поляковым) в результате проведенного молекулярно-генетического исследования данного гена выявлены две мутации в гетерозиготном состоянии, что подтвердило установленный диагноз.

Таким образом, клиническая картина не позволяла однозначно поставить диагноз и предположить наличие у ребенка наследственного заболевания обмена пуринов и пиримидинов, так как были предпосылки к диагнозу аутизм или

нарушения аутического спектра, и только после проведения исследования методом ВЭЖХ-МС/МС был поставлен правильный диагноз, подтвержденный результатами молекулярно-генетического исследования.

### 3.5. Диагностическая значимость МС-маркеров наследственных болезней обмена веществ

#### 3.5.1. Подтверждение диагностической значимости основных (классических) маркеров, определяемых хромато-масс-спектрометрическими методами

При сравнении медиан с интерквартильными диапазонами для маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с выявленными НБО веществ видно их значимое (в 10–100 раз) различие. В качестве примеров приведено сравнение уровней маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с выявленными НБО аминокислот: фенилкетонурией (более чем в 100 раз), некототической гиперглицинемией и гипераммониемией (рисунок 12), болезнью «кленового сиропа» и аргининемией (рисунок 13).

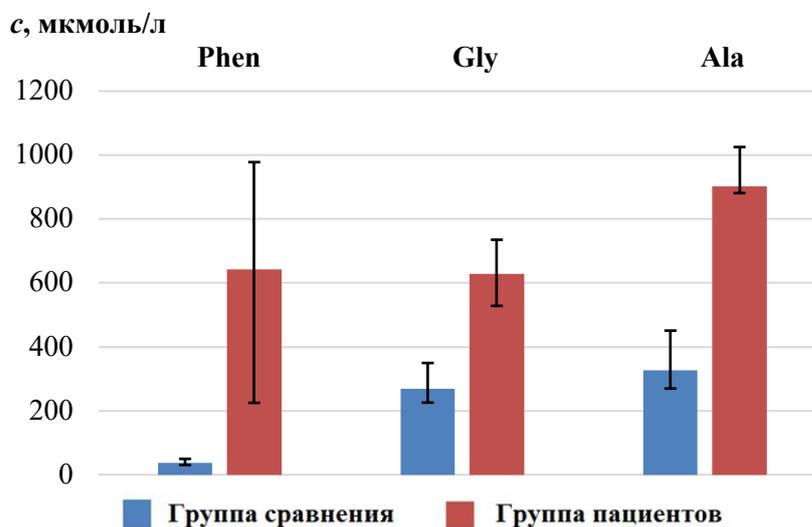


Рисунок 12 – Сравнение уровней маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с фенилкетонурией (диагностический маркер – фенилаланин (Phe)), некототической гиперглицинемией (диагностический маркер – глицин (Gly)) и гипераммониемией (диагностический маркер – аланин (Ala)).

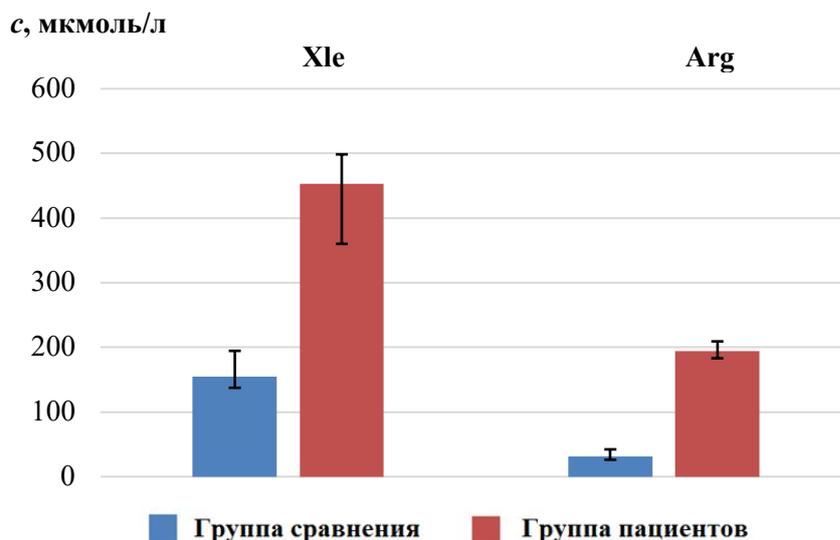


Рисунок 13 – Сравнение уровней маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с болезнью «кленового сиропа» (диагностический маркер – суммарный показатель (лейцин+изолейцин) (Xle)) и аргининемией (диагностический маркер – аргинин (Arg)).

Обращает на себя внимание, что у пациентов с метилмалоновой ацидезией уровень основного маркера данной патологии – пропионилкарнитина (C3) значительно выше по сравнению с таковым у обследованных из группы сравнения, тогда как у пациентов с гомоцистинурией наблюдается противоположная тенденция – у пациентов с патологией уровень основного маркера – метионина (Met) ниже по сравнению с таковым у обследованных из группы сравнения (рисунок 14).

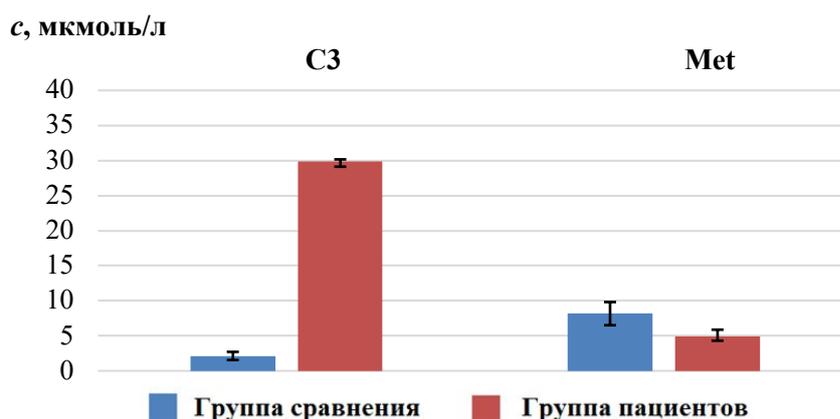


Рисунок 14 – Сравнение уровней маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с метилмалоновой ацидезией (диагностический маркер – пропионилкарнитин (C3)) и гомоцистинурией (диагностический маркер – метионин (Met)).

Тенденция значимого (в 10–100 раз) различия значений медиан диагностических метаболитов у пациентов с НБО веществ по сравнению с

такowymi у обследованных из группы сравнения наблюдалась и при нарушениях обмена органических кислот (рисунки 15 и 16).

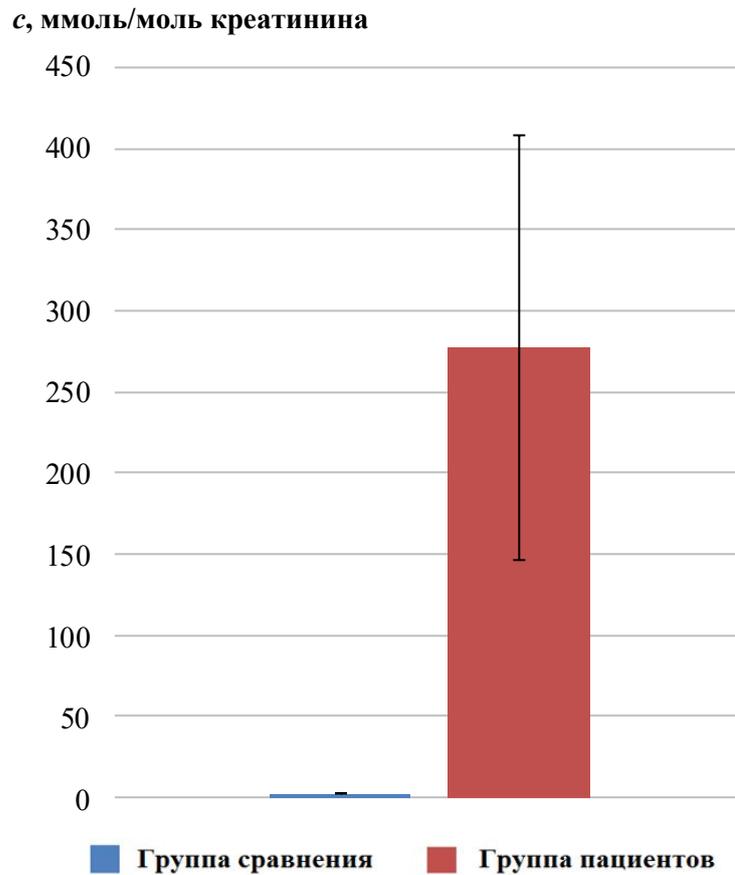


Рисунок 15 – Сравнение уровней *глутаровой кислоты* у обследованных из группы сравнения и у пациентов с глутаровой ацидезией.

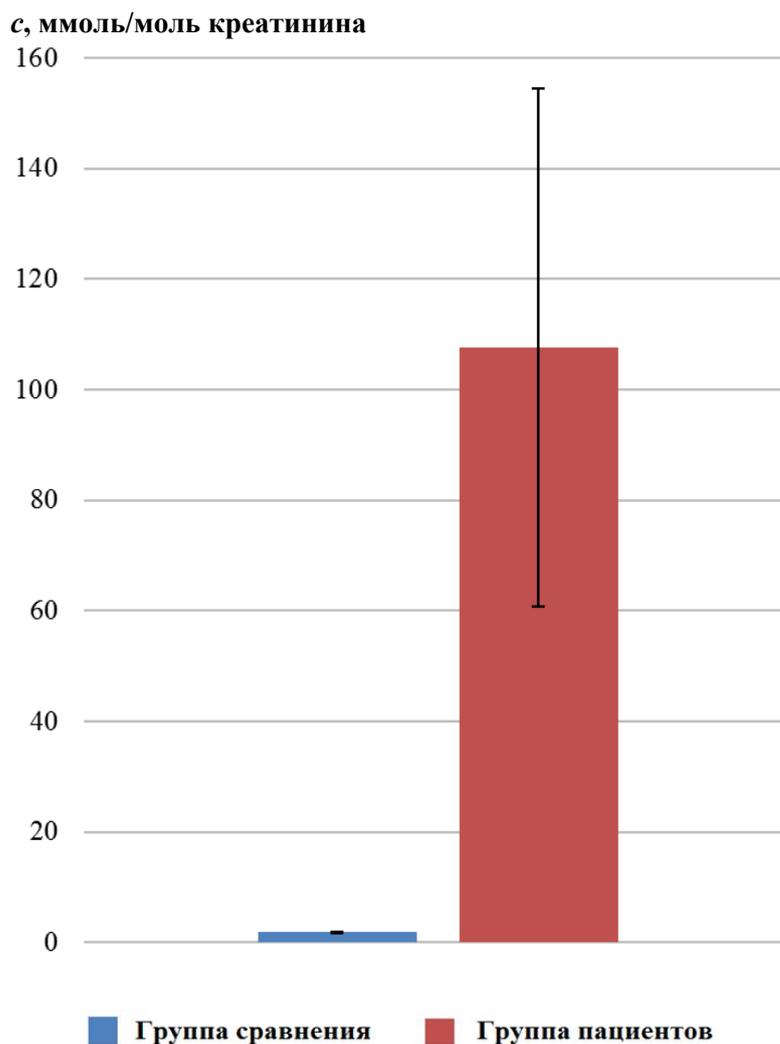


Рисунок 16 – Сравнение уровней *этилмалоновой кислоты* у обследованных из группы сравнения и у пациентов с дефицитом короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ.

Необходимо отметить, что при проведении подобных сравнений для маркерных метаболитов пероксисомных болезней значимые различия присутствовали только у гексакозановой (C26:0), фитановой и пристановой кислот, а также диагностически значимого соотношения C26:0/C22:0 (рисунок 17); у бегеновой (C22:0) и лигноцериновой кислот (C24:0), а также соотношения C24:0/C22:0 эти различия были статистически не значимы, и поэтому не имели диагностической значимости (рисунок 18).

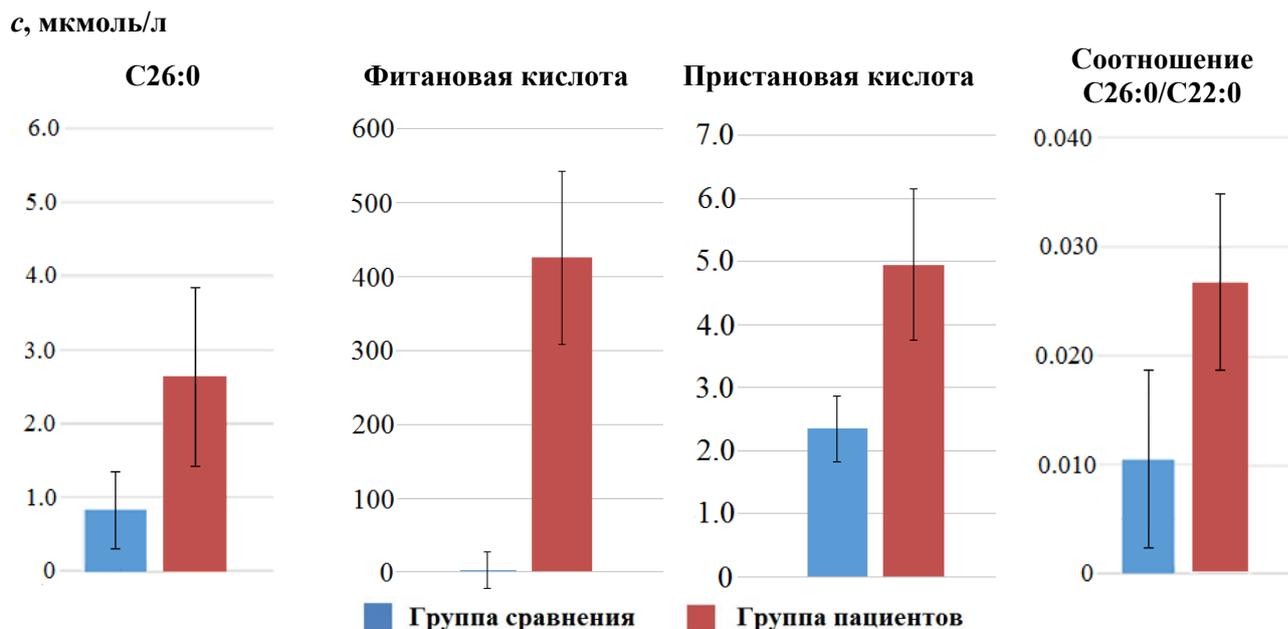


Рисунок 17 – Сравнение уровней диагностически *значимых* маркерных метаболитов пероксисомных болезней у обследованных из группы сравнения и у пациентов с данной патологией.

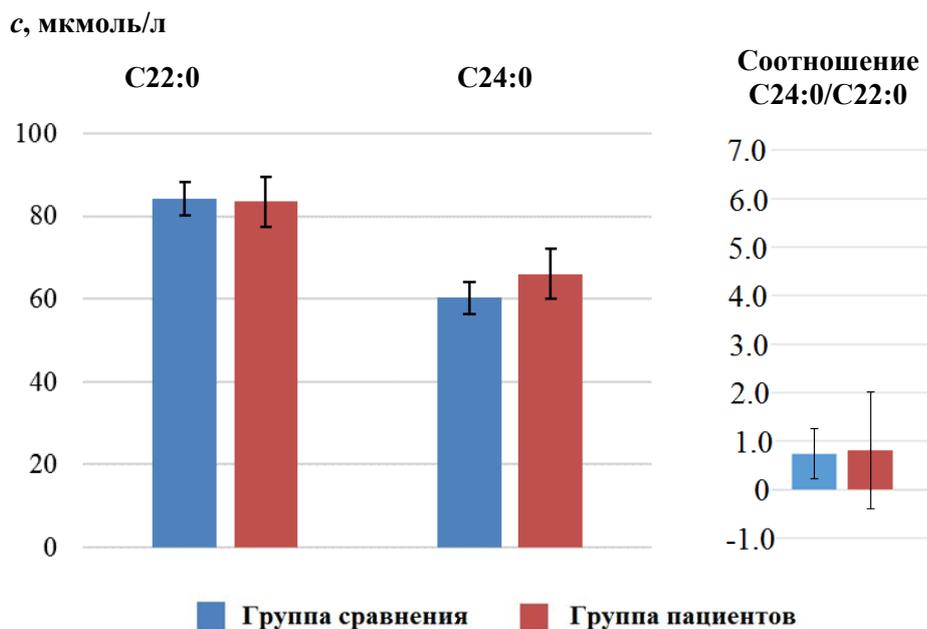


Рисунок 18 – Сравнение уровней диагностически *незначимых* маркерных метаболитов пероксисомных болезней у обследованных из группы сравнения и у пациентов с данной патологией.

Тенденцию значимого (в 10–100 раз) различия значений медиан диагностических метаболитов у пациентов с НБО веществ по сравнению с таковыми

у обследованных из соответствующей группы сравнения также можно было

проследить при нарушениях обмена пуринов и пиримидинов. В качестве примеров приведено сравнение значений медиан маркерных метаболитов у пациентов с дефицитом дигидропиримидиназы и наследственной оротовой ацидурией I типа (рисунок 19) и дефицитом пуриннуклеозидфосфорилазы (рисунок 20) с данными у обследованных из соответствующих групп сравнения.

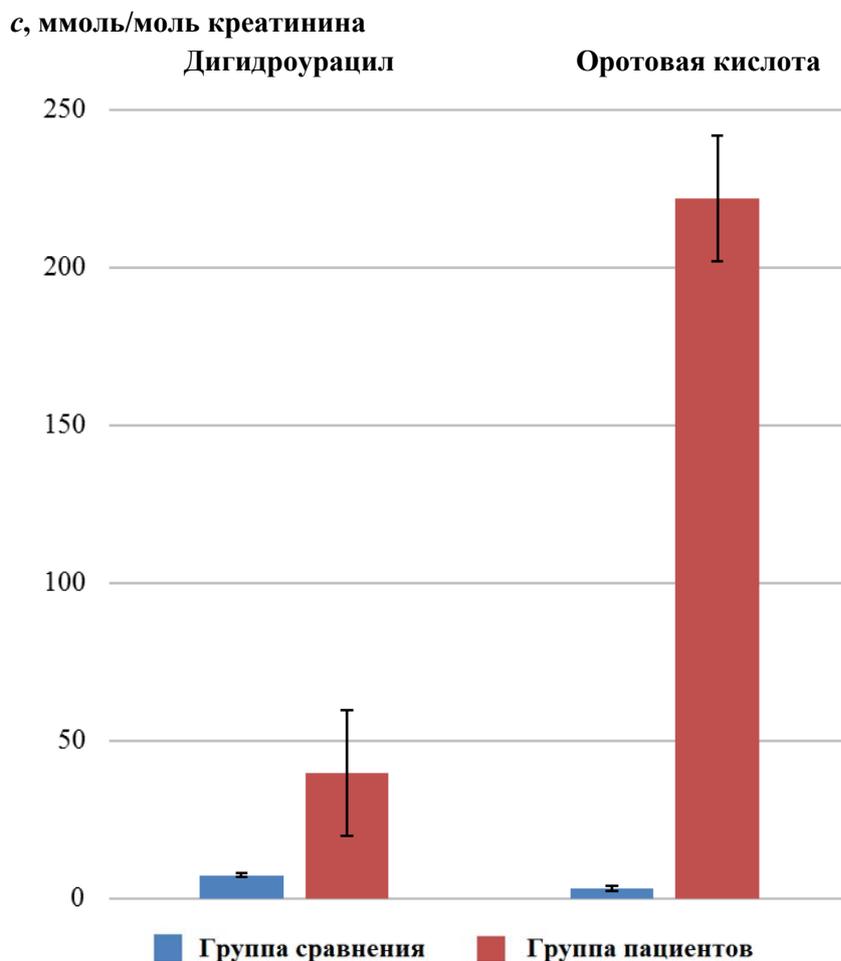


Рисунок 19 – Сравнение уровней маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с дефицитом дигидропиримидиназы (диагностический маркер – дигидроурацил) и наследственной оротовой ацидурии I типа (диагностический маркер – оротовая кислота).

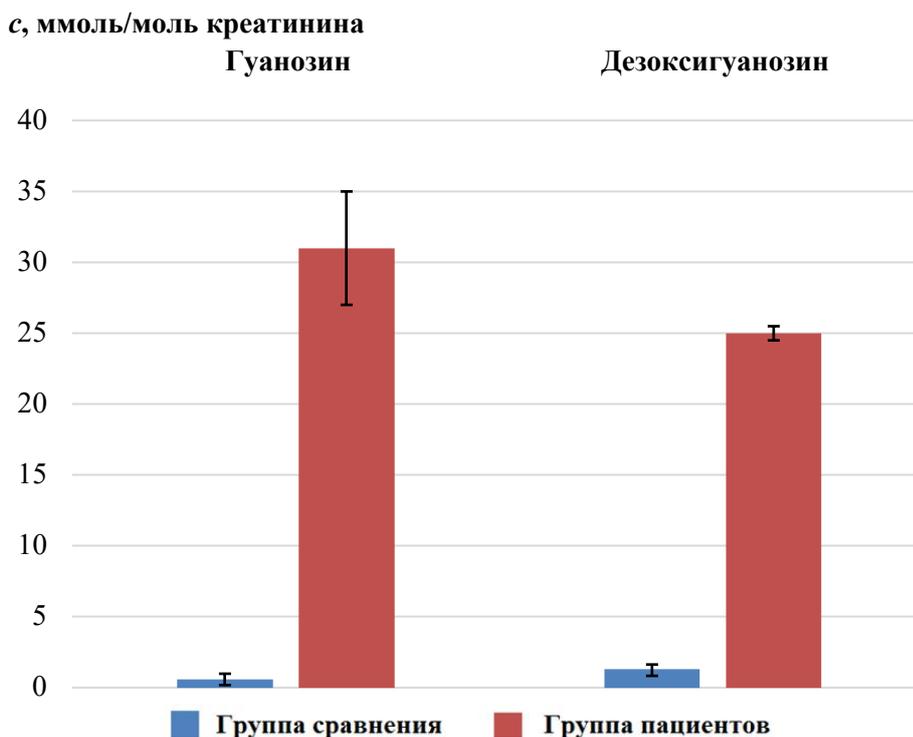


Рисунок 20 – Сравнение уровней маркерных метаболитов у обследованных из группы сравнения и у пациентов с выявленным дефицитом пуриннуклеозидфосфорилазы (диагностические маркеры – гуанозин, дезоксигуанозин).

Таким образом, приведенные выше примеры подтверждает диагностическую значимость биохимических маркеров, определяемых хромато-масс-спектрометрическими методами в настоящем исследовании, при проведении диагностики НБО аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ДЦЖК, а также пуринов и пиримидинов. По результатам исследования диагностическая значимость доказана для таких маркеров пероксисомных болезней как гексакозановая (C26:0), фитановая и пристановая кислоты, а также соотношения C26:0/C22:0.

### ***3.5.2. Диагностическая значимость дополнительных маркеров, определяемых хромато-масс-спектрометрическими методами***

На рисунке 21 представлена тепловая карта с дендрограммой для пациентов с выявленными НБО аминокислот и ацилкарнитинов, на которой в строках представлены данные по каждому пациенту с выявленной патологией, в столбцах – по анализируемым метаболитам, а потенциальные маркеры сгруппированы с помощью кластерного анализа.

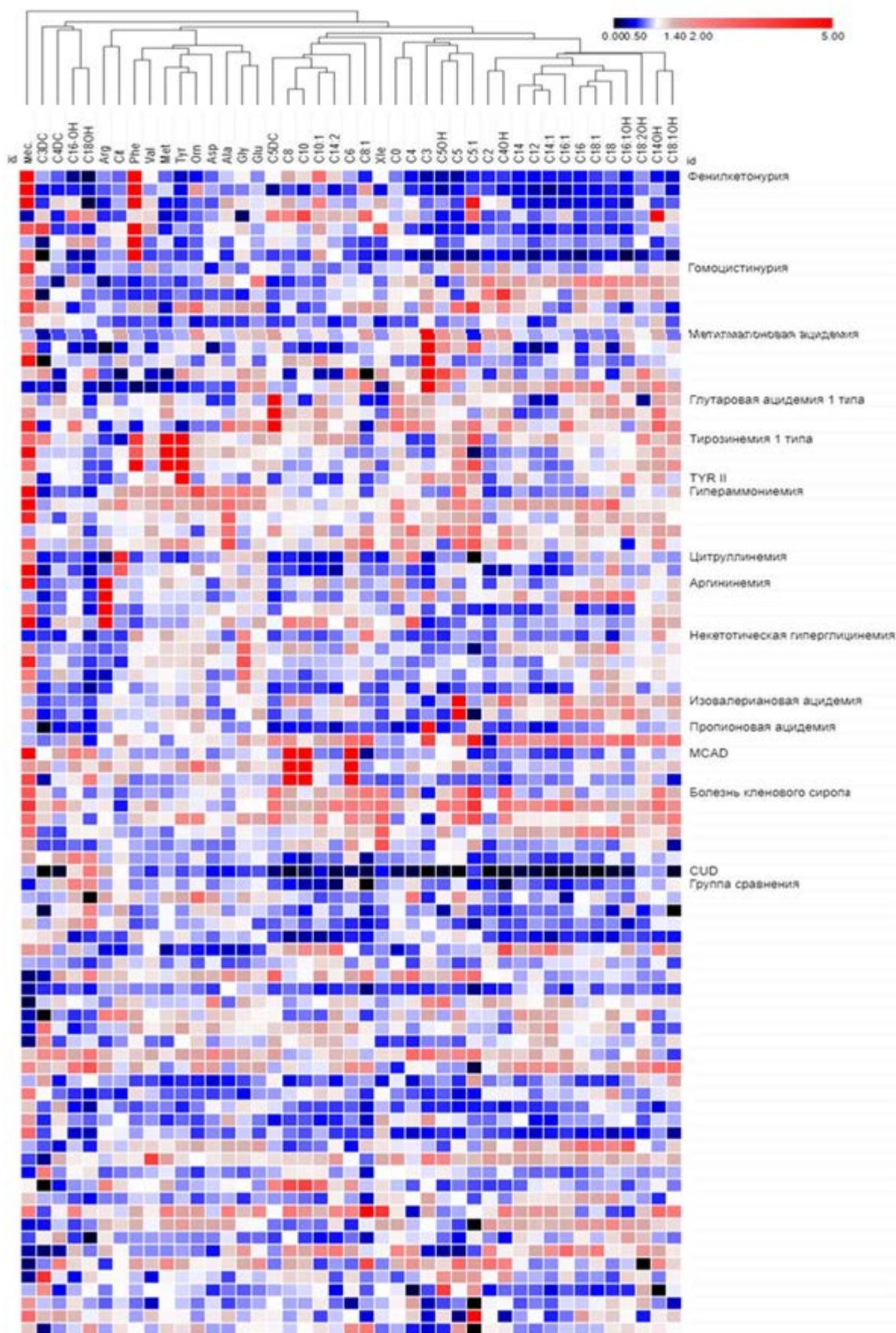
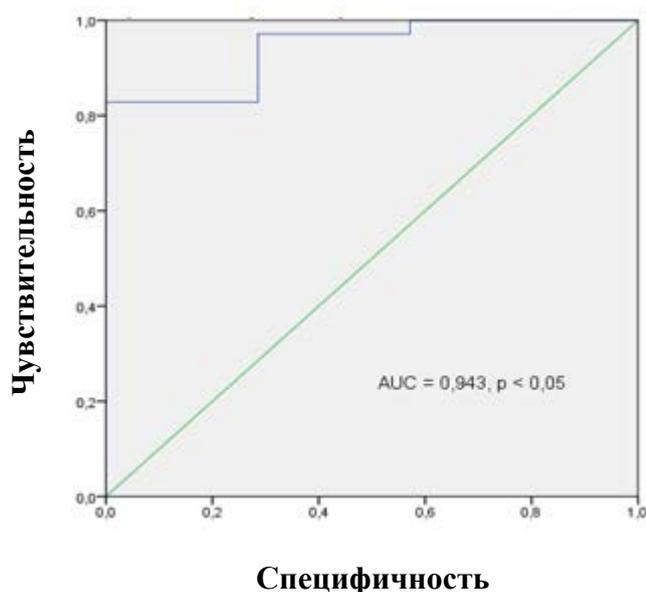


Рисунок 21 – Тепловая карта с дендрограммой профиля аминокислот и ацилкарнитинов у пациентов с нарушениями обмена этих веществ (отношение концентрации диагностических маркеров к их среднему значению в контрольной группе соответствует цветовой шкале).

При подробном рассмотрении данных, представленных в правом верхнем углу данной тепловой карты, отмечается снижение уровня короткоцепочечных и длинноцепочечных ацилкарнитинов в крови у пациентов с фенилкетонурией по сравнению с таковым у обследованных из группы сравнения, при сохранении содержания среднецепочечных ацилкарнитинов. Эти данные подтверждены для ацилкарнитинов C12, C14, C14:1, C16, C16:1, C18, C18:1, C5, C5OH непараметрическим критерием Манна-Уитни при  $p < 0.05$ . Таким образом, ацилкарнитиновый профиль может быть предложен в качестве потенциального дополнительного маркера при пограничных показателях фенилаланина.

Тенденция к снижению различных показателей ацилкарнитинового профиля (коротко-, и средне-, и длинноцепочечных ацилкарнитинов) также наблюдается у пациентов с цитруллинемией и некототической гиперглициемией. Несмотря на то, что эти, полученные впервые данные, не достаточны для формулировки значимых статистических выводов, они, определенно, являются основанием для проведения дальнейших исследований по выявлению групп маркерных метаболитов для диагностики НБО аминокислот.

Для редких заболеваний специфичность намного более важный параметр, чем чувствительность, поэтому тесты с высокой специфичностью являются более диагностически эффективными [240]. На рисунке 22 представлена ROC-кривая для суммы нормализованных показателей ацилкарнитинов (C12+C16).



**Рисунок 22** – ROC-кривая для суммы нормализованных ацилкарнитинов (C12+C16).

Высокое значение площади под кривой (более  $> 0.9$ ), специфичности (близко к 100%) и чувствительности (выше 80%) позволяют предложить данный показатель в качестве потенциального вторичного маркера фенилкетонурии.

Несомненно, для диагностики фенилкетонурии уровень фенилаланина – один из самых значимых диагностических маркеров по сравнению с другими (рисунок 23), но дальнейшее изучение профиля ацилкарнитинов даст возможность с его помощью дифференцировать фенилкетонурию от других гиперфенилаланинемий.

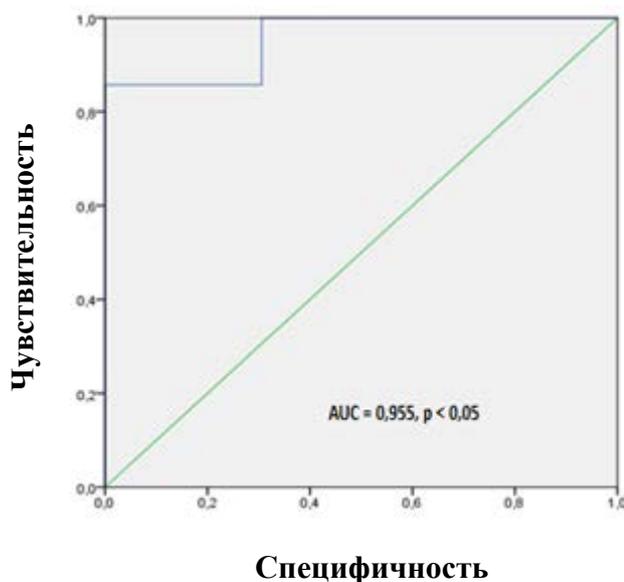


Рисунок 23 – ROC-кривая для фенилаланина при фенилкетонурии.

На рисунке 24 представлена тепловая карта с дендрограммой для пациентов с НБО пуринов и пиримидинов, на которой в строках представлены данные по каждому пациенту с выявленной патологией, в столбцах – по анализируемым метаболитам, а потенциальные маркеры сгруппированы с помощью кластерного анализа. При ее подробном анализе можно увидеть, что у пациентов с неопределенной патологией три неизвестных заболевания по пуриновому профилю очень близки к дефициту дигидропириминидазы, два профиля близки к профилю оротовой ацидурии I типа и один профиль близок к синдрому Леша-Нихана.

Данные примеры позволяют с уверенностью сказать, что иерархический кластерный анализ может служить надежным помощником лечащим врачам при постановке дифференциального диагноза.

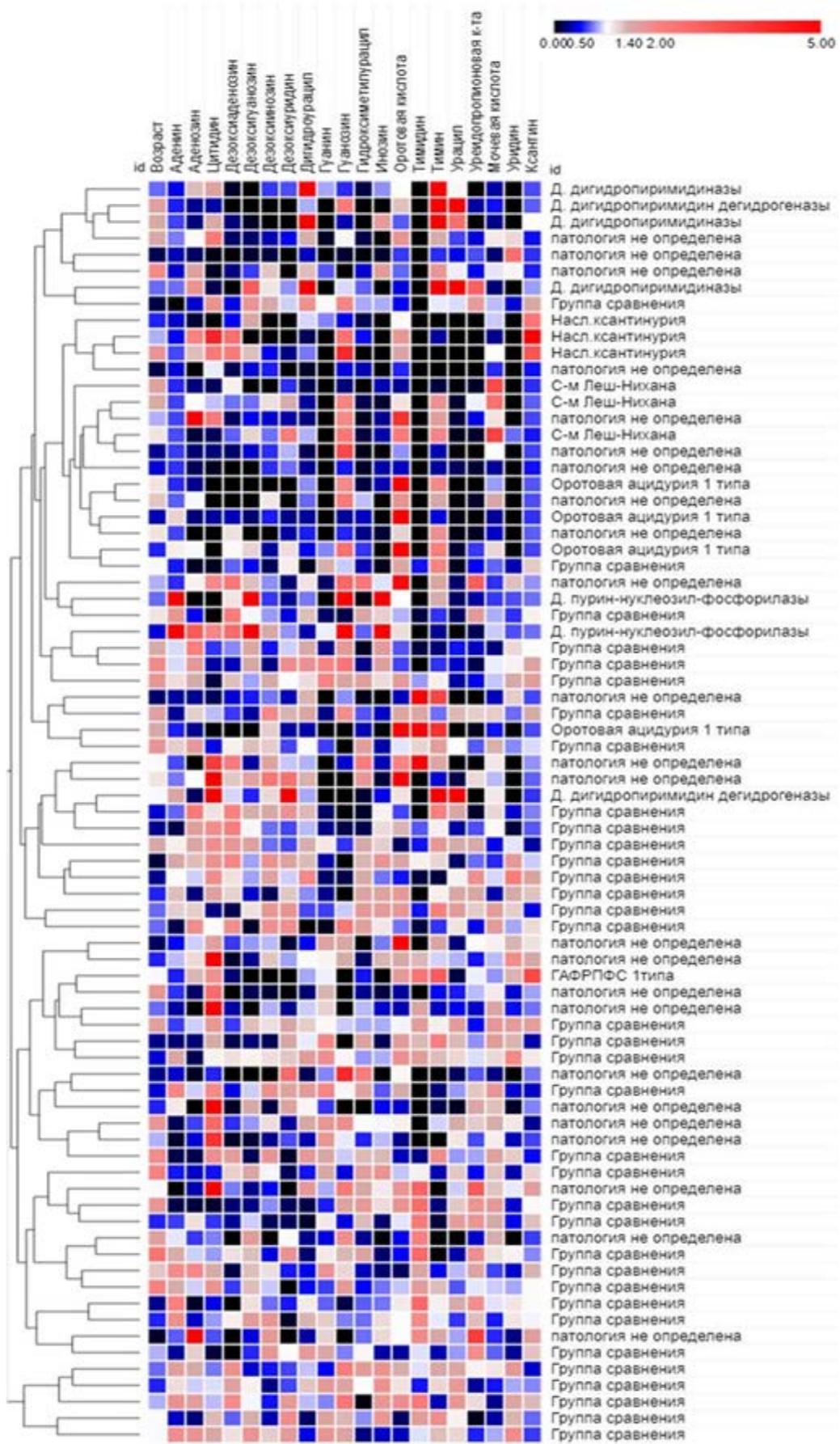


Рисунок 24 – Тепловая карта с дендрограммой профиля пуринов и пиримидинов у пациентов с данными нарушениями (отношение концентрации диагностических маркеров к их среднему значению в контрольной группе соответствует цветовой шкале).

Между некоторыми маркерами и группами маркеров, отобранных по результатам кластерного анализа (рисунки 21 и 24), был проведен корреляционный анализ (таблицы А.9–А.16 в приложении). Результаты корреляционного анализа изображены в виде рисунков, на которых делениями обозначены оси абсцисс и ординат для гистограмм, по диагонали расположен график распределения концентрации каждого маркерного метаболита; под диагональю представлены графики корреляционной зависимости между двумя переменными, над диагональю – значения коэффициентов корреляции и уровни их значимости.

Как и ожидалось, наиболее метаболически близкие соединения, например, короткоцепочечные ацилкарнитины, имели наиболее высокую корреляция (рисунок 25).

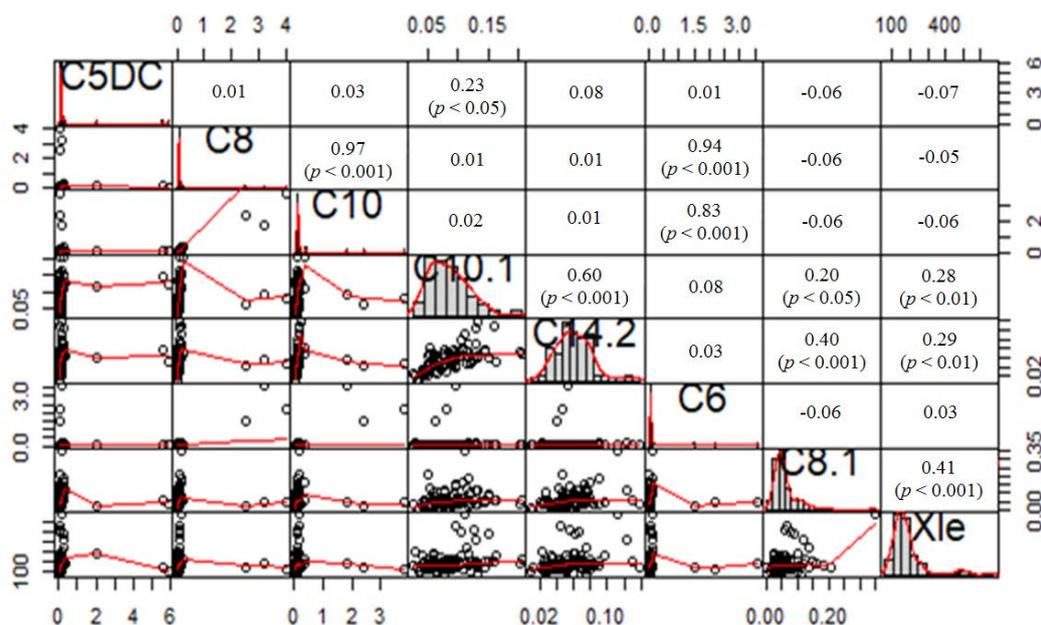


Рисунок 25 – Результаты корреляционного анализа в группе маркерных короткоцепочечных ацилкарнитинов ( $p$  – уровень значимости).

Однако корреляционная взаимосвязь проявлялась и среди метаболически слабо связанных аминокислот, например, метионином и тирозином, а также содержание орнитина имело достаточно выраженную корреляцию с уровнями аспарагиновой кислоты, глицина и глутаминовой кислоты. Содержание последней, в свою очередь, коррелировало с уровнями глицина, аланина, аспарагиновой кислоты и орнитина (рисунок 26).

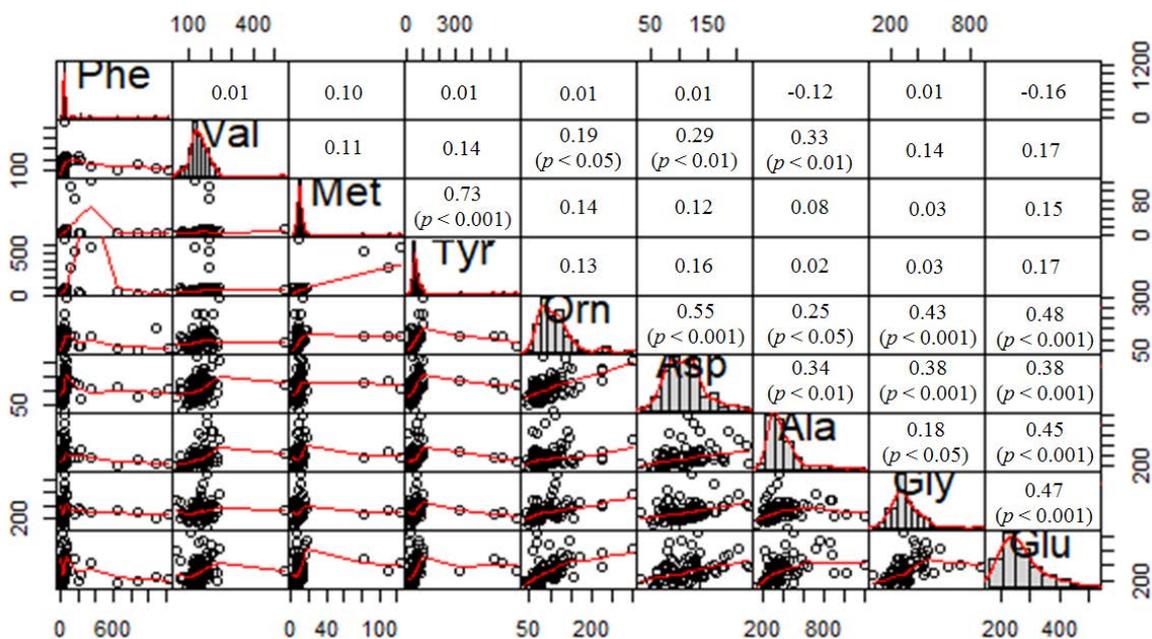


Рисунок 26 – Результаты корреляционного анализа в группе маркерных аминокислот ( $p$  – уровень значимости).

Высокую корреляцию свободного карнитина (C0) с ацетилкарнитином (C2) и бутирилкарнитином (C4) подтверждают результаты корреляционного анализа, представленные на рисунке 27.

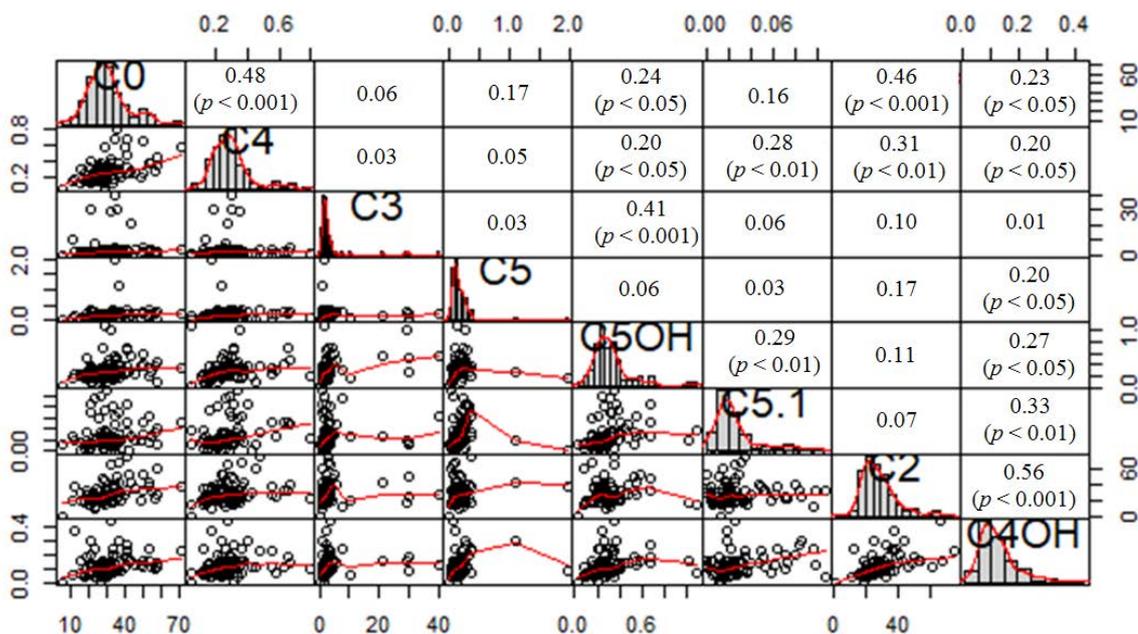


Рисунок 27 – Результаты корреляционного анализа в группе маркерных ацилкарнитинов ( $p$  – уровень значимости).

Высокая корреляция между всеми маркерами, входящими в группу длинноцепочечных ацилкарнитинами, позволяет использовать данную группу маркеров комплексно, то есть в виде единого профиля (рисунок 28).

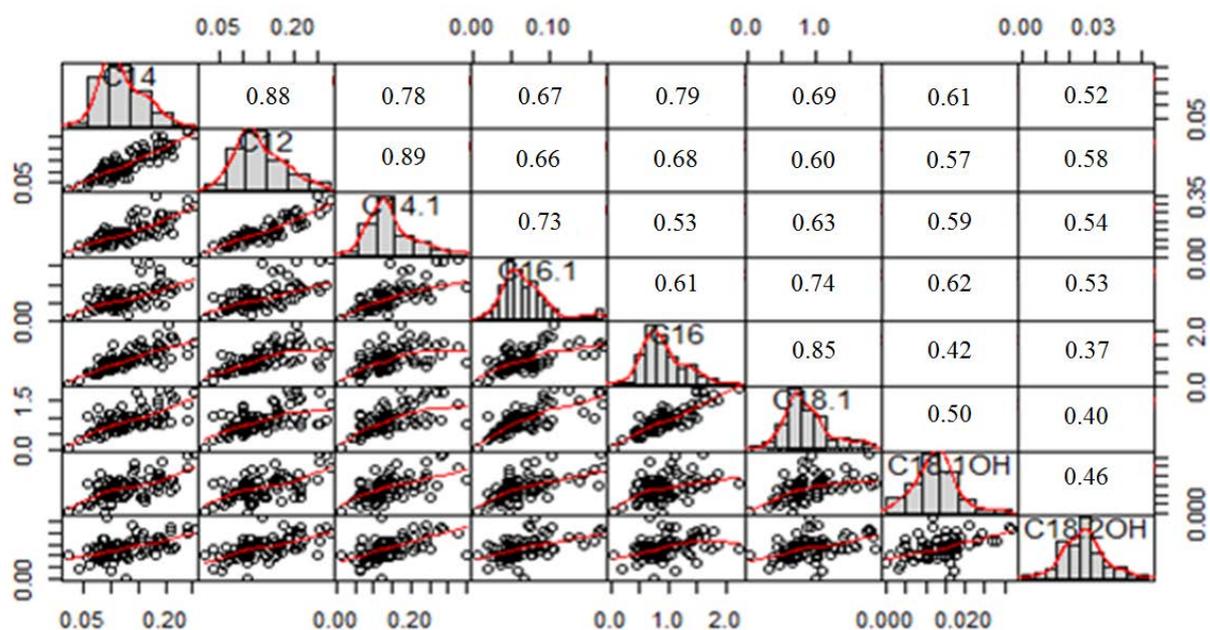


Рисунок 28 – Результаты корреляционного анализа в группе длинноцепочечных ацилкарнитинов (уровень значимости  $p < 0.001$ ).

В группе азотистых оснований имеется высокая корреляция внутри подгрупп и пуринов, и пиримидинов, и отсутствие значимых корреляций между этими подгруппами (рисунок 29).

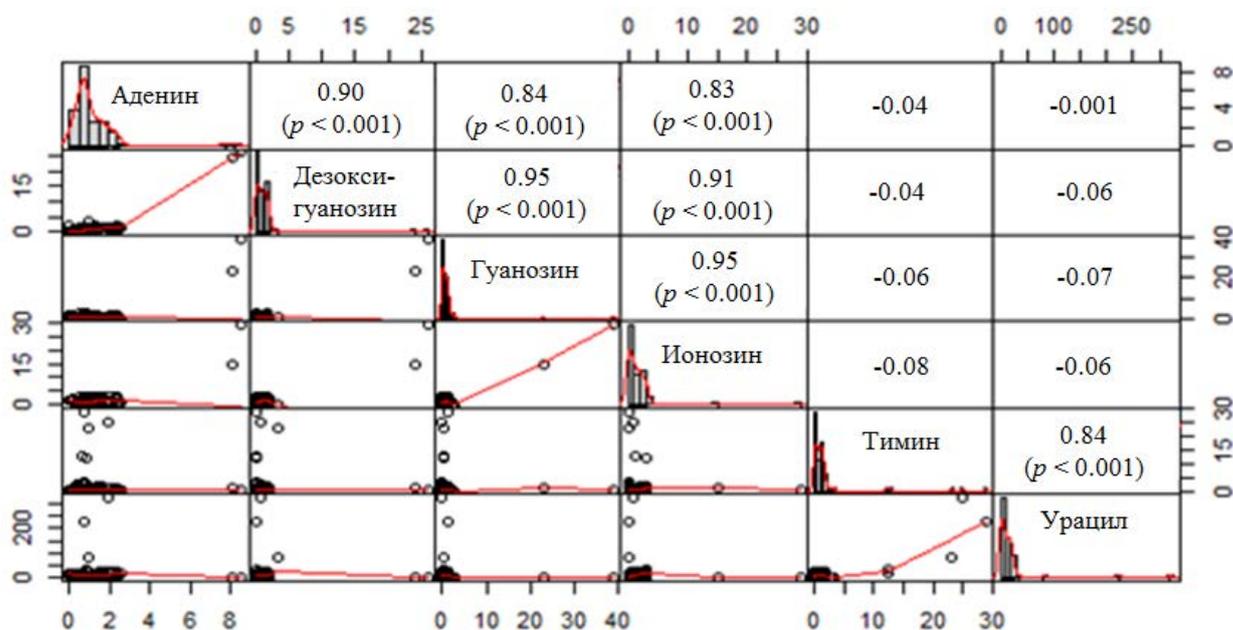


Рисунок 29 – Результаты корреляционного анализа в группе пуринов и пиримидинов ( $p$  – уровень значимости).

Необходимо заметить, что внутри подгрупп как пуринов, так пиримидинов не все маркеры хорошо коррелируют между собой. Между некоторыми метаболитами пуринового (рисунок 30) и пиримидинового (рисунок 31) обменов корреляционные зависимости практически отсутствуют.

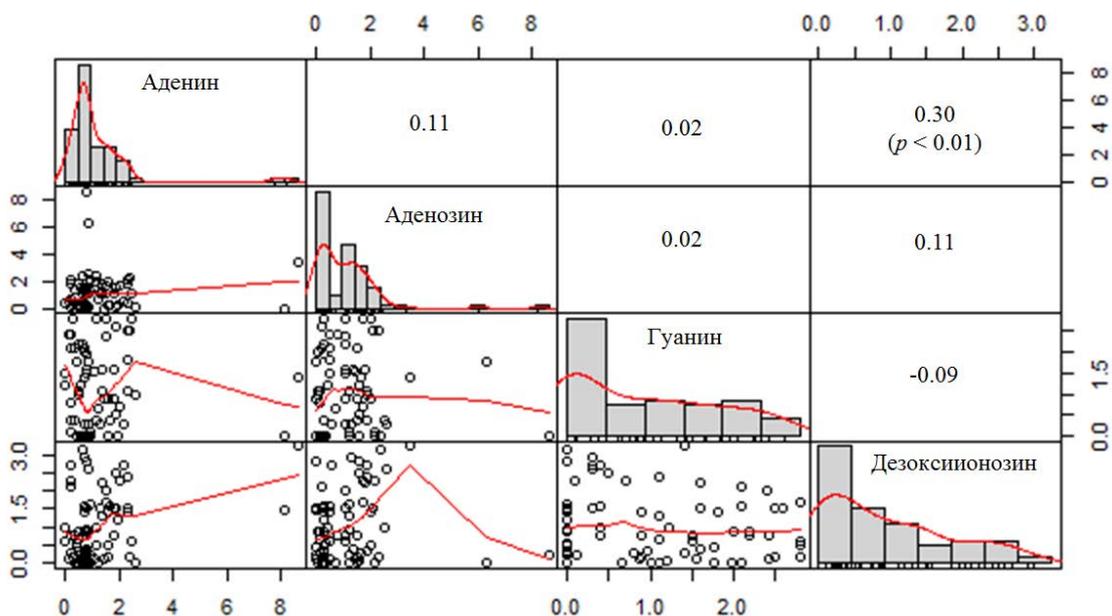


Рисунок 30 – Результаты корреляционного анализа между некоторыми метаболитами пуринового обмена ( $p$  – уровень значимости).

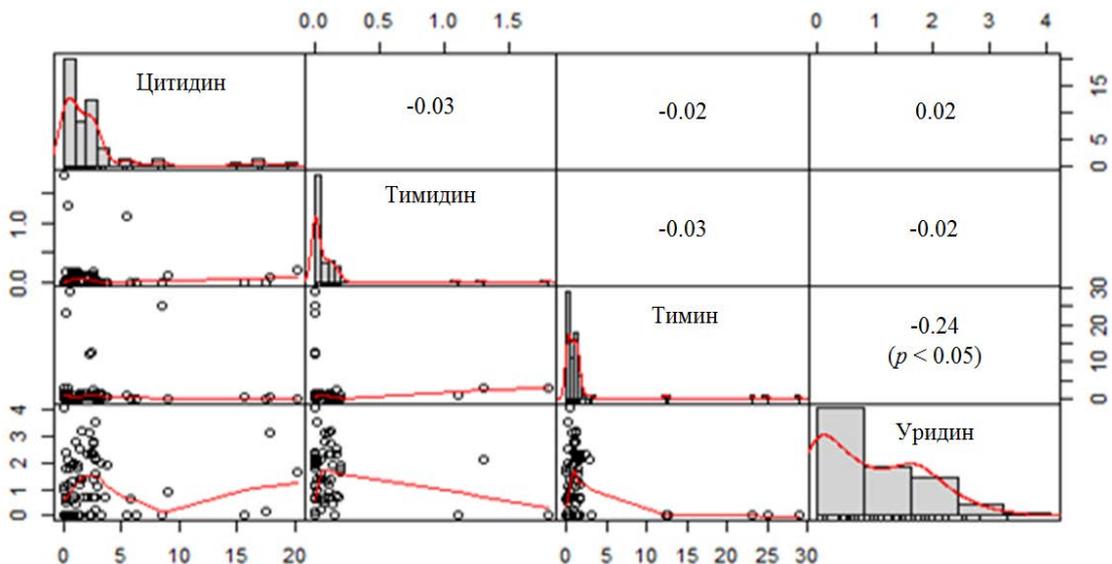


Рисунок 31 – Результаты корреляционного анализа между некоторыми метаболитами пиримидинового обмена ( $p$  – уровень значимости).

По результатам кластерного анализа сильно коррелирующие между собой органические кислоты можно сгруппировать в подгруппы, представленные на рисунках 32–35, при анализе которых можно отметить наличие корреляций между маркерами, казалось бы, химически и метаболически далекими друг от друга.

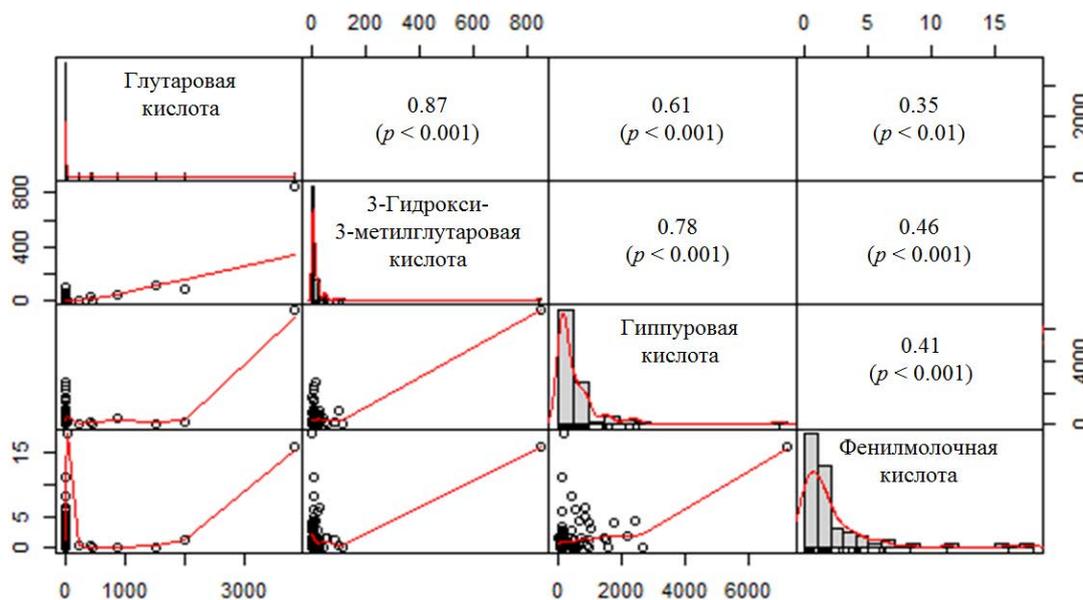


Рисунок 32 – Корреляционные связи между глутаровой, 3-гидрокси-3-метилглутаровой, гиппуровой и фенилмолочной кислотами ( $p$  – уровень значимости).

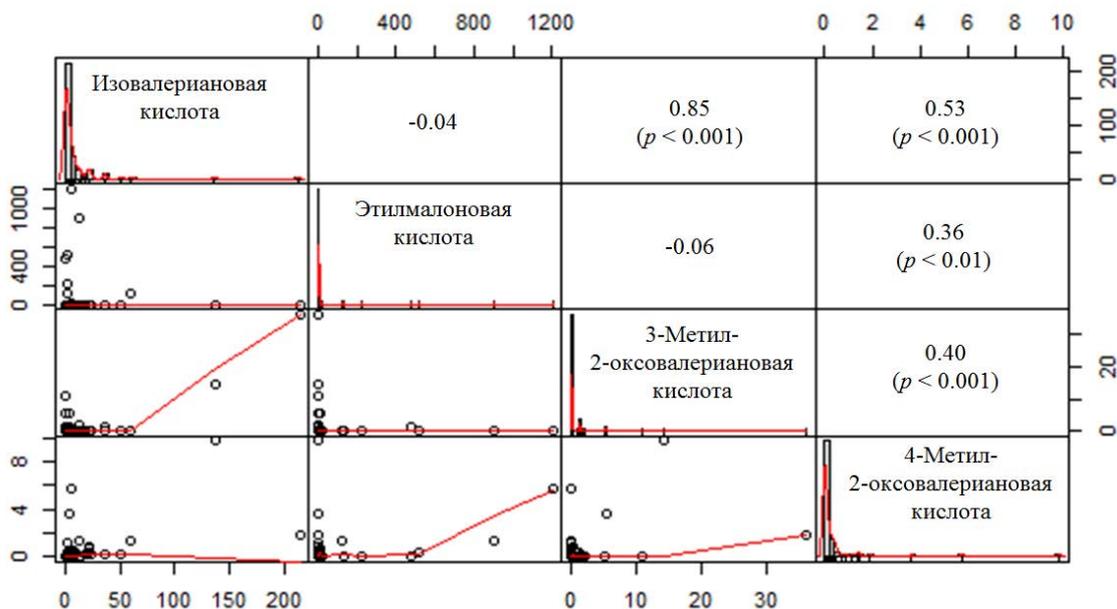


Рисунок 33 – Корреляционные связи между изовалериановой, этилмалоновой, 3-метил-2-оксовалериановой и 4-метил-2-оксовалериановой кислотами ( $p$  – уровень значимости).

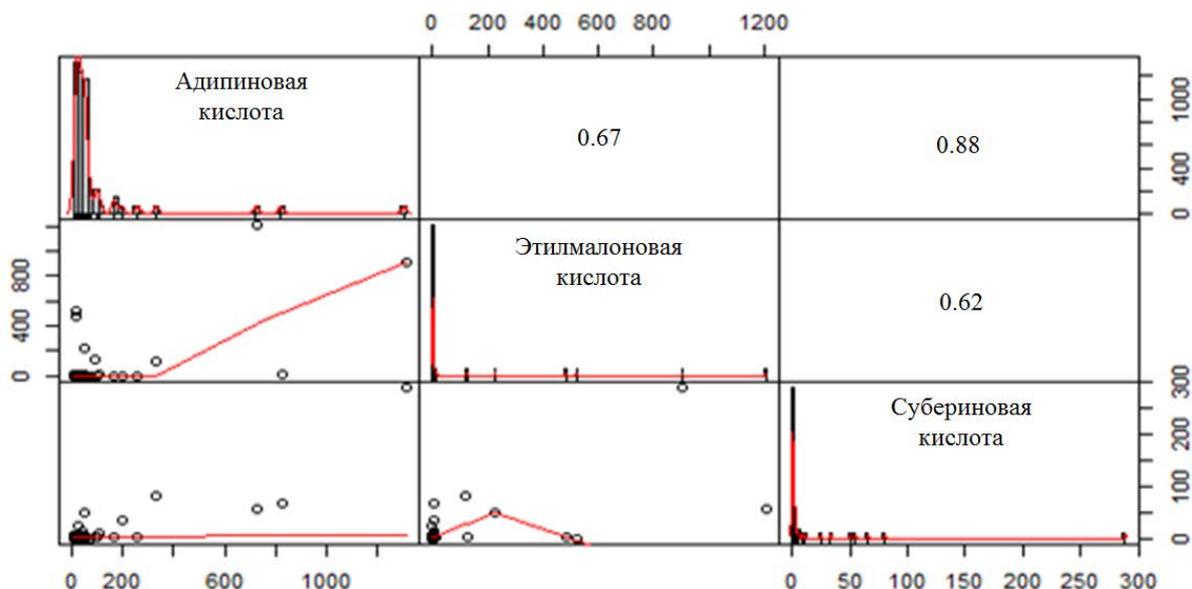


Рисунок 34 – Корреляционные связи между адипиновой, этилмалоновой и субериновой кислотами (уровень значимости  $p < 0.001$ ).

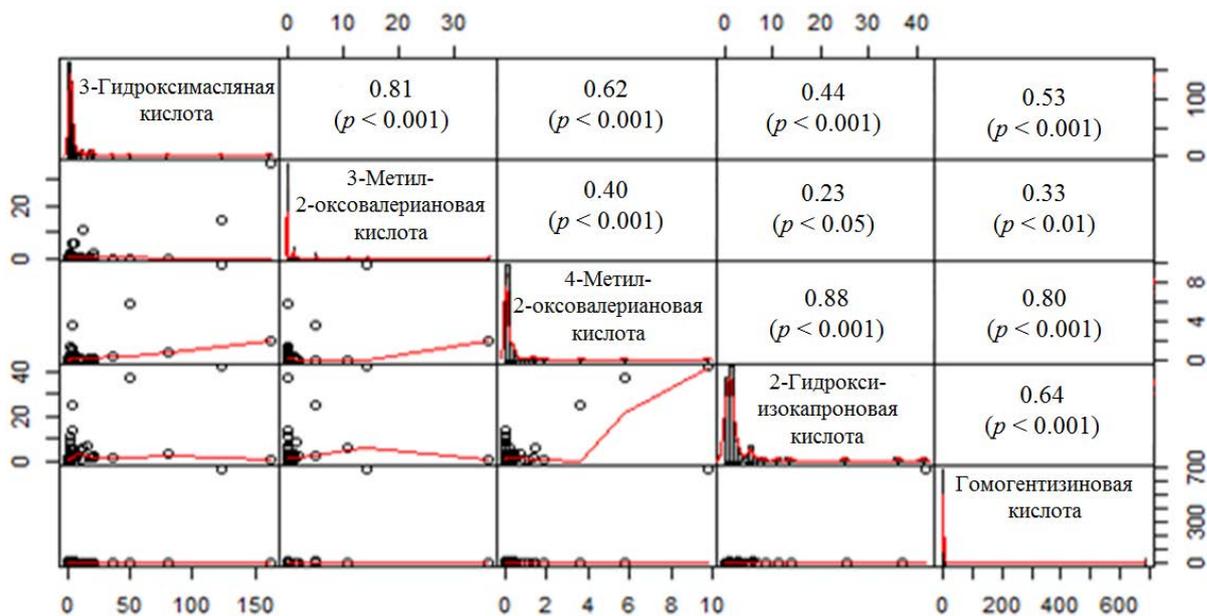


Рисунок 35 – Корреляционные связи между гидроксимасляной, 3-метил-2-оксвалериановой, 4-метил-2-оксвалериановой, гидроксиизокапроновой и гомогентизиновой кислотами ( $p$  – уровень значимости).

Анализ экспериментальных данных, полученные в настоящем исследовании, показал, что благодаря значительному увеличению числа и объемов выборок с последующим созданием на их основе массивов данных появляется возможность использовать параметрические критерии, применимые в разных видах статистического анализа (например, кластерном и корреляционном), что, в итоге, позволит выявить новые маркеры, или целые маркерные профили, позволяющие проводить дифференциальную диагностику НБО веществ более эффективно.

### 3.6. Включение хромато-масс-спектрометрических методов исследования в алгоритмы диагностики наследственных болезней обмена веществ

Совокупность результатов проведения лабораторной диагностики на разных уровнях патогенеза многих заболеваний может эффективно применяться не только для подтверждения предварительного клинического диагноза, но и для проведения неонатального скрининга в детских популяциях, то есть на этапе доклинической диагностики [2, 20, 45, 102, 200]. Уровни общего алгоритма диагностики НБО веществ и их диагностическая значимость показаны на рисунке 36.



Рисунок 36 – Уровни общего алгоритма диагностики наследственных болезней обмена веществ и их диагностическая значимость [20].

Такое деление общего алгоритма на уровни позволяет увеличить скорость и точность проведения диагностики НБО веществ, но не предусматривает возможность дифференцирования этих патологий по типам.

Результаты анализа экспериментальных данных, полученных в настоящем исследовании, позволяют предложить новые алгоритмы диагностики НБО веществ на биохимическом уровне, которые наряду со скоростью и точностью проведения диагностики позволят дифференцировать НБО веществ по типам. Логика применения данных алгоритмов при проведении диагностики НБО веществ заключается в выборе одного из указанных условий на каждом его уровне при последовательном прохождении всего алгоритма.

На рисунке 37 представлен алгоритм диагностики НБО аминокислот на

биохимическом уровне.



Рисунок 37 – Алгоритм диагностики наследственных болезней обмена аминокислот, внедренный в биохимический уровень общего алгоритма диагностики НБО веществ (РИ – референсный интервал).

По данному алгоритму при проведении скринингового анализа пятен крови на содержание аминокислот методом ВЭЖХ-МС/МС при получении результата, попадающего в РИ, он считается отрицательным. Если результат анализа какой-либо аминокислоты умеренно выходит за границы РИ, то необходимо проведение подтверждающего анализа аминокислот методом ионно-обменной хроматографии. Тогда, при получении результата, входящего в РИ, диагностика заболевания обмена аминокислот завершается, но при получении результата, умеренно выходящего за границы РИ, необходимо проведение дифференциальной диагностики других типов нарушений обмена веществ: ацилкарнитинов, органических и жирных кислот. Также рекомендовано

выполнение подтверждающего анализа на содержание производных аминокислот – органических кислот в моче методом ГХ-МС. Если результаты метаболитов в анализе мочи методом ГХ-МС значительно превышают границы РИ, то обязательно проведение молекулярно-генетического анализа, то есть переход на следующий уровень лабораторной диагностики. Таким образом, при получении диагностически значимых отклонений содержания аминокислот от РИ, при проведении скринингового анализа пятен крови методом ВЭЖХ-МС/МС и/или подтверждающего анализа методом ионно-обменной хроматографии, то есть при выявлении заболевания, подтверждающего клинический диагноз, рекомендовано проведение молекулярно-генетического анализа для семейного анамнеза.

На рисунке 38 представлен алгоритм диагностики НБО ацилкарнитинов на биохимическом уровне.



Рисунок 38 – Алгоритм диагностики наследственных болезней обмена ацилкарнитинов, внедренный в биохимический уровень общего алгоритма диагностики НБО веществ (РИ – референсный интервал).

Следуя данному алгоритму, при проведении скринингового анализа пятен крови на содержание ацилкарнитинов методом ВЭЖХ-МС/МС, если полученный результат попадет в РИ, то он считается отрицательным. Если результат анализа какого-либо ацилкарнитина (включая, свободный карнитин) умеренно выходит за границы РИ, то необходимо проведение подтверждающего анализа органических кислот в моче методом ГХ-МС. Тогда, при получении результата, находящегося в пределах РИ, диагностика заболевания обмена ацилкарнитинов прекращается, а при получении результата, умеренно выходящего за пределы РИ, необходимо проведение дифференциальной диагностики других типов нарушений обмена веществ: органических кислот, аминокислот и жирных кислот. Если же результаты этого исследования будут за границами РИ, то необходимо проведение молекулярно-генетического анализа, то есть переход на следующий уровень лабораторной диагностики. Таким образом, при получении диагностически значимых отклонений содержания ацилкарнитинов при проведении скринингового анализа пятен крови методом ВЭЖХ-МС/МС и/или подтверждающего анализа органических кислот в моче методом ГХ-МС, то есть при выявлении заболевания, подтверждающего клинический диагноз, рекомендовано проведение молекулярно-генетического анализа для семейного анамнеза.

На рисунке 39 представлен алгоритм диагностики НБО органических кислот на биохимическом уровне. По данному алгоритму при проведении анализа образцов мочи на содержание органических кислот методом ГХ-МС, если полученный результат входит в РИ, то он считается отрицательным. Если результат анализа какого-либо аналита умеренно выходит за границы РИ, то необходимо проведение подтверждающего анализа аминокислот и/или ацилкарнитинов в крови методом ВЭЖХ-МС/МС. Тогда, при получении результата, входящего в РИ, диагностика нарушений обмена органических кислот завершается, а при получении результата, умеренно выходящего за границы РИ, необходимо проведение дифференциальной диагностики с другими типами нарушений обмена (аминокислот, жирных кислот, пуринов и пиримидинов).



Рисунок 39 – Алгоритм диагностики наследственных болезней обмена органических кислот, внедренный в биохимический уровень общего алгоритма диагностики НБО веществ (РИ – референсный интервал).

Если результаты этих анализов выходят за границы РИ, то необходимо проведение молекулярно-генетического анализа – переход на следующий уровень лабораторной диагностики. При получении диагностически значимых отклонений в концентрациях органических кислот при анализе образцов мочи методом ГХ-МС и/или подтверждающего анализа аминокислот/ ацилкарнитинов в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС, то есть при выявлении заболевания, подтверждающего клинический диагноз, рекомендовано проведение молекулярно-генетического анализа для семейного анамнеза.

Алгоритм диагностики НБО длинноцепочечных жирных кислот на биохимическом уровне представлен на рисунке 40.



Рисунок 40 – Алгоритм диагностики наследственных болезней обмена длинноцепочечных жирных кислот, внедренный в биохимический уровень общего алгоритма диагностики НБО веществ (РИ – референсный интервал).

По данному алгоритму, если результат проведения анализа плазмы крови на содержание ДЦЖК методом ГХ-МС входит в РИ, то он считается отрицательным. Если результат анализа какого-либо анализата или диагностически значимого соотношения умеренно выходит за границы РИ, то необходимо проведение подтверждающего исследования фибробластов. Тогда, при получении результата, подтверждающего отсутствие пероксисомной дисфункции, необходимо проведение дифференциальной диагностики других типов НБО веществ: аминокислот и ацилкарнитинов в крови методом ВЭЖХ-МС/МС, органических и жирных кислот методом ГХ-МС. Если пероксисомная дисфункция подтверждена и/или при проведении анализа плазмы крови методом ГХ-МС результаты

содержания ДЦЖК диагностически значимо превышают границы РИ, то есть при выявлении заболевания, подтверждающего клинический диагноз, рекомендовано проведение молекулярно-генетического анализа для семейного анамнеза.

На рисунке 41 представлен алгоритм диагностики НБО пуриновых и пиримидиновых оснований на биохимическом уровне.



Рисунок 41 – Алгоритм диагностики наследственных болезней обмена пуринов и пиримидинов, внедренный в биохимический уровень общего алгоритма диагностики НБО веществ (РИ – референсный интервал).

Исходя из представленного алгоритма, при проведении анализа образцов мочи на содержание пуринов и пиримидинов методом ВЭЖХ-МС/МС при получении результата, входящего в РИ – он может считаться отрицательным. Если результат анализа какого-либо анализата умеренно выходит за границы РИ, то необходимо проведение подтверждающего исследования активности ферментов в

эритроцитах и культурах клеток. Тогда, при получении результата, подтверждающего, что активность ферментов находится в пределах нормы, необходимо проведение дифференциальной диагностики других типов нарушений обмена веществ: аминокислот и ацилкарнитинов в крови методом ВЭЖХ-МС/МС, органических кислот в моче и жирных кислот в плазме крови методом ГХ-МС. Если же результаты исследования подтверждают снижение активности ферментов и при проведении анализа образцов мочи методом ГХ-МС результаты содержания пуринов и пиримидинов диагностически значимо превышают границы РИ, то есть при выявлении заболевания, подтверждающего клинический диагноз, рекомендовано проведение молекулярно-генетического анализа для семейного анамнеза.

## 4. ОБСУЖДЕНИЕ

### 4.1. Вариабельность значений референсных интервалов диагностических маркеров наследственных нарушений метаболизма для здоровой детской популяции

При сравнении данных разных источников [77, 176, 185] и данных, полученных в настоящем исследовании, можно отметить, что для большинства анализируемых *аминокислот* тенденции по изменению их содержания в крови в зависимости от возрастной группы близки. К этим аминокислотам относятся: аргинин, суммарный показатель (лейцин+изолейцин), метионин, фенилаланин, валин, тирозин, глицин и орнитин. При этом необходимо отметить, что значение нижней границы РИ метионина, фенилаланина и валина в работе [176] значительно выше по сравнению с данными настоящего исследования. Для аланина присутствует противоположная тенденция: к концу первого месяца нижняя граница его РИ примерно одинаковая в обоих исследованиях, а верхняя граница в работе [176] почти в 2 раза меньше по сравнению с таковой в настоящем исследовании. Содержание аргинина в крови к концу первого месяца находится в близких границах, но значения нижней границы отличаются (в работе [176] – 14 мкмоль/л, в данном исследовании – отсутствие маркера в крови).

Содержание орнитина в крови имеет тенденцию к снижению с взрослением организма в обоих исследованиях, но в настоящем исследовании верхняя граница его РИ во всех возрастных группах примерно в 2 раза выше. При анализе возрастных изменений содержания аспарагиновой и глутаминовой кислот наблюдаются схожие тенденции, но во всех возрастных группах значения РИ оказались несопоставимыми. Например, для возрастной группе 1–23 месяца РИ аспарагиновой кислоты по данным работы [176] был 2–14 мкмоль/л, а по данным настоящего исследования – 2–214 мкмоль/л; РИ глутаминовой кислоты по данным работы [176] составил 50–277 мкмоль/л, а по данным настоящего исследования – 105–694 мкмоль/л. Необходимо отметить, что в работе [176] приведены результаты обследования педиатрических групп только в североамериканской популяции детей разных этнических групп в следующих

возрастных группах: первый месяц жизни, 1–23 месяца, 2–17 лет.

В исследовании [268] установлены РИ некоторых аминокислот по результатам двухгодичного неонатального скрининга в регионе Новая Англия в США. При сравнении РИ настоящего исследования с таковыми из исследования [268] необходимо отметить, что для метионина, фенилаланина и цитруллина они близки, а для тирозина и орнитина значительно различаются.

В немногочисленных исследованиях, посвященных оценке и расчету РИ для *ацилкарнитинов* в крови методом ВЭЖХ-МС/МС в разных педиатрических группах [152, 179, 180] можно отметить тенденцию, аналогичную для возрастной динамики аминокислот.

При анализе результатов исследования группы авторов из лаборатории Mayo Clinic (США) [227], которые изучали различия в РИ ацилкарнитинов в разных возрастных группах обследованных, необходимо обратить внимание на следующие сходства и различия с результатами, полученными в настоящем исследовании.

Для РИ малонилкарнитина (C3DC), бутирилкарнитина (C4), изовалерилкарнитина (C5), глутарилкарнитина (C5DC), 3-метилкротонилкарнитина (C5:1), гексаноилкарнитина (C6), октеноилкарнитина (C8:1), деценоилкарнитина (C10:1), додеcanoилкарнитина (C12), тетрадецениолкарнитина (C14:1), тетрадекадиеноилкарнитина (C14:2), 3-гидрокситетрадеcanoилкарнитина (C14OH), 3-гидроксигексадеценоилкарнитина (C16:1OH) и 3-гидроксигексадеканоилкарнитина (C16OH) во всех возрастных группах выявлено не только сходство в динамике изменения их содержания в крови, но и близость их РИ.

Для 3-гидроксиизобутирилкарнитина (C4OH), 3-гидроксиизовалерилкарнитина (C5OH), октаноилкарнитина (C8), децаноилкарнитина (C10) и гексадеценоилкарнитина (C16:1) РИ близки только в первую неделю жизни обследованных, а для более старшего возраста имеются значимые различия.

Для ацетилкарнитина (C2), пропионилкарнитина (C3), метилмалонилкарнитин (C4DC), тетрадеканоилкарнитин (C14:1), гексадеканоилкарнитин (C16), октадеканоилкарнитин (C18), октадеценоилкарнитин (C18:1), 3-гидроксиокта-

деценоилкарнитин (C18:1ОН), 3-гидроксиоктадекадиеноилкарнитин (C18:2ОН) и 3-гидроксиоктадеканойлкарнитин (C18ОН) во всех возрастных группах имеются значимые различия для верхней граница РИ (в настоящем исследовании они в 2–20 раз выше). Это может быть связано с различиями между выборками обследованных (в работе [227] обследовали североамериканскую популяцию и различные этнические и расовые группы детей).

Также стоит обратить внимание на исследование авторов Osorio и Pourfarzam [180], в котором они рассчитали РИ ацилкарнитинов в крови в детской популяции в Колумбии для следующих возрастных групп: первый месяц жизни, 1–12 месяцев, 1–7 лет, 7–18 лет. При анализе результатов данного исследования обращает на себя внимание тот факт, что не было обнаружено значимых различий РИ в зависимости от возраста и пола обследованных. А также, что в норме у обследованных отсутствовали 3-гидроксиацилкарнитины и глутарилкарнитин (C5DC). Необходимо отметить, что при сравнении результатов исследования этих же авторов по определению РИ для свободного карнитина (C0) методом ВЭЖС-МС/МС с таковым из настоящего исследования значимые различия отсутствуют [179].

Найденные различия в РИ определяемых аминокислот и ацилкарнитинов в крови могут быть связаны с различиями в выборках обследованных, а также особенностями и различиями процедур хроматографического анализа и масс-спектрометрического детектирования, что в очередной раз подтверждает необходимость обязательного установления каждой лабораторией собственных (локальных) РИ диагностических маркеров НБО веществ.

Несмотря на то, что в исследованиях [49, 214] перечислены характеристики маркеров и подробно описаны заболевания, диагностируемые с их помощью, в них приведены только общие (ориентировочные) интервалы для нормы и патологии, без возрастной дифференциации обследованных. Только в нескольких работах приведены РИ большинства *органических кислот*, являющихся диагностическими маркерами наследственных нарушений метаболизма, в различных возрастных педиатрических группах [73, 116].

В исследовании [116] представлены результаты исследования следующих возрастных групп педиатрической популяции Турции: новорожденные (57 детей), 1–6 месяцев (8 детей), 2–6 лет (66 детей), 6–10 лет (14 детей), старше 10 лет (16 детей). При сравнении данных обращает на себя внимание то, что для некоторых органических кислот, изученных в настоящем исследовании, имеется идентичная тенденция по изменению их содержания в моче в различных возрастных группах и близость вычисленных РИ. К ним относятся молочная, 3-гидрокси-3-метилглутаровая, 2-метил-3-гидроксимасляная, сукциновая, 4-гидроксифенилмолочная, 3-гидроксимасляная, пировиноградная, 4-гидроксифенилпировиноградная и 4-гидроксифенилуксусная кислоты.

Сравнивая РИ гликолевой кислоты, можно отметить, что для большинства возрастных групп данные, полученные в настоящем исследовании, и результаты исследования [27, 116] соизмеримы, но в старшей группе значительно различаются. При сравнении РИ этилмалоновой кислоты выявлена противоположная тенденция: ее РИ различаются в младших возрастных группах и близки в возрастной группе от 6 до 18 лет. Необходимо отметить, что РИ для пяти органических кислот (адипиновой, метилмалоновой, *N*-ацетиласпартиковой, глутаровой и субериновой) значимо различаются (в 2–10 раз). В качестве примера на рисунке 42 показана вариабельность диапазона концентраций метилмалоновой кислоты у пациентов с метилмалоновой ацидурией по данным различных источников.

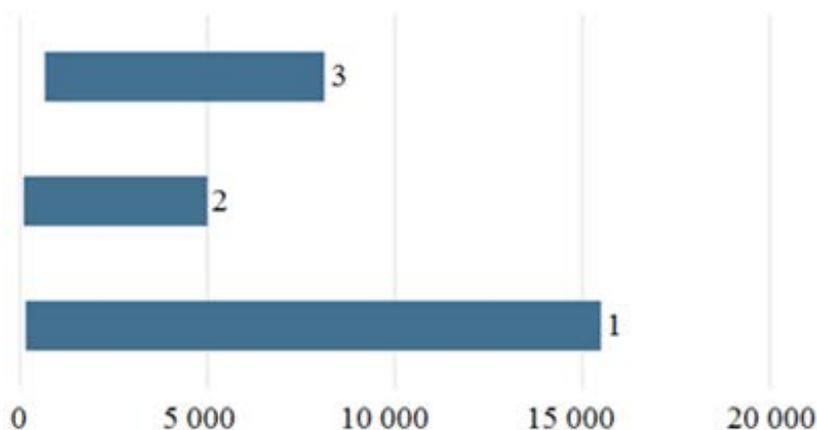


Рисунок 42 – Вариабельность диапазона концентраций метилмалоновой кислоты в моче (ммоль/моль креатинина) у пациентов с метилмалоновой ацидурией по данным различных источников: 1 – исследование [116]; 2 – информационная база генетических болезней «Metagene»; 3 – настоящее исследование.

В данном случае различия между РИ для органических кислот скорее всего связаны не только с наличием этнических особенностей, а также разным объемом выборок обследованных, но и разной методологией проведения некоторых этапов анализа: применение разных дериватизирующих реагентов на стадии пробоподготовки образцов, наличие инструментальных особенностей хроматографических систем и тандемных масс-спектрометров [27].

Определению РИ *длинноцепочечных жирных кислот* в педиатрической популяции достаточно ограниченное количество исследований [165, 167, 252, 253]. В исследованиях [165, 252] подробно рассмотрена биологическая роль ДЦЖК и сделан акцент на методологию их количественного определения в биологических жидкостях. В работе [167] выявлены зависимости содержания данных аналитов в плазме крови от диеты обследованных. Необходимо отметить, что из немногочисленных работ, посвященных определению ДЦЖК в качестве маркеров пероксисомных болезней, только в исследованиях [165, 253] имеется информация о РИ бегеновой (C22:0), лигноцериновой (C24:0), гексакозановой (C26:0), пристановой и фитановой кислот, а также их диагностически значимых соотношений C24:0/C22:0 и C26:0/C22:0.

Так, при сравнении РИ, полученных в настоящем исследовании, и в работе американских авторов [165], которые проводили многолетние исследования по установлению РИ для ДЦЖК, можно отметить, что для кислот C22:0, C24:0, C26:0 и соотношения C26:0/C22:0 рассчитанные РИ сопоставимы, но в настоящем исследовании значения верхних границ РИ этих маркеров выше, чем в указанной работе (для соотношения C26:0/C22:0 выше в 2 раза). Для соотношения C24:0/C22:0 значения РИ, представленные в обоих исследованиях, близки между собой. Необходимо отметить, что РИ фитановой кислоты, рассчитанный в настоящем исследовании, шире, чем представленный в работе [165] (нижняя граница ниже в 5 раз, а верхняя граница выше в 2 раза). Различие между РИ для пристановой кислоты также достигает одного порядка (0–0.28 мкмоль/л в работе [165], 0–3.14 мкмоль/л в настоящем исследовании).

Таким образом, выявленные различия в РИ для некоторых ДЦЖК можно объяснить этническими особенностями выбранной популяции детей, наличием у них определенной диеты, а также различиями в подходах к формированию выборок обследованных для расчета РИ, методологии проведения анализа и используемом хроматографическом оборудовании.

По результатам анализа данных немногочисленных исследований по диагностике нарушений обмена *пуринов и пиримидинов*, можно отметить, что изученные в них выборки обследованных для расчета РИ не были сформированы по возрастным группам [118, 127]. Опубликовано исследование по количественному определению характеристических маркеров различных врожденных нарушений обмена этого типа, например, дефицита уреидопропионазы I [51]. В основных источниках РИ пуринов и пиримидинов для педиатрической популяции они приведены без деления на возрастные группы [91, 118, 224].

При сравнении РИ пуринов и пиримидинов для здоровой популяции детей разного возраста в Великобритании, приведенных в книге Blau, Duran, Blaskovics [224], и таковых из настоящего исследования необходимо отметить, что для большинства аналитов их РИ сопоставимы, но в работе [224] для дигидроурацила, урацила, ксантина и тимина верхняя граница РИ выше в 1.5–5 раза по сравнению с данными настоящего исследования, но для оротовой кислоты в работе [224] верхняя граница РИ в 2 раза ниже, чем в настоящем исследовании. Также следует отметить, что в работе [224] не приведены РИ для дезоксиаденозина и дезоксигуанозина.

В 2008 году этими же авторами были опубликованы результаты исследования содержания пуриновых и пиримидиновых оснований в моче 104 здоровых добровольцев в возрасте от 2 до 18 лет без деления их по возрастным группам [252]. При сравнении результатов этой работы с таковыми из настоящего исследования установлено, что для большинства пуринов и пиримидинов РИ очень близки, кроме дезоксиаденозина и дезоксигуанозина, РИ которых были значительно ниже, чем таковые в настоящем исследовании. Верхняя граница РИ

оротовой кислоты также была ниже по сравнению с таковой из настоящего исследования.

Таким образом, благодаря близости методологических подходов проведения всех этапов эксперимента (создания выборок обследованных, процедуры пробоподготовки биоматериала и его количественного определения) результаты исследований [224, 252] и настоящего сопоставимы по большинству аналитов. Незначительные различия в РИ для некоторых аналитов, вероятнее всего, связаны с популяционными различиями.

Важно отметить, что по результатам поиска исследований, посвященных определению РИ пуриновых и пиримидиновых оснований в моче детей, не были обнаружены результаты для Российской Федерации. На основании этого можно сделать вывод, что подобные исследования на данной территории до настоящего времени не проводились.

В качестве резюме можно отметить, что выявленные различия в РИ маркеров наследственных нарушений обмена веществ у обследованных из детской популяции Российской Федерации с другими популяциями могут быть связаны с различиями в аналитических процедурах хроматографического анализа и масс-спектрометрическом детектировании. Также эти различия могут повлечь за собой разную интерпретацию результатов анализов, что еще раз подтверждает необходимость обязательного установления в каждой лаборатории собственных РИ маркерных метаболитов для диагностики наследственных болезней метаболизма.

#### **4.2. Патологические значения маркерных метаболитов наследственных болезней обмена веществ у детей**

В таблице 36 приведены сводные данные по величинам РИ маркерных метаболитов наследственных нарушений обмена веществ, опубликованные в различных источниках, и данные настоящего исследования по результатам диагностики детей с различными наследственными нарушениями обмена.

Таблица 36 – Вариабельность данных патологических концентраций маркерных метаболитов различных болезней обмена по данным различных источников и данным настоящего исследования

| Заболевание<br>и его маркерные метаболиты  | Источники* с указанием патологических концентраций<br>маркерных метаболитов |   |                                   |
|--|---|---|-----------------------------------|
|  | литература  | информационная база<br>генетических болезней<br>«Metagene» <sup>1</sup> | данные настоящего<br>исследования |
| <i>1</i>   | <i>2</i>  | <i>3</i>  | <i>4</i>                          |
| <b>1. ПОКАЗАТЕЛИ МАРКЕРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА<br/>АМИНОКИСЛОТ И АЦИЛКАРНИТИНОВ В КРОВИ (концентрации представлены в мкмоль/л)</b>    |   |   |                                   |
| <b>1.1. Фенилкетонурия, обусловленная дефицитом фенилаланиндегидрогеназы</b>   |   |   |                                   |
| Фенилаланин  | $\geq 140^2$  | 800–2000  | 220–1224                          |
| <b>1.2. Гомоцистинурия, обусловленная нарушением метаболизма кобаламин</b>   |   |   |                                   |
| Метионин   | $< 10^2$  | уровень понижен   | 3.4–6.5                           |
| <b>1.3. Аргининемия</b>  |   |   |                                   |
| Аргинин  | $> 200^2$   | 1000–1500   | 177–225                           |
| <b>1.4. Метилмалоновая ацидемия (ММА)</b>  |   |   |                                   |
| Пропионилкарнитин (С3)   | $> 6^2$   | уровень повышен   | 3.2–40.1                          |
| <b>1.5. Дефицит среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы (МСАД)</b>   |   |   |                                   |
| Гексаноилкарнитин (С6)   | –   | уровень повышен   | 1.5–3.6                           |
| Октаноилкарнитин (С8)  | –   | уровень повышен   | 2.5–4.0                           |
| Деканоилкарнитин (С10)   | –   | уровень повышен   | 1.8–3.8                           |
| <b>1.6. Дефект связывания карнитина (СUD)</b>  |   |   |                                   |
| Свободный карнитин («С0»)  | $\leq 7.02^2$   | 0–20  | 5.6                               |
| <b>1.7. Глутаровая ацидемия I типа</b>   |   |   |                                   |
| Глутарилкарнитин (С5DC)  | $> 0.3^2$   | уровень повышен   | 2.01–5.88                         |
| <b>1.8. Тирозинемия I типа</b>   |   |   |                                   |
| Тирозин  | $\geq 442^2$  | 150–450   | 321–581                           |
| <b>1.9. Тирозинемия II типа</b>  |   |   |                                   |
| Тирозин  | $> 500^2$   | 150–450   | 661                               |
| <b>1.10. Гипераммониемия с дефицитом N-ацетилглутаматсинтетазы</b>   |   |   |                                   |
| Аланин   | $> 800^2$   | –   | 725–1201                          |
| <b>1.11. Цитруллинемия</b>   |   |   |                                   |
| Цитруллин  | $\geq 75^2$   | 100–500   | 89–128                            |
| <b>1.12. Изовалериановая ацидемия / изовалериановая ацидурия (IVA)</b>   |   |   |                                   |
| Изовалерилкарнитин (С5)  | $> 0.87^2$  | уровень повышен   | 1.12–1.98                         |
| <b>1.13. Пропионовая ацидемия (РА)</b>   |   |   |                                   |
| Пропионилкарнитин (С3)   | $> 8^2$   | уровень повышен   | 7.80–10.20                        |
| <b>1.14. Некетотическая гиперглицинемия</b>  |   |   |                                   |
| Глицин   | $> 450^2$   | 500–1500  | 452–881                           |
| <b>1.15. Болезнь «кленового сиропа» (лейцинурия) (МСUD)</b>  |   |   |                                   |
| Суммарный покатель (лейцин+ изолейцин)   | $> 310^2$   | 500–5000  | 338–552                           |
| <b>2. ПОКАЗАТЕЛИ МАРКЕРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА<br/>ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В МОЧЕ (концентрации представлены в ммоль/моль креатинина)</b> |   |   |                                   |
| <b>2.1. Дефицит длинноцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ</b>   |   |   |                                   |
| Субериновая кислота  | 0–203 <sup>3</sup>  | 2–22  | 4.0–33.1                          |
| Себаценовая кислота  | 0–20 <sup>3</sup>   | 4–22  | 3.3–15.6                          |
| <b>2.2. Дефицит короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ</b>  |   |   |                                   |
| Этилмалоновая кислота  | 180–1150 <sup>3</sup>   | 180–1150  | 128–521                           |
| <b>2.3. Хавкинсурия (тирозинемия III типа)</b>   |   |   |                                   |
| 4-Гидроксифенилпириновинградная кислота  | 140–500 <sup>3</sup>  | 20–500  | 88–525                            |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота  | 1000–5000 <sup>3</sup>  | 20–2300   | 881–1089                          |

Продолжение таблицы 36

| 1  | 2                        | 3               | 4           |
|--|--------------------------|-----------------|-------------|
| <b>2.4. Алкаптонурия</b>   |                          |                 |             |
| Гомогентизиновая кислота   | 1000–5000 <sup>3</sup>   | 1000–5000       | 686         |
| <b>2.5. Глутаровая ацидурия II типа (множественный дефицит ацил-КоА-дегидрогеназ)</b>  |                          |                 |             |
| Этилмалоновая кислота  | 10–1400 <sup>3</sup>     | 180–1150        | 8.2–1205    |
| Глутаровая кислота   | 0–22000 <sup>3</sup>     | 500–12000       | 224–1504    |
| Адипиновая кислота   | 0–1600 <sup>3</sup>      | 35–1600         | 331–1312    |
| Субериновая кислота  | 0–200 <sup>3</sup>       | 2–200           | 55–289      |
| <b>2.6. Метилмалоновая ацидемия</b>  |                          |                 |             |
| Метилмалоновая кислота   | 150–15500 <sup>3</sup>   | 100–5000        | 662–8120    |
| <b>2.7. Дефицит малонил-КоА-декарбоксилазы</b>   |                          |                 |             |
| Метилмалоновая кислота   | 0–80 <sup>3</sup>        | 150–15500       | 51–96       |
| Малоновая кислота  | 50–4000 <sup>3</sup>     | 40–440          | 245–558     |
| <b>2.8. Глутаровая ацидурия I типа</b>   |                          |                 |             |
| Глутаровая кислота   | 500–12000 <sup>3</sup>   | 500–12000       | 431–3815    |
| <b>2.9. Болезнь Канавана</b>   |                          |                 |             |
| N-ацетиласпартиковая кислота   | 1000–7000 <sup>3</sup>   | 1000–7000       | 628–2021    |
| <b>2.10. Гипероксалурия I типа</b>   |                          |                 |             |
| Гликолевая кислота   | > 100 <sup>3</sup>       | 100–500         | 97–290      |
| <b>3. ПОКАЗАТЕЛИ МАРКЕРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ПЕРОКСИСОМНЫХ БОЛЕЗНЕЙ В ПЛАЗМЕ КРОВИ (концентрации представлены в мкмоль/л)</b>                      |                          |                 |             |
| <b>3.1. Синдром Цельвегера (СЦ)</b>  |                          |                 |             |
| Гексакозановая кислота (C26:0)   | 2–2.9 <sup>4</sup>       | 1.9–2.5         | 3.58–12.8   |
| Сотношение C24:0/C22:0   | –                        | 1.3–2.1         | 0.032–0.125 |
| Сотношение C26:0/C22:0   | –                        | 0.29–0.8        | 0.59–0.78   |
| Фитановая кислота  | > 40 <sup>4</sup>        | 5–180           | 8.3–20.2    |
| Пристановая кислота  | –                        | уровень повышен | 8–15        |
| <b>3.2. X-сцепленная адренолейкодистрофия (X-АЛД)</b>  |                          |                 |             |
| Лигноцериновая кислота (C24:0)   | –                        | уровень повышен | 58–105      |
| Гексакозановая кислота (C26:0)   | 0.131–0.277 <sup>4</sup> | 1.7–3.1         | 2.2–4.1     |
| Сотношение C24:0/C22:0   | 0.2–0.8 <sup>4</sup>     | 0.2–0.8         | 0.026–0.042 |
| Сотношение C26:0/C22:0   | –                        | 1.9–3.5         | 0.68–0.87   |
| <b>3.3. Недостаточность белка, транспортирующего стирол (СТБ)</b>  |                          |                 |             |
| Фитановая кислота  | –                        | уровень повышен | 18.7–29.8   |
| Пристановая кислота  | –                        | уровень повышен | 15.3–22.8   |
| <b>3.4. Болезнь Рефсума (инфантильная форма)</b>   |                          |                 |             |
| Фитановая кислота  | 27–53 <sup>5</sup>       | 5–180           | 525–1458    |
| <b>3.5. Болезнь Рефсума (взрослая форма)</b>   |                          |                 |             |
| Фитановая кислота  | 46–1127 <sup>6</sup>     | 40–2000         | 128–622     |
| <b>3.6. Ризомелическая точечная хондродисплазия (РТХД) I типа</b>  |                          |                 |             |
| Бегеновая кислота (C22:0)  | –                        | –               | 102–132     |
| Фитановая кислота  | =< 300 <sup>7</sup>      | уровень повышен | 412–911     |
| Пристановая кислота  | –                        | уровень повышен | 0.2–0.8     |
| <b>4. ПОКАЗАТЕЛИ МАРКЕРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ НАРУШЕНИЙ ОБМЕНА ПУРИНОВ И ПИРИМИДИНОВ В МОЧЕ (концентрации представлены в ммоль/моль креатинина)</b> |                          |                 |             |
| <b>4.1. Дефицит дигидропириимидин-дегидрогеназы</b>  |                          |                 |             |
| Урацил   | 0–680 <sup>8</sup>       | 50–150          | 228–325     |
| Тимин  | 9–440 <sup>8</sup>       | 20–80           | 25–29       |
| <b>4.2. Дефицит дегидропириимидиназы</b>   |                          |                 |             |
| Дигроурацил  | –                        | уровень повышен | 189–263     |
| Урацил   | –                        | уровень повышен | 36–82       |
| Тимин  | –                        | уровень повышен | 12–23       |

Продолжение таблицы 36

| 1  | 2                      | 3               | 4        |
|--|------------------------|-----------------|----------|
| <b>4.3. Синдром Леша-Нихана</b>  |                        |                 |          |
| Мочевая кислота  | 1800–4400 <sup>8</sup> | > 1026          | 958–1411 |
| <b>4.4. Гиперактивность фосфорибозил-пирофосфат-синтазы I (ФРПС I)</b> |                        |                 |          |
| Ксантин  | 100–120 <sup>8</sup>   | –               | 64       |
| <b>4.5. Наследственная ксантинурия</b>                                 |                        |                 |          |
| Ксантин  | 1120–2900 <sup>8</sup> | уровень повышен | 44–98    |
| <b>4.6. Дефицит пурин-нуклеозид-фосфорилазы</b>                        |                        |                 |          |
| Ионозин  | –                      | уровень повышен | 15–29    |
| Гуанозин   | –                      | уровень повышен | 23–39    |
| Дезоксигуанозин  | –                      | уровень повышен | 24–26    |
| <b>4.7. Наследственная оротовая ацидурия I типа</b>                    |                        |                 |          |
| Оротовая кислота   | –                      | 1400–5600       | 380–1540 |

**Примечание.** \* – библиография:

1. Электронный адрес базы «Metagene» – www.metagene.de.
  2. Rashed, M.S. Clinical applications of tandem mass spectrometry: ten years of diagnosis and screening for inherited metabolic diseases // J. Chrom. B Biomed Sci Appl. – V.758. – №1. – pp. 27–48. DOI: 10.1016/s0378-4347(01)00100-1.
  3. Pawar, C. Development of A GC-MS bio-analytical method to detect organic academia in neonatal/ paediatric urine sample // C. Pawar, P. Rao, L. Lewis, S. Moorkoth // International Journal Of Pharmacy & Technology. – 2016. – 2. – p. 13110.
  4. Moser A.B. Newborn Screening for X-Linked Adrenoleukodystrophy / A.B. Moser, R.O. Jones, W.C. Hubbard, S. Tortorelli, J.J. Orsini, M. Caggana, B.H. Vogel, G.V. Raymond // Int. J. Neonatal Screen. – 2016. – V.2. – №4. – p. 15. DOI: 10.3390/ijns2040015.
  5. Takashima, S. Detection of unusual very-long-chain fatty acid and ether lipid derivatives in the fibroblasts and plasma of patients with peroxisomal diseases using liquid chromatography-mass spectrometry / S. Takashima, K. Toyoshi, T. Itoh, N. Kajiwara, A. Honda, A. Ohba, S. Takemoto, S. Yoshida, N. Shimozawa // Molecular genetics and metabolism. – 2017. – V.120. – №3. – p. 255–268. DOI: 10.1016/j.ymgme.2016.12.013.
  6. Wierzbicki A.S., Mayne P.D., Lloyd M.D., Burston D, Mei G, Sidey M.C., Feher M.D., Gibberd F.B. Metabolism of phytanic acid and 3-methyl-adipic acid excretion in patients with adult Refsum disease. J Lipid Res. 2003 Aug;44(8). – pp. 1481–1488. DOI: 10.1194/jlr.M300121-JLR200.
  7. Braverman, N.E., Moser, B.A., and Steinberg S.J. Rhizomelic Chondrodysplasia Punctata Type 1 GeneReviews® [40].
  - 8 – Doyle, R.M. Urine Purine and Pyrimidine metabolite determination by LC-MS/MS for research use / R.M Doyle // Clinical Chemistry. – 2017. – 63. – 10. – p. S113.
- « – » – данные в источнике не приведены.

При анализе результатов работ, в которых были подтверждены клинические случаи НБО веществ, РИ большинства маркерных метаболитов сопоставимы с таковыми из настоящего исследования, но для некоторых маркеров они различаются. Границы РИ диагностических маркеров таких заболеваний как алкаптонурия, глутаровая ацидурия II типа, болезнь Канавана, наследственная оротовая ацидурия I типа, гиперактивность ФРПС I, полученные в настоящем исследовании, уже при сравнении с таковыми в исследованиях, проведенных ранее. Это может быть связано с возрастными различиями, особенностями патогенеза у каждого конкретного пациента, а также с редкостью самих заболеваний. В связи с этим, данные из опубликованных ранее исследований не всегда могут быть корректными. С учетом данных настоящего исследования можно проводить корректировку общепринятых РИ.

Особого внимания заслуживает сравнение показателей маркерных метаболитов пероксисомных болезней. Так, у пациентов с взрослой формой болезни Рефсума, выявленных в настоящем исследовании, диапазон концентраций фитановой кислоты уже и входит в диапазон ее патологических концентраций из базы «Metagene». У пациентов с болезнью Рефсума в инфантильной форме, выявленных в настоящем исследовании, наблюдается противоположная тенденция: диапазон концентраций фитановой кислоты шире и смещен в сторону больших значений относительно такового из базы «Metagene» (рисунок 43).

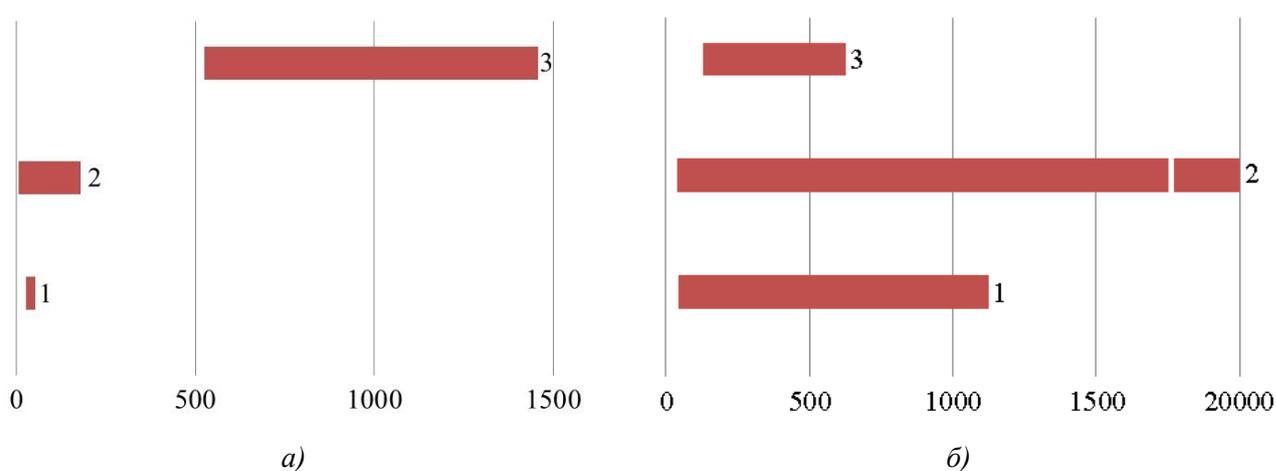


Рисунок 43 – Диапазон концентраций фитановой кислоты в плазме крови (мкмоль/л) у пациентов с болезнью Рефсума в инфантильной (а) и взрослой (б) формах по данным различных источников:

1 (на рис. 43а) – исследование [5] из библиографического списка к табл. 25; 1 (на рис. 43б) – исследование [6] из библиографического списка к табл. 25; 2 – информационная база генетических болезней «Metagene»; 3 – настоящее исследование.

Наиболее значимые различия между результатами настоящего исследования и таковыми из других источников выявлены для некоторых маркеров синдрома Цельвегера. По результатам настоящего исследования диапазон патологических концентраций гексакозановой кислоты (C26:0) был выше и на порядок шире, чем таковой в других источниках. Также значимые (более чем в 10 раз) различия имеют значения РИ соотношений C26:0/C22:0 и C24:0/C22:0 при X-АЛД и соотношение C24:0/C22:0 при синдроме Цельвегера.

Данные различия указывают на то, что при заболеваниях, манифестирующих в неонатальном периоде, необходимо ориентироваться на более широкие границы

патологических диапазонов для маркерных метаболитов данных патологий. Выявленные в настоящем исследовании различия показывают, что главную, первичную, диагностическую роль при диагностике пероксисомных болезней играют значения концентраций ДЦЖК, тогда как значения соотношений этих кислот имеют второстепенный характер, и поэтому должны учитываться как вторичные диагностические маркеры.

Необходимо отметить, что для таких заболеваний как дефицит среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы, недостаточность белка, транспортирующего стирол, дефицит дигидропиримидиназы и дефицит пуридинуклеозид-фосфорилазы в данных источниках отмечается только повышение уровня соответствующих маркеров, а величины их РИ не приведены.

Таким образом, из-за наличия значимых различий между РИ некоторых маркерных метаболитов НБО веществ в ранее опубликованных работах и данными настоящего исследования, последние необходимо учитывать при интерпретации результатов проведения диагностики соответствующих патологий.

## 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По официальным данным, утвержденным Приказом Министерства здравоохранения РФ от 30 апреля 2013г. №281 «Об утверждении научных платформ медицинской науки» планируется создание новой стратегии и задач развития медицинской науки на период до 2025г: «Научные платформы представляют собой новые технологические решения в сфере медицины и здравоохранения. Платформа «Профилактическая среда» – единое пространство, включающее центры трансляционной медицины, аппаратно-программные комплексы, аналитические устройства, интеллектуальные методы и программные средства, предназначенные для прогнозной и индивидуальной оценки здоровья человека и эффективности оздоровительно-профилактических программ. Мероприятия по реализации данной платформы включают фундаментальные, прикладные и клинические исследования. К фундаментальным исследованиям относится разработка и валидация новых методов скрининга геномных, протеомных и метаболомных биомаркеров, а также идентификация метаболитов в биологических жидкостях, клетках, тканях и органах. В связи с этим наиболее эффективные решения поставленных задач связаны с развитием так называемой «4Р»-медицины: профилактической (превентивной), предиктивной (предсказательной), персонализированной и партисипативной (при участии пациента). При решении проблемы увеличения продолжительности жизни населения России на первый план выходит именно профилактическое направление, мотивируя жителей к здоровому образу жизни и создавая приоритет сохранения их здоровья. Предиктивная медицина направлена на раннее выявление наследственной предрасположенности человека к хроническим заболеваниям, что позволит проводить своевременные профилактические мероприятия для предупреждения их развития с целью улучшения состояния здоровья, повышения качества и увеличения продолжительности активного периода жизни населения» [7, 13, 107].

В современной лабораторной медицине особое место занимает диагностика наследственных нарушений обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических

кислот, длинноцепочечных жирных кислот (ДЦЖК), пуринов и пиримидинов. По причине того, что большинство наследственных болезней обмена веществ имеют сходную клиническую картину, их клинические и основные лабораторные признаки часто служат лишь относительным дифференциально-диагностическим критерием. В связи с этим гораздо более значимую роль при проведении диагностики этих нарушений играет количественное определение их маркерных метаболитов крови, плазме крови и моче пациентов такими инструментальными методами как высокоэффективная жидкостная (ВЭЖХ-МС/МС) и газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ-МС). Широкое применение этих высокотехнологических методов в медицинской практике позволит выявить наследственные болезни обмена веществ не только на стадии проявления клинических признаков, но и в более раннем возрасте пациентов. Необходимо отметить, что в литературе отсутствуют данные о референсных интервалах (РИ) диагностических маркеров данных наследственных нарушений обмена для детской популяции в Российской Федерации. В связи с этим, цель настоящего исследования – определить значение и эффективность хромато-масс-спектрометрии в лабораторной диагностике наследственных болезней обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, жирных кислот, пуринов и пиримидинов, оценить референсные интервалы для этих показателей, а также разработать соответствующие алгоритмы клинико-лабораторного анализа врожденных метаболических нарушений у детей.

В настоящей работе были исследованы лабораторные показатели спектров аминокислот, ацилкарнитинов, органических кислот, ДЦЖК, пуринов и пиримидинов в крови, плазме крови и моче у 695 детей, из которых 157 – пациенты

с различными заболеваниями со сходной клинической картиной, характерной для врожденных метаболических заболеваний, 95 – практически здоровые дети, вошедшие в контрольную группу, и 443 – практически здоровые дети для расчета референсных интервалов определяемых показателей.

В результате проведенного исследования установлены РИ диагностических

маркеров нарушений обмена веществ для детской популяции в Российской Федерации. Границы РИ были определены как пределы, соответствующие 2.5–97.5% разбросу результатов анализов в выборке обследованных детей, которые были распределены по четырем возрастным группам: первая неделя жизни, от 8 дней до 1 месяца, 1–23 месяца, 2–17 лет. В связи с большей диагностической значимостью верхней границы РИ тренд изменения концентрации каждого показателя в зависимости от возрастной группы обследованных оценивался именно по ее величине.

В ходе ретроспективного анализа результатов образцов пятен крови и мочи 443 детей из контрольной группы были определены РИ для 12 аминокислот, 30 ацилкарнитинов и 28 органических кислот, детектируемых методом ВЭЖХ-МС/МС. При анализе полученных данных очевидно, что для большинства аминокислот и ацилкарнитинов в крови, а также органических кислот в моче характерна различная возрастная динамика изменения их концентраций.

На основании ретроспективного анализа результатов 369 детей из контрольной группы также были определены РИ для 5 ДЦЖК и их 2 двух диагностически важных соотношений в плазме крови, детектируемых методом ГХ-МС, а также для 19 пуринов и пиримидинов в моче, детектируемых методом ВЭЖХ-МС/МС. Результаты анализа полученных данных для всех ДЦЖК и их двух соотношений, а также всех пуринов и пиримидинов выявили отсутствие возрастной динамики изменения их концентраций (различие между значениями границ их РИ в изученных возрастных группах менее 5%).

По итогам поиска работ по диагностике наследственных болезней обмена веществ, можно сказать, что в литературе имеется немногочисленное число исследований, посвященных изучению данных патологий. Также необходимо отметить, что чаще всего в них перечислены характеристики маркеров и подробно описаны заболевания, диагностируемые с их помощью, а также приведены только общие (ориентировочные) интервалы для нормы и патологии, без возрастной дифференциации обследованных. При сравнении данных разных источников и данных, полученных в настоящем исследовании, можно отметить, что для

большинства анализируемых маркеров тенденции по изменению их содержания в крови и моче в зависимости от возраста обследованных близки, но величины их РИ в некоторых случаях не сопоставимы. Для показателей содержания аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот эти отличия могут быть связаны с особенностями и различиями аналитического процесса при хроматографическом анализе и масс-спектрометрическом детектировании. Различия между выборками пациентов также способствуют наличию различий между РИ анализируемых показателей, что в очередной раз подтверждает необходимость обязательного установления каждой лабораторией собственных РИ для диагностических маркеров наследственных болезней обмена веществ. Выявленные различия в РИ для некоторых ДЦЖК можно объяснить этническими особенностями выбранной популяции детей, наличием у них определенной диеты, а также различиями в подходах к формированию выборок, обследованных для расчета РИ, методологии проведения анализа и используемом хроматографическом оборудовании. Однако, благодаря близости методологических подходов проведения всех этапов эксперимента (создания выборок обследованных, процедуры пробоподготовки биоматериала и его количественного определения) результаты исследований [224, 252] и настоящего сопоставимы для большинства изученных пуринов и пиримидинов. Незначительные различия в РИ для некоторых аналитов, вероятнее всего, связаны с популяционными различиями.

После сравнения хроматограмм образцов пятен крови, плазмы крови и мочи пациентов с выявленными заболеваниями и обследованных из соответствующих контрольных групп (детей с доказанным отсутствием наследственных болезней обмена веществ) можно сказать, что между ними имеются значимые различия, которые можно оценить даже визуально, не прибегая к количественной обработке полученных данных.

По результатам анализа образцов пятен крови и мочи 80 детей из первой группы с подозрением на аминокислотопатию и органические ацидемии/ацидурии на основании характерных клинико-лабораторных данных выявлено 54 пациента

с моногенными заболеваниями: аминокислотопатиями, органическими ацидемиями, дефектами окисления жирных кислот и первичным системным дефицитом свободного карнитина, а также 34 ребенка с органическими ацидемиями/ацидуриями. По результатам анализа образцов плазмы крови 35 детей из второй группы с подозрением на пероксисомные болезни на основании характерных клинико-лабораторных данных выявлено 17 пациентов с данной патологией. По результатам анализа образцов мочи 42 детей из третьей группы с подозрением на нарушение обмена пуринов и пиримидинов на основании характерных клинико-лабораторных данных выявлено 18 пациентов с данными нарушениями. Диагнозы всем пациентам были поставлены на основании результатов не только характерных клинико-лабораторных, но и молекулярно-генетических исследований, подтвердивших наличие патогенных мутаций, а также дополнительных исследований фибробластов, подтвердивших наличие пероксисомной дисфункции у некоторых пациентов. Таким образом, методы ВЭЖХ-МС/МС и ГХ-МС доказали свою надежность и эффективность для проведения диагностики наследственных болезней обмена веществ.

Сравнение данных о патологических значениях диагностических маркеров наследственных болезней обмена веществ у пациентов с выявленными заболеваниями, указанных в литературе, с таковыми из настоящего исследования показало, что некоторые из них значительно различаются. Поэтому при проведении лабораторной диагностики данных патологий необходимо ориентироваться на более широкие РИ соответствующих маркерных метаболитов.

Анализ экспериментальных данных, полученные в настоящем исследовании, показал, что благодаря значительному увеличению числа и объемов выборок с последующим созданием на их основе массивов данных появляется возможность использовать параметрические критерии, применимые в разных видах статистического анализа (например, кластерном и корреляционном), что, в итоге, позволит получить новые диагностические маркеры, или целые профили, позволяющие проводить дифференциальную диагностику этих заболеваний более эффективно. Например, ацилкарнитиновый профиль может служить

потенциальным дополнительным маркером при пограничных показателях фенилаланина. Несомненно, для диагностики фенилкетонурии уровень фенилаланина – один из самых значимых маркерных метаболитов по сравнению с другими, но дальнейшее изучение профиля ацилкарнитинов даст возможность с его помощью дифференцировать фенилкетонурию от других гиперфенилаланинемий. Наблюдается тенденция к снижению различных показателей ацилкарнитинового профиля (коротко-, средне-, длинноцепочечных ацилкарнитинов) у пациентов с цитруллинемией и некетолической гиперглицинемией.

Между некоторыми маркерами и группами маркеров, сформированными по результатам кластерного анализа, был проведен корреляционный анализ. Содержание наиболее метаболически близких соединений имело наиболее выраженную корреляционную взаимосвязь. Однако корреляционная взаимосвязь проявилась и среди метаболически слабо связанных соединений. Эти данные являются основанием для продолжения исследовательских работ в этом направлении. Данные примеры позволяют с уверенностью сказать, что иерархический кластерный анализ может служить надежным помощником лечащим врачам при постановке дифференциального диагноза.

Для развития предсказательной медицины необходима разработка медицинской информационной системы инновационных методов скрининга и мониторинга, а диагностические алгоритмы, разработанные в настоящей работе, позволят выделить из асимптоматического контингента пациентов с преคลินิกескими стадиями заболеваний лиц с факторами риска их развития, а также создать предпосылки для индивидуальной таргетной терапии. В данной работе разработаны алгоритмы диагностики наследственных нарушений обмена следующих веществ с применением хромато-масс-спектрометрических методов:

- аминокислот в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС;
- ацилкарнитинов в пятнах крови методом ВЭЖХ-МС/МС;
- органических кислот в моче методом ВЭЖХ-МС/МС;
- длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови методом ГХ-МС;

- пуриновых и пиримидиновых оснований в моче методом ВЭЖХ-МС/МС.

Наличие дифференциации по типам наследственных нарушений в каждом из представленных алгоритмов диагностики дополнительно повышает их информативность по сравнению с имеющимися алгоритмами, что позволит быстрее и точнее выявлять патологии у пациентов.

## 6. ВЫВОДЫ

1. Для ранней и эффективной диагностики наследственных нарушений обмена аминокислот, органических кислот, ацилкарнитинов, жирных кислот, пуринов и пиримидинов у детей необходимо мультиплексное лабораторное количественное определение наиболее значимых метаболитов; определен спектр эффективных методов масс-спектрометрии, рассчитаны значения референсных интервалов для этих метаболитов. Все методики должны быть валидированы для малого объема биологических проб, что особенно важно для диагностики в педиатрии.
2. Рассчитаны значения референсных интервалов для этих метаболитов и концентрации метаболитов наследственных нарушений обмена аминокислот, ацилкарнитинов, органических и жирных кислот в крови. Так, для определения референсных значений маркеров аминокислот, ацилкарнитинов и органических кислот целесообразно выделять пять возрастных групп, а для очень длинноцепочечных жирных кислот и пуринов/пиримидинов значения РИ не зависят от возраста. Границы РИ диагностических маркеров таких заболеваний как алкаптонурия, глутаровая ацидурия II типа, болезнь Канавана, наследственная оротовая ацидурия I типа, гиперактивность ФРПС I, метилмалоновая ацидемия, полученные в настоящем исследовании, отличаются от таковых в исследованиях, проведенных ранее.
3. Разработаны профили биохимических маркеров: эффективная и специфическая для диагностики нарушения обмена аминокислот панель включает 42 показателя (12 аминокислот и 30 ацилкарнитинов) в пятнах крови, для диагностики органических ацидурий – 28 органических кислот в моче, для диагностики пероксисомных болезней – 5 очень длинноцепочечных жирных кислот в плазме крови и для диагностики нарушений обмена нуклеотидами – 19 пуринов и пиримидинов в моче.
4. Впервые определен диапазон уровня патологических концентраций соответствующих диагностических маркеров: свободного и связанного карнитина, гексаноилкарнитина, октаноилкарнитина, деканоилкарнитина,

фитановой и пристановой кислот, дигидроурацила, урацила, тимина, инозина, гуанозина, дезоксигуанозина, для таких заболеваний как дефицит среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы, недостаточность белка, транспортирующего стирол, дефицит дигидропиримидиназы и дефицит пурин-нуклеозид-фосфоорилазы у пациентов

5. Алгоритм диагностики наследственных нарушений обмена аминокислот должен включать метод жидкостной тандемной хромато-масс-спектрометрии в сочетании с газовой хромато-масс-спектрометрией и ионно-обменной хроматографией для определения содержания аминокислот и их метаболитов в сухом пятне крови, плазме крови и моче. Диагноз был перекрестно подтвержден и по анализу сухих пятен крови методом ВЭЖХ-МС/МС (метилмалоновая ацидемия и глутаровая ацидемия I типа) и по анализу мочи методом ГХ-МС.

6. Диагностический алгоритм выявления нарушений обмена органических кислот в группе пациентов с аминоацидопатиями и ацидуриями должен включать в себя применение метода газовой хроматографии - масс-спектрометрии и метода тандемной жидкостной хромато-масс-спектрометрии.

7. Анализ стандартизированного ряда ацилкарнитинов (30 показателей) крови методом тандемной масс-спектрометрии, анализ мочи на содержание органических кислот (28 показателей) методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии должны быть включены в алгоритм лабораторной диагностики нарушений обмена жирных кислот. Ацилкарнитиновый профиль может служить дополнительным маркером при пограничных показателях концентрации фенилаланина. Профиль ацилкарнитинов дает возможность дифференцировать фенилкетонурию от других гиперфенилаланинемий. Эти данные подтверждены для ацилкарнитинов C12, C14, C14:1, C16, C16:1, C18, C18:1, C5, C5OH непараметрическим критерием Манна-Уитни при  $p < 0.05$ . Наблюдается тенденция к снижению различных показателей ацилкарнитинового профиля (коротко-, средне-, длинноцепочечных ацилкарнитинов) у пациентов с цитруллинемией и некетолической

гиперглициемией.

8. Для точной и быстрой диагностики пероксисомных болезней необходим анализ очень длинноцепочечных жирных кислот в крови пациентов методом газовой хроматографии - масс-спектрометрии; особенно важными показателями при диагностике этих заболеваний являются изменения концентраций гексакозановой, фитановой и пристановой кислот. Впервые предложенный в настоящем исследовании показатель «C26:0/C22:0» (отношение концентраций гексакозановой и бегеновой кислот) более эффективен при диагностике указанных заболеваний по сравнению с ранее используемым показателем «C24:0/C22:0» (отношение концентраций лигноцериновой и бегеновой кислот).

9. Для диагностики заболеваний, связанных с нарушениями обмена нуклеотидов, необходимо высокочувствительное детектирование низких концентраций пуриновых и пиримидиновых оснований в моче (в том числе из сухих пятен) пациентов, для чего наиболее эффективным является применение метода тандемной хромато-масс-спектрометрии с определением патологических значений. Разработанный алгоритм диагностики позволил впервые выявить очень редкое заболевание, вызванное дефицитом фермента дигидропиримидин-дегидрогеназы.

10. Наиболее метаболически близкие соединения, например, короткоцепочечные ацилкарнитины, имели высокую корреляцию между собой. Однако корреляционная взаимосвязь проявляется и среди метаболически слабо связанных аминокислот, например, метионином и тирозином, а также содержание орнитина имеет достаточно выраженную корреляцию с уровнями аспарагиновой кислоты, глицина и глутаминовой кислоты. Содержание последней, в свою очередь, коррелирует с уровнями глицина, аланина, аспарагиновой кислоты и орнитина. Между 3-гидрокси-3-метилглутаровой кислотой (предшественник холестерина), гиппуровой кислотой (метаболит глицина), фенилмолочной кислотой (метаболит фенилаланина), отмечена высокая корреляционная связь ( $p < 0,01$ ).

11. Для повышения эффективности дифференциальной диагностики

наследственных нарушений обмена веществ наряду с определением ключевых маркеров перспективно создание диагностических панелей на основе анализа большого числа взаимосвязей внутри- и межгрупповых хромато-масс-спектрометрических показателей, что даст возможность постановки диагноза при неясных, пограничных состояниях.

## 7. СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

|               |   |
|---------------|---|
| EPA           | – Агентство по охране окружающей среды США<br>(англ. Environmental Protection Agency);  |
| ESI           | – ионизация электроспреем (англ. electrospray ionization);  |
| IFCC          | – Международная Федерация клинической химии и лабораторной медицины<br>(англ. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine);  |
| MSTFA         | – <i>N</i> -метил- <i>N</i> -триметилсилил-трифторацетамид;   |
| MRM           | – мониторинг множественных реакций (англ. multiple reaction monitoring);  |
| NCCLS         | – Национальным комитетом по клиническим лабораторным стандартам<br>(англ. The National Committee for Clinical Laboratory Standards);  |
| NLS           | – сканирование потерь нейтральных частиц;   |
| PIS           | – сканирование родительского иона (англ. scanning the parent ion);  |
| VOA           | – анализ летучих органических веществ (англ. Volatile Organic Analysis);  |
| «4P»-медицина | – предиктивная (предсказательная) (англ. predict) + профилактическая<br>(превентивная) (англ. prevent) + персонализированная (англ. personalize)<br>+ партисипативной (при участии пациента) (англ. participative). |
| АК            | – аминокислоты;   |
| АР            | – аутомно-рецессивный тип наследования;   |
| АТФ           | – аденозинтрифосфат или аденозинтрифосфорная кислота;   |
| ВЭЖХ          | – высокоэффективная жидкостная хроматография;   |
| ВЭЖХ-МС/МС    | – высокоэффективная жидкостная хроматография<br>с масс-спектрометрическим детектированием;  |
| ГХ-МС         | – газовая хроматография с масс-спектрометрическим детектированием;  |
| ДНК           | – дезоксирибонуклеиновая кислота;   |
| ДЦЖК          | – длинноцепочечные жирные кислоты;  |
| ЖК            | – жирные кислоты;   |
| ММА           | – метилмалоновая ацидурия   |
| МРТ           | – магниторезонансная томография;  |
| МС            | – масс-спектрометр;   |
| НАД           | – никотинамидадениндинуклеотид;   |
| НАДФ          | – депротонированная форма никотинамидадениндинуклеотидфосфата;  |
| НАДФ-Н        | – протонированная форма никотинамидадениндинуклеотидфосфата;  |
| НБО           | – наследственные болезни обмена;  |
| НПВС          | – нестероидные противовоспалительные средства;  |
| об.           | – объем (как часть при смешивании компонентов);   |
| ОДЦЖК         | – очень длинноцепочечные жирные кислоты;  |
| ОК            | – органические кислоты;   |
| ОРВИ          | – острая респираторная вирусная инфекция;   |
| ОРЗ           | – острое респираторное заболевание;   |
| ПБ            | – пероксисомные болезни;  |
| ПВДФ          | – поливинилиденфторид;  |
| ПМР           | – протонный магнитный резонанс;   |
| ПП            | – полипропилен;   |
| ПТФЭ          | – политетрафторэтилен;  |
| ПЦР           | – полимеразная цепная реакция;  |
| РИ            | – референсный интервал;   |
| СН            | – скрининг новорожденных;   |
| РНК           | – рибонуклеиновая кислота;  |
| СОЭ           | – скорость оседания эритроцитов;  |
| США           | – Соединенные Штаты Америки;  |
| УЗИ           | – ультразвуковое исследование;  |
| ФКУ           | – фенилкетонурия;   |
| ФАД           | – флавинадениндинуклеотид;  |
| Х             | – Х-сцепленный тип наследования;  |

|        |                                 |
|--------|---------------------------------|
| ЧСС    | – частота сердечных сокращений; |
| ЭКГ    | – электрокардиография;          |
| ЭОС    | – электрическая ось сердца;     |
| ЭХО-КГ | – эхокардиография;              |
| ЭЭГ    | – электроэнцефалограмма;        |

## 8. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антошечкин, А.Г. Диагностика аминокислотопатий и органических ацидурий / А.Г. Антошечкин, Л.А. Максимова, Т.В. Ченцова, Е.А. Николаева // Материалы II Всесоюзного съезда медицинских генетиков, Алма-Ата. – 1990. – с. 232.
2. Баранов, А.А. Избранные лекции по педиатрии / А.А. Баранов, Р.Р. Шияев, Б.С. Каганов. // М.: Издательский Дом «Династия», – 2005. – с. 640.
3. Белоусова, Е.Д. Наследственные болезни обмена веществ, проявляющиеся в периоде новорожденности / Е.Д. Белоусова, М.Ю. Никанорова, Е.А. Николаева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2000. – №6. – с. 12–19.
4. Бугун, О.В. Наследственные болезни обмена: аминокислотопатии, органические ацидемии, дефекты митохондриального  $\beta$ -окисления / О.В. Бугун, Н.Н. Мартынович, Г.П. Богоносова // Acta biomedica scientifica. – 2021. - №5. – с.112–125. DOI: 10.29413/ABS.2021-6.5.11.
5. Буланова, А.В. Хроматография в медицине и биологии / А.В. Буланова, Ю.Л. Полякова. // Учебное пособие. Самара: изд-во «Самарский Университет», 2006. – 116 с.
6. Вельтищев, Ю.Е. Наследственные болезни обмена веществ / Ю.Е. Вельтищев, Л.З. Казанцева, А.Н. Семячкина // В кн.: Наследственная патология человека. Под ред. Ю.Е. Вельтищева и Н.П. Бочкова: В 2-х т. М: 1992. – Т.1. – с. 41–161.
7. Вялков, А.И. Концепция персонализированной медицины в предметной области «Нейромедицина» на технологической платформе «Медицина здоровья» / А.И. Вялков, С.А. Мартынич, В.А. Полесский, Г.В. Ковров // Здравоохранение Российской Федерации. – 2014. –№6. – с. 4–9.
8. Габитова, Н.Х. Редкое метаболическое заболевание — некототическая глициновая энцефалопатия у новорожденного ребенка / Н.Х. Габитова, И.Н. Черезова, Н.Р. Валеева. – Российский медицинский журнал. – 2023. -

№3. с. - 45-48.

9. Горошко, Л.В. Особенности клинических проявлений и лечения отдельных нозологических форм наследственных болезней обмена веществ / Л. В. Горошко, Е. Г. Бакулина // Лечащий врач. – 2020. - № 6. – 2020. с. - 12-17. DOI:10.26295/OS.2020.35.78.006.
10. Иллариошкин, С.Н. Проблемы ранней диагностики наследственных заболеваний нервной системы / С.Н. Иллариошкин, Ю.А. Селиверстов, С.А. Ключников // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2021. - №4. – с. 8–15. DOI: 10.21508/1027–4065–2021–66–4–8–15.
11. Казанцева, Л.З. Клинико-биохимическая диагностика наследственных форм органических ацидезий у детей / Л.З. Казанцева, А.Г. Антошечкин, Е.А. Николаева // Материнство и детство. – 1992. – №2–3. – с. 21–25.
12. Казанцева, Л.З. Клинические проявления, диагностика и возможности лечения важнейших генетически детерминированных заболеваний, связанных с патологией обмена органических кислот у детей / Л.З. Казанцева, Е.А. Николаева // Лечащий врач. – 1999. – №1. – с. 43–47.
13. Каминский, И.П. Медицина будущего: возможности для прорыва сквозь призму технологического прогноза / И.П. Каминский, Л.М. Огородова, М.В. Патрушев, А.А. Чулок // Форсайт. – 2013. –№ 1. – с. 14–27.
14. Ключников, С.О. Эффективность применения L-карнитина (карнитена) у детей раннего возраста / С.О. Ключников, Е.С. Гнетнева, Е.В. Бардин, И.С. Мамедов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2010. – Т.55. – №3. – с. 121–124.
15. Кольман Я., Рём К.Г. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.Г. Рём // 4-е изд. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2012. – 469 с.
16. Краснов, М.В. Наследственные болезни у детей / М.В. Краснов, А.Г. Кириллов, В.М. Краснов, Е.Н. Саваскина, А.В. Аbruкова // Практическая медицина. – 2009. – №7. – с. 22–30.
17. Краснопольская, К.Д. Наследственные болезни обмена веществ / К.Д.

- Краснопольская // Справочное пособие для врачей. М.: РОО «Фохат», 2005. – с. 364.
18. МакКирнан, П. Наследственная тирозинемия 1 типа / П. МакКирнан, С. Сантра, Б. Альперович, П. Гиссен // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2009. – №5. – с. 31–37.
19. Мамедов, И.С. Диагностика нарушений обмена аминокислот, органических кислот и ацилкарнитинов у детей хроматографическими методами – методическое пособие для врачей / И.С. Мамедов, О.А. Перевезенцев, А.И. Веденин, Н.Е. Москалёва, Е.А. Николаева, И.В. Золкина, В.С. Сухоруков, Р.Т. Тогузов // Москва: МНИИ педиатрии и детской хирургии, 2008. – 18 с.
20. Мамедов, И.С. Быстрая диагностика наследственных болезней обмена веществ у детей / И.С. Мамедов, О.А. Перевезенцев, И.В. Золкина, А.И. Веденин, Н.Е. Москалева, В.С. Сухоруков, Р.Т. Тогузов // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2010. – №3. – с. 57–61.
21. Мамедов, И.С. Применения тандемной хромато-масс-спектрометрии в лабораторной медицине / И.С. Мамедов, Р.Т. Тогузов // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – №9. – с. 20а–20б.
22. Мамедов, И.С. Диагностика наследственных болезней метаболизма у детей / И.С. Мамедов, И.В. Золкина, В.С. Сухоруков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – №10. – с. 20–21.
23. Мамедов, И.С. Диагностика пероксисомных нарушений у детей / И.С. Мамедов, Ю.А. Смолина, В.С. Сухоруков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 10. – с. 21б.
24. Мамедов, И.С. Диагностика пероксисомных болезней у детей / И.С. Мамедов, Ю.А. Смолина, В.С. Сухоруков, П.В. Новиков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2012. – № 3. – с. 16–18.
25. Мамедов, И.С. Диагностика наследственных нарушений обмена пуринов и пиримидинов у детей с использованием ВЭЖХ-электроспрейной тандемной масс-спектрометрии / И.С. Мамедов, И.В.

- Золкина, В.С. Сухоруков // Клиническая лабораторная диагностика. – 2015. – Т.60. – №6. – с. 21–29.
26. Мамедов, И.С. Жидкостная хроматография в клинической лабораторной диагностике / И.С. Мамедов, И.В. Золкина, П.Б. Глаговский // Лабораторная служба. – 2016. – Т.5. – №1. – с. 8–18.
27. 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, М.И. Савина, Е.А. Николаева // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2019. – Т.64. – №1. – с. 61–67.
28. Марри, Р. Биохимия человека / Р. Марри, Д. Греннер, П. Мейес, В. Родуэлл // Перевод с англ. под ред.: Л.М. Гиномана, В.И. Кандрора, М.: «Мир», 1993. – Т.2. – 414 с.
29. Мартынович, Н.Н. Опыт практической подготовки будущих врачей-педиатров по учебной дисциплине по выбору «Орфанные заболевания» / Н.Н. Мартынович, Т.В. Барзунова, Ю.П. Съемщикова / Тихоокеанский медицинский журнал. – 2020. - №1. – с. 85-87. DOI: 10.34215/1609-1175-2020-1-85-87.
30. Мартынович, Н.Н. Клинико-лабораторные маркеры наследственных болезней обмена у детей первого полугодия жизни / Н.Н. Мартынович, Н.Э. Глобенко, С.Н. Кузнецова // Acta biomedica scientifica. – 2020. - №4. - с. 73-78. DOI: 10.29413/ABS.2020-5.4.10.
31. Николаева, Е.А. Критерии диагностики митохондриальной патологии у детей / Е.А. Николаева, Л.З. Казанцева, А.И. Клембовский // Тезисы докладов Первого Российского съезда медицинских генетиков. – М. – 1994. – с. 44–45.
32. Николаева, Е.А. Наследственные болезни обмена аминокислот, сопровождающиеся нарушением нервно-психического развития. / В кн. Наследственные нарушения нервно-психического развития детей: Руководство для врачей // Под ред. П.А. Темина, Л.З. Казанцевой. М.:

- Медицина, 2001. – с. 9–52.
33. Николаева, Е.А. Диагностика и патогенетическое лечение тирозинемии II типа / Е.А. Николаева, С.Н. Денисова, М.Б. Курбатов // Вопросы детской диетологии. – 2003. – №4. с. 91–94.
  34. Николаева, Е.А. Диагностика и лечение наследственных дефектов обмена жирных кислот у детей / Е.А. Николаева, И.С. Мамедов // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2009. – Т.54. – №2. – с. 51–65.
  35. Николаева Е.А. Наследственные нарушения обмена аминокислот. / В кн. Педиатрия. Национальное руководство. Т.2. М.: Геотар-Медиа, 2009. – с. 403–408.
  36. 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. – Т.56. – №4. – с. 20–30.
  37. Николаева, Е.А. Структура наследственных заболеваний у детей, госпитализированных в специализированную клинику /Е.А. Николаева, С.В. Боченков, И.С. Данцев, Р.Г. Курамагомедова, М.А. Блохина, А.Р. родина, М.Н. Харабадзе // Российский вестник перинатологии и педиатрии. -2019. - №5. – с. 21–26. DOI: 10.21508/1027–4065–2019–64–5–21–26
  38. Новиков, П.В. Современные способы выявления и тактика ведения больных с фенилкетонурией (сводно-аналитические материалы) / П.В. Новиков, Е.А. Николаева, А.Н. Семякина // М.: Медицина для Вас, 2004. – 63 с.
  39. Петрухин А.С. Педиатрическая неврология / М.: ГЕОТАР-Медиа, 2012. – Т.2. – 560 с.
  40. Пивоварова, А.М. Нарушения клеточной биоэнергетики у детей с туберозным склерозом / А.М. Пивоварова, В.С. Сухоруков, Е.Д. Белоусова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2003. – №5. – с.19–23.
  41. Студеникин, В.М. Представления о некетолической гиперглицинемии в

XXI веке / В.М. Студеникин // Лечащий врач. – 2022. – №9. – с. 44–48. DOI: 10.51793/OS.2022.25.9.008.

42. Сухоруков, В.С. Оценка показателей карнитинового и аминокислотного обмена у детей с врожденными пороками сердца / В.С. Сухоруков, И.В. Золкина, И.С. Мамедов, П.Б. Глаговский // Лабораторная служба. – 2015. – №1. – с. 16–19.
43. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению метилмалоновой ацидемии. / П.В. Новиков, Е.А. Николаева, Т.Э. Боровик, Т.В. Бушуева, Е.Ю. Захарова, С.В. Михайлова // МЗ РФ, Москва, 2013. – 27 с.
44. Acosta, P.B. Functions of dietitians providing nutrition support to patients with inherited metabolic disorders. / PB Acosta, AS. Ryan // J. Am. Diet Assoc. 1997. – Vol. 97. – pp. 783–786.
45. Adaway, J.E. Liquid chromatography tandem mass spectrometry in the clinical laboratory. / J.E. Adaway, B.G. Keevil, L.J. Owen // Ann. Clin. Biochem. – 2015. – 52 (Part 1). – pp. 18–38. DOI: 10.1177/0004563214557678.
46. Altamura, C. Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. / C. Altamura, M. Maes, J. Dai, H.Y. Meltzer // Eur. Neuropsychopharmacol. – 1995. – №5 (Suppl. 1). – pp. 71–75. DOI: 10.1016/0924-977X(95)00033-L.
47. Altamura, C.A. Plasma and platelet excitatory amino acids in psychiatric disorders. / C.A. Altamura, M.C. Mauri, A. Ferrara, A.R. Moro, G. D'Andrea, F. Zamberlan // Am. J. Psychiatry. – 1993. – V.150. – №11. – pp. 1731–1733. DOI: 10.1176/ajp.150.11.1731.
48. Amendt, B.A. Short-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. Clinical and biochemical studies in two patients. / B.A. Amendt, C. Breene, L. Sweetman // J. Clin. Invest. – 1987. – V.79. – №5. – pp. 1303–1309. DOI: 10.1172/JCI112953.
49. Asai, T. Combined therapy with PPARalpha agonist and L-carnitine rescues lipotoxic cardiomyopathy due to systemic carnitine deficiency / T. Asai,

- K. Okomura, R. Takahashi // *Cardiovasc. Res.* – 2006. – №3. – pp. 566–577.
50. Asef, C. K. A Non-Derivatized Assay for the Simultaneous Detection of Amino Acids, Acylcarnitines, Succinylacetone, Creatine, and Guanidinoacetic Acid in Dried Blood Spots via Tandem Mass Spectrometry / C.K. Asef, K.M. Khaksarfard, V.R. De Jesús // *Int. J. Neonatal Screen.* – 2016. – V.2. – №4. – p. 13. DOI: 10.3390/ijns2040013.
51. Assmann, B.E.  $\beta$ -Ureidopropionase Deficiency Presenting with Febrile Status Epilepticus / B.E. Assmann, A B. P. Van Kuilenburg, F. Distelmaier, N.G.G.M. Abeling, Th. Rosenbaum, J. Schaper, M. Duran, E. Mayatepek // *Epilepsia.* – 2006. – V.47. – №1. – pp. 215–217. DOI: 10.1111/j.1528-1167.2006.00391.x.
52. Auray-Blais, C. Neonatal Urine Screening Program in the Province of Quebec: Technological Upgrade from Thin Layer Chromatography to Tandem Mass Spectrometry / C. Auray-Blais, M. Boutin, P. Lavoie, B. Maranda // *International Journal of Neonatal Screening.* – 2021. – V. 7. - № 1. – p. 18. DOI:10.3390/ijns7010018.
53. Baric, I. Diagnosis and management of glutaric aciduria type I. / I. Baric, J. Zschocke, E. Christensen, M. Duran, S.I. Goodman, J.V. Leonard, E. Muller, D.H. Morton, A. Superti-Furga, G.F.Hoffmann // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1998. – V.21. – №4. – pp. 326–340. DOI: 10.1023/A:1005390105171.
54. Baumgartner, M.R. Hyperammonemia with reduced ornithine, citrulline, arginine and proline: a new inborn error caused by a mutation in the gene encoding delta(1)-pyrroline-5-carboxylate synthase / M.R. Baumgartner, C.A. Hu, S. Almashanu // *Hum. Mol. Genet.* – 2000. – V.9. – V.19. – pp. 2853–2858.
55. Bearn, A.G. Archibald Garrod and the development of the concept of inborn errors of metabolism. / A.G. Bearn, E.D. Miller // *Bull. Hist. Med.* – 1979. – V.53. – №3. – pp. 315–328.
56. Bellinger, L. Prenatal exposure to a maternal low-protein diet programmes a preference for a hogh-fat foods in the young adult rat / L. Bellinger, C. Lilley, S.C. Langley-Evans // *Br. J. Nutr.* – 2004. – V.92. – №3. – pp. 513–520. DOI:

10.1079/bjn20041224.

57. Beltran-Valero de Bernabe, D. Mutation and polymorphism analysis of the human homohentisate 1,2-dioxygenase gene in alkaptonuria patients. / D. Beltran-Valero de Bernabe, D. Granadino, I. Chiarelli // *Am. J. Hum. Genet.* – 1998. – V.62. – №4. – pp. 776–784. DOI: 10.1086/301805.
58. Bhumika, S. Glycine encephalopathy / S. Bhumika, K.M. Basalingappa, T.S. Gopenath, S. Basavaraju // *Egypt. J. Neurol. Psychiatr. Neurosurg.* – 2022. – V.58. -№1. - p. 132. DOI: 10.1186/s41983-022-00567-6.
59. Bo, R. False positive cases of elevated tetradecenoyl carnitine in newborn mass screening showed significant loss of body weight. / R. Bo, H. Awano, K. Nishida, K. Fujioka, A. Nishiyama, O. Miyake, K. Iijima // *Molecular Genetics and Meta-bolism Reports.* – 2020. – V.24. – 100634. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2020.100634.
60. Bok, L.A. Short-chain Acyl-CoA-dehydrogenase deficiency: studies in a large family adding to the complexity of the disorder / L.A. Bok, P. Vreken, F.A. Wijburg // *Pediatrics.* – 2003. – V.112. – №5. – pp. 1152–1155. DOI: 10.1542/peds.112.5.1152.
61. Bonafe 'L. Carnitine deficiency in chronic critical illness / 'L. Bonafe, M.M. Bergerb, Y.A. Queb, J.I.Mechanick // *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* – 2014. – V.17. – №2. – pp. 200–209. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000037.
62. Bralley J., Urinary organic acids profiling for assessment of nutrient definicies, gut and toxicity / J. Bralley, R. Lord. In: Murray P. ed. *Textbook of Natural Medicine.* V.29. Edinburgh: Churchill Livingstone. – 1998. – pp. 229–237.
63. Braverman N.E., Moser A.B., and Steinberg S.J., Rhizomelic Chondrodysplasia Punctata Type 1. / N.E. Braverman, A.B. Moser, S.J. Steinberg. In book: *GeneReviews.* - University of Washington. Seattle. – 2010. – p.15.
64. Braverman, E.R. The healing nutrients within facts, findings, and new research on amino acids. / E.R. Braverman, C.C. Pfeiffer, K. Blum, R. Smayda // 3rd ed. - Basic Health Publications, Inc. – 2003.

65. Bureau, MaC.H. Newborn Screening: Toward a uniform screening panel and system // *Genet Med.* – 2006. – Suppl. 1(Suppl 1):1S-252S.– 2005.
66. Burton, B.K. Urea cycle disorders / B.K. Burton // *Clin. Liver. Dis.* – 2000. – V.4. – №4. – pp. 815–830. DOI: 10.1016/S1089-3261(05)70143-4.
67. Burton, B.K. Inborn errors of metabolism in infancy: a guide to diagnosis / B.K. Burton // *Pediatrics.* – 1998. – №6. – pp. 269–277.
68. Caldwell, J. Pharmacogenetics and individual variation in the range of amino acid adequacy: the biological aspects. / J. Caldwell // *J. Nutr.* – 2004. – 6 Suppl. 1600S–1604S; Discussion 1630S–1632S, 1667S–1672S.
69. Castiñeras, D.E. Newborn screening for metabolic disorders in Spain and worldwide Situación actual del cribado neonatal de enfermedades metabólicas en España y en el mundo. / D.E. Castiñeras, M.-L. Couce, J.L. Marín, D. González-Lamuño, H. Rocha // *Anales de Pediatría (English Edition).* – 2019. – V.91. – №2. – pp. 128e.1–128e. DOI: 10.1016/j.anpede.2019.05.005.
70. Chace, D.H. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry / D.H. Chace, D.S. Milhington, N. Terada, S.G. Kahler, C.R. Roe, L.F. Hofman // *Clin. Chem.* – 1993. – V.39. – №1. – pp. 66–71.
71. Chace, D.H. Rapid diagnosis of maple-syrup-urine-disease in blood spots from newborns by tandem mass-spectrometry / D.H. Chace, S.L. Hillman, D.S. Milhington, S.G. Kahier, C.R. Roe, E.W. Naylor // *Clin. Chem.* – 1995. – V.41. – №1. – pp. 62–68. DOI: 10.1093/clinchem/41.1.62.
72. Chace, D.H. Use of Tandem Mass Spectrometry for Multianalyte Screening of Dried Blood Specimens from Newborns // D.H. Chace, T. Kalas, E.W. Naylor *Clin. Chem.* – 2003. – V.49. – №11. – pp. 1797–1817. DOI: 10.1373/clinchem.2003.022178.
73. Chace, D.H. Technological Journey From Colorimetric to Tandem Mass Spectrometric Measurements in the Diagnostic Investigation for Phenylketonuria / D.H. Chace, W.H. Hannon // *Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening.* – 2016. – №4. – pp. 1–11. DOI: 10.1177/2326409816671733.

74. Chalmers R. A., Lawson A. M. Organic acids in man. London-New York, 1982. – 523 p.
75. Chatvuttinun, S. Clinical utility of low branched-chain amino acid modular diets in patients with isovaleric aciduria and maple syrup urine disease / S. Chatvuttinun, D. Wattanasirichaigoon, V. Chavasit, O. Dumrongwongsiri // Malaysian Journal of Nutrition. – 2021. – V.27. - №2. – pp. 349-361. DOI:10.31246/mjn-2020-0071.
76. Chen, Z. Development of a simultaneous quantitation for short-, medium-, long-, and very long-chain fatty acids in human plasma by 2-nitrophenylhydrazine-derivatization and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. / Z. Chen, Z. Gaoa, Y. Wua, R. Shresthaa, H. Imaib, N. Uemurac, K. Hiranode, H. Chibaf, S.-P. Huia // Journal of Chromatography B. – 2019. – V.1126–1127. – №15. – 121771. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.121771.
77. Chih-Kuang, C. Plasma free amino acids in Taiwan Chinese: the effect of age / C. Chih-Kuang, L. Shuan-Pei, L. Shyue-Jye, W. Tuan-Jen // Clin. Chem. Lab. Med. – 2002. – V.40 – №4. – pp. 378–382. DOI: 10.1515/CCLM.2002.061.
78. Choi, Y.J. Quantification of Age-related Reference Values for Urinary Organic Acids in the Healthy Korean Population / Y.J. Choi, I.C. Kim, Y.K. Choi, H.J. Lee, B.S. Kim, W.I. Park, K.J. Lee, T. Giudic, M. Blaskovics // Korean J. Pediatr. – 2001. – №12. – pp. 1413–1423. DOI: 10.13103/JFHS.2013.28.4.293.
79. Christensen, E. The Zellweger syndrom e: deficient chain-shortening of erutic acid (22:1 (n-9)) and adrenic acid (22:4 (n-6)) in cultured in cultered skin fibriblasts / E. Christensen, T.A. Hagve, B.O. Christophersen // Biochim. Biophys. Acta. – 1988. – №2. – pp. 134–142.
80. Clayton, P.T. Isolated dihydroxyacetonephosphate acyltransferase deficiency presenting with developmental delay / P.T. Clayton, S. Eckhardt, J. Wilson, C.M. Hall, Y. Yousuf, R.J.A. Wanders, R.B.H. Schutgens // J. Inherit. Metab. Dis. – 1994. – V.17. – №5. – pp. 533–540.
81. Closs, E.I. Cationic amino acid teransporters (CATs). Targets for the

- manipulation of NO-synthase activity? / E.I. Closs, P. Graf // *Pharm. Biotechnol.* – 1999. – V.12. – pp. 229–249.
82. Colby, J.M. Applications of mass spectrometry in the clinical laboratory. / J.M. Colby, K.L.Thoren // *Contemporary Practice in Clinical Chemistry (Fourth Edition)*. – 2020. – pp. 351–363. DOI: 10.1016/B978-0-12-815499-1.00021-1.
83. Cooks, R.G. Through a glass darkly: glimpses into the future of mass spectrometry / R.G. Cooks, T. Mueller // *Mass Spectrometry*. – 2013. – 2. – pp. 7–17.
84. Couce, M.-L. Fifty years of neonatal screening for congenital diseases in Spain (Cincuenta años de cribado neonatal de enfermedades congénitas en España). / M.-L. Couce // *Anales de Pediatría (English Edition)*. – 2019. – V.90. – №4. – pp. 205–206. DOI: 10.1016/j.anpede.2018.11.012.
85. Dale, Y. Simultaneous measurement of phenylalanine and tyrosine in phenyl-ketonuric plasma and dried blood by high-performance liquid chromatography / Y. Dale, V. Mackey, R. Mushi, A. Nyanda, M. Maleque, J. Ike // *J. Chromatogr. B*. – 2003. – V.788. – pp. 1–8.
86. Das, A.M. Inborn Errors of Energy Metabolism Associated with Myopathies / A.M. Das, U. Steuerwald, S. Illsinger // *J. Biomed. Biotechnol.* – 2010. – V.2010. – p. 340849. DOI: 10.1155/2010/340849.
87. Dawson, D.B. Transient organic aciduria and persistent lacticacidemia in a patient with short-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency / D.B Dawson, L. Waber, D.E. Hale // *J. Pediatr.* – 1995. – V.126. – №1. – pp. 69–71. DOI: 10.1016/S0022-3476(95)70505-8.
88. De Jesus, V.R. Comparison of amino acids and acylcarnitines assay methods used in newborn screening assays by tandem mass spectrometry / V.R. De Jesus, D.H. Chace, T.H. Lim, J.V. Mei, W.H. Hannon // *Clin. Chim. Acta.* – 2010. – V.411. – №9–10. – pp. 684–689. DOI: 10.1016/j.cca.2010.01.034.
89. Desmons, A. Direct liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of amino acids in human plasma. / A. Desmons, E. Thioulouse, J.-Y. Hautem, Saintier, B. Baudin, A. Lamazière, C. Netter, F. Moussa // *Journal of*

- Chromatography A. – 2020. – V.1622. – 461135. DOI: 10.1016/j.chroma.2020.461135.
90. Dietzen, D.J. Comprehensive determination of amino acids for diagnosis of inborn errors of metabolism / D.J. Dietzen, A.L. Weindel // *Methods Mol. Biol.* – 2010. – V.603. – pp. 27–36. DOI: 10.1007/978-1-60761-459-3\_3.
91. Doyle, R.M. Urine Purine and Pyrimidine metabolite determination by LC-MS/MS for research use / R.M. Doyle // *Clinical. Chem.* – 2017. – V.63. – №10. – p. S113.
92. Duez, P. GC-MS profiling of urinary organic acids evaluated as a quantitative method / P. Duez, A. Kumps, Y. Mardens // *Clin. Chem.* – 1996. – V.42. – №10. – pp. 1609–1615. DOI: 10.1093/clinchem/42.10.1609.
93. Dunn, M.J. Proteomics clinical applications reviews 2012 / M.J. Dunn // *Proteomics, Clin. Appl.* – 2012. – 6. – pp. 3–5.
94. Fairbanks, L.D. Deoxyuridine accumulation in urine in thymidine phosphorylase deficiency (MNGIE) / L.D. Fairbanks, A.M. Marinaki, E.A. Carrey, S.R. Hammans, J.A. Duley // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2002. – V.25. – №7. – pp. 603–604. DOI: 10.1023/a:1022007827133.
95. Fenn, J. Electrospray wings for molecular elephants (Nobel lecture) / J. Fenn // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* – 2003. – V.42. – №33. – pp. 3871–3894. DOI: 10.1002/anie.200300605.
96. Ferdinandusse, S. Mutations in the gene encoding peroxisomal alpha-methylacyl-CoA racemase cause adult-onset sensory motor neuropathy / S. Ferdinandusse, S. Denis, P.T. Clayton, A. Graham, I.E. Rees, J.T. Allen, B.N. Mclean, A.Y. Brown, P. Vreken, H.R. Waterham, R.J.A. Wanders // *Nat. Genet.* – 2000. – V.24. – №2. – pp. 188–191. DOI: 10.1038/72861.
97. Ferdinandusse, S. Clinical and biochemical spectrum of D-bifunctional protein deficiency / S. Ferdinandusse, S. Denis, P.A. Mooyer, C. Dekker, M. Duran, R.J. Soorani-Lunsing, E. Boltshauser, A. Macaya, J. Gartner, C.B. Majoie, P.G. Barth, R.J. Wanders, B.T. Poll-The // *Ann. Neurol.* – 2006. – V.59. – №1. – pp. 92–104. DOI: 10.1002/ana.20702.

98. Ferdinandusse, S. Clinical, biochemical, and mutational spectrum of peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase deficiency / S. Ferdinandusse, S. Denis, E.M. Hogenhout, J. Koster, C.W.T. van Roermund, L. IJlst, A.B. Moser, R.J.A. Wanders, H.R. Waterham // *Hum. Mutat.* – 2007. – V.28. – №9. – pp. 904–912. DOI: 10.1002/humu.20535.
99. Ferreira C.R., van Karnebeek C.D.M. Chapter 22 - Inborn errors of metabolism. In *Handbook of Clinical Neurology*. Edited by L. S. de Vries, H. C. Glass. Elsevier, V.162. – 2019. – p. 449-481. ISSN 0072-9752, ISBN 9780444640291. DOI.org/10.1016/B978-0-444-64029-1.00022-9.
100. Fingerhut, R. Stability of acylcarnitines and free carnitine in dried blood samples: implications for retrospective diagnosis of inborn errors of metabolism and neonatal screening for carnitine transporter deficiency / R. Fingerhut, R. Ensenauer, W. Rochinger, R. Arnecke, B. Olgemoller, AA. Roscher // *Anal. Chem.* – 2009. – V.81. – №9. – pp. 3571–3575. DOI: 10.1007/s00216-012-6211-4.
101. Ganapathy V., Inoue K., Prasad P., Ganapathy M. Cellular uptake of amino acids: systems and regulation. In: Cynober L., ed. *Metabolic and therapeutic aspects of amino acids in clinical nutrition*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press. – 2004. – pp. 63–78.
102. Garg, U. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects / U. Garg, M. Dasouki // *Clin. Biochem.* – 2006. – V.39. – №4. – pp. 315–332. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2005.12.009.
103. Garg, U. Mass Spectrometry in Clinical Laboratory: Applications in Therapeutic Drug Monitoring and Toxicology / U. Garg, Y.V. Zhang // *Methods Mol. Biol.* – 2016. – 1383. – pp. 1–10. DOI: 10.1007/978-1-4939-3252-8\_1.
104. Van Geel, B.M. Progression of abnormalities in adrenomyeloneuropathy and neurologically asymptomatic X-linked adrenoleukodystrophy despite treatment with «Lorenzo's oil» / B.M. van Geel, J. Assies, E.B. Havercort // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry.* – 1999. – V.67. – №3. – pp. 290–299. DOI:

- 10.1136/jnnp. 67.3.290.
105. Gelb, M.H. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry in newborn screening laboratories / M.H. Gelb, K. Basheeruddin, A. Burlina, H.-J. Chen, Y.-H. Chien, G. Dizikes, C. Dorley, R. Giugliani, A. Hietala, X. Hong // *Int. J. Neonatal Screen.* – 2022. - № 8. – p. 62. DOI:org/10.3390/ijns8040062.
106. Giesbertz, P. An LC-MS/MS method to quantify acylcarnitine species including isomeric and odd-numbered forms in plasma and tissues / P. Giesbertz, J. Ecker, Haag, B. Spanier, H. Daniel // *J. Lipid. Res.* – 2015. – V.56. – №10. – pp. 2029–2039. DOI: 10.1194/jlr.D061721.
107. Golubnitschaja, O. EPMA: General Report & Recommendations in Predictive, Preventive and Personalized Medicine 2012: White Paper of the European Association for Predictive, Preventive and Personalized Medicine / O. Golubnitschaja, V. Costigliola // *The EPMA J.* – 2012. – №3. – p. 14. DOI: 10.1186/1878-5085-3-14.
108. Ghoshal, A.K. Rapid measurement of plasma acylcarnitines by liquid chromatography–tandem mass spectrometry without derivatization. / A.K. Ghoshal, T.D. Guo, N. Soukhova, S.J. Soldin // *Clin. Chim. Acta.* – 2005. – №1–2. – pp. 104–112. DOI: 10.1016/j.cccn.2005.02.011.
109. Gordon, N. Acyl-CoA-dehydrogenase deficiency: varieties with neurological involvement / N. Gordon // *Dev Med Child Neurol.* – 2005. – V.47. – №3. – pp. 207–210. DOI: 10.1017/s0012162205000381.
110. Gordon, N. Glutaric aciduria types I and II / N. Gordon // *Brain Dev.* – 2006. – V.28. – №3. – pp. 136–140. DOI: 10.1016/j.braindev.2005.06.010.
111. Gregersen, N. Prevalent mutations in fatty acid oxidation disorders: diagnostic considerations / N. Gregersen, B.S. Andersen, O. Bross // *Eur. J. Pediatr.* – 2000. – 159. – Suppl 3. – pp. 213–218. DOI: 10.1007/PL00014406.
112. Gregersen, N. On the biologic origin of C6-C10-dicarboxylic and C6-C10-omega-1-hydroxy monocarboxylic acids in human and rat with acyl-CoA dehydrogenation deficiencies: in vitro studies on the omega- and omega-1-oxidation of medium-chain (c6-C12) fatty acids in human and rat liver / N.

- Gregersen, P.B Mortensen, S. Kolvraa // *Pediatr. Res.* – 1983. – V.17. – №10. – pp. 828–834. DOI: 10.1203/ 00006450-198310000-00013.
113. Gu, S. Identification and characterization of an amino acid transporter expressed differentially in liver / S. Gu, H.L. Roderick, P. Camacho, J.X. Jiang // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2000. – V.97. – №7. – pp. 3230–3235. DOI: 10.1073/pnas. 050318197.
114. Guerra, I.M.S. Lipids and phenylketonuria: Current evidences pointed the need for lipidomics studies. / I.M.S. Guerra, H.B. Ferreira, B. Neves, T. Melo, L.M. Diogo, M.R. Domingues, A.S.P. Moreira // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 2020. – V.688. – 108431. DOI: 10.1016/j.abb.2020.108431.
115. Guldberg, P. A. European multicenter study of phenylalanine hydroxylase deficiency: classification of 105 mutations and a general system for genotype–based prediction of metabolic phenotype / P. Guldberg, F. Rey, J. Zschocke // *Am. J. Hum. Genet.* – 1998. – V.63. – №1. – pp. 71–79. DOI: 10.1086/301920.
116. Guneral, F. Age-Related Reference Values for Urinary Organic Acids in a Healthy Turkish Pediatric Population / F. Guneral, C. Bachmann // *Clin.Chem.* – 1994. – V.40. – №6 – pp. 862–868.
117. Harkness, R.A. Xanthine oxidase deficiency and ‘Dalmatian’ hypouricemia: Incidence and effect of exercise / R.A. Harkness, S.B. Coade, K.R. Walton, D. Wright // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1983. – V.53. – №6. – p. 114–120.
118. Hartmann, S. Comprehensive Detection of Disorders of Purine and Pyrimidine Metabolism by HPLC with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry / S. Hartmann, J.G. Okun, C.-D. Schmidt, S.F. Garbade // *Clin. Chem.* – 2006. – V.52. – №6. – pp. 1127–1137. DOI: 10.1373/clinchem.2005.058842.
119. Healthcare Practitioner Manual. Virginia Newborn Screening Services. Virginia department of health, Richmond, 2006.
120. Hereditary orotic aciduria: [Электронный ресурс] // Orphanet – The portal for rare diseases and orphan drugs. Режим доступа: [http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC\\_Exp.php?Lng=GB&Expert=30](http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=GB&Expert=30) (Дата

обращения 26.10.2023).

121. Hiltunen, J.K. Beta-oxidation – strategies for the metabolism of a wide variety of acyl-CoA esters / J.K. Hiltunen, Y. Qin // *Biochim. Biophys. Acta.* – 2000. – V.1484. – №2–3. – pp. 117–128. DOI: 10.1016/s1388-1981(00)00013-5.
122. Hoofnagle, A.N. Multiple-reaction monitoring-mass spectrometric assays can accurately measure the relative protein abundance in complex mixtures / A.N. Hoofnagle, J.O. Becker, M.N. Oda // *Clin. Chem.* – 2012. – V.58. – №4. – pp. 777–781. DOI: 10.1373/clinchem.2011.173856.
123. Horvath, R. Mitochondrial Diseases. / R. Horvath, M. Hirano, P.F. Chinnery // In book: *Handbook of Clinical Neurology.* - V.194. – 2023. - pp. 2 – 283. ISBN-13:978-0128217511.
124. Huang, Z. Rapid screening for organic acidurias based on abnormal patterns of organic acids in neonatal urine by tandem mass spectrometry with automated flow injection / Zh. Huang, Zh. Hu, Ch. Tu, X. Huang, H. Liu // *Microchemical Journal.* – 2021. – V.171. – pp. DOI: 10.1016/j.microc.2021.106871.
125. Insinga, R.P. Newborn screening with tandem mass spectrometry: examining its cost-effectiveness in the Wisconsin Newborn Screening Panel / R.P. Insinga, R.H. Laessig, G.L. Hoffman // *J. Pediatr.* – 2002. – V.141. – №4. – pp. 524–531. DOI: 10.1067/mpd.2002.128116.
126. Irwin, M.I. A conspectus of research on protein requirements of man / M.I. Irwin, D.M. Hegsted // *J. Nutr.* – 1971. – V.101. – №3. – pp. 387–429.
127. Ito, T. Rapid screening of high-risk patients for disorders of purine and pyrimidine metabolism using HPLC-electrospray tandem mass spectrometry of liquid urine or urinesoaked filter paper strips / T. Ito, A.B.P. van Kuilenburg, A.H. Bootsma, A.J. Haasnoot, A.G. van Cruchten, Y. Wada, A.H. van Gennip // *Clin. Chem.* – 2000. – V.46. – №4. – pp. 445–452. DOI: 10.1093/clinchem/46.4.445.
128. Jacomelli, G. Simple non-radiochemical HPLC-linked method for screening for purine metabolism disorders using dried blood spot / G. Jacomelli, V. Michelia, L. Peruzzi, L. Notarantonio, B. Cerbonia, S. Sestinia, G. Pompuccia

- // Clin. Chem Acta. – 2002. – V.324. – №1–2. – pp. 135–139. DOI: 10.1016/S0009-8981(02) 00243-7.
129. Jaeken, J. An infantile autistic syndrome characterised by the presence of succinylpurines in body fluids / J. Jaeken, G. Van den Berghe // Lancet. – 1984. –№2. – pp. 1058–1061.
130. Jannetto, P.J. Effective Use of Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory / P.J. Jannetto, R.L. Fitzgerald // Clin. Chem. – 2015. – №1. – pp. 92–98. DOI: 10.1373/clinchem.2015.248146.
131. Jimmerson, L.C. A LC-MS/MS method for quantifying adenosine, guanosine and inosine nucleotides in human cells. / L.C. Jimmerson, L.R. Bushman, M.L. Ray, P.L. Anderson, J.J. Kiser // Pharm. Res. – 2017. – V34. – №1. – pp. 73–83. DOI: 10.1007/s11095-016-2040-z.
132. Kamatani, N. Purine and Pyrimidine Metabolism / N. Kamatani, H.A. Jinnah, R.C.M. Hennekam, A.B.P. van Kuilenburg // In book Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics (Seventh Edition). Metabolic Disorders: 2021. – pp. 183–234. DOI: 10.1016/B978-0-12-812535-9.00006-6.
133. Kilberg, M.S. Nutritional control of gene expression: how mammalian cells respond to amino acid limitation / M.S. Kilberg, Y.X. Pan, H. Chen, V. Leung-Pineda // Annu. Rev. Nutr. – 2005. – 25. – pp. 59–85. DOI: 10.1146/annurev.nutr. 24.012003.132145.
134. Kilgore, M. B. Development of a Universal Second-Tier Newborn Screening LC–MS/MS Method for Amino Acids, Lysophosphatidylcholines, and Organic Acids / M. B. Kilgore, D. Platis, T. Lim, S. Isenberg, C. A. Pickens, C. Cuthbert, K. Petritis // Analytical Chemistry. – 2023. – V. 95. - №6. – pp. 3187-3194. DOI: 10.1021/acs.analchem.2c03098
135. Komen, J.C. Peroxisomes, Refsum's disease and the  $\alpha$ - and  $\omega$ -oxidation of phytanic acid / J.C. Komen, R.J.A. Komen // Biochem. Soc. Trans. – 2007. – 35 (Part 5). – pp. 865–869. DOI: 10.1042/BST0350865.
136. Koracin, V. Current Status of Newborn Screening in Southeastern Europe /

- V. Koracin, M. Mlinaric, I. Baric, I. Brincat, M. Djordjevic, T. Drole // *Front. Pediatr.* – 2021. – №9. – p. 648939. DOI: 10.3389/fped.2021.648939.
137. Korenev, S. Newborn screening for inborn errors of metabolism / S. Korenev, H. Lemonde, M. Cleary, A. Chakrapani // *Paediatrics and Child Health.* – 2019. – V.29. – №3. – pp. 105–110. DOI: 10.1016/j.paed.2019.01.002.
138. Kumps, A. Metabolic, Nutritional, Iatrogenic, and Artifactual Sources of Urinary Organic Acids: A Comprehensive Table / A. Kumps, P. Duez, Y. Mardens // *Clin. Chem.* – 2002. – V.48. – №5. – pp. 708–717.
139. Kuhara, T. Gas chromatographic-mass spectrometric urinary metabolome analysis to study mutations of inborn errors of metabolism / T. Kuhara // *Mass Spectrom. Rev.* – 2005. – V.24. – №6. – pp. 814–827. DOI: 10.1002/mas.20038.
140. Lee, B., Scaglia, F. *Inborn Errors of Metabolism: From Neonatal Screening to Metabolic Pathways.* Oxford University Press, 2014. – p. 19.
141. Lepage, N. Age-specific distribution of plasma amino acid concentrations in a healthy pediatric population / N. Lepage, N. McDonald, L. Dallaire, M. Lambert // *Clin. Chem.* – 1997. – V.43. – №12. – pp. 2397–2402.
142. Leuzzi, V. Clinical significance of brain phenylalanine concentration assessed by in vivo proton magnetic resonance spectroscopy in phenylketonuria / V. Leuzzi, M. C. Bianchi, M. Tosetti // *J. Inher. Metab. Dis.* – 2000. – V.23. – №6. – pp. 563–570. DOI: 10.1023/a:1005621727560.
143. Levy, H.L. Newborn screening by tandem mass spectrometry: a new era [Editorial; Comment] / H.L. Levy // *Clin. Chem.* – 1998. – V.44. – №12. – p. 24012.
144. Liang, X. Impact of the intramitochondrial enzyme organization on fatty acid oxidation / X. Liang, W. Le, D. Zhang // *Biochem. Soc. Trans.* – 2001. – 29(Part 2). – pp. 279–282. DOI: 10.1042/0300-5127:0290279.
145. Lin, Y. Expanded newborn screening for inherited metabolic disorders and genetic characteristics in a southern Chinese population / Y. Lin, Q. Zheng, T. Zheng, Z. Zheng, W. Lin, Q. Fu // *Clinica Chimica Acta.* – 2019. – V.494. – pp. 106–111. DOI: 10.1016/j.cca.2019.03.1622.

146. Lin, Y. Newborn screening and genetic characteristics of patients with short- and very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiencies / Y. Lin, W. Zhang, D. Chen, Ch. Lin, Zh. Zheng, Q. Fu, M. Li, W. Peng // *Clinica Chimica Acta*. – 2020. – V.510. – pp. 285–290. DOI: 10.1016/j.cca.2020.07.038.
147. Lord, R.S. Bralley J.A. Laboratory evaluations for integrative and functional medicine / R.S. Lord, Bralley J.A. 2nd edition, Metametrix Institute, 2008. – p. 179.
148. Luan, H. PCI-GC-MS-MS approach for identification of non-amino organic acid and amino acid profiles / H. Luan, L. Yang, F. Ji, Z. Cai // *J. Chromatogr. B Analyt Technol. Biomed. Life Sci.* – 2017. – V.1047. – №15. – pp. 180–184. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.06.034.
149. Maguolo, A. Diagnosis, genetic characterization and clinical follow up of mitochondrial fatty acid oxidation disorders in the new era of expanded newborn screening: A single centre experience / A. Maguolo, G. Rodella, A. Dianin, R. Nurti, I. Monge, E. Rigotti, G. Cantalupo, L. Salviati, S. Tucci, F. Pellegrini, G. Molinaro, F. Lupi, P. Tonin, A. Pasini, N. Campostrini, F.I. Popa, F. Teofoli, M. Vincenzi, A. Bordugo // *Molecular Genetics and Metabolism Reports*. – 2020. – V.24. – 100632. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2020.100632.
150. Manta-Vogli, P.D. Perinatal free carnitine and short chain acylcarnitine blood concentrations in 12,000 full-term breastfed newborns in relation to their birth weight / P.D. Manta-Vogli, K.H.Schulpis, Y.L. Loukas, Y. Dotsikas // *Pediatrics & Neonatology*. – 2020. – V.61. – №6. – pp. 620–628. DOI: 10.1016/j.pedneo.2020.07.015.
151. Marcovina, S.M. Translating the basic knowledge of mitochondrial functions to metabolic therapy: role of L-carnitine / S.M. Marcovina, C. Sirtori, A. Peracino // *Transl. Res.* – 2013. – V.161. – №2. – pp. 73–84. DOI: 10.1016/j.trsl.2012.10.006. Epub 2012 Nov 5.
152. Matern, D. Acylcarnitines, including in vitro loading tests. In *Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics*. Edited by N. Blau, M. Duran, K.M. Gibson. Springer Verlag. – 2008. – pp. 171–206.

153. Mathews, C.K. DNA precursor metabolism and genomic stability / C.K. Mathews // *The FASEB J.* – 2006. – V.20. – pp. 1300–1314. DOI: 10.1096/fj.06-5730rev.
154. Mauri, M.C. Plasma and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment / M.C. Mauri, A. Ferrara, L. Boscati // *Neuropsychobiology.* – 1998. – V.37. – №3. – pp. 124–129. DOI: 10.1159/000026491.
155. McGivan, J.D. Regulation of high-affinity glutamate transport by amino acid deprivation and hyperosmotic stress / J.D. McGivan, B. Nicholson // *Am. J. Physiol.* – 1999. – 277(4 Pt 2). – pp. F498–500.
156. McNair H.M., Miller J.M. *Basic gas chromatography*, 2nd ed. Malden, Mass: Wiley Interscience, 2009.
157. Merceles, R. Myoadenilate deaminase deficiency in a patient with facial and limb girdle myopathy / R. Merceles, J.J. Martin, I. DeHaene, T.H. DeBarys, G. Van den Berghe // *J. Neurol.* – 1981. – V.225. – №3. – pp. 157–166. DOI: 10.1007/bf00313744.
158. Merritt II, J.L. *Inborn Errors of Carbohydrate, Ammonia, Amino Acid, and Organic Acid Metabolism* / J.L. Merritt II, R.C. Gallagher // *Avery's Diseases of the Newborn (Tenth Edition)*. – 2018. – pp. 230–252.e4. DOI: 10.1016/B978-0-323-40139-5.00022-X.
159. Miller J.M. *Chromatography: concepts and contrasts*, 2nd ed. Malden, Mass: Wiley Interscience, 2009.
160. Minkler, P. E. Quantitative Acylcarnitine Determination by UHPLC-MS/MS – Going Beyond Tandem MS Acylcarnitine «Profiles» / P.E. Minkler, M.S.K. Stoll, S.T. Ingalls, J. Kerner, C.L. Hoppela // *Mol. Genet. Metab.* – 2015. – V.116. – №4. – pp. 231–241. DOI: 10.1016/j.ymgme.2015.10.002.
161. Moat, S.J. Performance of laboratory tests used to measure blood phenylalanine for the monitoring of patients with phenylketonuria / S.J. Moat, D. Schulenburg-Brand, H. Lemonde // *J Inherit Metab Dis.* – 2020. – V.43. №2. – pp. 179-188. doi:10.1002/jimd.12163.

162. 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. - V.6. №2. – p. 26. DOI: 10.3390/ijns6020026.
163. Mohammad, M.A. Plasma cobalamin and folate and their metabolic markers methylmalonic acid and homocysteine among Egyptian children before and after nutritional supplementation with the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt matrix / M.A. Mohammad, A. Molloy, J. Scott // *Int. J. Food Sci. Nutr.* – 2006. – №7–8. – pp. 470–480.
164. Molzer, B. Phytanic Acid and Very Long Chain Fatty Acids in Genetic Peroxisomal Disorders / B. Molzer, M. Kainz-Korschinsky, R. Sundt-Heller, H. Bernheimer // *J. Clin. Chem Clin. Biochem.* – 1989. – V.27. – №5. – pp. 309–314.
165. Moser, A.B. Plasma very long chain fatty acid assay in 3,000 peroxisome disease patients and 29,000 controls / A.B. Moser, N. Kreiter, L. Bezman // *Ann. Neurol.* – 1999. – V.45. – №1. – pp. 100–110. DOI: 10.1002/1531-8249(199901)45:1<100::aid-art16>3.0.co;2-u.
166. Moser A.B., Hugo W. Disorders of Very Long Chain Fatty Acids: Peroxisomal Disorders. In: *Nelson Textbook of Pediatrics*, 17th ed. Edited by Richard E Behrman et al. Philadelphia: Saunders, 2004.
167. Moser, H.B. Follow-up of 89 asymptomatic patients with adrenoleukodystrophy treated with Lorenzo's oil / H.B. Moser, G.V. Raymond, S.E. Lu // *Arch. Neurol.* – 2005. – V.62. – №7. – pp. 1073–1080. DOI: 10.1001/archneur.62.7.1073.
168. Moser A. B. Newborn Screening for X-Linked Adrenoleukodystrophy / A.B. Moser, R.O. Jones, W.C. Hubbard, S. Tortorelli, J.J. Orsini, M. Caggana, B.H. Vogel, G.V. Raymond // *Int. J. Neonatal Screen.* – 2016. – 2(4). – p. 15. DOI: 10.3390/ijns2040015.
169. Moughan, P.J. Dietary peptides increase endogenous amino acids losses from the gut in adults / P.J. Moughan, C.A. Butts, A.M. Rowan, A. Deglaire // *Am. J. Clin Nutr.* – 2005. – V.81. – №6. – pp. 1359–1365. DOI:

- 10.1093/ajcn/81.6.1359.
170. Mueller, P. Validation of an ESI-MS/MS screening method for acylcarnitine profiling in urine specimens of neonates, children, adolescents and adults / P. Mueller, A. Schulze, I. Schindler // *Clin. Chim. Acta.* – 2003. – 327. – pp. 47–57. DOI: 10.1016/S0009-8981(02)00327-3.
171. Nelson D.L., Lehninger M., Cox M. Principles of biochemistry. – Fifth edition. – New York: W. H. Freeman and company, 2008. – 1158 p. – ISBN 978-0-7167-7108-1.
172. Niederwieser, A. Differential diagnosis of tetrahydrobiopterin deficiency / Niederwieser, A. Ponzzone, H.C. Curtius // *J. Inher. Metab. Dis.* – 1985. – V.8. – Suppl.1. – pp. 34–38. DOI: 10.1007/BF01800657.
173. Noguchi, Y. Metabolomics and its potential for assessment of adequacy and safety of amino acids intake / Y. Noguchi, R. Sakai, T. Kimura // *J. Nutr. Jun.* – 2003. – 133(6 Suppl.1). – pp. 2097S-2100S. DOI: 10.1093/jn/133.6.2097S.
174. Nyhan W.L. Abnormalities in amino acid metabolism in clinical medicine. Norwalk: Appleton-Century-Crofts; 1984. – 463 p.
175. Nyhan, W.L. Inborn errors of biotin metabolism / W.L. Nyhan // *Arch Dermatol.* – 1987. – V.123. – №12. – pp. 1696–1698a.
176. Nyhan W.L., Barshop B.A., Ozand P.T. Atlas of Metabolic Diseases. Part 2. Disorders of amino acid metabolism. 2nd ed. New York, NY: Oxford University Press Inc. – 2005. – pp. 109–189.
177. Oppici, E. Liver peroxisomal alanine: glyoxylate aminotransferase and the effects of mutations associated with Primary Hyperoxaluria Type I: An overview *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) / E. Oppici, R. Montioli, B. Cellini Proteins and Proteomics.* – 2015. – V.1854. – №9. – pp. 1212–1219. DOI: 10.1016/j.bbapap.2014.12.029. Epub 2015 Jan 22.
178. Orphan-Europe: [Электронный ресурс] Режим доступа: <http://www.orphan-europe.com/> (дата обращения: 21.10.2022).
179. Osorio, J.H. Plasma free and total carnitine measured in children by tandem mass spectrometry / J.H. Osorio, M. Pourfarzam // *Braz. J. Med. Biol. Res.* –

2002. – V.35. – №11. – pp. 1265–1271. DOI: 10.1590/s0100-879x2002001100003.
180. Osorio, J.H. Determination of normal acylcarnitine levels in a healthy pediatric population as a diagnostic tool in inherited errors of mitochondrial fatty acid beta-oxidation / J.H. Osorio, M. Pourfarzam // *An. Pediatr. (Barc.)*. – 2007. – V.67. – №6. – pp. 548–552. DOI: 10.1016/s1695-4033(07)70802-0.
181. Ozand, P.T. Organic acidurias: a review. Part 1 / P.T. Ozand, G.G. Gascon // *J. Child Neurol.* – 1991. – V.6. – №3. – pp. 197–219. DOI: 10.1177/088307389100600302.
182. Ozand, P.T. Organic acidurias: a review. Part 2 / P.T. Ozand, G.G. Gascon // *J. Child Neurol.* – 1991. – V.6. – №4. – pp. 288–303. DOI: 10.1177/088307389100600402.
183. Patel, K. Newborn screening and inborn errors of metabolism / K. Patel, S.R. Master // *Contemporary Practice in Clinical Chemistry (Fourth Edition)*. – 2020. – p. 865–883. DOI: 10.1016/B978-0-12-815499-1.00048-X.
184. Pawar, C. Development of A GC-MS bio-analytical method to detect organic academia in neonatal/paediatric urine sample // C. Pawar, P. Rao, L. Lewis, S. Moorkoth // *Int. J. Pharm. Techn.* – 2016. – 8(2). – pp. 13110–13124.
185. Percenti, L. Newborn Screening Follow-up / L. Percenti, G.N.C. Vickery // *Med. J.* – 2019. - № 80. – p. 37–41.
186. Petucci, C. Use of Ion Chromatography/Mass Spectrometry for Targeted Metabolite Profiling of Polar Organic Acids / C. Petucci, A. Zelenin, J.A. Culver, M. Gabriel, K. Kirkbride, T.T. Christison, S. J. Gardell // *Anal. Chem.* – 2016. – V.88. – №23. – pp. 11799–11803. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b03435.
187. Pey, A.L. Predicted effects of missense mutations on native-state stability account for phenotypic outcome in phenylketonuria, a paradigm of misfolding diseases / A.L. Pey, F.Stricher, L.Serrano, A. Martinez // *Am. J. Hum. Genet.* – 2007. – V.81. – №5. – pp. 1006–1024. DOI: 10.1086/521879.
188. Peters, H. Dietary L-arginine in renal disease. / H. Peters, N.A. Noble // *Semin. Nephrol.* – 1996. – V.16. – №6. – pp. 567–575.

189. Piraud, M. ESI-MS/MS analysis of underivatized amino acids: a new tool for the diagnosis of inherited disorders of amino acid metabolism. Fragmentation study of 79 molecules of biological interest in positive and negative ionisation mode / M. Piraud, C. Vianey-Saban, K. Petritis // *Rapid. Commun Mass Spectrom.* – 2003. – V.17. – №12. – pp. 1297–1311. DOI: 10.1002/rcm.1054.
190. Poll-The, B.T. Infantile Refsum's disease: biochemical findings suggesting multiple peroxisomal dysfunction / B.T. Poll-The, J.M. Saudubray, H. Ogier, R.B. Schutgens, R.J. Wanders, G. Schrakamp, H. van den Bosch, J.M. Trijbels, Poulos, H.W. Moser // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1986. – V.9. – №2. – pp. 169–174. DOI: 10.1007/bf01799455.
191. Poulos, A. Very long chain fatty acids in X-linked adrenoleukodisrophy treated with Lorenzo's oil / A. Poulos, R. Gibson, P. Sharp // *Ann. Neurol.* – 1994. – V.36. – №5. – pp. 741–746. DOI: 10.1002/ana.410360509.
192. Prinsen, H.C.M.T. Rapid quantification of underivatized amino acids in plasma by hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled with tandem mass-spectrometry / H.C.M.T. Prinsen, B.G.M. Schiebergen-Bronkhorst, M.W. Roeleveld, J.J.M. Jans, M.G.M. de Sain-van der Velden, G. Visser, P.M. van Hasselt, N.M. Verhoeven-Duif // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2016. – V.39. – №5. – pp. 651–660. DOI: 10.1007/s10545-016-9935-z.
193. Pyle-Eilola, A.L. Pediatric laboratory medicine / A.L. Pyle-Eilola, J. Dickerson // *Contemporary Practice in Clinical Chemistry (Fourth Edition).* – 2020. – p. 507–518. DOI: 10.1016/B978-0-12-815499-1.00029-6.
194. Qu, J. Validated quantitation of underivatized amino acids in human blood samples by volatile ion-pair reversed-phase liquid chromatography coupled to isotope dilution tandem mass spectrometry / J. Qu, Y.M. Wang, G.A. Luo, Z.P. Wu, C.D. Yang // *Anal. Chem.* – 2002. – V.74. – №9. – pp. 2034–2040. DOI: 10.1155/2016/7374316.
195. Rashed, M.S. Screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profiles / M.S. Rashed,

- M.P. Bucknall, D. Little // *Clin. Chem.* – 1997. – V.43. – №7. – pp. 1129–1141. DOI: 10.1093/clinchem/43.7.1129.
196. Rashed, M.S. Clinical applications of tandem mass spectrometry: ten years of diagnosis and screening for inherited metabolic diseases / M.S. Rashed // *J. Chrom.* – 2001. – V.758. – №1. – pp. 27–48. DOI: 10.1016/s0378-4347(01)00100-1.
197. Reddy, J. Peroxisomal beta-oxidation and peroxisome proliferator-activated receptor alpha: an adaptive metabolic system / J. Reddy, T. Hashimoto // *Annu. Rev. Nutr.* – 2001. – V.21. – pp. 193–230. DOI: 10.1146/annurev.nutr.21.1.193.
198. Reddy J., Lalwani N., Peroxisome proliferation and hepatocarcinogenesis. In: Vainio H., Magee P., McGregor D., McMichel A., eds. Mechanism of carcinogenesis in risk identification. Lyon: Int. Agency Res. Cancer. 1992. – pp. 225–235.
199. Reinson, K. High incidence of low vitamin B12 levels in Estonian newborns / K. Reinson, K. Künnapas, A. Kriisa, M.-A. Vals, K. Muru, K. Õunap // *Molecular Genetics and Metabolism Reports.* – 2018. – V.15. – pp. 1–5. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2017.11.002.
200. Rinaldo, P. Acylcarnitine profile analysis / P. Rinaldo, T.M. Cowan, D. Matern // *Genet. Med.* – 2008. – V.10. – №2. – pp. 151–156. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181614289.
201. Rinaldo, P. Ethylmalonic/adipic aciduria: effects of oral medium-chain triglycerides, carnitine, and glycine on urinary excretion of organic acids, acylcarnitines, and acylglycines / P. Rinaldo, R.D. Welch, S.F. Previs // *Pediatr. Res.* – 1991. – V.30. – №3. – pp. 216–221. DOI: 10.1203/00006450-199109000-00002.
202. Rizzo, W.B. Dietary erucic therapy for X-linked adrenoleukodystrophy / W.B. Rizzo, R.T. Leshner, A. Odone // *Neurology.* – 1989. – V.39. – №11. – pp. 1415–1422. DOI: 10.1212/wnl.39.11.1415.
203. Rockwood A., Palmblad M. Mass spectrometry data analysis in proteomics, 2nd ed. New York: Springer Science + Business Media: 2013.

204. Robb, D.B. Atmospheric pressure photoionization: an ionization method for liquid chromatography-mass spectrometry / D.B. Robb, T.R. Covey, A.P. Bruins // *Anal. Chem.* – 2000. – V.72. – №15. – pp. 3653–3659. DOI: 10.1021/ac0001636.
205. Rustin, P. Inborn errors of the Krebs cycle: a group of unusual mitochondrial diseases in human / P. Rustin, T. Bourgeron, B. Parfait, D. Chretien, A. Munnich, A. Rotig // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1997. – V.1361. – №2. – pp. 185–197. DOI: 10.1016/s0925-4439(97)00035-5.
206. Sanchez, R.L. Amino Acid Metabolism / R.L. Sanchez, R. William, R.Wilcox // In book Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics (Seventh Edition). Metabolic Disorders: 2021. – pp. 49–104. DOI: 10.1016/B978-0-12-812535-9.00003-0.
207. Saudubray J-M, Charpentier C. Clinical phenotypes: diagnosis/algorithms. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York, NY: McGraw-Hill; 2001. – pp. 1327–1403.
208. Schnabl, K. Closing the Gaps in Paediatric Reference Intervals: The CALIPER Initiative / K. Schnabl, M.K. Chan, Y. Gong, K. Adeli // *Clin. Biochem. Rev.* – 2008. – V.29. – №3. – pp. 89–96.
209. Schoen, E.J. Cost-Benefit Analysis of Universal Tandem Mass Spectrometry for Newborn Screening / E.J. Schoen, J.C. Baker, C.J. Colby, T.T. Trinh // *Pediatrics.* – 2002. – V.110. – №4. – pp. 781–786. DOI: 10.1542/peds.110.4.781.
210. Schutgens, R.B. Genetic diseases caused by peroxisomal dysfunction / R.B. Schutgens, R.J. Wanders, A. Niyenhuis // *Enzyme.* – 1987. – V.38. – №1–4. – pp. 161–176. DOI: 10.1159/000469202.
211. Scott, D. Quantification of Free Carnitine and Acylcarnitines in Plasma or Serum Using HPLC/MS/MS / D. Scott, B. Heese, U. Garg // *Methods Mol. Biol.* – 2016. – 1378. – pp. 11–19. DOI: 10.1007/978-1-4939-3182-8\_2.
212. Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S. et al. *The Metabolic and Molecular*

- Basis of Inherited Disease. New York: McGraw-Hill (8th ed.), 2001. V.2.
213. Scriver C.R., Beaudet A.L., Valle D., Sly W.S., Childs B., Kinzler K.W., Vogelstein B. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease Part 8. Amino Acids. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill, Inc. – 2001. – pp. 1665–2105.
214. Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., et al The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. Part 9, Organic Acids. 8th ed. New York, NY: McGraw-Hill, Inc. – 2001. – pp. 2109–2260.
215. Seashore, M.R. Tandem spectrometry in newborn screening / M.R.Seashore // *Curr Opin Pediatr.* – 1998. – V.10. – №6. – pp. 609–614. DOI: 10.1097/00008480-199810060-00013.
216. Seashore, M.R. The Organic Acidemias: An Overview // *GeneReviews*. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1134/> (дата обращения 12.04.2016).
217. Seashore, M.R. Organic acid disorders / M.R. Seashore // *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric Disease (Sixth Edition)*. – 2020. – V.1 – pp. 785–791. DOI: 10.1016/B978-0-12-813955-4.00057-X.
218. Sacharow, S. Phenylketonuria / S. Sacharow, F. Rajabi, H. Levy // *Clinical DNA Variant Interpretation. Theory and Practice. Translational and Applied Genomics*. – 2021. - pp. 291-304. DOI: 10.1016/B978-0-12-820519-8.00006-5.
219. Šebesta, I. Adenylosuccinase deficiency: clinical and biochemical findings in 5 Czech patients / I. Sebesta, J. Krijt, S. Kmoch, H. Hartmannová, M. Wojda, J. Zeman // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1997. – V.20. – №3. – pp. 343–344. DOI: 10.1023/A:1005361408031.
220. Semba, R.D. Child Stunting is Associated with Low Circulating Essential Amino Acids / R.D. Semba, M. Shardell, F.A. Sakr Ashour, R. Moaddel, I. Trehan, K.M. Maleta, M.I. Ordiz, K. Kraemer, M.A. Khadeer, L. Ferrucci, M.J. Manary // *EBioMedicine*. – 2016. – V.6. – pp. 246–252. DOI: 10.1016/j.ebiom.2016.02.030.

221. Semeraro, M. A new multiplex method for the diagnosis of peroxisomal disorders allowing simultaneous determination of plasma very-long-chain fatty acids, phytanic, pristanic, docosahexaenoic and bile acids by high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-tandem mass-spectrometry / M. Semeraro, C. Rizzo, S. Boenzi, M. Cappa, E. Bertini, G. Antonetti, C. Dionisi-Vici // *Clin. Chim. Acta.* – 2016. – V.458. – №1. – pp. 159–164. DOI: 10.1016/j.cca.2016.05.009.
222. Shapira E., Blitzer M., Miller J., Africk D. *Biochemical genetics. A laboratory manual.* New York: Oxford U Press; 1989. – 145 p.
223. Sharma, S. Carnitine homeostasis, mitochondrial function, and cardiovascular disease / S. Sharma, S.M. Black // *Drug Discov. Today Dis. Mech.* – 2009. – V.6. – №1–4. – pp. e31–e39. DOI: 10.1016/j.ddmec.2009.02.001.
224. Simmonds, H.A. Purine and pyrimidine disorders. In: Blau N., Duran M., Blaskovics M.E. (eds) *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases.* Chapman Hall Medical, London, 1996. – pp. 341–357.
225. Simmonds, H.A. When to investigate for purine and pyrimidine disorders: introduction and review of clinical and laboratory indications / H.A. Simmonds, J.A. Duley, L.D. Fairbanks, M.B. McBride // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1997. – V.20. – №2. – pp. 214–226. DOI: 10.1023/a:1005308923168.
226. Simmonds, H.A. Adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *Orphanet Encyclopedia*, July2003. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-APRT.html> (дата обращения: 21.10.2016).
227. Smith, E.H. Acylcarnitine analysis by tandem mass spectrometry / E.H. Smith, D. Matern // *Curr. Protoc. Hum. Genet.* – Chapter 17. – Unit 17.8. – pp. 1–20. DOI: 10.1002/0471142905.hg1708s64.
228. Stephenson, J.B.P. Inherited peroxisomal disorders involving the nervous system / J.B.P. Stephenson // *Arch. Dis. Childh.* – 1988. – V.63. – pp. 767–770.
229. Stroup, B.M. Clinical relevance of the discrepancy in phenylalanine

- concentrations analyzed using tandem mass spectrometry compared with ion-exchange chromatography in phenylketonuria / B.M. Stroup, P.K. Held, P. Williams // *Mol. Genet. Metab. Rep.* – 2016. – 6. – pp. 21–26. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2016.01.001.
230. Sumi, S. Population and family studies of dihydripyrimidinuria: prevalence, inheritance mode, and risk of fluorouracil toxicity / S. Sumi, M. Imaeda, K. Kidouchi, S. Ohba, N. Hamajima, K. Kodama, H. Togari, Y. Wada // *Am. J. Med. Genet.* – 1998. – V.78. – №4. – pp. 336–340. DOI: 10.1002/(sici)1096-8628(19980724)78:4<336::aid-ajmg6>3.0.co;2-j.
231. Sweetman, L. Newborn screening by tandem mass spectrometry (MS-MS) / L. Sweetman // *Clin. Chem.* – 1996. – V.42. – №3. – pp. 345 – 346. DOI:10.1093clinchem/42.3.345.
232. Sweetman, L. Organic acid analysis. In: Hommes F.A., ed. *Techniques in diagnostic human biochemical genetics: a laboratory manual*. New York: Wiley-Liss, 1991. – pp. 143–176.
233. Takashima, S. Detection of unusual very-long-chain fatty acid and ether lipid derivatives in the fibroblasts and plasma of patients with peroxisomal diseases using liquid chromatography-mass spectrometry / S. Takashima, K. Toyoshi, T. Itoh, N. Kajiwara, A. Honda, A. Ohba, S. Takemoto, S. Yoshida, N. Shimozawa // *Mol. Genet. Metabol.* – 2017. – V.120. – №3. – pp. 255–268. DOI: 10.1016/j.ymgme.2016.12.013.
234. Tanake, K. Gas-chromatographic method of analysis for urinary organic acids retention indices of 155 metabolically important compounds / K. Tanake, D. Hine, A. West-Dull // *Clin. Chem.* – 1980. – V.26. – №13. – pp. 1839–1846.
235. 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. – V.118. – № 2. – pp. 448–456. DOI: 10.1542/peds.2005-2026.
236. Taroni F. Disorders of lipid metabolism / F. Taroni, C. Gellera // *Rosenberg's Molecular and Genetic Basis of Neurological and Psychiatric*

- Disease (Sixth Editi-on). – 2020. – V.1. – pp. 731–753. DOI: 10.1016/B978-0-12-813955-4.00054-4.
237. Tcheng, M. Very long chain fatty acid metabolism is required in acute myeloid leukemia / M. Tcheng, A. Roma, N. Ahmed, R.W. Smith, Pr. Jayanth, M.D. Minden, A.D. Schimmer, D. Hess, K. Hope, T.A. Akhtar, E. Bohrsen, A. D'Alessandro, Al-W. Mohsen, J. Vockley, P.A. Spagnuolo // *Blood*. – 2021. – 2020008551 (Available online 16 March 2021). DOI: 10.1182/blood.2020008551.
238. Tein, I. Short-chain Acyl-CoA-dehydrogenase deficiency: a cause of ophthalmo-plegia and multicore myopathy / I. Tein, R.H. Haslam, W.J. Rhead // *Neurology*. – 1999. – V.52. – №2. – pp. 366–372. DOI: 10.1212/wnl.52.2.366.
239. Tietz, W. *Fundamentals of clinical chemistry*, 7th ed. – Saunders, Elsevier Inc. – 2014. 1104 p. ISBN: 9781455745975.
240. Thomas, L.A. New era predicted for LC-MS in the clinical lab / L.A. Thomas // *Clinical OMICs*. – 2016. – №9. – pp. 12–15.
241. Thomason, M.J. A systematic review of evidence for the appropriateness of neonatal screening programmes for inborn errors of metabolism / M.J. Thomason, J. Lord, M.D. Bain // *J. Publ. Health Med.* – 2003. – V.20. – №3. – pp. 331–343. DOI: 10.1093/oxfordjournals.pubmed.a024777.
242. Thorsteinsdottir M. Quantitative UPLC–MS/MS assay of urinary 2,8-dihydroxy-adenine for diagnosis and management of adenine phosphoribosyltransferase deficiency / M. Thorsteinsdottir, U.A. Thorsteinsdottir, F.F. Eiriksson, H.L. Runolfsdottir, I.M.Sch. Agustsdottir, S. Oddsdottir, B.B. Sigurdsson, H.K. Hardarson, N.R. Kamble, S.Th. Sigurdsson, V.O. Edvardsson, R. Palssona // *J. Chromatogr. B. Analyt Technol Biomed Life Sci.* – 2016. – 15. – pp. 170–177, 1036–1037. DOI: 10.1016/j.jchromb.2016.09.018.
243. Tomoeda, K. Mutations in the 4-hydroxyphenylpyruvic acid dioxygenase gene are responsible for tyrosinemia type III and hawkinsinuria / K. Tomoeda, H. Awata, T. Matsuura, I. Matsuda, E. Ploechl, T. Milovac, A. Boneh, C.R.

- Scott, D.M. Danks, F. Endo // *Mol. Genet. Metab.* – 2000. – V.71 – №3. – pp. 506–510. DOI: 10.1006/mgme.2000.3085.
244. Torres, R.J. Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome / R.J. Torres, J.G. Puig // *Orphanet J. Rare Dis.* – 2007. – 2. – p. 48. DOI: 10.1186/1750-1172-2-48.
245. Van Fabie, N.A. The Current State of Newborn Screening in the United States / N.A. V.Fabie, K.B. Pappas, G.L. Feldman // *Pediatric Clinics of North America.* – 2019. – V. 66. – №2. – pp. 369–386. DOI: 10.1016/j.pcl.2018.12.007.
246. Van Calcar, S.C. Nutrition management guideline for very-long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCAD): An evidence- and consensus-based approach / S.C. Van Calcar, M. Sowa, F. Rohr, J. Beazer, T. Setlock, T.U. Weihe, S. Pendyal, L.S. Wallace, J.G. Hansen, A. Stenbridge, P. Splett, R.H. Singh // *Molecular Genetics and Metabolism.* – 2020. – 131. – pp. 23–37.
247. Van Gennip, A.H. Inborn errors of pyrimidine degradation: clinical, biochemical and molecular aspects / A.H. Van Gennip, N.G. Abeling, P. Vreken, A.B. van Kuilenburg // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 1997. – V.20. – №2. – pp. 202–213. DOI: 10.1023/a:1005356806329.
248. Vliet, K. Dried blood spot versus venous blood sampling for phenylalanine and tyrosine / K. van Vliet, W. G. van Ginkel, E. van Dam, P. de Blaauw, M. Koehorst, H.A. Kingma, F.J. van Spronsen, M.R. Heiner-Fokkema // *Orphanet J Rare Dis.* – 2020. – V. 15. - № 1. – p. 82. DOI: 10.1186/s13023-020-1343-7.PMID: 32245393
249. Vockley, J. Organic Acidemias and Disorders of Fatty Acid Oxidation / J. Vockley // In book *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics (Seventh Edition). Metabolic Disorders: 2021.* – pp. 279–333. DOI: 10.1016/B978-0-12-812535-9.00008-X.
250. Vogeser M. Mass Spectrometry in the Clinical Laboratory – Challenges for Quality Assurance / M. Vogeser // *Spectroscopy.* – 2015. – №3. – pp. 14–19.
251. Wajner, M. Screening for organic acidurias and aminoacidopathies in high-

- risk Brazilian patients: Eleven-year experience of a reference center / M. Wajner, A. Sitta, A. Kayser, M. Deon, A.C. Groehs, D.M. Coelho, C.R. Vargas // *Genet. Mol. Biol.* – 2019. - № 42. – p. 178–185.
252. Wanders R.J.A., Duran M. Very-Long-Chain Fatty Acids and Phytanic Acid. In: Blau N., Duran M., Gibson K.M., eds. *Laboratory guide to the methods in biochemical genetics*. Springer, 2008. – pp. 221–233.
253. Wanders, R.J.A. Inborn Errors of Peroxisome Biogenesis and Function. In *Pediatric Endocrinology and Inborn Errors of Metabolism*. Edited by K. Sarafoglou, G.F. Hoffmann, K.S. Roth, New York, McGraw-Hill Medical Division, 2009. – pp. 323–337.
254. Wanders, R.J.A. Peroxisomal Disorders / R.J.A. Wanders, H.R. Waterham // In book: *Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics and Genomics (Seventh Edition)*. Metabolic Disorders: 2021. – pp. 638–708. DOI: 10.1016/B978-0-12-812535-9.00015-7.
255. Waterval, W.A.H. Quantitative UPLC-MS/MS analysis of underivatized amino acids in body fluids is a reliable tool for the diagnosis and follow-up of patients with inborn errors of metabolism / W.A.H. Waterval, J.L.J.M. Scheijen, M.M.J.C. Ortmans-Ploemen // *Clin. Chim. Acta.* – 2009. – V.407. – №1–2. – pp. 36–42. DOI: 10.1016/j.cca.2009.06.023.
256. Weller, S. Peroxisome biogenesis disorders / S. Weller, S.J. Gould, D. Valle // *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* – 2003. – 4. –pp. 165–211. DOI: 0.1146/annurev.genom.4.070802.110424.
257. Wen-Jun, Tu. Application of LC-MS/MS analysis of plasma amino acids profiles in children with autism / Wen-Jun Tu, Hui Chen and Jian He // *J. Clin. Biochem. Nutr.* – 2012. – V.51. – №3. – pp. 248–249. DOI: 10.3164/jcbtn.12-45.
258. Whitehouse, C.M. Electrospray interface for liquid chromatographs and mass spectrometers / C.M. Whitehouse, R.N. Dreyer, M. Yamashita // *Anal. Chem.* – 1985. – V.57. – №3. – pp. 675–679. DOI: 10.1021/ac00280a023.
259. Wierzbicki, A.S. Metabolism of phytanic acid and 3-methyl-adipic acid excretion in patients with adult Refsum disease / A.S. Wierzbicki, P.D. Mayne,

- M.D. Lloyd // *J. Lipid. Res.* – 2003. – V.44. – №8. – pp. 1481–1488. DOI: 10.1194/jlr.M300121-JLR200.
260. Winter, S.C. Treatment of carnitine deficiency / S.C. Winter // *J. Inherit. Metab. Dis.* – 2003. – V.26. – №1–2.– pp. 171–180. DOI: 10.1023/a:1024433100257.
261. Wong, H.B. Measures of Diagnostic Accuracy: Sensitivity, Specificity, PPV and NPV / H.B. Wong, G.S. Lim // *Proceedings of Singapore Healthcare.* – 2011. – V.20. – №4. – pp. 316–318. DOI: 10.1177/201010581102000411.
262. Xiao, H. Screening of amino acids in dried blood spots by stable isotope derivatization-liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry / H. Xiao, P. Liu, S. Zheng, X. Wang, J. Ding, Y. Feng // *Chinese Chemical Letters.* – 2020. – V.31. – №9. – pp. 2423–2427. DOI: 10.1016/j.cclet.2020.03.003.
263. Yamada, K. Serum C14:1/C12:1 ratio is a useful marker for differentiating affected patients with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency from heterozygous carriers / K. Yamada, Y. Osawa, H. Kobayashi, Y. Hasegawa, S. Fukuda, S. Yamaguchi, T. Taketani // *Molecular Genetics and Metabolism Reports.* – 2019. – V.21. – 100535. DOI: 10.1016/j.ymgmr.2019.100535.
264. Yang, L.L. Screening and Diagnosis of Children with Primary Carnitine Deficiency in Zhejiang Province, China HK / L.L. Yang, X.W. Huang, J.B. Yang, X.L. Zhou, X.L. Huang, R.L. Yang // *J. Paediatr. (new series).* – 2013. – V.18. – pp. 167–173.
265. Yang, Y. J. Gas chromatographic–mass spectrometric determination of plasma saturated fatty acids using pentafluorophenyldimethylsilyl derivatization / Y.J. Yang, M.H. Choi, M.-J. Paik, H.-R. Yoon, B. Ch. Chung // *J. Chromatogr. B.* – 2000. – V.742. – №1. – pp. 37–46. DOI: 10.1016/S0378-4347(00)00098-0.
266. Zhao, Z. PIH20 Outcome and economic evaluation of neonatal screening using ms/ms for inherited metabolic diseases / Z. Zhao, X. Sun, H. Dong // *Value in Health.* – 2020. – V.23. – №1. – pp. S154–S155. DOI: 10.1016/j.jval.2020.04.415.

267. Zoppa, M. Method for the quantification of underivatized amino acids on dry blood spots from newborn screening by HPLC-ESI-MS/MS / M. Zoppa, L. Gallo, F. Zacchello, G. Giordano // *J. Chromatogr. B.* – 2006. – V.831. – №1–2. – pp. 267–273. DOI: 10.1016/j.jchromb.2005.12.015.
268. Zytковicz, T.H. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: A two-year summary from the New England newborn screening program / T.H. Zytковicz, E.F. Fitzgerald, M. Deborah // *Clin. Chem.* – 2001. – V.47. – №14. – pp. 1945–1955.

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

Таблица А.1 – Основные болезни и синдромы, сопровождающиеся органической ацидурией, их маркерные органические кислоты в моче и показатели их нормальной и патологической экскреции [232]

| Краткие сведения о заболевании  | Маркер метаболизма                     | Показатели экскреции (ммоль/моль креатинина) |                        |
|---|--|--|------------------------|
|   |  | норма  | классическая патология |
| 1   | 2                                      | 3  | 4                      |
| <b>1. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ</b>  |  |  |                        |
| <b>1.1. Фенилкетонурия (ФКУ)</b>  |  |  |                        |
| Классическая ФКУ связана с патологией фермента фенилаланингидроксилазы, катализирующей конверсию фенилаланина в тирозин.  | Фенилпировиноградная кислота           | < 4  | 300–1000               |
|   | Фенилмолочная кислота                  | < 2  | 200–1000               |
|   | 2-Гидроксифенилмолочная кислота        | < 2  | 50–2000                |
| <b>2.1. Тирозинемия</b>   |  |  |                        |
| <b>2.1.1. Транзиторная, неонатальная, глаз-кожная (тирозинемия II типа) и гепаторенальная (тирозинемия I типа) формы</b>  |  |  |                        |
| Группа заболеваний, связанная с нарушением обмена тирозина.   | 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | < 2  | 140–2000               |
|   | 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | < 2  | 100–5000               |
|   | 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 6–28   | 140–500                |
|   | N-ацетилтирозин                        | < 2  | 30–200                 |
| <b>2.1.2. Только гепаторенальная форма (тирозинемия I типа)</b>   |  |  |                        |
| Форма тирозинемии, при которой поражаются преимущественно печень и почки. Связана с недостаточностью фермента фумарилацетоацетазы.  | Сукцинилацетон                         | < 2  | 20–700                 |
| <b>1.3. Хавкинсурия (тирозинемия III типа)</b>  |  |  |                        |
| Наследственное нарушение обмена тирозина, связанное с дефицитом 4-гидрокси-фенилпируват-диоксигеназы. Данный фермент катализирует треть реакций катаболизма фенилаланина и тирозина – конверсию 4-гидроксифенилпирувата в гомогентизат. | 4-Гидроксициклогексилуксусная кислота  | < 2  | 10–70                  |
|   | 5-Оксопролин                           | 42–115                                       | 1300–9000              |
|   | 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | < 2  | 140–500                |
|   | 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | < 2  | 1000–5000              |
| <b>1.4. Алкаптонурия</b>  |  |  |                        |
| Связана с недостаточностью оксидазы гомогентизиновой к-ты.  | Гомогентизиновая кислота               | < 2  | 1000–5000              |
| <b>2. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА АМИНОКИСЛОТ С РАЗВЕТВЛЕННОЙ УГЛЕРОДНОЙ ЦЕПЬЮ</b>   |  |  |                        |
| <b>2.1. Болезнь «кленового сиропа» (лейциноз)</b>   |  |  |                        |
| Заболевание, связанное с нарушением обмена лейцина, с недостаточностью ферментной системы, обеспечивающей окислительное декарбоксилирование трех аминокислот – лейцина, изолейцина и валина.  | 4-Оксоизокапроновая кислота            | < 2  | 400–4400               |
|   | 2-Оксо-3-метилвалериановая к-та        | < 2  | 500–2500               |
|   | 2-Оксоизовалериановая кислота          | < 2  | 300–800                |
|   | 2-Гидроксиизовалериановая кислота      | < 2  | 850–3600               |
|   | 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | < 2  | 3–80                   |
|   | 2-Гидрокси-3-метилвалериановая к-та    | < 2  | 60–400                 |

## Продолжение таблицы А.1

| <b>2.2. Дефицит дигидролипиддегидрогеназы (Е3)</b>  |   |       |            |
|---|---|-------|------------|
| Связан с недостаточностью фермента дигидролипиддегидрогеназы (Е3).  | Молочная кислота  | < 25  | 1000–30000 |
|   | 2-Оксоглутаровая кислота  | < 152 | 150–1100   |
|   | 2-Оксоизокапроновая кислота   | < 2   | 0–200      |
|   | 2-Оксо-3-метилвалериановая кислота  | < 2   | 0–15       |
|   | 2-Оксоизовалериановая кислота   | < 2   | 0–3        |
|   | 2-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 2   | 0–400      |
|   | 2-Гидроксиизокапроновая кислота   | < 2   | 0–70       |
|   | 2-Гидрокси-3-метилвалериановая кислота                                      | < 2   | 0–70       |
| <b>2.3. Изовалериановая ацидемия</b>  |   |       |            |
| Связана с недостаточностью изовалерил-КоА-дегидрогеназы.  | Изовалерилглицин  | < 10  | 2000–9000  |
|   | 3-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 46  | 1000–2000  |
|   | 4-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 2   | 20–300     |
| <b>2.4. Дефицит 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы</b>  |   |       |            |
| Связан с недостаточностью фермента метилкротонил-КоА-карбоксилазы.  | 3-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 46  | 1700–59000 |
|   | 3-Метилкротонилглицин   | < 2   | 400–1000   |
| <b>2.5. Множественный дефицит биотин-зависимых карбоксилаз</b>  |   |       |            |
| <b>2.5.1. Дефицит голокарбоксилазной синтетазы</b>  |   |       |            |
| Связан с сочетанной недостаточностью карбоксилаз, участвующих в катаболизме жирных кислот с различной длиной углеродной цепи, кофактором которых служит биотин (коэнзим R или витамин H). | 3-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 46  | 250–3600   |
|   | 3-Метилкротонилглицин   | < 2   | 30–260     |
|   | Метиллимонная кислота   | < 12  | 15–200     |
|   | 3-Гидроксипропионовая кислота   | 3–10  | 45–1300    |
|   | Молочная кислота  | < 25  | 100–75000  |
| <b>2.5.2. Дефицит биотинидазы</b>   |   |       |            |
| Вариант множественного дефицита биотин-зависимых карбоксилаз, связанного с недостаточностью фермента, участвующего в синтезе биотина.   | Те же самые метаболиты, но менее выраженное повышение их экскреции с мочой. |       |            |
| <b>2.6. 3-Метилглутакониевая ацидурия</b>   |   |       |            |
| <b>2.6.1. Дефицит 3-метилглутаконил-КоА-дегидратазы</b>   |   |       |            |
| Группа заболеваний, связанная с нарушением метаболизма метилглутакониевой кислоты.  | 3-Метилглутакониевая кислота  | < 9   | 500–1000   |
|   | 3-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 46  | 150–250    |
|   | 3-Метилглутаровая кислота   | < 7   | 5–10       |
| <b>2.6.2. Нормальный уровень гидратазы</b>  |   |       |            |
| Вариант нарушения метаболизма метилглутакониевой кислоты с нормальной активностью фермента 3-метилглутаконил-КоА-дегидратазы.   | 3-Метилглутакониевая кислота  | < 9   | 25–600     |
|   | 3-Метилглутаровая кислота   | < 7   | 10–85      |
|   | Ацетоуксусная кислота   | < 2   | 50–20 000  |
|   | 3-Гидроксиизобутировая кислота  | 2–33  | 50–3000    |
|   | 3-Гидроксиизовалериановая кислота   | < 46  | 50–1000    |
|   | 3-Гидрокси-2-метилбутировая кислота   | < 11  | 10–200     |
|   | Субериновая кислота   | < 2   | 0–100      |

## Продолжение таблицы А.1

| 1   | 2  | 3     | 4                                    |
|---|--|-------|--------------------------------------|
| <b>2.7. 3-Гидрокси-3-метилглутаровая ацидурия</b>   |  |       |                                      |
| Связана с нарушением метаболизма 3-гидрокси-3-метилглутаровой кислоты.  | 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота               | 11–36 | 200–11000                            |
|   | 3-Метилглутакониевая кислота                       | < 9   | 140–10000                            |
|   | 3-Метилглутаровая кислота                          | < 7   | 14–1000                              |
|   | 3-Метилкротонилглицин                              | < 2   | 0–400                                |
| <b>2.8. Дефицит 3-оксотиолазы</b>   |  |       |                                      |
| <b>2.8.1. Дефицит митохондриальной разветвленно-цепочечной 3-оксотиолазы</b>  |  |       |                                      |
| Группа заболеваний, связанных с недостаточностью различных форм фермента оксотиолазы.   | 2-Метил-3-гидроксибутировая кислота                | < 11  | 200–4400                             |
|   | 2-Метилацетоуксусная кислота                       | < 2   | 0–650                                |
|   | Тиглилглицин                                       | < 2   | 0–1000                               |
| <b>2.8.2. Дефицит цитоплазматической 3-оксотиолазы или сукцинил-КоА 3-оксокислотной КоА-трансферазы</b>   |  |       |                                      |
| Связан с недостаточностью цитоплазматической 3-оксотиолазы или сукцинил-КоА 3-оксокислотной КоА-трансферазы.  | 3-Гидроксибутировая кислота                        | < 3   | увеличенная экскреция (больше нормы) |
|   | Ацетоуксусная кислота                              | < 2   | увеличенная экскреция (больше нормы) |
| <b>2.9. Пропионовая ацидемия</b>  |  |       |                                      |
| Обусловлена недостаточностью пропионил-КоА-карбоксилазы.  | Метил-лимонная кислота                             | < 12  | 150–2800                             |
|   | 3-Гидроксипропионовая кислота                      | 3–10  | 20–2000                              |
|   | Пропионилглицин                                    | < 2   | 0–450                                |
|   | 3-Гидроксивалериановая кислота                     | < 2   | 0–1200                               |
| <b>2.10. Метилмалоновая ацидемия</b>  |  |       |                                      |
| Связана с недостаточностью метилмалонил-КоА-мутазы, катализирующей изомеризацию L-метилмалонил-КоА в сукцинил-КоА через пропионил-КоА в цикле Кребса.   | Метилмалоновая кислота                             | < 2   | 150–15500                            |
|   | + те же метаболиты, что и при пропионовой ацидемии |       |                                      |
| <b>2.11. Дефицит малонил-КоА-декарбоксилазы</b>   |  |       |                                      |
| Связан с недостаточностью фермента малонил-КоА-декарбоксилазы.  | Метилмалоновая кислота                             | < 2   | 0–80                                 |
|   | Малоновая кислота                                  | < 2   | 50–4000                              |
| <b>3. БОЛЕЗНИ ОБМЕНА ДВУХОСНОВНЫХ АМИНОКИСЛОТ</b>   |  |       |                                      |
| <b>3.1. 2-Оксиадипиновая ацидурия</b>   |  |       |                                      |
| Связана с нарушением обмена 2-оксиадипиновой кислоты.   | 2-Оксиадипиновая кислота                           | < 2   | 20–220                               |
|   | 2-Гидроксиадипиновая кислота                       | < 2   | 50–220                               |
| <b>3.2. Глутаровая ацидурия I типа</b>  |  |       |                                      |
| Редкое аутосомно-рецессивное нейрометаболическое заболевание, обычно развивается на 1-м году жизни и характеризуется прогрессирующими экстрапирамидными расстройствами в результате повреждения базальных ганглиев. | Глутаровая кислота                                 | < 2   | 500–12000                            |
|   | 3-Гидроксиглутаровая кислота                       | < 3   | 60–3000                              |
|   | Глутакониевая кислота                              | < 2   | 0–360                                |

## Продолжение таблицы А.1

| 1   | 2   | 3      | 4          |
|---|---|--------|------------|
| <b>4. НАРУШЕНИЯ МЕТАБОЛИЗМА ЖИРНЫХ КИСЛОТ</b>   |   |        |            |
| <b>4.1. Дефицит длинноцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ</b>  |   |        |            |
| Связан с нарушением $\beta$ -окисления жирных кислот с длинной углеродной цепью.  | Субериновая кислота   | < 2    | 0–20       |
|   | Себациновая кислота   | < 2    | 0–20       |
|   | Также могут выделяться с мочой додекандиоэвые и тетрадекандиоэвые кислоты |        |            |
| <b>4.2. Дефицит среднецепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ</b>  |   |        |            |
| Связан с нарушением $\beta$ -окисления жирных кислот со средней длиной углеродной цепи.   | Октаноевая кислота  | < 2    | 2–20       |
|   | 5-Гидроксигексаноевая кислота   | < 7    | 15–700     |
|   | 7-Гидроксиоктаноевая кислота  | < 2    | 4–300      |
|   | Адипиновая кислота  | < 12   | 5–5200     |
|   | Субериновая кислота   | < 2    | 6–5000     |
|   | Октендиоэвая кислота  | 0–7    | 0–250      |
|   | Себациновая кислота   | < 2    | 0–5000     |
|   | Децендиоэвая кислота  | < 2    | 0–750      |
|   | Гексаноилглицин   | < 2    | 2–730      |
|   | Фенилпропионилглицин  | < 2    | 1–90       |
| Суберилглицин   | < 2   | 6–2200 |            |
| <b>4.3. Дефицит короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ</b>   |   |        |            |
| Связан с нарушением $\beta$ -окисления жирных кислот с короткой длиной углеродной цепи.   | Этилмалоновая кислота   | < 7    | 180–1150   |
|   | Метилсукциновая кислота   | < 3    | 20–60      |
|   | Вариабельное повышение экскреции дикарбоксилированных кислот              |        |            |
| <b>4.4. Множественный дефицит ацил-КоА-дегидрогеназ (глутаровая ацидурия II типа)</b>   |   |        |            |
| Сочетанное нарушение $\beta$ -окисления жирных кислот с различной длиной углеродной цепи.                                       | Этилмалоновая кислота   | < 7    | 10–1400    |
|   | Глутаровая кислота  | < 2    | 0–22000    |
|   | Адипиновая кислота  | < 12   | 0–1600     |
|   | Субериновая кислота   | < 2    | 0–200      |
|   | 2-Гидроксиглутаровая кислота  | < 16   | 180–8250   |
|   | Изовалерилглицин  | < 2    | 0–1000     |
|   | Изобутирилглицин  | < 2    | 0–200      |
|   | 2-Метилбутирилглицин  | < 2    | 0–200      |
| Может наблюдаться повышенная экскреция различных короткоцепочечных жирных кислот  |   |        |            |
| <b>4.5. Нарушение обмена нормально поступаемых жиров, включающих среднецепочечные триглицериды</b>                              |   |        |            |
| Связано с недифференцированным нарушением обмена нормально поступаемых с пищей жиров, включающих среднецепочечные триглицериды. | Адипиновая кислота  | < 12   | 20–320     |
|   | Субериновая кислота   | < 2    | 10–620     |
|   | Себациновая кислота   | < 2    | 0–750      |
|   | 5-Гидроксигексаноевая кислота   | < 7    | 0–220      |
|   | 7-Гидроксиоктаноевая кислота  | < 2    | 25–150     |
| <b>5. ДРУГИЕ БОЛЕЗНИ И СИНДРОМЫ НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ С ПРИЗНАКАМИ ОРГАНИЧЕСКОЙ АЦИДУРИИ</b>                                 |   |        |            |
| <b>5.1. 4-Гидроксibuтировая ацидурия</b>  |   |        |            |
| Связана с нарушением обмена 4-гидроксibuтировой кислоты.  | 4-Гидроксibuтировая кислота   | < 2    | 130–7600   |
|   | 3,4-Дигидроксibuтировая кислота   | 30–166 | 5–225      |
| <b>5.2. Дефицит фумаразы</b>  |   |        |            |
| Ферментопатия цикла Кребса.   | Фумаровая кислота   | < 2    | 3000–4000  |
| <b>5.3. Мевалоновая ацидурия</b>  |   |        |            |
| Связана с нарушением метаболизма мевалоновой кислоты.   | Мевалонлактон   | < 2    | 1000–56000 |
|   | Мевалоновая кислота   | < 2    | 1000–56000 |

## Продолжение таблицы А.1

| 1   | 2                                    | 3      | 4              |
|---|--------------------------------------|--------|----------------|
| <b>5.4. 5-Оксипролинемия</b>  |                                      |        |                |
| Связана с нарушением обмена оксипролина.  | 5-Оксипролин                         | 42–115 | 4000–30000     |
| <b>5.5. Болезнь Канавана</b>  |                                      |        |                |
| Заболевание из группы лейкодистрофий с поражением как серого, так и белого вещества головного мозга. Связана с недостаточностью аспартоацилазы.   | <i>N</i> -ацетиласпартиковая кислота | < 2    | 1000–7000      |
| <b>5.6. D-глицериновая ацидурия</b>   |                                      |        |                |
| Связана с недостаточностью <i>D</i> -глицератдегидрогеназы.   | <i>D</i> -глицериновая кислота       | < 9    | 10000–20000    |
| <b>5.7. Гипероксалурия I типа</b>   |                                      |        |                |
| Связана с недостаточностью пероксисомального фермента аланин:гликоксилат-амино-трансферазы (пероксисомная ферментопатия).   | Оксаловая кислота                    | < 54   | 90–350         |
|   | Гликолевая кислота                   | 11–103 | > 100          |
|   | Глиоксилевая кислота                 | < 11   | > 10           |
| <b>5.8. Гипероксалурия II типа</b>  |                                      |        |                |
| Связана с недостаточностью цитоплазматического фермента гликоксилатредуктазы.   | Оксаловая кислота                    | < 54   | 90–350         |
|   | <i>L</i> -глицериновая кислота       | < 9    | 150–450        |
| <b>5.9. Глицеролурия</b>  |                                      |        |                |
| Связана с нарушением метаболизма глицерола.   | Глицерол                             | < 40   | 90 000–190 000 |
| <b>5.10. Лактат-ацидоз</b>  |                                      |        |                |
| Полиэтиологический синдром, характеризующийся метаболическим ацидозом при нормальном уровне кетоновых тел в моче или небольшом повышении их концентрации. Часто является осложнением сахарного диабета. | Молочная кислота                     | < 25   | 100–30 000     |
|   | Пировиноградная кислота              | < 12   | 50–10 000      |
|   | 2-Гидроксibuтировая кислота          | < 2    | 10–1000        |
|   | 4-Гидроксифенилмолочная кислота      | 6–28   | 50–500         |
| <b>11. Синдром избыточного роста кишечной микрофлоры (кишечный дисбиоз)</b>   |                                      |        |                |
| Связан с нарушением кишечной микрофлоры.  | <i>D</i> -молочная кислота           | < 25   | 45–6000        |
|   | 3-Гидроксипропионовая кислота        | 3–10   | 100–6400       |
|   | 4-Гидроксифенилмолочная кислота      | 6–28   | 100–2000       |
| <b>12. Кетоз</b>  |                                      |        |                |
| Полиэтиологический синдром, характеризующийся повышенным содержанием кетоновых тел в тканях организма.  | 3-Гидроксibuтировая кислота          | < 3    | 100–50000      |
|   | Ацетоуксусная кислота                | < 2    | 50–20 000      |
|   | 3-Гидроксиизобутировая кислота       | 2–33   | 50–3000        |
|   | 3-Гидроксиизовалериановая кислота    | < 46   | 50–1000        |
|   | 3-Гидрокси-2-метилбутировая кислота  | < 11   | 10–200         |
|   | Субериновая кислота                  | < 2    | 0–100          |

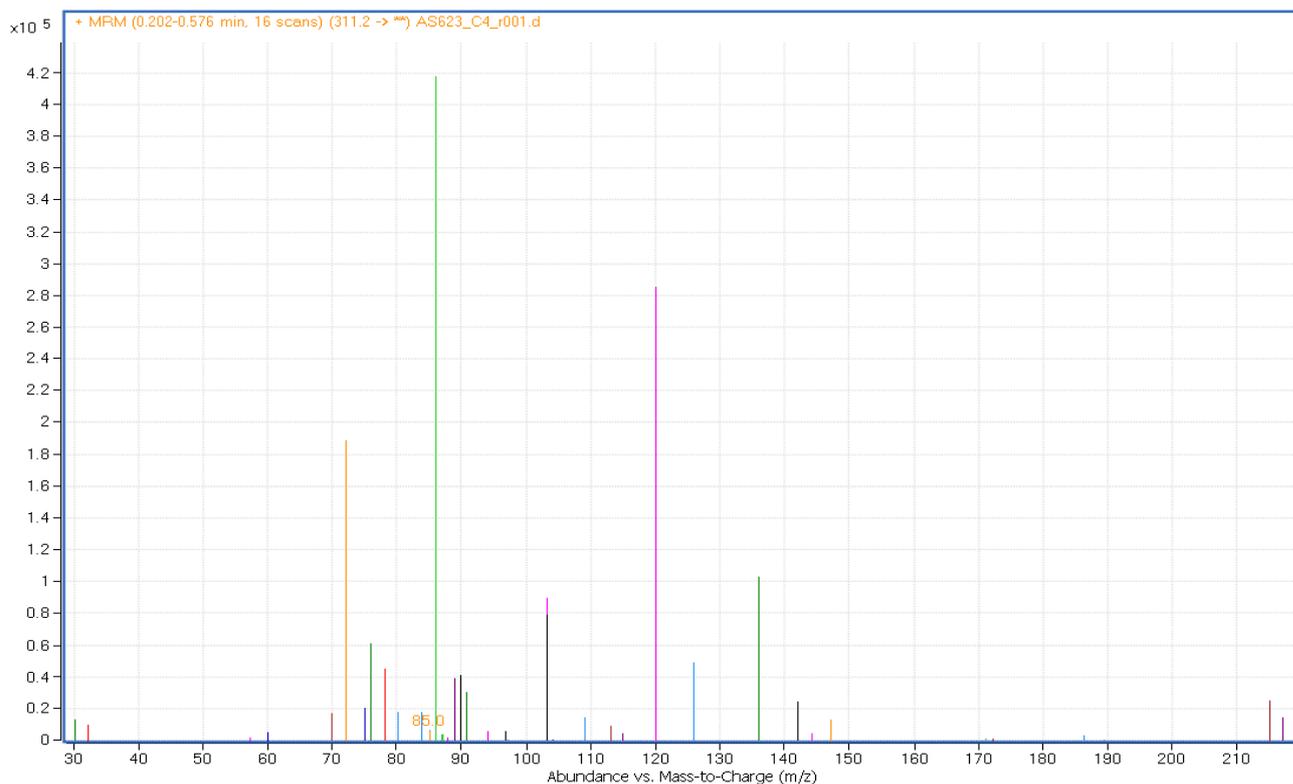


Рисунок А.1 – Характерный масс-спектр сухого пятна крови пациента с повышенным содержанием аминокислот (метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано значение массы к заряду ( $m/z$ ), по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

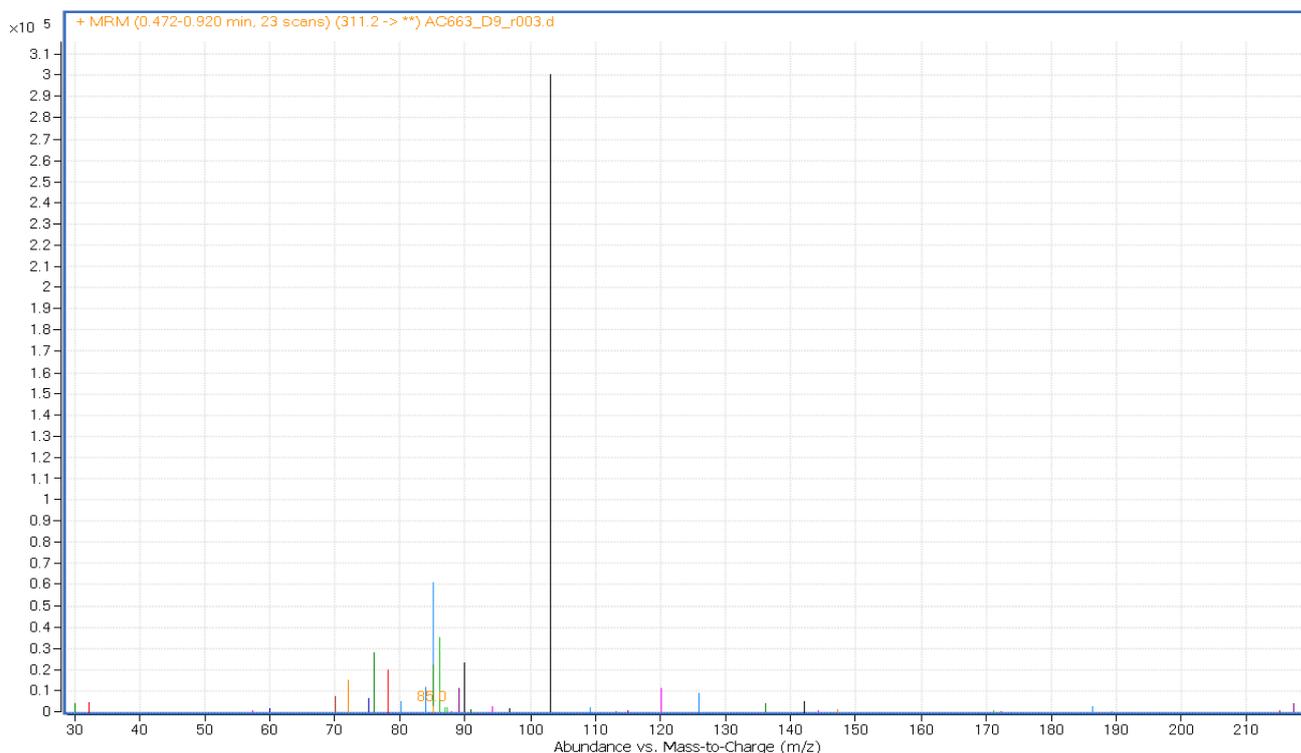


Рисунок А.2 – Характерный масс-спектр сухого пятна крови пациента с повышенным содержанием ацилкарнитинов (метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано значение массы к заряду ( $m/z$ ), по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

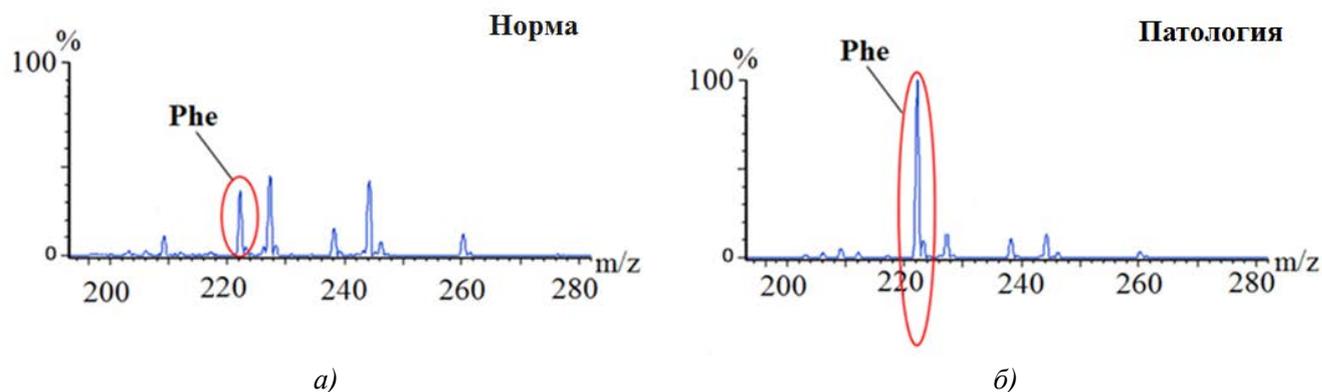


Рисунок А.3 – Сравнение масс-спектров образцов сухих пятен крови у пациента из контрольной группы (а) и у пациента с фенилкетонурией (б) (диагностический маркер – фенилаланин (Phe); метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано значение массы к заряду ( $m/z$ ), по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в относительных единицах).

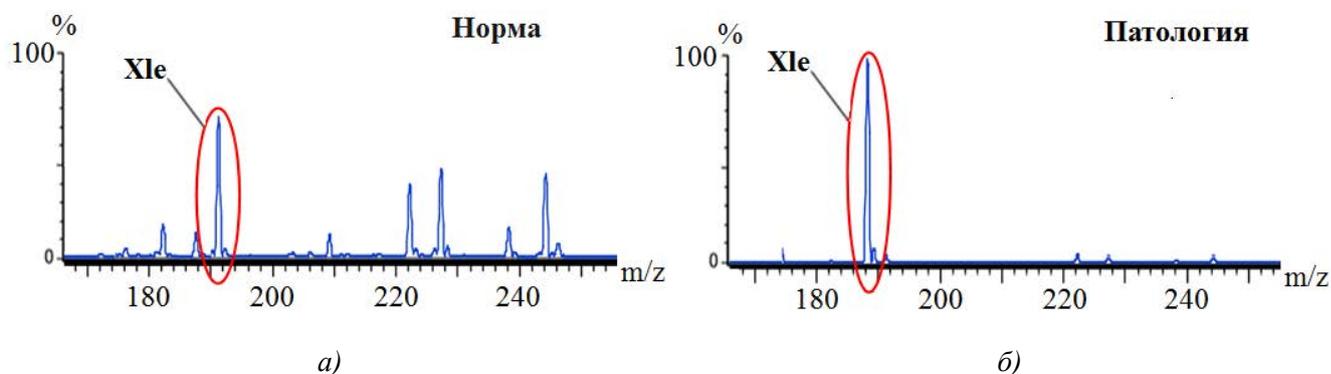


Рисунок А.4 – Сравнение масс-спектров образцов сухих пятен крови у пациента из контрольной группы (а) и у пациента с болезнью «кленового сиропа» (гиперлейцинурией) (б) (диагностический маркер – суммарный показатель (лейцин+изолейцин) (Xle); метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано значение массы к заряду ( $m/z$ ), по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в относительных единицах).

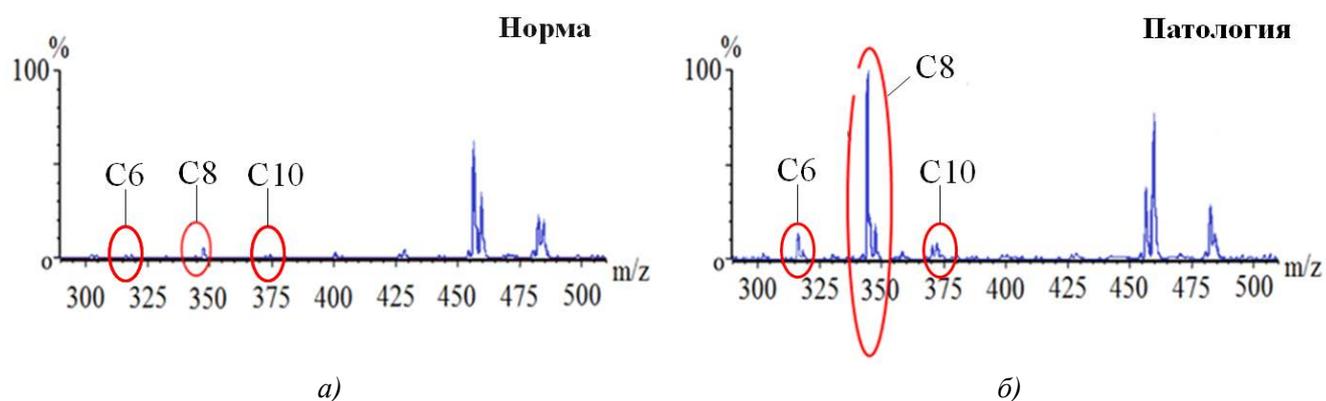


Рисунок А.5 – Сравнение масс-спектров образцов сухих пятен крови у пациента из контрольной группы (а) и у пациента с дефицитом среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы (б) (диагностические маркеры – гексаноилкарнитин (C6), октаноилкарнитин (C8) и деканоилкарнитин (C10); метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано значение массы к заряду ( $m/z$ ), по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в относительных единицах).

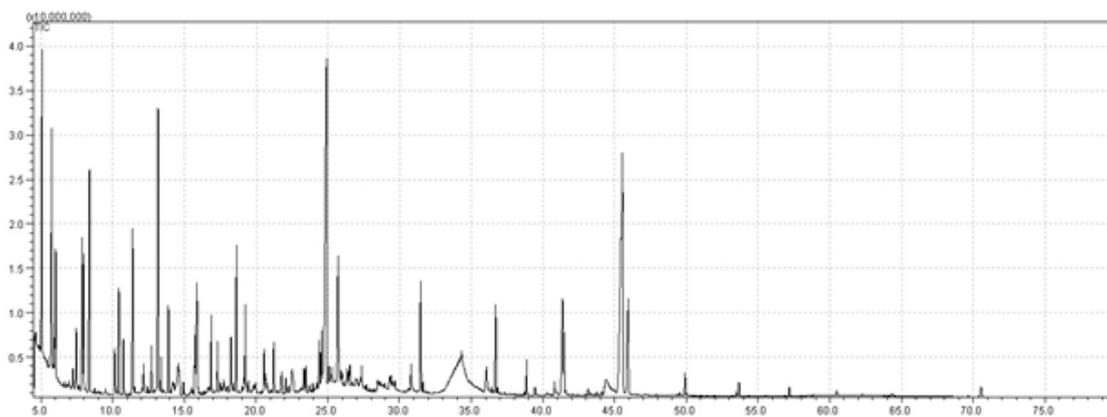


Рисунок А.6 – Хроматограмма по полному ионному току образца мочи пациента из контрольной группы с нормальным содержанием органических кислот (метод анализа ГХ-МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

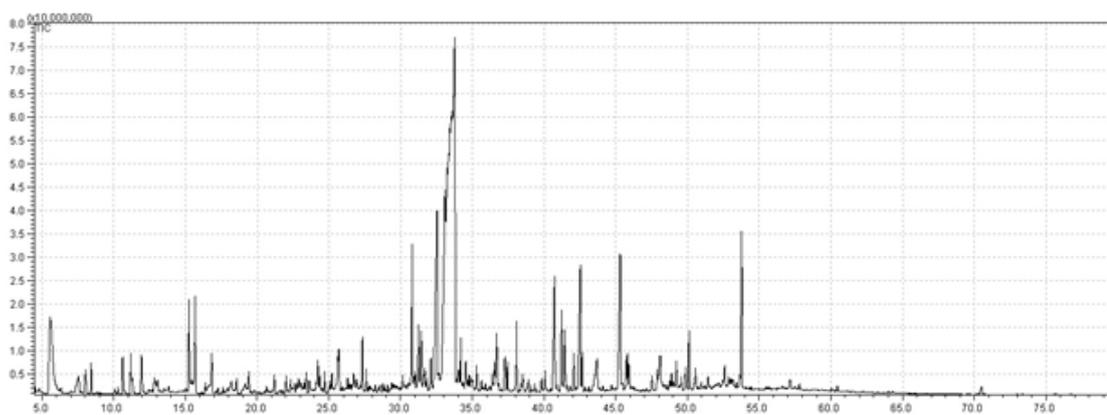


Рисунок А.7 – Хроматограмма по полному ионному току образца мочи пациента с повышенным содержанием органических кислот (метод анализа ГХ-МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

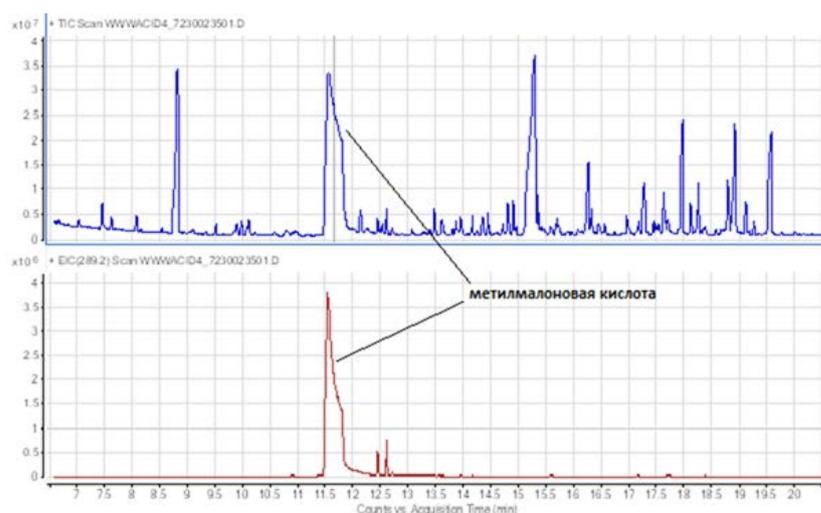


Рисунок А.8 – Сравнение хроматограмм по полному ионному току образцов мочи у пациента с метилмалоновой ацидурией (*вверху*) и у пациента из контрольной группы (*внизу*) (метод анализа ГХ-МС; диагностический маркер – метилмалоновая кислота; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

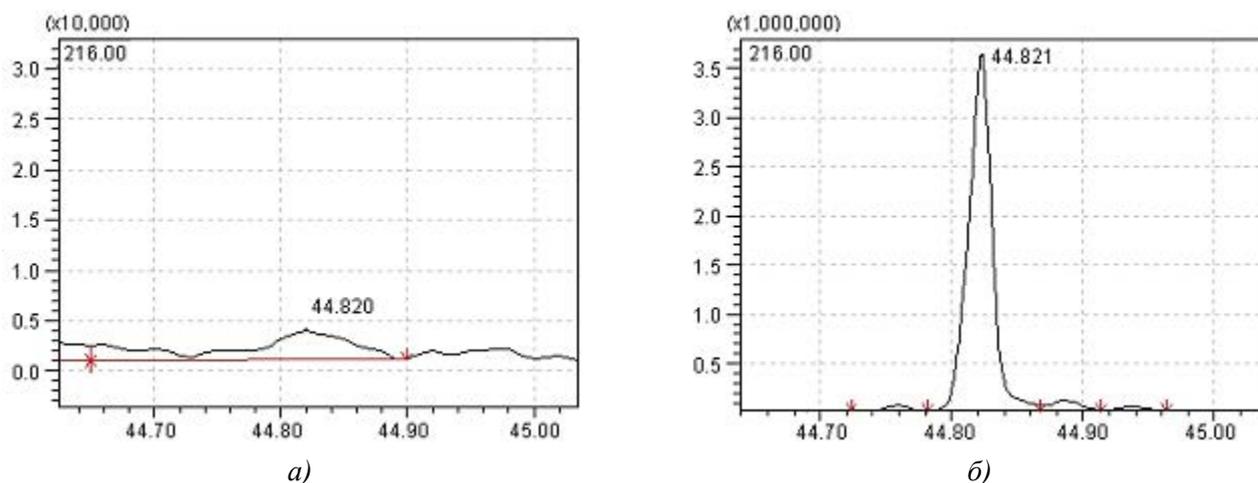


Рисунок А.9 – Сравнение хроматограмм образцов мочи у пациента из контрольной группы (*a*) и у пациента с глутаровой ацидурией I типа (*б*) (метод анализа ГХ-МС; диагностический маркер – глутаровая кислота ( $m/z = 216$ ); по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

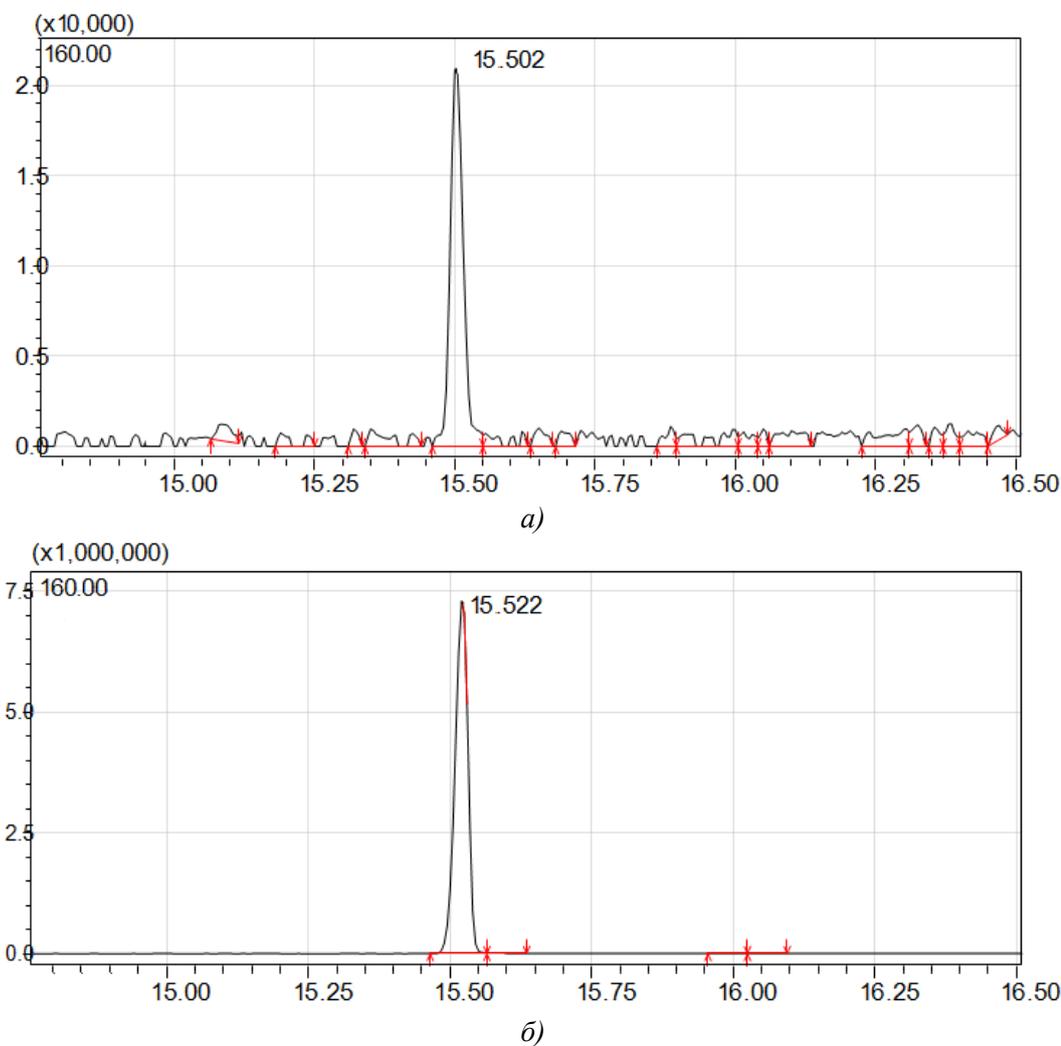


Рисунок А.10 – Сравнение хроматограмм образцов мочи у пациента из контрольной группы (*a*) и у пациента с дефицитом короткоцепочечных ацил-КоА-дегидрогеназ (*б*) (диагностический маркер – этилмалоновая кислота ( $m/z = 160$ ); по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

Таблица А.2 – Результаты анализов пятен крови на содержание аминокислот и ацилкарнитинов первой группы пациентов с подозрениями на аминоацидопатии, органические ацидемии / ацидурии и ее группы сравнения методом ВЭЖХ-МС/МС

| Патология                                 | ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ         |                |               |               |               |                |               |
|---|------------------------|----------------|---------------|---------------|---------------|----------------|---------------|
|   | 1                      | 2              | 3             | 4             | 5             | 6              | 7             |
| № п/п пациента                            | 12 лет                 | 16 лет         | 14 лет        | 10 мес.       | 7 лет         | 2 года         | 5 лет         |
| Возраст пациента                          | 12 лет                 | 16 лет         | 14 лет        | 10 мес.       | 7 лет         | 2 года         | 5 лет         |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |                |               |               |               |                |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |                |               |               |               |                |               |
| Ala                                       | 326.63                 | 259.94         | 519.82        | 431.65        | 383.25        | 251.17         | 202.68        |
| Asp                                       | 77.12                  | 93.65          | 73.17         | 90.77         | 120.20        | 108.31         | 112.98        |
| Glu                                       | 190.04                 | 219.43         | 234.26        | 234.68        | 200.91        | 207.03         | 185.42        |
| Xle                                       | 178.01                 | 81.91          | 247.02        | 179.86        | 519.69        | 111.18         | 73.99         |
| Met                                       | 5.82                   | 7.75           | 4.28          | 3.42          | 4.43          | 7.89           | 5.88          |
| <b>Phe</b>                                | <b>879.09</b>          | <b>1076.92</b> | <b>229.35</b> | <b>247.88</b> | <b>220.71</b> | <b>1224.90</b> | <b>643.40</b> |
| <b>Tyr</b>                                | <b>21.12</b>           | <b>24.44</b>   | <b>28.51</b>  | <b>28.54</b>  | 44.40         | <b>28.52</b>   | 31.94         |
| Val                                       | 158.69                 | 120.45         | 185.66        | 184.20        | 227.14        | 108.10         | 94.26         |
| Arg                                       | 27.68                  | 23.52          | 16.53         | 20.22         | 41.50         | 27.56          | 27.50         |
| Cit                                       | 21.52                  | 23.39          | 26.32         | 19.79         | 33.88         | 34.72          | 25.27         |
| Gly                                       | 296.13                 | 206.77         | 323.36        | 55.57         | 344.30        | 277.79         | 32117         |
| Orn                                       | 44.35                  | 155.70         | 64.71         | 63.83         | 62.17         | 61.14          | 58.28         |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |                |               |               |               |                |               |
| C0  | 22.38                  | 27.18          | 27.01         | 26.18         | 34.31         | 30.66          | 21.14         |
| C2  | 18.07                  | 20.55          | 31.96         | 20.41         | 20.97         | 28.77          | 15.03         |
| C3  | 0.78                   | 1.16           | 1.56          | 1.76          | 1.02          | 2.27           | 0.56          |
| C3DC                                      | 0.12                   | 0.07           | 0.08          | 0.18          | 0.52          | 0.04           | 0.00          |
| C4  | 0.13                   | 0.15           | 0.28          | 0.33          | 0.17          | 0.29           | 0.11          |
| C4DC                                      | 0.78                   | 0.61           | 1.41          | 0.62          | 0.68          | 1.15           | 1.04          |
| C4OH                                      | 0.07                   | 0.05           | 0.13          | 0.08          | 0.08          | 0.09           | 0.05          |
| C5  | 0.05                   | 0.07           | 0.09          | 0.07          | 0.08          | 0.10           | 0.05          |
| C5DC                                      | 0.12                   | 0.03           | 0.13          | 0.25          | 0.12          | 0.14           | 0.07          |
| C5OH                                      | 0.10                   | 0.10           | 0.24          | 0.16          | 0.14          | 0.19           | 0.09          |
| C5:1                                      | 0.01                   | 0.01           | 0.10          | 0.06          | 0.01          | 0.02           | 0.01          |
| C6  | 0.05                   | 0.04           | 0.05          | 0.08          | 0.05          | 0.04           | 0.04          |
| C8  | 0.11                   | 0.05           | 0.11          | 0.15          | 0.09          | 0.08           | 0.05          |
| C8:1                                      | 0.03                   | 0.10           | 0.06          | 0.16          | 0.06          | 0.04           | 0.03          |
| C10                                       | 0.13                   | 0.04           | 0.09          | 0.36          | 0.09          | 0.09           | 0.06          |
| C10:1                                     | 0.20                   | 0.06           | 0.16          | 0.11          | 0.13          | 0.09           | 0.13          |
| C12                                       | 0.07                   | 0.05           | 0.06          | 0.10          | 0.06          | 0.09           | 0.04          |
| C14                                       | 0.07                   | 0.06           | 0.07          | 0.12          | 0.07          | 0.11           | 0.04          |
| C14:1                                     | 0.08                   | 0.04           | 0.06          | 0.13          | 0.07          | 0.12           | 0.06          |
| C14:2                                     | 0.07                   | 0.03           | 0.05          | 0.08          | 0.06          | 0.05           | 0.06          |
| C14OH                                     | 0.01                   | 0.01           | 0.01          | 0.13          | 0.02          | 0.01           | 0.01          |
| C16                                       | 0.48                   | 0.46           | 0.41          | 0.61          | 0.42          | 0.67           | 0.21          |
| C16:1                                     | 0.03                   | 0.02           | 0.03          | 0.08          | 0.04          | 0.05           | 0.02          |
| C16:1OH                                   | 0.02                   | 0.02           | 0.02          | 0.04          | 0.02          | 0.03           | 0.01          |
| C16OH                                     | 0.01                   | 0.01           | 0.02          | 0.04          | 0.01          | 0.03           | 0.01          |
| C18                                       | 0.37                   | 0.29           | 0.28          | 0.34          | 0.28          | 0.45           | 0.23          |
| C18:1                                     | 0.52                   | 0.39           | 0.43          | 0.63          | 0.57          | 0.70           | 0.32          |
| C18:1OH                                   | 0.01                   | 0.01           | 0.01          | 0.02          | 0.01          | 0.01           | 0.00          |
| C18:2OH                                   | 0.02                   | 0.02           | 0.03          | 0.02          | 0.02          | 0.03           | 0.01          |
| C18OH                                     | 0.00                   | 0.00           | 0.00          | 0.02          | 0.01          | 0.02           | 0.00          |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГОМОЦИСТИНУРИЯ         |              |              |              |              | АРГИНИНЕМИЯ   |               |               |               |
|---|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| № п/п пациента                            | 1                      | 2            | 3            | 4            | 5            | 1             | 2             | 3             | 4             |
| Возраст пациента                          | 9 лет                  | 4 года       | 5 лет        | 8 лет        | 4 года       | 11 лет        | 2 года        | 7 лет         | 13 лет        |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |              |              |              |              |               |               |               |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |              |              |              |              |               |               |               |               |
| Ala                                       | 304.906                | 498.551      | 230.528      | 496.040      | 207.957      | 449.26        | 293.79        | 362.81        | 575.63        |
| Asp                                       | 57.902                 | 133.710      | 72.963       | 135.700      | 64.363       | 71.607        | 74.546        | 140.56        | 111.12        |
| Glu                                       | 256.558                | 525.508      | 224.345      | 381.530      | 195.979      | 289.05        | 302.70        | 231.53        | 350.83        |
| Xle                                       | 160.805                | 126.586      | 143.688      | 265.775      | 82.039       | 163.30        | 130.50        | 155.69        | 183.15        |
| <b>Met</b>                                | <b>6.520</b>           | <b>5.897</b> | <b>4.982</b> | <b>3.408</b> | <b>4.327</b> | 11.237        | 7.812         | 7.403         | 6.928         |
| Phe                                       | 30.455                 | 20.611       | 22.496       | 54.338       | 24.932       | 36.093        | 35.204        | 26.497        | 25.445        |
| Tyr                                       | 47.226                 | 31.153       | 40.840       | 97.955       | 44.966       | 59.864        | 49.763        | 45.495        | 43.044        |
| Val                                       | 208.420                | 105.144      | 93.936       | 210.680      | 110.906      | 157.24        | 160.59        | 142.50        | 126.73        |
| <b>Arg</b>                                | 32.101                 | 10.373       | 26.623       | 33.994       | 26.331       | <b>185.44</b> | <b>204.19</b> | <b>177.07</b> | <b>225.24</b> |
| Cit                                       | 27.299                 | 20.054       | 19.200       | 25.522       | 19.305       | 27.220        | 33.659        | 23.509        | 25.197        |
| Gly                                       | 195.400                | 283.963      | 145.606      | 424.242      | 165.462      | 379.93        | 256.38        | 329.41        | 247.67        |
| Orn                                       | 78.259                 | 68.194       | 55.922       | 222.073      | 38.549       | 85.124        | 80.399        | 83.681        | 107.11        |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |              |              |              |              |               |               |               |               |
| C0  | 28.259                 | 36.684       | 32.512       | 33.490       | 19.940       | 48.797        | 46.180        | 20.484        | 35.467        |
| C2  | 26.780                 | 67.993       | 66.546       | 40.757       | 31.960       | 19.916        | 34.525        | 16.390        | 23.426        |
| C3  | 1.616                  | 2.783        | 3.300        | 3.618        | 2.385        | 1.252         | 3.897         | 1.452         | 1.131         |
| C3DC                                      | 0.153                  | 0.107        | 0.023        | 0.238        | 0.154        | 0.088         | 0.062         | 0.094         | 0.069         |
| C4  | 0.284                  | 0.357        | 0.271        | 0.210        | 0.173        | 0.191         | 0.235         | 0.304         | 0.795         |
| C4DC                                      | 0.939                  | 0.317        | 1.153        | 1.458        | 1.378        | 0.889         | 0.815         | 0.866         | 1.468         |
| C4OH                                      | 0,162                  | 0,159        | 0.434        | 0.202        | 0.101        | 0.129         | 0.128         | 0.069         | 0.101         |
| C5  | 0.235                  | 0.111        | 0.090        | 0.351        | 0.118        | 0.105         | 0.200         | 0.094         | 0.103         |
| C5DC                                      | 0.133                  | 0.059        | 0.080        | 0.067        | 0.072        | 0.080         | 0.062         | 0.082         | 0.118         |
| C5:1                                      | 0.030                  | 0.031        | 0.025        | 0.080        | 0.018        | 0.021         | 0.021         | 0.012         | 0.024         |
| C5OH                                      | 0.283                  | 0.163        | 0.350        | 0.263        | 0.208        | 0.386         | 0.245         | 0.294         | 0.190         |
| C6  | 0.055                  | 0.057        | 0.061        | 0.090        | 0.043        | 0.088         | 0.070         | 0.072         | 0.108         |
| C8  | 0.062                  | 0.045        | 0.063        | 0.077        | 0.049        | 0.075         | 0.058         | 0.080         | 0.172         |
| C8:1                                      | 0.036                  | 0.065        | 0.061        | 0.100        | 0.055        | 0.049         | 0.049         | 0.057         | 0.078         |
| C10                                       | 0.098                  | 0.077        | 0.093        | 0.063        | 0.091        | 0.118         | 0.093         | 0.108         | 0.191         |
| C10:1                                     | 0,062                  | 0,053        | 0.066        | 0.058        | 0.062        | 0.115         | 0.060         | 0.101         | 0.152         |
| C12                                       | 0.109                  | 0.193        | 0.170        | 0.174        | 0.070        | 0.097         | 0.164         | 0.082         | 0.126         |
| C14                                       | 0.119                  | 0.209        | 0.198        | 0.161        | 0.121        | 0.112         | 0.215         | 0.077         | 0.095         |
| C14:1                                     | 0.137                  | 0.235        | 0.152        | 0.115        | 0.094        | 0.125         | 0.128         | 0.116         | 0.122         |
| C14:2                                     | 0.041                  | 0.067        | 0.054        | 0.060        | 0.030        | 0.049         | 0.041         | 0.073         | 0.059         |
| C14OH                                     | 0.017                  | 0,023        | 0.023        | 0.012        | 0.019        | 0.015         | 0.014         | 0.019         | 0.023         |
| C16                                       | 0.692                  | 1.807        | 1.362        | 1.348        | 1.052        | 0.894         | 1.761         | 0.466         | 0.775         |
| C16:1                                     | 0,050                  | 0.092        | 0.045        | 0.040        | 0.075        | 0.067         | 0.101         | 0.077         | 0.057         |
| C16:1OH                                   | 0,047                  | 0,086        | 0.064        | 0.019        | 0.060        | 0.042         | 0.106         | 0.031         | 0.040         |
| C16OH                                     | 0.012                  | 0.026        | 0.018        | 0.009        | 0.018        | 0.015         | 0.018         | 0.018         | 0.022         |
| C18                                       | 0.517                  | 1.000        | 0.887        | 0.399        | 0.459        | 0.618         | 1.135         | 0.253         | 0.399         |
| C18:1                                     | 0.744                  | 1.733        | 1.075        | 0.806        | 1.020        | 1.140         | 1.460         | 0.585         | 0.768         |
| C18:1OH                                   | 0.015                  | 0.018        | 0.017        | 0.006        | 0.008        | 0.016         | 0.018         | 0.016         | 0.018         |
| C18:2OH                                   | 0.021                  | 0.042        | 0.031        | 0.022        | 0.021        | 0.031         | 0.026         | 0.026         | 0.028         |
| C18OH                                     | 0.006                  | 0.010        | 0.009        | 0.009        | 0.012        | 0.006         | 0.007         | 0.005         | 0.010         |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | МЕТИЛМАЛОНОВАЯ АЦИДЕМИЯ |               |              |               |               | МСАД         |              |              | CUD          |
|---|-------------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| № п/п пациента                            | 1                       | 2             | 3            | 4             | 5             | 1            | 2            | 3            | 1            |
| Возраст пациента                          | 2 года                  | 5 лет         | 11 лет       | 3 года        | 1 год         | 14 лет       | 4 года       | 8 лет        | 2 года       |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л  |               |              |               |               |              |              |              |              |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                         |               |              |               |               |              |              |              |              |
| Ala                                       | 323.844                 | 255.174       | 274.183      | 426.364       | 219.202       | 309.605      | 373.672      | 312.076      | 182.736      |
| Asp                                       | 128.283                 | 30.704        | 129.382      | 126.906       | 78.638        | 81.297       | 178.912      | 142.737      | 57.284       |
| Glu                                       | 325.046                 | 215.301       | 169.684      | 327.860       | 401.769       | 243.721      | 286.689      | 217.381      | 162.957      |
| Xle                                       | 140.661                 | 183.512       | 196.472      | 289.859       | 57.119        | 137.477      | 178.598      | 115.628      | 90.496       |
| Met                                       | 6.483                   | 7.822         | 9.331        | 1.788         | 3.995         | 7.186        | 10.293       | 6.333        | 6.973        |
| Phe                                       | 32.931                  | 37.935        | 32.960       | 43.593        | 8.548         | 32.423       | 52.945       | 28.885       | 30.917       |
| Tyr                                       | 45.280                  | 57.192        | 46.212       | 89.322        | 23.596        | 41.146       | 79.489       | 44.253       | 34.038       |
| Val                                       | 112.526                 | 67.196        | 142.063      | 62.298        | 41.312        | 122.955      | 161.899      | 117.972      | 87.254       |
| Arg                                       | 35.018                  | 3.227         | 26.368       | 23.197        | 8.151         | 30.426       | 54.963       | 33.414       | 49.713       |
| Cit                                       | 45.491                  | 13.687        | 40.559       | 6.243         | 16.089        | 35.789       | 36.300       | 44.715       | 31.593       |
| Gly                                       | 353.888                 | 299.054       | 309.595      | 440.758       | 477.499       | 250.501      | 386.197      | 254.953      | 167.305      |
| Orn                                       | 150.884                 | 104.879       | 60.841       | 111.923       | 55.327        | 98.977       | 223.426      | 109.030      | 67.292       |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                         |               |              |               |               |              |              |              |              |
| <b>C0</b>                                 | 35.650                  | 35.113        | 21.234       | 32.154        | 43.830        | 22.904       | 27.365       | 20.001       | <b>5.636</b> |
| <b>C2</b>                                 | <b>50.422</b>           | 29.097        | 26.698       | 18.152        | <b>41.910</b> | 18.872       | 25.581       | 23.122       | 0.777        |
| <b>C3</b>                                 | <b>29.917</b>           | <b>40.097</b> | <b>3.172</b> | <b>29.128</b> | <b>21.220</b> | 1.862        | 2.241        | 1.988        | 0.031        |
| C3DC                                      | 0.048                   | 0.079         | 0.000        | 0.243         | 0.077         | 0.145        | 0.214        | 0.050        | 0.000        |
| C4  | 0.298                   | 0.297         | 0.187        | 0.354         | 0.266         | 0.231        | 0.358        | 0.220        | 0.040        |
| C4DC                                      | 0.726                   | 1.200         | 1.081        | 0.472         | 0.385         | 1.699        | 1.009        | 1.109        | 0.106        |
| C4OH                                      | 0.187                   | 0.134         | 0.091        | 0.154         | 0.151         | 0.085        | 0.079        | 0.058        | 0.008        |
| C5  | 0.195                   | 0.189         | 0.098        | 0.279         | 0.123         | 0.154        | 0.225        | 0.099        | 0.005        |
| C5DC                                      | 0.190                   | 0.138         | 0.120        | 0.128         | 0.103         | 0.098        | 0.145        | 0.097        | 0.029        |
| C5:1                                      | 0.011                   | 0.062         | 0.017        | 0.020         | 0.025         | 0.012        | 0.028        | 0.014        | 0.013        |
| C5OH                                      | 0.525                   | 0.552         | 0.277        | 1.007         | 0.551         | 0.305        | 0.328        | 0.201        | 0.027        |
| <b>C6</b>                                 | 0.062                   | 0.048         | 0.065        | 0.137         | 0.077         | <b>1.500</b> | <b>3.600</b> | <b>2.200</b> | 0.016        |
| <b>C8</b>                                 | 0.088                   | 0.051         | 0.111        | 0.032         | 0.063         | <b>2.500</b> | <b>3.200</b> | <b>4.000</b> | 0.006        |
| C8:1                                      | 0.099                   | 0.054         | 0.050        | 0.000         | 0.115         | 0.018        | 0.048        | 0.044        | 0.009        |
| <b>C10</b>                                | 0.091                   | 0.043         | 0.136        | 0.120         | 0.108         | <b>2.400</b> | <b>1.800</b> | <b>3.800</b> | 0.019        |
| C10:1                                     | 0.093                   | 0.043         | 0.144        | 0.028         | 0.076         | 0.062        | 0.095        | 0.080        | 0.035        |
| C12                                       | 0.118                   | 0.038         | 0.109        | 0.135         | 0.189         | 0.092        | 0.126        | 0.118        | 0.019        |
| C14                                       | 0.121                   | 0.058         | 0.082        | 0.092         | 0.190         | 0.106        | 0.122        | 0.099        | 0.019        |
| C14:1                                     | 0.140                   | 0.064         | 0.141        | 0.119         | 0.240         | 0.087        | 0.136        | 0.107        | 0.010        |
| C14:2                                     | 0.050                   | 0.024         | 0.071        | 0.022         | 0.076         | 0.041        | 0.054        | 0.047        | 0.009        |
| C14OH                                     | 0.021                   | 0.014         | 0.013        | 0.019         | 0.031         | 0.012        | 0.017        | 0.012        | 0.012        |
| C16                                       | 0.657                   | 0.493         | 0.587        | 0.690         | 1.487         | 0.740        | 0.990        | 0.901        | 0.048        |
| C16:1                                     | 0.055                   | 0.067         | 0.063        | 0.079         | 0.123         | 0.036        | 0.050        | 0.047        | 0.005        |
| C16:1OH                                   | 0.061                   | 0.069         | 0.033        | 0.062         | 0.075         | 0.035        | 0.039        | 0.036        | 0.009        |
| C16OH                                     | 0.014                   | 0.008         | 0.015        | 0.019         | 0.021         | 0.037        | 0.026        | 0.020        | 0.021        |
| C18                                       | 0.366                   | 0.180         | 0.361        | 0.276         | 0.491         | 0.503        | 0.624        | 0.419        | 0.051        |
| C18:1                                     | 0.651                   | 1.063         | 0.713        | 0.911         | 1.837         | 0.572        | 1.021        | 0.666        | 0.028        |
| C18:1OH                                   | 0.009                   | 0.016         | 0.013        | 0.012         | 0.019         | 0.012        | 0.017        | 0.005        | 0.001        |
| C18:2OH                                   | 0.027                   | 0.025         | 0.021        | 0.053         | 0.036         | 0.025        | 0.030        | 0.030        | 0.020        |
| C18OH                                     | 0.007                   | 0.004         | 0.011        | 0.024         | 0.005         | 0.023        | 0.014        | 0.025        | 0.027        |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГЛУТАРОВАЯ<br>АЦИДЕМИЯ I ТИПА |              |              | ТИРОЗИНЕМИЯ<br>I ТИПА |                |                | ТИРОЗИНЕМИЯ<br>II ТИПА |
|---|-------------------------------|--------------|--------------|-----------------------|----------------|----------------|------------------------|
|   | 1                             | 2            | 3            | 1                     | 2              | 3              | 1                      |
| № п/п<br>пациента                         |                               |              |              |                       |                |                |                        |
| Возраст<br>пациента                       | 3 года                        | 4 года       | 10 лет       | 6 лет                 | 12 лет         | 6 лет          | 3 года                 |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л        |              |              |                       |                |                |                        |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                               |              |              |                       |                |                |                        |
| Ala                                       | 228.119                       | 317.746      | 862.840      | 358.550               | 507.146        | 358.511        | 311.719                |
| Asp                                       | 64.593                        | 119.031      | 81.746       | 128.587               | 136.373        | 107.899        | 123.026                |
| Glu                                       | 206.477                       | 261.112      | 449.703      | 344.032               | 269.890        | 321.761        | 268.805                |
| Xle                                       | 87.854                        | 124.006      | 272.570      | 201.729               | 153.448        | 118.302        | 144.985                |
| Met                                       | 12.541                        | 13.485       | 6.868        | 81.726                | 110.286        | 123.610        | 8.833                  |
| Phe                                       | 39.921                        | 38.285       | 19.641       | 151.882               | 120.883        | 338.190        | 41.285                 |
| <b>Tyr</b>                                | 50.393                        | 51.361       | 19.573       | <b>525.745</b>        | <b>321.466</b> | <b>581.149</b> | <b>661.929</b>         |
| Val                                       | 164.488                       | 153.245      | 145.830      | 190.415               | 192.312        | 129.325        | 191.605                |
| Arg                                       | 41.925                        | 36.618       | 18.375       | 21.109                | 28.912         | 21.905         | 20.920                 |
| Cit                                       | 23.828                        | 34.079       | 27.876       | 13.178                | 33.611         | 31.982         | 25.331                 |
| Gly                                       | 326.716                       | 342.739      | 468.615      | 259.277               | 334.696        | 284.119        | 199.234                |
| Orn                                       | 83.678                        | 100.569      | 65.332       | 112.659               | 113.742        | 115.103        | 68.583                 |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                               |              |              |                       |                |                |                        |
| C0  | 54.666                        | 54.164       | 71.280       | 28.926                | 37.866         | 37.626         | 30.608                 |
| C2  | 33.998                        | 42.126       | 37.366       | 24.111                | 21.067         | 25.452         | 20.013                 |
| C3  | 3.220                         | 2.815        | 3.696        | 1.397                 | 1.354          | 2.024          | 4.075                  |
| C3DC                                      | 0.108                         | 0.136        | 0.074        | 0.276                 | 0.127          | 0.135          | 0.076                  |
| C4  | 0.354                         | 0.378        | 0.556        | 0.160                 | 0.202          | 0.288          | 0.323                  |
| C4DC                                      | 1.568                         | 1.384        | 1.206        | 1.079                 | 1.034          | 1.173          | 1.143                  |
| C4OH                                      | 0.113                         | 0.156        | 0.222        | 0.148                 | 0.086          | 0.099          | 0.104                  |
| C5  | 0.206                         | 0.143        | 0.224        | 0.205                 | 0.270          | 0.257          | 0.242                  |
| <b>C5DC</b>                               | <b>5.886</b>                  | <b>5.571</b> | <b>2.014</b> | 0.159                 | 0.124          | 0.151          | 0.072                  |
| C5:1                                      | 0.025                         | 0.017        | 0.050        | 0.072                 | 0.004          | 0.071          | 0.033                  |
| C5OH                                      | 0.281                         | 0.322        | 0.330        | 0.386                 | 0.358          | 0.308          | 0.399                  |
| C6  | 0.075                         | 0.067        | 0.081        | 0.096                 | 0.049          | 0.067          | 0.070                  |
| C8  | 0.070                         | 0.110        | 0.094        | 0.083                 | 0.075          | 0.063          | 0.073                  |
| C8:1                                      | 0.032                         | 0.058        | 0.025        | 0.040                 | 0.046          | 0.082          | 0.037                  |
| C10                                       | 0.059                         | 0.127        | 0.133        | 0.122                 | 0.092          | 0.087          | 0.100                  |
| C10:1                                     | 0.120                         | 0.144        | 0.116        | 0.128                 | 0.087          | 0.087          | 0.049                  |
| C12                                       | 0.055                         | 0.098        | 0.135        | 0.181                 | 0.105          | 0.115          | 0.140                  |
| C14                                       | 0.099                         | 0.076        | 0.169        | 0.140                 | 0.110          | 0.142          | 0.184                  |
| C14:1                                     | 0.063                         | 0.114        | 0.143        | 0.240                 | 0.108          | 0.102          | 0.117                  |
| C14:2                                     | 0.052                         | 0.077        | 0.061        | 0.090                 | 0.056          | 0.049          | 0.033                  |
| C14OH                                     | 0.023                         | 0.036        | 0.042        | 0.019                 | 0.025          | 0.023          | 0.023                  |
| C16                                       | 1.137                         | 0.994        | 1.131        | 0.898                 | 0.928          | 1.016          | 1.169                  |
| C16:1                                     | 0.059                         | 0.086        | 0.157        | 0.072                 | 0.076          | 0.046          | 0.050                  |
| C16:1OH                                   | 0.053                         | 0.072        | 0.037        | 0.048                 | 0.049          | 0.054          | 0.091                  |
| C16OH                                     | 0.018                         | 0.021        | 0.040        | 0.021                 | 0.016          | 0.017          | 0.018                  |
| C18                                       | 0.905                         | 0.850        | 0.601        | 0.552                 | 0.503          | 0.624          | 0.512                  |
| C18:1                                     | 1.096                         | 1.277        | 0.971        | 1.023                 | 0.750          | 0.799          | 0.872                  |
| C18:1OH                                   | 0.017                         | 0.015        | 0.023        | 0.021                 | 0.016          | 0.023          | 0.012                  |
| C18:2OH                                   | 0.007                         | 0.028        | 0.033        | 0.046                 | 0.030          | 0.034          | 0.028                  |
| C18OH                                     | 0.006                         | 0.009        | 0.014        | 0.010                 | 0.009          | 0.008          | 0.008                  |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГИПЕРАММОНИЕМИЯ        |         |          |         |          | ЦИТРУЛЛИНЕМИЯ  |               |
|---|------------------------|---------|----------|---------|----------|----------------|---------------|
| № п/п пациента                            | 1                      | 2       | 3        | 4       | 5        | 1              | 2             |
| Возраст пациента                          | 13 лет                 | 14 лет  | 10 лет   | 2 года  | 7 лет    | 4 года         | 12 лет        |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |         |          |         |          |                |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |         |          |         |          |                |               |
| Ala                                       | 725.712                | 881.123 | 1025.220 | 901.265 | 1201.312 | 456.204        | 430.175       |
| Asp                                       | 205.544                | 186.115 | 123.551  | 135.506 | 115.375  | 90.262         | 114.368       |
| Glu                                       | 418.601                | 380.119 | 247.710  | 245.502 | 300.973  | 334.412        | 293.375       |
| Xle                                       | 207.505                | 192.378 | 202.139  | 192.392 | 188.717  | 91.640         | 125.927       |
| Met                                       | 12.648                 | 14.974  | 7.994    | 8.210   | 13.478   | 5.119          | 9.985         |
| Phe                                       | 63.764                 | 50.411  | 42.181   | 39.412  | 45.272   | 25.012         | 35.969        |
| Tyr                                       | 100.053                | 72.340  | 71.961   | 49.051  | 93.726   | 29.604         | 54.983        |
| Val                                       | 236.834                | 205.529 | 184.062  | 214.346 | 183.735  | 133.379        | 143.102       |
| Arg                                       | 33.997                 | 49.212  | 37.278   | 31.381  | 48.575   | <b>8.014</b>   | 28.177        |
| Cit                                       | 45.584                 | 56.975  | 30.440   | 29.902  | 32.301   | <b>128.978</b> | <b>89.865</b> |
| Gly                                       | 575.552                | 467.747 | 262.679  | 236.556 | 220.201  | 344.794        | 236.672       |
| Orn                                       | 297.117                | 140.641 | 85.623   | 56.844  | 109.391  | 70.368         | 127.563       |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |         |          |         |          |                |               |
| C0  | 33.490                 | 58.022  | 57.308   | 41.263  | 54.051   | 40.392         | 23.712        |
| C2  | 18.211                 | 27.236  | 23.495   | 33.886  | 39.095   | 27.792         | 11.102        |
| C3  | 1.707                  | 2.438   | 2.794    | 2.785   | 2.591    | 0.902          | 1.167         |
| C3DC                                      | 0.059                  | 0.116   | 0.128    | 0.154   | 0.130    | 0.074          | 0.047         |
| C4  | 0.285                  | 0.335   | 0.261    | 0.661   | 0.364    | 0.556          | 0.165         |
| C4DC                                      | 0.821                  | 1.323   | 0.741    | 1.166   | 1.016    | 0.717          | 1.048         |
| C4OH                                      | 0.070                  | 0.150   | 0.104    | 0.189   | 0.246    | 0.117          | 0.042         |
| C5  | 0.370                  | 0.281   | 0.203    | 0.250   | 0.367    | 0.111          | 0.169         |
| C5DC                                      | 0.140                  | 0.129   | 0.110    | 0.204   | 0.118    | 0.059          | 0.078         |
| C5:1                                      | 0.025                  | 0.040   | 0.033    | 0.051   | 0.064    |                | 0.021         |
| C5OH                                      | 0.215                  | 0.449   | 0.383    | 0.680   | 0.200    | 0.238          | 0.284         |
| C6  | 0.066                  | 0.077   | 0.060    | 0.071   | 0.106    | 0.091          | 0.058         |
| C8  | 0.072                  | 0.097   | 0.082    | 0.087   | 0.093    | 0.044          | 0.050         |
| C8:1                                      | 0.039                  | 0.063   | 0.049    | 0.101   | 0.150    | 0.035          | 0.044         |
| C10                                       | 0.088                  | 0.119   | 0.108    | 0.103   | 0.093    | 0.045          | 0.053         |
| C10:1                                     | 0.083                  | 0.073   | 0.089    | 0.119   | 0.095    | 0.038          | 0.043         |
| C12                                       | 0.101                  | 0.214   | 0.128    | 0.168   | 0.167    | 0.130          | 0.075         |
| C14                                       | 0.108                  | 0.216   | 0.134    | 0.168   | 0.178    | 0.128          | 0.103         |
| C14:1                                     | 0.116                  | 0.229   | 0.125    | 0.157   | 0.126    | 0.085          | 0.067         |
| C14:2                                     | 0.054                  | 0.067   | 0.059    | 0.047   | 0.072    | 0.025          | 0.020         |
| C14OH                                     | 0.013                  | 0.017   | 0.020    | 0.024   | 0.026    | 0.012          | 0.016         |
| C16                                       | 0.658                  | 1.652   | 1.411    | 1.288   | 1.121    | 1.223          | 0.764         |
| C16:1                                     | 0.048                  | 0.090   | 0.062    | 0.075   | 0.070    | 0.047          | 0.037         |
| C16:1OH                                   | 0.039                  | 0.055   | 0.062    | 0.085   | 0.024    | 0.042          | 0.038         |
| C16-OH                                    | 0.012                  | 0.017   | 0.022    | 0.022   | 0.023    | 0.013          | 0.011         |
| C18                                       | 0.662                  | 1.404   | 0.748    | 0.595   | 0.514    | 0.681          | 0.973         |
| C18:1                                     | 0.751                  | 1.603   | 1.022    | 1.103   | 0.845    | 0.718          | 0.744         |
| C18:1OH                                   | 0.017                  | 0.014   | 0.013    | 0.019   | 0.013    | 0.010          | 0.010         |
| C18:2OH                                   | 0.026                  | 0.027   | 0.033    | 0.030   | 0.027    | 0.029          | 0.020         |
| C18OH                                     | 0.006                  | 0.012   | 0.010    | 0.007   | 0.010    | 0.006          | 0.004         |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ИЗОВАЛЕРИАНО-<br>ВАЯ АЦИДЕМИЯ |              | ПРОПИОНОВАЯ<br>АЦИДЕМИЯ |              | НЕКЕТОТИЧЕСКАЯ<br>ГИПЕРГЛИЦИНЕМИЯ |               |               |               |               |
|---|-------------------------------|--------------|-------------------------|--------------|-----------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|   | 1                             | 2            | 1                       | 2            | 1                                 | 2             | 3             | 4             | 5             |
| № п/п<br>пациента                         |                               |              |                         |              |                                   |               |               |               |               |
| Возраст<br>пациента                       | 2 года                        | 4 года       | 2 года                  | 2 года       | 1 г 3 м.                          | 4 года        | 10 лет        | 5 лет         | 4 года        |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л        |              |                         |              |                                   |               |               |               |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                               |              |                         |              |                                   |               |               |               |               |
| Ala                                       | 398.491                       | 234.282      | 273.256                 | 333.724      | 243.659                           | 338.59        | 351.55        | 279.44        | 362.67        |
| Asp                                       | 74.622                        | 84.815       | 119.573                 | 127.410      | 99.505                            | 160.92        | 119.71        | 78.360        | 91.060        |
| Glu                                       | 274.695                       | 343.209      | 251.723                 | 308.607      | 244.464                           | 303.84        | 294.00        | 291.96        | 234.17        |
| Xle                                       | 119.736                       | 113.880      | 117.227                 | 152.827      | 207.296                           | 139.06        | 172.46        | 128.45        | 106.39        |
| Met                                       | 7.593                         | 10.094       | 9.348                   | 6.141        | 11.523                            | 10.098        | 10.077        | 8.716         | 9.070         |
| Phe                                       | 37.836                        | 36.753       | 40.079                  | 45.411       | 62.437                            | 39.770        | 43.825        | 48.537        | 30.570        |
| Tyr                                       | 42.739                        | 69.155       | 53.732                  | 56.487       | 62.233                            | 62.060        | 63.542        | 51.043        | 49.317        |
| Val                                       | 129.833                       | 146.108      | 130.053                 | 162.156      | 150.500                           | 160.02        | 186.96        | 150.17        | 132.41        |
| Arg                                       | 33.270                        | 44.250       | 28.770                  | 36.694       | 25.696                            | 23.227        | 26.531        | 14.094        | 21.301        |
| Cit                                       | 34.516                        | 27.769       | 32.269                  | 48.282       | 18.476                            | 24.098        | 17.432        | 28.075        | 31.357        |
| <b>Gly</b>                                | 296.319                       | 283.769      | 216.142                 | 447.300      | <b>528.424</b>                    | <b>735.41</b> | <b>881.25</b> | <b>628.03</b> | <b>452.56</b> |
| Orn                                       | 102.115                       | 132.575      | 117.215                 | 95.760       | 101.229                           | 112.25        | 115.13        | 106.71        | 111.88        |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                               |              |                         |              |                                   |               |               |               |               |
| C0  | 36.674                        | 34.582       | 12.204                  | 24.152       | 21.714                            | 28.718        | 24.744        | 22.200        | 28.371        |
| C2  | 43.891                        | 37.873       | 20.230                  | 12.437       | 20.946                            | 24.133        | 21.658        | 27.459        | 17.457        |
| <b>C3</b>                                 | 1.147                         | 1.782        | <b>10.200</b>           | <b>7.800</b> | 1.408                             | 1.508         | 1.722         | 2.275         | 2.764         |
| C3DC                                      | 0.088                         | 0.071        | 0.008                   | 0.102        | 0.086                             | 0.107         | 0.114         | 0.108         | 0.069         |
| C4  | 0.238                         | 0.170        | 0.132                   | 0.263        | 0.159                             | 0.258         | 0.187         | 0.210         | 0.143         |
| C4DC                                      | 0.859                         | 0.771        | 0.551                   | 0.943        | 0.610                             | 0.990         | 1.237         | 1.546         | 0.914         |
| C4OH                                      | 0.306                         | 0.086        | 0.061                   | 0.237        | 0.134                             | 0.152         | 0.099         | 0.124         | 0.077         |
| <b>C5</b>                                 | <b>1.120</b>                  | <b>1.980</b> | 0.098                   | 0.258        | 0.124                             | 0.115         | 0.150         | 0.109         | 0.092         |
| C5DC                                      | 0.082                         | 0.075        | 0.051                   | 0.221        | 0.074                             | 0.109         | 0.123         | 0.099         | 0.065         |
| C5:1                                      | 0.018                         | 0.003        | 0.027                   | 0.096        | 0.017                             | 0.005         | 0.019         | 0.022         | 0.017         |
| C5OH                                      | 0.255                         | 0.170        | 0.148                   | 0.311        | 0.168                             | 0.219         | 0.275         | 0.273         | 0.129         |
| C6  | 0.103                         | 0.070        | 0.042                   | 0.153        | 0.057                             | 0.102         | 0.060         | 0.059         | 0.065         |
| C8  | 0.130                         | 0.070        | 0.041                   | 0.139        | 0.063                             | 0.112         | 0.069         | 0.065         | 0.054         |
| C8:1                                      | 0.046                         | 0.055        | 0.041                   | 0.183        | 0.127                             | 0.058         | 0.054         | 0.074         | 0.041         |
| C10                                       | 0.166                         | 0.081        | 0.055                   | 0.121        | 0.073                             | 0.145         | 0.091         | 0.066         | 0.067         |
| C10:1                                     | 0.076                         | 0.077        | 0.050                   | 0.118        | 0.052                             | 0.068         | 0.072         | 0.067         | 0.050         |
| C12                                       | 0.169                         | 0.157        | 0.065                   | 0.253        | 0.103                             | 0.168         | 0.104         | 0.100         | 0.081         |
| C14                                       | 0.190                         | 0.153        | 0.088                   | 0.252        | 0.100                             | 0.161         | 0.095         | 0.119         | 0.104         |
| C14:1                                     | 0.195                         | 0.179        | 0.076                   | 0.284        | 0.115                             | 0.181         | 0.155         | 0.131         | 0.065         |
| C14:2                                     | 0.076                         | 0.070        | 0.023                   | 0.091        | 0.043                             | 0.045         | 0.053         | 0.052         | 0.028         |
| C14OH                                     | 0.021                         | 0.014        | 0.013                   | 0.031        | 0.025                             | 0.014         | 0.018         | 0.018         | 0.014         |
| C16                                       | 1.159                         | 1.648        | 0.676                   | 1.593        | 0.562                             | 1.272         | 0.809         | 0.906         | 0.989         |
| C16:1                                     | 0.142                         | 0.138        | 0.047                   | 0.165        | 0.046                             | 0.067         | 0.080         | 0.056         | 0.038         |
| C16:1OH                                   | 0.083                         | 0.100        | 0.053                   | 0.132        | 0.041                             | 0.057         | 0.044         | 0.054         | 0.056         |
| C16OH                                     | 0.014                         | 0.016        | 0.010                   | 0.026        | 0.018                             | 0.015         | 0.014         | 0.016         | 0.012         |
| C18                                       | 0.840                         | 0.656        | 0.535                   | 1.178        | 0.222                             | 1.126         | 0.472         | 0.723         | 0.747         |
| C18:1                                     | 1.189                         | 1.529        | 0.695                   | 1.783        | 0.760                             | 1.266         | 1.126         | 1.363         | 0.750         |
| C18:1OH                                   | 0.021                         | 0.017        | 0.012                   | 0.032        | 0.014                             | 0.015         | 0.013         | 0.013         | 0.011         |
| C18:2OH                                   | 0.030                         | 0.037        | 0.020                   | 0.044        | 0.024                             | 0.026         | 0.027         | 0.025         | 0.018         |
| C18OH                                     | 0.008                         | 0.006        | 0.006                   | 0.006        | 0.005                             | 0.009         | 0.007         | 0.005         | 0.004         |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | БОЛЕЗНЬ «КЛЕНОВОГО СИРОПА» |                |                |                |                |                |
|---|----------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| № п/п пациента                            | 1                          | 2              | 3              | 4              | 5              | 6              |
| Возраст пациента                          | 7 лет                      | 9 лет          | 6 лет          | 6 лет          | 3 г. 7 м.      | 3 г. 6 м.      |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л     |                |                |                |                |                |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                            |                |                |                |                |                |
| Ala                                       | 295.414                    | 282.890        | 426.892        | 292.401        | 258.222        | 343.930        |
| Asp                                       | 121.540                    | 96.441         | 118.944        | 123.765        | 81.030         | 159.154        |
| Glu                                       | 234.274                    | 249.393        | 365.770        | 233.984        | 226.713        | 265.701        |
| <b>Xle</b>                                | <b>338.460</b>             | <b>425.467</b> | <b>481.590</b> | <b>504.260</b> | <b>552.667</b> | <b>499.970</b> |
| Met                                       | 6.395                      | 7.811          | 9.006          | 5.926          | 6.154          | 7.973          |
| Phe                                       | 31.602                     | 48.393         | 52.006         | 30.845         | 34.191         | 41.829         |
| Tyr                                       | 46.878                     | 62.686         | 99.026         | 56.267         | 46.335         | 49.921         |
| Val                                       | 129.999                    | 231.703        | 172.994        | 131.190        | 119.198        | 180.268        |
| Arg                                       | 32.312                     | 39.512         | 35.392         | 39.739         | 30.834         | 51.607         |
| Cit                                       | 20.435                     | 16.894         | 24.586         | 26.430         | 32.323         | 35.625         |
| Gly                                       | 311.923                    | 283.764        | 448.026        | 295.853        | 263.114        | 282.708        |
| Orn                                       | 87.024                     | 86.926         | 171.811        | 85.639         | 66.466         | 73.264         |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                            |                |                |                |                |                |
| C0  | 22.095                     | 41.022         | 21.977         | 32.119         | 26.875         | 34.095         |
| C2  | 25.322                     | 32.887         | 23.408         | 28.043         | 18.227         | 26.504         |
| C3  | 1.183                      | 2.379          | 0.968          | 1.976          | 1.272          | 1.095          |
| C3DC                                      | 0.168                      | 0.177          | 0.175          | 0.096          | 0.090          | 0.184          |
| C4  | 0.399                      | 0.305          | 0.281          | 0.253          | 0.240          | 0.250          |
| C4DC                                      | 0.887                      | 2.149          | 0.974          | 0.711          | 0.724          | 0.742          |
| C4OH                                      | 0.306                      | 0.276          | 0.206          | 0.142          | 0.091          | 0.165          |
| C5  | 0.275                      | 0.325          | 0.343          | 0.127          | 0.142          | 0.164          |
| C5DC                                      | 0.285                      | 0.269          | 0.277          | 0.104          | 0.100          | 0.242          |
| C5:1                                      | 0.085                      | 0.084          | 0.071          | 0.023          | 0.033          | 0.060          |
| C5OH                                      | 0.374                      | 0.669          | 0.337          | 0.471          | 0.316          | 0.207          |
| C6  | 0.110                      | 0.136          | 0.123          | 0.083          | 0.106          | 0.175          |
| C8  | 0.116                      | 0.112          | 0.108          | 0.075          | 0.099          | 0.287          |
| C8:1                                      | 0.134                      | 0.118          | 0.089          | 0.075          | 0.063          | 0.106          |
| C10                                       | 0.102                      | 0.147          | 0.132          | 0.100          | 0.140          | 0.309          |
| C10:1                                     | 0.114                      | 0.130          | 0.152          | 0.106          | 0.096          | 0.176          |
| C12                                       | 0.106                      | 0.274          | 0.162          | 0.211          | 0.116          | 0.153          |
| C14                                       | 0.114                      | 0.240          | 0.143          | 0.186          | 0.099          | 0.138          |
| C14:1                                     | 0.141                      | 0.327          | 0.162          | 0.195          | 0.128          | 0.178          |
| C14:2                                     | 0.074                      | 0.124          | 0.062          | 0.066          | 0.045          | 0.041          |
| C14OH                                     | 0.032                      | 0.037          | 0.025          | 0.017          | 0.018          | 0.030          |
| C16                                       | 0.697                      | 1.423          | 1.041          | 1.865          | 0.702          | 0.974          |
| C16:1                                     | 0.085                      | 0.168          | 0.069          | 0.097          | 0.058          | 0.071          |
| C16:1OH                                   | 0.044                      | 0.067          | 0.082          | 0.077          | 0.056          | 0.068          |
| C16OH                                     | 0.018                      | 0.023          | 0.020          | 0.019          | 0.013          | 0.017          |
| C18                                       | 0.452                      | 0.733          | 0.498          | 1.218          | 0.348          | 0.695          |
| C18:1                                     | 0.825                      | 1.425          | 0.877          | 1.547          | 0.695          | 0.937          |
| C18:1OH                                   | 0.018                      | 0.024          | 0.027          | 0.021          | 0.004          | 0.014          |
| C18:2OH                                   | 0.029                      | 0.039          | 0.032          | 0.030          | 0.026          | 0.025          |
| C18OH                                     | 0.009                      | 0.012          | 0.008          | 0.013          | 0.007          | 0.007          |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |         |         |         |         |               |         |         |               |
|---|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------------|---------|---------|---------------|
| № п/п пациента                            | 1                      | 2       | 3       | 4       | 5       | 6             | 7       | 8       | 9             |
| Возраст пациента                          | 1г. 2м.                | 2 года  | 2г. 3м. | 3 года  | 2.6 г   | 4 года        | 2 года  | 6 мес.  | 8 мес.        |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |         |         |         |         |               |         |         |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |         |         |         |         |               |         |         |               |
| Ala                                       | 309.605                | 373.672 | 312.076 | 406.042 | 328.024 | 140.832       | 231.690 | 636.793 | 366.941       |
| Asp                                       | 81.297                 | 178.912 | 142.737 | 104.773 | 78.229  | 52.502        | 108.367 | 152.851 | 67.688        |
| Glu                                       | 243.721                | 286.689 | 217.381 | 158.301 | 243.568 | 158.122       | 206.040 | 290.899 | 211.523       |
| Xle                                       | 137.477                | 178.598 | 115.628 | 105.072 | 152.540 | 138.956       | 135.090 | 161.850 | 110.961       |
| Met                                       | 7.186                  | 10.293  | 6.333   | 8.328   | 7.366   | 2.655         | 6.085   | 7.955   | 5.884         |
| Phe                                       | 32.423                 | 52.945  | 28.885  | 26.003  | 51.227  | 30.215        | 36.351  | 42.510  | 30.525        |
| Tyr                                       | 41.146                 | 79.489  | 44.253  | 43.589  | 60.209  | 33.044        | 49.585  | 66.452  | 44.687        |
| Val                                       | 122.955                | 161.899 | 117.972 | 113.051 | 161.161 | 153.498       | 179.314 | 172.109 | 119.919       |
| Arg                                       | 30.426                 | 54.963  | 33.414  | 37.163  | 25.492  | 16.089        | 27.434  | 45.610  | 29.998        |
| Cit                                       | 35.789                 | 36.300  | 44.715  | 38.236  | 19.664  | 15.422        | 37.928  | 40.245  | 25.043        |
| Gly                                       | 250.501                | 386.197 | 254.953 | 292.616 | 238.756 | 109.463       | 187.395 | 402.894 | 249.142       |
| Orn                                       | 98.977                 | 223.426 | 109.030 | 75.135  | 75.633  | 47.184        | 60.313  | 124.865 | 63.401        |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |         |         |         |         |               |         |         |               |
| <b>C0</b>                                 | 22.904                 | 27.365  | 20.001  | 32.898  | 28.069  | <b>12.208</b> | 30.962  | 50.018  | <b>17.764</b> |
| C2  | 18.872                 | 25.581  | 23.122  | 26.707  | 20.453  | 37.457        | 35.353  | 32.082  | 17.220        |
| C3  | 1.862                  | 2.241   | 1.988   | 2.275   | 1.931   | 2.379         | 2.598   | 2.879   | 1.274         |
| C3DC                                      | 0.145                  | 0.214   | 0.050   | 0.117   | 0.167   | 0.234         | 0.114   | 0.052   | 0.083         |
| C4  | 0.231                  | 0.358   | 0.220   | 0.226   | 0.289   | 0.167         | 0.166   | 0.633   | 0.148         |
| C4DC                                      | 1.699                  | 1.009   | 1.109   | 1.427   | 1.508   | 0.922         | 0.975   | 1.752   | 0.665         |
| C4OH                                      | 0.085                  | 0,079   | 0.058   | 0.071   | 0,054   | 0.371         | 0.085   | 0.116   | 0062          |
| C5  | 0.154                  | 0.225   | 0.099   | 0.090   | 0.174   | 0.127         | 0.092   | 0.296   | 0.089         |
| C5DC                                      | 0.098                  | 0.145   | 0.097   | 0.081   | 0.075   | 0.138         | 0.102   | 0.321   | 0.074         |
| C5:1                                      | 0.012                  | 0.028   | 0.014   | 0.007   | 0.022   | 0.019         | 0.015   | 0.053   | 0.005         |
| C5OH                                      | 0.305                  | 0.328   | 0.201   | 0.240   | 0.297   | 0.237         | 0.249   | 0.401   | 0.202         |
| C6  | 0.073                  | 0.049   | 0.060   | 0.036   | 0.035   | 0.063         | 0.047   | 0.092   | 0.041         |
| C8  | 0.040                  | 0.076   | 0.054   | 0.067   | 0.022   | 0.113         | 0.073   | 0.073   | 0.057         |
| C8:1                                      | 0.018                  | 0.048   | 0.044   | 0.026   | 0.032   | 0.040         | 0.068   | 0.116   | 0.015         |
| C10                                       | 0.037                  | 0.094   | 0.053   | 0.071   | 0.035   | 0.201         | 0.106   | 0.110   | 0.073         |
| C10:1                                     | 0.062                  | 0.095   | 0.080   | 0.073   | 0.025   | 0.131         | 0.098   | 0.131   | 0.043         |
| C12                                       | 0.092                  | 0.126   | 0.118   | 0.119   | 0.068   | 0.248         | 0.112   | 0.164   | 0.144         |
| C14                                       | 0.106                  | 0.122   | 0.099   | 0.085   | 0.078   | 0.182         | 0.106   | 0.108   | 0113          |
| C14:1                                     | 0.087                  | 0.136   | 0.107   | 0.114   | 0.052   | 0.350         | 0.142   | 0.117   | 0.104         |
| C14:2                                     | 0.041                  | 0.054   | 0.047   | 0.040   | 0.024   | 0.139         | 0.069   | 0.064   | 0.034         |
| C14OH                                     | 0.012                  | 0.017   | 0.012   | 0.015   | 0.008   | 0.028         | 0.015   | 0.012   | 0.009         |
| C16                                       | 0.740                  | 0.990   | 0.901   | 0.740   | 0.542   | 0.865         | 0.894   | 0.800   | 0.834         |
| C16:1                                     | 0.036                  | 0.050   | 0.047   | 0.041   | 0.035   | 0.095         | 0.059   | 0.051   | 0.028         |
| C16:1OH                                   | 0.035                  | 0.039   | 0.036   | 0.018   | 0.033   | 0.068         | 0.042   | 0.044   | 0.032         |
| C16OH                                     | 0.037                  | 0.026   | 0.020   | 0.027   | 0.008   | 0.023         | 0.013   | 0.021   | 0.013         |
| C18                                       | 0.503                  | 0.624   | 0.419   | 0.402   | 0.236   | 0.542         | 0.424   | 0.499   | 0.415         |
| C18:1                                     | 0.572                  | 1.021   | 0.666   | 0.602   | 0.364   | 0.807         | 1.025   | 0.762   | 0.523         |
| C18:1OH                                   | 0.012                  | 0.017   | 0.005   | 0.013   | 0.007   | 0.018         | 0.008   | 0.015   | 0.008         |
| C18:2OH                                   | 0.025                  | 0.030   | 0.030   | 0.016   | 0.015   | 0.021         | 0.018   | 0.019   | 0.019         |
| C18OH                                     | 0.023                  | 0.014   | 0.025   | 0.024   | 0.007   | 0.011         | 0.007   | 0.024   | 0.007         |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |         |         |         |         |               |         |         |               |
|---|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------------|---------|---------|---------------|
| № п/п пациента                            | 10                     | 11      | 12      | 13      | 14      | 15            | 16      | 17      | 18            |
| Возраст пациента                          | 4 мес.                 | 10 мес. | 1 год   | 7 мес.  | 3 года  | 4.5 года      | 2 года  | 5 лет   | 3 года        |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |         |         |         |         |               |         |         |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |         |         |         |         |               |         |         |               |
| Ala                                       | 254.632                | 455.627 | 418.416 | 326.781 | 608.204 | 292.883       | 193.105 | 249.225 | 323.271       |
| Asp                                       | 222.160                | 142.297 | 161.932 | 86.478  | 217.510 | 178.030       | 48.137  | 68.824  | 119.322       |
| Glu                                       | 286.161                | 258.623 | 265.876 | 210.124 | 305.286 | 365.565       | 194.816 | 199.137 | 267.055       |
| Xle                                       | 139.445                | 147.699 | 155.354 | 102.153 | 209.775 | 144.137       | 80.596  | 186.084 | 154.430       |
| Met                                       | 7.450                  | 10.013  | 10.347  | 5.370   | 9.666   | 6.375         | 4.041   | 5.722   | 6.324         |
| Phe                                       | 49.543                 | 59.414  | 61.008  | 43.145  | 51.275  | 59.431        | 25.189  | 47.499  | 25.789        |
| Tyr                                       | 47.858                 | 68.331  | 80.574  | 54.896  | 79.936  | 50.324        | 30.713  | 37.293  | 29.702        |
| Val                                       | 137.101                | 158.364 | 166.512 | 109.366 | 215.309 | 173.266       | 97.295  | 137.736 | 114.823       |
| Arg                                       | 26.300                 | 73.098  | 31.653  | 21.443  | 48.567  | 54.589        | 29.117  | 21.991  | 33.871        |
| Cit                                       | 41.198                 | 61.589  | 27.687  | 24.289  | 34.811  | 28.892        | 26.075  | 15.637  | 22.521        |
| Gly                                       | 382.633                | 307.400 | 297.165 | 253.308 | 411.621 | 382.544       | 172.726 | 135.847 | 320.016       |
| Orn                                       | 83.481                 | 79.309  | 103.584 | 110.919 | 134.842 | 148.521       | 49.178  | 58.142  | 67.226        |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |         |         |         |         |               |         |         |               |
| <b>C0</b>                                 | 28.252                 | 37.923  | 32.506  | 19.074  | 35.151  | <b>16.386</b> | 28.977  | 23.019  | <b>18.219</b> |
| C2  | 48.675                 | 29.879  | 27.630  | 27.803  | 39.344  | 31.242        | 23.260  | 31.467  | 18.216        |
| C3  | 4.176                  | 3.219   | 2.171   | 1.690   | 5.399   | 2.184         | 1.632   | 1.246   | 1.235         |
| C3DC                                      | 0.129                  |         | 0.325   | 0.258   | 0.266   | 0.191         | 0.225   | 0.147   | 0.096         |
| C4  | 0.303                  | 0.229   | 0.204   | 0.148   | 0.666   | 0.285         | 0.116   | 0.176   | 0.232         |
| C4DC                                      | 1.414                  | 0.923   | 1.106   | 0.731   | 2.077   | 1.424         | 0.595   | 0.822   | 1.624         |
| C4OH                                      | 0.147                  | 0.088   | 0.070   | 0.108   | 0.146   | 0.157         | 0.094   | 0.120   | 0.050         |
| C5  | 0.125                  | 0.229   | 0.185   | 0.095   | 0.279   | 0.116         | 0.084   | 0.063   | 0.075         |
| C5DC                                      | 0.127                  | 0.127   | 0.147   | 0.166   | 0.188   | 0.101         | 0.128   | 0.097   | 0.113         |
| C5:1                                      | 0.025                  | 0.020   | 0.019   | 0.021   | 0.048   | 0.003         | 0.036   | 0.011   | 0.012         |
| C5OH                                      | 0.681                  | 0.249   | 0.308   | 0.225   | 0.472   | 0.244         | 0.242   | 0.202   | 0.175         |
| C6  | 0.079                  | 0.058   | 0.100   | 0.059   | 0.080   | 0.114         | 0.049   | 0.052   | 0.042         |
| C8  | 0.063                  | 0.054   | 0.100   | 0.082   | 0.066   | 0.093         | 0.036   | 0.074   | 0.061         |
| C8:1                                      | 0.058                  | 0.036   | 0.067   | 0.065   | 0.052   | 0.107         | 0.050   | 0.034   | 0.026         |
| C10                                       | 0.098                  | 0.078   | 0.144   | 0.127   | 0.095   | 0.100         | 0.064   | 0.112   | 0.067         |
| C10:1                                     | 0.084                  | 0.054   | 0.129   | 0.108   | 0.093   | 0.079         | 0.061   | 0.101   | 0.053         |
| C12                                       | 0.151                  | 0.213   | 0.201   | 0.191   | 0.213   | 0.266         | 0.104   | 0.105   | 0.084         |
| C14                                       | 0.142                  | 0.210   | 0.162   | 0.133   | 0.159   | 0.242         | 0.081   | 0.126   | 0.077         |
| C14:1                                     | 0.206                  | 0.209   | 0.252   | 0.212   | 0.175   | 0.282         | 0.135   | 0.139   | 0.098         |
| C14:2                                     | 0.074                  | 0.083   | 0.074   | 0.079   | 0.079   | 0.077         | 0.030   | 0.065   | 0.036         |
| C14OH                                     | 0.018                  | 0.010   | 0.010   | 0.012   | 0.013   | 0.035         | 0.014   | 0.014   | 0.007         |
| C16                                       | 0.807                  | 1.005   | 0.907   | 0.876   | 0.985   | 1.133         | 0.531   | 0.879   | 0.668         |
| C16:1                                     | 0.089                  | 0.075   | 0.059   | 0.062   | 0.095   | 0.101         | 0.047   | 0.054   | 0.045         |
| C16:1OH                                   | 0.058                  | 0.052   | 0.034   | 0.041   | 0.049   | 0.078         | 0.038   | 0.038   | 0.043         |
| C16OH                                     | 0.018                  | 0.010   | 0.009   | 0.016   | 0.026   | 0.041         | 0.016   | 0.010   | 0.009         |
| C18                                       | 0.527                  | 0.752   | 0.655   | 0.447   | 0.391   | 0.700         | 0.287   | 0.841   | 0.489         |
| C18:1                                     | 0.989                  | 0.873   | 1.002   | 0.815   | 0.717   | 0.929         | 0.514   | 0.995   | 0.912         |
| C18:1OH                                   | 0.016                  | 0.012   | 0.009   | 0.015   | 0.008   | 0.031         | 0.021   | 0.015   | 0.010         |
| C18:2OH                                   | 0.024                  | 0.045   | 0.026   | 0.028   | 0.039   | 0.045         | 0.030   | 0.018   | 0.017         |
| C18OH                                     | 0.011                  | 0.008   | 0.009   | 0.012   | 0.027   | 0.037         | 0.013   | 0.005   | 0.004         |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |               |         |         |           |          |         |         |         |
|---|------------------------|---------------|---------|---------|-----------|----------|---------|---------|---------|
| № п/п пациента                            | 19                     | 20            | 21      | 22      | 23        | 24       | 25      | 26      | 27      |
| Возраст пациента                          | 4 года                 | 6 лет         | 2 года  | 1.5 г.  | 1 г. 2 м. | 2.5 года | 3 года  | 5 лет   | 1 год   |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |               |         |         |           |          |         |         |         |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |               |         |         |           |          |         |         |         |
| Ala                                       | 504.709                | 237.093       | 510.268 | 446.941 | 272.283   | 386.219  | 309.895 | 761.632 | 542.895 |
| Asp                                       | 87.136                 | 86.765        | 135.994 | 125.999 | 96.794    | 103.342  | 88.670  | 101.471 | 166.314 |
| Glu                                       | 180.804                | 158.114       | 386.836 | 269.501 | 197.395   | 194.322  | 205.994 | 467.702 | 244.993 |
| Xle                                       | 257.361                | 228.412       | 202.149 | 252.900 | 180.181   | 209.439  | 209.787 | 672.256 | 256.573 |
| Met                                       | 4.802                  | 7.126         | 9.344   | 13.114  | 8.049     | 11.667   | 5.922   | 17.179  | 12.456  |
| Phe                                       | 29.139                 | 32.774        | 49.312  | 44.574  | 32.023    | 40.618   | 36.708  | 56.822  | 55.808  |
| Tyr                                       | 37.595                 | 47.323        | 69.518  | 62.928  | 40.362    | 41.557   | 47.680  | 81.516  | 87.147  |
| Val                                       | 121.154                | 149.117       | 187.673 | 548.695 | 133.751   | 155.839  | 139.694 | 167.533 | 150.674 |
| Arg                                       | 29.328                 | 36.661        | 42.747  | 31.723  | 23.531    | 69.883   | 26.552  | 39.661  | 48.370  |
| Cit                                       | 31.849                 | 30.390        | 27.847  | 35.912  | 22.915    | 37.257   | 23.064  | 28.636  | 37.432  |
| Gly                                       | 253.340                | 250.544       | 384.880 | 331.283 | 183.665   | 281.189  | 162.908 | 368.689 | 291.407 |
| Orn                                       | 55.614                 | 52.972        | 125.882 | 89.424  | 52.739    | 77.157   | 55.993  | 145.811 | 124.734 |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |               |         |         |           |          |         |         |         |
| <b>C0</b>                                 | 28.992                 | <b>15.619</b> | 28.868  | 50.699  | 30.408    | 26.776   | 35.091  | 33.829  | 43.014  |
| C2  | 22.836                 | 20.675        | 45.683  | 51.901  | 25.305    | 19.755   | 31.346  | 36.442  | 53.325  |
| C3  | 3.845                  | 1.083         | 1.961   | 4.647   | 2.126     | 2.222    | 3.431   | 3.254   | 2.259   |
| C3DC                                      | 0.081                  | 0.091         | 0.094   | 0.040   | 0.306     | 0.143    | 0.123   | 0.091   | 0.075   |
| C4  | 0.299                  | 0.109         | 0.259   | 0.250   | 0.284     | 0.178    | 0.268   | 0.112   | 0.236   |
| C4DC                                      | 1.360                  | 1.235         | 0.511   | 1.609   | 0.895     | 0.594    | 0.946   | 1.239   | 1.034   |
| C4OH                                      | 0.098                  | 0.069         | 0.118   | 0.156   | 0.110     | 0.070    | 0.084   | 0.241   | 0.152   |
| C5  | 0.138                  | 0.069         | 0.155   | 0.190   | 0.136     | 0.108    | 0.148   | 0.123   | 0.091   |
| C5DC                                      | 0.058                  | 0.113         | 0.103   | 0.140   | 0.102     | 0.234    | 0.095   | 0.123   | 0.088   |
| C5:1                                      | 0.016                  | 0.017         | 0.017   | 0.029   | 0.018     | 0.014    | 0.014   | 0.022   | 0.000   |
| C5OH                                      | 0.321                  | 0.181         | 0.189   | 0.577   | 0.328     | 0.175    | 0.278   | 0.223   | 0.255   |
| C6  | 0.049                  | 0.038         | 0.032   | 0.063   | 0.057     | 0.106    | 0.051   | 0.123   | 0.035   |
| C8  | 0.049                  | 0.058         | 0.046   | 0.097   | 0.088     | 0.258    | 0.061   | 0.178   | 0.053   |
| C8:1                                      | 0.024                  | 0.037         | 0.076   | 0.042   | 0.026     | 0.054    | 0.025   | 0.351   | 0.058   |
| C10                                       | 0.071                  | 0.070         | 0.074   | 0.129   | 0.116     | 0.376    | 0.076   | 0.186   | 0.081   |
| C10:1                                     | 0.042                  | 0.070         | 0.060   | 0.106   | 0.090     | 0.206    | 0.049   | 0.112   | 0.059   |
| C12                                       | 0.072                  | 0.059         | 0.204   | 0.223   | 0.103     | 0.141    | 0.165   | 0.252   | 0.192   |
| C14                                       | 0.132                  | 0.059         | 0.205   | 0.193   | 0.096     | 0.089    | 0.154   | 0.195   | 0.187   |
| C14:1                                     | 0.073                  | 0.081         | 0.170   | 0.192   | 0.110     | 0.162    | 0.172   | 0.240   | 0.207   |
| C14:2                                     | 0.033                  | 0.036         | 0.063   | 0.098   | 0.046     | 0.070    | 0.064   | 0.112   | 0.068   |
| C14OH                                     | 0.014                  | 0.012         | 0.012   | 0.017   | 0.012     | 0.016    | 0.009   | 0.038   | 0.018   |
| C16                                       | 0.742                  | 0.447         | 2.247   | 1.410   | 0.629     | 0.677    | 1.389   | 0.665   | 1.529   |
| C16:1                                     | 0.050                  | 0.037         | 0.105   | 0.081   | 0.039     | 0.055    | 0.077   | 0.081   | 0.087   |
| C16:1OH                                   | 0.049                  | 0.025         | 0.131   | 0.062   | 0.041     | 0.030    | 0.044   | 0.028   | 0.074   |
| C16OH                                     | 0.014                  | 0.007         | 0.016   | 0.020   | 0.019     | 0.014    | 0.011   | 0.035   | 0.011   |
| C18                                       | 0.497                  | 0.187         | 0.999   | 0.734   | 0.471     | 0.448    | 0.831   | 0.331   | 0.988   |
| C18:1                                     | 0.697                  | 0.460         | 1.881   | 1.076   | 0.673     | 0.730    | 1.228   | 0.797   | 1.417   |
| C18:1OH                                   | 0.011                  | 0.004         | 0.016   | 0.018   | 0.011     | 0.010    | 0.013   | 0.028   | 0.015   |
| C18:2OH                                   | 0.016                  | 0.012         | 0.025   | 0.034   | 0.019     | 0.021    | 0.020   | 0.032   | 0.037   |
| C18OH                                     | 0.008                  | 0.005         | 0.007   | 0.013   | 0.014     | 0.010    | 0.006   | 0.014   | 0.009   |

Продолжение таблицы А.2

| Патология                                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |         |         |         |         |         |         |         |
|---|------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| № п/п пациента                            | 28                     | 29      | 30      | 31      | 32      | 33      | 34      | 35      |
| Возраст пациента                          | 1.5 г.                 | 9 мес.  | 6 мес.  | 8 мес.  | 2 года  | 4 года  | 6 лет   | 3 года  |
| Маркеры                                   | Концентрация, мкмоль/л |         |         |         |         |         |         |         |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                        |         |         |         |         |         |         |         |
| Ala                                       | 348.197                | 460.219 | 419.197 | 230.888 | 267.642 | 229.059 | 470.632 | 294.092 |
| Asp                                       | 84.636                 | 59.223  | 121.100 | 101.258 | 63.971  | 105.014 | 124.017 | 92.112  |
| Glu                                       | 175.397                | 261.253 | 442.053 | 216.979 | 183.339 | 207.970 | 268.630 | 258.754 |
| Xle                                       | 168.051                | 187.545 | 134.399 | 154.919 | 182.799 | 154.724 | 170.143 | 127.638 |
| Met                                       | 6.828                  | 6.429   | 15.887  | 8.950   | 8.349   | 8.521   | 8.777   | 10.353  |
| Phe                                       | 32.111                 | 31.921  | 63.464  | 35.534  | 34.193  | 28.896  | 33.299  | 40.460  |
| Tyr                                       | 41.340                 | 43.560  | 75.605  | 50.257  | 49.793  | 47.440  | 55.969  | 62.159  |
| Val                                       | 123.776                | 117.822 | 197.742 | 68.256  | 156.892 | 60.292  | 197.396 | 128.717 |
| Arg                                       | 39.964                 | 47.738  | 20.783  | 37.097  | 26.434  | 24.323  | 42.345  | 29.334  |
| Cit                                       | 24.002                 | 32.565  | 32.294  | 32.253  | 31.194  | 28.862  | 33.504  | 35.945  |
| Gly                                       | 187.446                | 464.441 | 389.507 | 268.962 | 186.719 | 213.703 | 238.497 | 290.761 |
| Orn                                       | 66.734                 | 65.663  | 95.813  | 87.278  | 78.978  | 65.872  | 69.923  | 125.838 |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                        |         |         |         |         |         |         |         |
| C0  | 31.684                 | 58.306  | 41.262  | 19.586  | 28.894  | 32.148  | 30.841  | 25.453  |
| C2  | 24.928                 | 60.991  | 75.586  | 33.032  | 16.399  | 31.510  | 32.749  | 34.434  |
| C3  | 2.157                  | 0.982   | 3.035   | 2.370   | 1.424   | 0.860   | 0.960   | 0.908   |
| C3DC                                      | 0.157                  | 0.030   | 0.108   | 0.556   | 0.261   | 0.127   | 0.190   | 0.037   |
| C4  | 0.249                  | 0.444   | 0.470   | 0.227   | 0.036   | 0.420   | 0.330   | 0.146   |
| C4DC                                      | 1.740                  | 0.372   | 2.347   | 1.099   | 0.569   | 0.905   | 1.773   | 0.909   |
| C4OH                                      | 0.055                  | 0.120   | 0.223   | 0.189   | 0.078   | 0.116   | 0.039   | 0.123   |
| C5  | 0.070                  | 0.043   | 0.371   | 0.238   | 0.151   | 0.110   | 0.038   | 0.240   |
| C5DC                                      | 0.073                  | 0.093   | 0.088   | 0.133   | 0.101   | 0.120   | 0.129   | 0.118   |
| C5:1                                      | 0.024                  | 0.014   | 0.035   | 0.035   | 0.037   | 0.000   | 0.108   | 0.000   |
| C5OH                                      | 0.213                  | 0.089   | 0.359   | 0.532   | 1.087   | 0.190   | 0.351   | 0.171   |
| C6  | 0.045                  | 0.096   | 0.044   | 0.075   | 0.068   | 0.020   | 0.063   | 0.118   |
| C8  | 0.080                  | 0.136   | 0.115   | 0.096   | 0.070   | 0.066   | 0.064   | 0.071   |
| C8:1                                      | 0.024                  | 0.057   | 0.208   | 0.045   | 0.040   | 0.050   | 0.027   | 0.136   |
| C10                                       | 0.065                  | 0.159   | 0.140   | 0.125   | 0.099   | 0.088   | 0.122   | 0.109   |
| C10:1                                     | 0.042                  | 0.161   | 0.050   | 0.097   | 0.082   | 0.091   | 0.052   | 0.095   |
| C12                                       | 0.142                  | 0.207   | 0.108   | 0.125   | 0.099   | 0.110   | 0.148   | 0.106   |
| C14                                       | 0.155                  | 0.148   | 0.127   | 0.107   | 0.089   | 0.085   | 0.105   | 0.099   |
| C14:1                                     | 0.118                  | 0.271   | 0.118   | 0.114   | 0.067   | 0.101   | 0.084   | 0.121   |
| C14:2                                     | 0.032                  | 0.130   | 0.047   | 0.039   | 0.028   | 0.042   | 0.053   | 0.055   |
| C14OH                                     | 0.012                  | 0.022   | 0.028   | 0.011   | 0.000   | 0.011   | 0.016   | 0.017   |
| C16                                       | 1.001                  | 1.483   | 0.760   | 0.689   | 0.542   | 0.829   | 1.506   | 0.783   |
| C16:1                                     | 0.052                  | 0.161   | 0.066   | 0.075   | 0.042   | 0.059   | 0.046   | 0.056   |
| C16:1OH                                   | 0.077                  | 0.055   | 0.043   | 0.059   | 0.028   | 0.052   | 0.048   | 0.058   |
| C16OH                                     | 0.011                  | 0.024   | 0.022   | 0.009   | 0.015   | 0.021   | 0.024   | 0.016   |
| C18                                       | 0.621                  | 0.572   | 0.394   | 0.326   | 0.292   | 0.648   | 0.657   | 0.587   |
| C18:1                                     | 0.748                  | 1.800   | 0.987   | 0.685   | 0.437   | 0.842   | 0.994   | 0.744   |
| C18:1OH                                   | 0.009                  | 0.015   | 0.016   | 0.014   | 0.013   | 0.005   | 0.016   | 0.013   |
| C18:2OH                                   | 0.033                  | 0.041   | 0.000   | 0.029   | 0.035   | 0.034   | 0.013   | 0.027   |
| C18OH                                     | 0.001                  | 0.009   | 0.013   | 0.015   | 0.012   | 0.010   | 0.012   | 0.020   |

Таблица А.3 – Результаты анализов образцов мочи на содержание органических кислот *первой группы пациентов* с подозрениями на аминокислотопатию, органические ацидемии / ацидурии и ее группы сравнения методом ГХ-МС

| Патология                                     | ДЕФИЦИТ<br>ДЛИННОЦЕПОЧЕЧНЫХ<br>АЦИЛ-КоА-ДЕГИДРОГЕНАЗ |            |             |             |             | ДЕФИЦИТ<br>КОРОТКОЦЕПОЧЕЧНЫХ<br>АЦИЛ-КоА-ДЕГИДРОГЕНАЗ |            |            |            | ХАВКИН-<br>СИНУРИЯ |               | АЛКАП-<br>ТОНУ-<br>РИЯ |
|---|--|------------|-------------|-------------|-------------|---|------------|------------|------------|--------------------|---------------|------------------------|
|   | 1  | 2          | 3           | 4           | 5           | 1   | 2          | 3          | 4          | 1                  | 2             | 1                      |
| № п/п пациента                                | 2 года   | 1 год      | 4 года      | 4 года      | 5 лет       | 3 года  | 10 лет     | 6 лет      | 4 года     | 4 года             | 6 лет         | 4 года                 |
| <b>Маркеры</b>                                | <b>Концентрация, ммоль/моль креатинина</b>           |            |             |             |             |   |            |            |            |                    |               |                        |
| Молочная кислота                              | 100  | 36.87      | 76.1        | 205.3       | 46.0        | 49.01   | 28.2       | 29         | 33.27      | 23.2               | 89.3          | 33.2                   |
| Гликолиевая кислота                           | 48.7   | 60.1       | 28.4        | 105.6       | 73.0        | 90  | 14.6       | 52         | 87.2       | 39.2               | 56.7          | 32.9                   |
| 3-Гидроксимасляная кислота                    | 1.98   | 3.2        | 2.6         | 1.26        | 2.7         | 2.13  | 1.7        | 1          | 0.00       | 3.26               | 1.9           | 123.6                  |
| Глицериновая кислота                          | 2.32   | 2.94       | 3.22        | 1.69        | 2.5         | 23.8  | 2.099      | 11         | 1.82       | 2.9                | 6.9           | 2.9                    |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота             | 0.00   | 5.3        | 0.00        | 1.22        | 0.0         | 0.058   | 1.64       | 0.00       | 0.00       | 1.41               | 0.1           | 14.35                  |
| Пировиноградная кислота                       | 12.47  | 26.47      | 4.3         | 6.25        | 9.9         | 4.95  | 2          | 13         | 6.2        | 11.7               | 3.9           | 15.7                   |
| Изовалериановая кислота                       | 0.00   | 4.4        | 0.00        | 0.00        | 2.4         | 2.21  | 0.00       | 2.3        | 1.6        | 36.7               | 1.3           | 136.7                  |
| Адипиновая кислота                            | 195.3  | 51.2       | 11.96       | 44          | 23.6        | 48.5  | 15.9       | 15         | 92.94      | 26.5               | 16.7          | 96.5                   |
| 3-Метилглутаровая кислота                     | 0.00   | 0.00       | 7.26        | 3.8         | 1.2         | 0.00  | 0.00       | 0.2        | 0.51       | 5.4                | 0.0           | 5.4                    |
| <b>Этилмалоновая кислота</b>                  | 1.94   | 0.00       | 2.41        | 1.23        | 0.6         | <b>225</b>  | <b>481</b> | <b>521</b> | <b>128</b> | 0.46               | 1.8           | 0.46                   |
| Мевалоновая кислота                           | 0.00   | 0.00       | 0.00        | 0.00        | 0.2         | 4.9   | 0.81       | 0.1        | 0.278      | 0.69               | 0.2           | 0.69                   |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота          | 3.5  | 8.6        | 4.1         | 3.012       | 6.0         | 5.91  | 0.00       | 4          | 22.7       | 49.1               | 4.2           | 59.1                   |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота            | 0.00   | 0.00       | 0.00        | 0.00        | 0.0         | 0.00  | 0.00       | 8          | 0.00       | 2.5                | 0.0           | 2.5                    |
| Метилмалоновая кислота                        | 0.56   | 0.14       | 1.8         | 0.00        | 0.2         | 1.86  | 1.24       | 0.8        | 0.00       | 1.207              | 0.2           | 1.207                  |
| Фенилмолочная кислота                         | 1.2  | 0.00       | 4.2         | 1.25        | 1.1         | 3.9   | 2.9        | 2.7        | 0.23       | 1.47               | 1.2           | 1.47                   |
| <b>4-Гидроксифенилмолочная кислота</b>        | 4.23   | 3.2        | 0.00        | 5.6         | 0.5         | 2.74  | 2.05       | 2.1        | 0.4        | <b>881</b>         | <b>1089.0</b> | 1.91                   |
| N-ацетиласпартиковая кислота                  | 0.00   | 0.00       | 0.00        | 0.00        | 0.6         | 0.00  | 0.00       | 0.1        | 0.00       | 1.1                | 0.3           | 1.1                    |
| <b>Гомогентизиновая кислота</b>               | 1.25   | 0.00       | 0.00        | 0.00        | 1.5         | 0.03  | 2.24       | 1.3        | 1.74       | 1.02               | 0.7           | <b>686</b>             |
| Сукциновая кислота                            | 5.2  | 25.5       | 14          | 8.2         | 3.2         | 32.3  | 9.27       | 7.2        | 4.6        | 1.53               | 1.6           | 0.53                   |
| Гиппуровая кислота                            | 445  | 953.2      | 2423.5      | 458         | 257.0       | 967.5   | 166.5      | 84.8       | 594.2      | 163.2              | 124.0         | 0.32                   |
| <b>Себациновая кислота</b>                    | <b>15.63</b>   | <b>6</b>   | <b>3.3</b>  | <b>8.9</b>  | <b>12.5</b> | 28.4  | 1.025      | 0.25       | 0.713      | 0.23               | 0.5           | 0.23                   |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота               | 0.00   | 25.4       | 1.43        | 0.63        | 1.9         | 11.2  | 8.5        | 0.3        | 0.97       | 0.46               | 0.3           | 42.1                   |
| Глутаровая кислота                            | 1.69   | 0.26       | 0.00        | 2.3         | 2.6         | 12.6  | 3.1        | 0.37       | 0.89       | 0.74               | 0.4           | 0.74                   |
| Фенилпировиноградная кислота                  | 0.00   | 0.00       | 0.00        | 0.00        | 2.1         | 2.72  | 2.19       | 2.5        | 1.89       | 0.48               | 3.0           | 0.48                   |
| <b>Субериновая кислота</b>                    | <b>33.15</b>   | <b>5.2</b> | <b>4.00</b> | <b>11.2</b> | <b>25.0</b> | 50.2  | 1.59       | 0.2        | 0.43       | 1.48               | 0.2           | 1.48                   |
| <b>4-Гидроксифенилпировиноградная кислота</b> | 0.00   | 0.00       | 0.00        | 0           | 2.0         | 0.02  | 0.00       | 0.3        | 0.00       | <b>525</b>         | <b>88.0</b>   | 1.2                    |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота               | 18.1   | 22.1       | 19.2        | 37.43       | 72.1        | 34.63   | 19.2       | 25.5       | 105.3      | 23.6               | 10.4          | 43.6                   |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота             | 0.00   | 3.64       | 0.00        | 0.00        | 0.1         | 0.043   | 0.00       | 0.4        | 0.00       | 0.19               | 0.1           | 9.8                    |





Продолжение таблицы А.3

| Патология                              | ГРУППА СРАВНЕНИЯ                    |        |         |        |          |        |        |        |            |       |       |       |
|--|-------------------------------------|--------|---------|--------|----------|--------|--------|--------|------------|-------|-------|-------|
|  | № п/п пациента                      | 1      | 2       | 3      | 4        | 5      | 6      | 7      | 8          | 9     | 10    | 11    |
| Возраст пациента                       | 1 г. 2 м.                           | 2 года | 2г. 3м. | 3 года | 2.6 года | 4 года | 2 года | 6 мес. | 8 мес.     | 4 м.  | 10 м. | 1 год |
| Маркеры                                | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |         |        |          |        |        |        |            |       |       |       |
| Молочная кислота                       | 13.2                                | 7.4    | 78.4    | 115.3  | 19.7     | 4.3    | 19.1   | 37.8   | 11.1       | 128.9 | 13.2  | 8.9   |
| Гликолиевая кислота                    | 62.3                                | 37     | 44      | 104.2  | 151.4    | 87.1   | 35.2   | 6.9    | 28.87      | 157.3 | 7.6   | 8.7   |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 1.24                                | 2.9    | 9.7     | 0.0    | 1.6      | 7.6    | 2.2    | 5.7    | 3.6        | 2.13  | 1     | 2.1   |
| Глицериновая кислота                   | 0.2                                 | 6.4    | 1.2     | 0.0    | 6        | 8.0    | 8.8    | 5.0    | 18.5       | 2.98  | 4.6   | 18.3  |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.0                                 | 0.2    | 0.2     | 0.0    | 0.1      | 0.1    | 0.0    | 0.0    | 0.0        | 1.18  | 0.0   | 0.0   |
| Пировиноградная кислота                | 9.25                                | 16     | 8       | 6.25   | 4.6      | 7.6    | 6.1    | 5.0    | 0          | 135.9 | 1.3   | 6.8   |
| Изовалериановая кислота                | 0.0                                 | 2.3    | 51      | 1.02   | 18.9     | 22.7   | 9.4    | 4.3    | 2.73       | 1.68  | 3.3   | 1.2   |
| Адипиновая кислота                     | 20.3                                | 60.2   | 7.5     | 15.2   | 27.4     | 31.0   | 32.0   | 27.2   | 8.83       | 164.2 | 64.4  | 6.9   |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 4.21                                | 2.3    | 1.5     | 0.0    | 1.7      | 1.5    | 0.0    | 1.7    | 0.0        | 2.18  | 0.5   | 2     |
| Этилмалоновая кислота                  | 0.0                                 | 2.7    | 0.8     | 0.0    | 1.25     | 1.8    | 0.4    | 2.8    | 0.22       | 0.47  | 0.4   | 0.9   |
| Мевалоновая кислота                    | 0.0                                 | 0.2    | 0.2     | 0.0    | 0.2      | 0.3    | 0.3    | 0.2    | 0.0        | 1.94  | 0.0   | 0.1   |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 3.2                                 | 20.6   | 7.4     | 2.6    | 16       | 13.6   | 18.6   | 7.7    | 28.15      | 14.47 | 5.2   | 5.2   |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 0.0                                 | 2.9    | 2.9     | 0.3    | 0.0      | 0.0    | 0.0    | 0.0    | 0.0        | 3.62  | 0.2   | 0.0   |
| Метилмалоновая кислота                 | 1.5                                 | 1.3    | 1.2     | 0.0    | 0.3      | 0.9    | 0.6    | 3.6    | 0.0        | 0.76  | 0.5   | 1.2   |
| Фенилмолочная кислота                  | 0.0                                 | 5.9    | 1.5     | 0.0    | 1.7      | 4.3    | 0.2    | 2.0    | 0.0        | 0.66  | 3.5   | 1.1   |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 0.0                                 | 4.7    | 3.4     | 0.98   | 4.3      | 3.4    | 2.4    | 5.0    | 2.2        | 3.56  | 2     | 2.5   |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 0.0                                 | 0.1    | 0.1     | 0.0    | 0.6      | 0.2    | 0.1    | 0.0    | 0.0        | 0.0   | 0.5   | 0.2   |
| Гомогентизиновая кислота               | 0.0                                 | 1.7    | 0.6     | 2.6    | 1.5      | 1.8    | 2.5    | 3.5    | 3.63       | 1.65  | 1.1   | 1.2   |
| Сукциновая кислота                     | 5.24                                | 2.8    | 5       | 28.63  | 2.6      | 2.3    | 10.1   | 8.0    | 0.05       | 15.56 | 5     | 13.3  |
| Гиппуровая кислота                     | 162.3                               | 106.7  | 90.2    | 105.23 | 419.1    | 638.4  | 173.8  | 170.8  | 45         | 175.3 | 102.4 | 63.7  |
| <b>Себациновая кислота</b>             | 0.6                                 | 1.7    | 0.4     | 0.0    | 0.3      | 1.4    | 0.6    | 1.0    | <b>9.3</b> | 0.325 | 0.7   | 0.4   |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 0.0                                 | 2.5    | 0.8     | 1.2    | 1.2      | 1.7    | 1.3    | 1.4    | 0.37       | 3.5   | 0.3   | 0.6   |
| Глутаровая кислота                     | 0.1                                 | 5.6    | 0.7     | 0.23   | 1.5      | 1.6    | 0.9    | 0.5    | 0.13       | 0.633 | 1.7   | 3.8   |
| Фенилпировиноградная кислота           | 0.0                                 | 1.2    | 4.2     | 0.65   | 2        | 4.4    | 2.2    | 0.8    | 14         | 2.98  | 5.8   | 2.6   |
| Субериновая кислота                    | 0.32                                | 1.7    | 1.1     | 0.54   | 0.5      | 0.4    | 0.2    | 0.4    | 0.0        | 1.88  | 0.1   | 0.5   |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0.0                                 | 0.5    | 0.4     | 0.0    | 0.4      | 0.0    | 0.5    | 0.2    | 0.0        | 0.0   | 0.4   | 0.1   |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 11.24                               | 65     | 11.1    | 26.3   | 110.5    | 96.0   | 32.0   | 259.0  | 13.15      | 75.17 | 22    | 20.4  |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.0                                 | 0.3    | 0.15    | 0.0    | 0.2      | 0.3    | 0.4    | 0.2    | 1.16       | 0.36  | 0.0   | 0.1   |

Продолжение таблицы А.3

| Патология                              | ГРУППА СРАВНЕНИЯ                    |      |        |       |       |        |        |       |        |            |           |          |
|--|-------------------------------------|------|--------|-------|-------|--------|--------|-------|--------|------------|-----------|----------|
|  | № п/п пациента                      | 13   | 14     | 15    | 16    | 17     | 18     | 19    | 20     | 21         | 22        | 23       |
| Возраст пациента                       | 7 м.                                | 3 г  | 4,5 г  | 2 г.  | 5 лет | 3 года | 4 года | 6 лет | 2 года | 1,5 года   | 1 г. 2 м. | 2,5 года |
| Маркеры                                | Концентрация, ммоль/моль креатинина |      |        |       |       |        |        |       |        |            |           |          |
| Молочная кислота                       | 7.4                                 | 12.6 | 81.9   | 16    | 14.8  | 25.8   | 109    | 85.2  | 21.6   | 26.3       | 52        | 16.2     |
| Гликолиевая кислота                    | 8                                   | 75.9 | 121.2  | 28.5  | 23.1  | 12.3   | 51.8   | 65.7  | 20.8   | 63.6       | 39        | 119.7    |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 0.3                                 | 2.9  | 3.4    | 36    | 16.4  | 2.48   | 1      | 1.5   | 1.5    | 80.3       | 2.8       | 0.0      |
| Глицериновая кислота                   | 7.2                                 | 2.1  | 12.4   | 2.7   | 1.4   | 6.1    | 2.61   | 4.8   | 2.0    | 6.0        | 55        | 0.0      |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.0                                 | 0.0  | 0.2    | 0.0   | 0.1   | 0      | 1.21   | 0.0   | 0.0    | 0.0        | 0.0       | 0.0      |
| Пировиноградная кислота                | 6                                   | 10.3 | 23     | 33    | 7.8   | 27.4   | 4.2    | 8.2   | 11.1   | 73.6       | 11        | 12.3     |
| Изовалериановая кислота                | 1.8                                 | 7.9  | 35.7   | 9.4   | 6.6   | 0.0    | 1      | 1.1   | 1.5    | 21.0       | 5         | 0.0      |
| Адипиновая кислота                     | 24.2                                | 27.9 | 4.8    | 48    | 54    | 46.8   | 256    | 20.3  | 15.1   | 107.0      | 21.8      | 26.5     |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 0.9                                 | 0.7  | 0.6    | 1     | 1.9   | 1.52   | 3.8    | 0.0   | 1.6    | 2.2        | 8         | 0.0      |
| Этилмалоновая кислота                  | 0.2                                 | 5.3  | 2.9    | 3.4   | 1.7   | 0.85   | 0.64   | 2.2   | 0.7    | 7.6        | 2.7       | 2.47     |
| Мевалоновая кислота                    | 0.1                                 | 1.2  | 0.1    | 2     | 0.8   | 1.49   | 1.2    | 0.2   | 0.2    | 4.5        | 2         | 0.0      |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 4.4                                 | 21.3 | 8.2    | 45    | 9.8   | 15.42  | 6.2    | 5.6   | 7.2    | 100.4      | 3.2       | 12.8     |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 0.0                                 | 0.0  | 0.0    | 0.0   | 0.0   | 0.0    | 0.0    | 0.0   | 0.0    | 0.0        | 0.0       | 0.0      |
| Метилмалоновая кислота                 | 0.9                                 | 1.9  | 5.1    | 1.2   | 0.6   | 1.52   | 1.88   | 0.3   | 0.2    | 2.7        | 2.1       | 1.14     |
| Фенилмолочная кислота                  | 1.2                                 | 0.1  | 1.5    | 0.2   | 2.6   | 0.0    | 11.2   | 0.0   | 0.4    | 0.4        | 5         | 0.0      |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 2.1                                 | 4.9  | 2.4    | 4     | 7.4   | 0.0    | 2.9    | 4.8   | 2.1    | 8.9        | 0.4       | 2.4      |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 0.1                                 | 0.1  | 0.4    | 0.0   | 0.0   | 0.0    | 0.0    | 0.0   | 0.1    | 0.0        | 0.0       | 0.0      |
| Гомогентизиновая кислота               | 9                                   | 1.5  | 7.6    | 2.4   | 1.1   | 0.0    | 0.0    | 1.6   | 1.7    | 5.4        | 0.0       | 0.0      |
| Сукциновая кислота                     | 0.4                                 | 15.3 | 0.6    | 86    | 15    | 59     | 15.1   | 16.3  | 13.0   | 191.8      | 16        | 6.9      |
| Гиппуровая кислота                     | 120                                 | 41   | 1428.8 | 393.5 | 194.8 | 2639   | 126.9  | 125.6 | 174.4  | 877.5      | 819       | 99.6     |
| <b>Себациновая кислота</b>             | 0.2                                 | 1.1  | 1.8    | 15    | 0.6   | 0      | 0      | 0.0   | 1.7    | <b>5.3</b> | 1.6       | 0.0      |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 1.3                                 | 1.7  | 5.9    | 1.5   | 1.2   | 0      | 1.3    | 1.8   | 2.6    | 3.3        | 14        | 1.62     |
| Глутаровая кислота                     | 0.7                                 | 0.4  | 0.7    | 4.4   | 4     | 1.38   | 3.8    | 0.7   | 0.2    | 9.8        | 6         | 0.0      |
| Фенилпировиноградная кислота           | 4.8                                 | 1.7  | 4      | 1.9   | 1.1   | 2.68   | 1.6    | 0.0   | 0.5    | 4.2        | 3.7       | 0.0      |
| <b>Субериновая кислота</b>             | 0.2                                 | 0.2  | 0.2    | 0.4   | 0.2   | 0      | 1.93   | 1.4   | 0.2    | <b>9.5</b> | 1.5       | 0.0      |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0.1                                 | 0.9  | 0.1    | 0.0   | 0.4   | 0.0    | 0.0    | 0.6   | 0.3    | 0.0        | 0.0       | 0.0      |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 10                                  | 96.8 | 9      | 74    | 77    | 12.3   | 98.9   | 20.6  | 18.4   | 165.0      | 20.3      | 47.2     |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.0                                 | 0.5  | 0.2    | 0.3   | 0.1   | 0.023  | 0      | 0.0   | 0.10   | 0.7        | 0.0       | 0.0      |

Продолжение таблицы А.3

| Патология                              | ГРУППА СРАВНЕНИЯ                    |       |       |          |            |        |        |        |        |       |        |
|--|-------------------------------------|-------|-------|----------|------------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|
|  | № п/п пациента                      | 25    | 26    | 27       | 28         | 29     | 30     | 31     | 32     | 33    | 34     |
| Возраст пациента                       | 3 года                              | 5 лет | 1 год | 1.5 года | 9 мес.     | 6 мес. | 8 мес. | 2 года | 4 года | 6 лет | 3 года |
| Маркеры                                | Концентрация, ммоль/моль креатинина |       |       |          |            |        |        |        |        |       |        |
| Молочная кислота                       | 37                                  | 209   | 13.16 | 11.8     | 207.3      | 22.7   | 91.8   | 46.8   | 34.3   | 187.2 | 95.4   |
| Гликолиевая кислота                    | 47                                  | 104.4 | 32.9  | 10.6     | 108        | 104    | 82.7   | 23.4   | 12.5   | 94.9  | 60.4   |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 3                                   | 2.64  | 162.3 | 3.6      | 1.26       | 1.26   | 3.2    | 0.58   | 2.1    | 0.59  | 5.3    |
| Глицериновая кислота                   | 3.9                                 | 1.35  | 4.9   | 7.4      | 2.11       | 2.66   | 5.5    | 4.5    | 7.8    | 0.0   | 11.5   |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.0                                 | 1.21  | 36.14 | 0.1      | 0.0        | 1.23   | 0.064  | 0.061  | 0.0    | 0.0   | 0.0    |
| Пировиноградная кислота                | 28                                  | 7.4   | 17.5  | 2.8      | 6.2        | 2.3    | 43.8   | 36.6   | 7      | 83.9  | 6.2    |
| Изовалериановая кислота                | 3.7                                 | 0.0   | 213.9 | 22.4     | 0.0        | 0.0    | 6.84   | 14.3   | 4.1    | 5.67  | 0.0    |
| Адипиновая кислота                     | 34                                  | 44.7  | 95.6  | 8.8      | 44.2       | 45.5   | 47.4   | 45.2   | 72.3   | 48.9  | 18.3   |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 0.6                                 | 3.81  | 4.5   | 0.2      | 0.38       | 3.79   | 4.2    | 13.5   | 2.6    | 0.06  | 0.0    |
| Этилмалоновая кислота                  | 0.3                                 | 2.71  | 0.64  | 0.8      | 1.25       | 1.24   | 4.18   | 3.71   | 0.6    | 2.4   | 5.16   |
| Мевалоновая кислота                    | 0.1                                 | 1.43  | 0.7   | 0.2      | 0.57       | 0.63   | 18.1   | 5.76   | 0.1    | 1.47  | 1.6    |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 4.2                                 | 0.0   | 51.9  | 10.6     | 3.21       | 2.6    | 6.015  | 6.02   | 22.5   | 6.2   | 4.2    |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 12.6                                | 0.0   | 5.2   | 0.0      | 0.0        | 0.0    | 0.0    | 0      | 8      | 0.0   | 0.0    |
| Метилмалоновая кислота                 | 0.4                                 | 0.92  | 1.28  | 0.6      | 0.92       | 0.93   | 0.76   | 0.822  | 0.5    | 1.62  | 1.309  |
| Фенилмолочная кислота                  | 6.2                                 | 0.37  | 1.74  | 0.7      | 0.21       | 0.21   | 0.64   | 8.26   | 2.7    | 0     | 1.92   |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 2.1                                 | 2.77  | 1.95  | 1.9      | 1.63       | 0.89   | 3.6    | 2.74   | 2.3    | 2.84  | 4.75   |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 3.7                                 | 0.0   | 1.7   | 0.1      | 0.0        | 0.0    | 0.0    | 0.0    | 0.1    | 0.2   | 0.0    |
| Гомогентизиновая кислота               | 6.5                                 | 2.63  | 1.19  | 0.4      | 1.67       | 0.0    | 2.6    | 0.34   | 0.8    | 0.0   | 0.0    |
| Сукциновая кислота                     | 1.7                                 | 3.3   | 0.35  | 10       | 6.9        | 7.07   | 16.8   | 17.4   | 14.4   | 18.3  | 28.75  |
| Гиппуровая кислота                     | 540.6                               | 328.1 | -     | 90.8     | 1562       | 100.8  | 164.5  | 388    | 414.5  | 502.9 | 2180   |
| Себациновая кислота                    | 0.6                                 | 0.77  | 0.32  | 0.5      | 7.4        | 0.768  | 0.61   | 1.76   | 0.2    | 1.1   | 1.36   |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 1.1                                 | 0.69  | 0.64  | 0.7      | 0.62       | 0.64   | 1.54   | 1.54   | 1      | 1.1   | 2.6    |
| Глутаровая кислота                     | 4.2                                 | 3.05  | 0.8   | 1.3      | 0.23       | 1.84   | 5.4    | 9.2    | 1.5    | 5.1   | 1      |
| Фенилпировиноградная кислота           | 1.3                                 | 1.68  | 4.28  | 5.8      | 1.61       | 1.63   | 2.14   | 3.8    | 2.4    | 2.73  | 0      |
| <b>Субериновая кислота</b>             | 0.2                                 | 1.24  | 1.84  | 0.2      | <b>4.1</b> | 0.117  | 0.98   | 1.32   | 0.2    | 1.8   | 0.56   |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0                                   | 0.0   | 0.47  | 0.1      | 0.0        | 0.0    | 0.06   | 0.09   | 0.5    | 0.2   | 0.0    |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 26                                  | 33.75 | 64.3  | 21.1     | 3.43       | 26.7   | 20.1   | 18.4   | 45     | 1737  | 0.0    |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.4                                 | 0.0   | 1.89  | 0.9      | 0.0        | 0.0    | 0.084  | 0.048  | 0.3    | 0.0   | 0.0    |

Таблица А.4 – Результаты анализа образцов плазмы крови *пациентов из первой группы* с выявленными патологиями обмена аминокислот методом ионно-обменной хроматографии

| Патология         | ФЕНИЛКЕТОНУРИЯ                 |        |         |         |         |         |       |
|-------------------|--------------------------------|--------|---------|---------|---------|---------|-------|
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | 4       | 5       | 6       | 7     |
| Возраст пациента  | 12 лет                         | 16 лет | 14 лет  | 10 мес. | 7 лет   | 2 года  | 5 лет |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Фенилаланин (Phe) | 852.0                          | 1025.0 | 263.0   | 248.3   | 226.3   | 1056.0  | 523.0 |
| Тирозин (Tyr)     | 20.2                           | 26.3   | 30.2    | 36.0    | 40.1    | 26.3    | 32.1  |
| Патология         | ГОМОЦИСТИНУРИЯ                 |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | 4       | 5       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 9 лет                          | 4 года | 5 лет   | 8 лет   | 4 года  | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Метионин (Met)    | 7.20                           | 6.32   | 5.60    | 2.00    | 5.21    | –       | –     |
| Гомоцистин (Hcys) | 10.2                           | 12.3   | 15.2    | 10.8    | 11.4    | –       | –     |
| Патология         | АРГИНИНЕМИЯ                    |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | 4       | –       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 11 лет                         | 2 года | 7 лет   | 13 лет  | –       | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Аргинин (Arg)     | 194.20                         | 215.60 | 184.20  | 224.10  | –       | –       | –     |
| Патология         | ТИРОЗИНЕМИЯ I ТИПА             |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | –       | –       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 6 лет                          | 12 лет | 6 лет   | –       | –       | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Фенилаланин (Phe) | 150.32                         | 126.90 | 415.20  | –       | –       | –       | –     |
| Метионин (Met)    | 80.20                          | 115.20 | 114.30  | –       | –       | –       | –     |
| Тирозин (Tyr)     | 536.21                         | 338.52 | 561.24  | –       | –       | –       | –     |
| Патология         | ТИРОЗИНЕМИЯ II ТИПА            |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | –      | –       | –       | –       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 3 года                         | –      | –       | –       | –       | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Фенилаланин (Phe) | 42.30                          | –      | –       | –       | –       | –       | –     |
| Тирозин (Tyr)     | 672.32                         | –      | –       | –       | –       | –       | –     |
| Патология         | ГИПЕРАММОНИЕМИЯ                |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | 4       | 5       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 13 лет                         | 14 лет | 10 лет  | 2 года  | 7 лет   | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Аланин (Ala)      | 752.30                         | 892.30 | 1124.00 | 985.00  | 1121.00 | –       | –     |
| Патология         | ЦИТРУЛЛИНЕМИЯ                  |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | –       | –       | –       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 4 года                         | 12 лет | –       | –       | –       | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Аргинин (Arg)     | 10.00                          | 36.00  | –       | –       | –       | –       | –     |
| Цитруллин (Cit)   | 133.98                         | 97.54  | –       | –       | –       | –       | –     |
| Патология         | НЕКЕТОТИЧЕСКАЯ ГИПЕРГЛИЦИНЕМИЯ |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | 4       | 5       | –       | –     |
| Возраст пациента  | 1г. 3м.                        | 4 года | 10 лет  | 5 лет   | 4 года  | –       | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Глицин (Gly)      | 562.15                         | 741.25 | 895.20  | 701.20  | 462.30  | –       | –     |
| Патология         | БОЛЕЗНЬ «КЛЕНОВОГО СИРОПА»     |        |         |         |         |         |       |
| № п/п пациента    | 1                              | 2      | 3       | 4       | 5       | 6       | –     |
| Возраст пациента  | 7 лет                          | 9 лет  | 6 лет   | 6 лет   | 3г. 7м. | 3г. 6м. | –     |
| Маркеры           | Концентрация, мкмоль/л         |        |         |         |         |         |       |
| Лейцин (Leu)      | 251.20                         | 326.30 | 226.30  | 321.50  | 395.60  | 415.20  | –     |
| Изолейцин (Ileu)  | 121.3                          | 154.2  | 265.3   | 218.6   | 287.4   | 169.5   | –     |

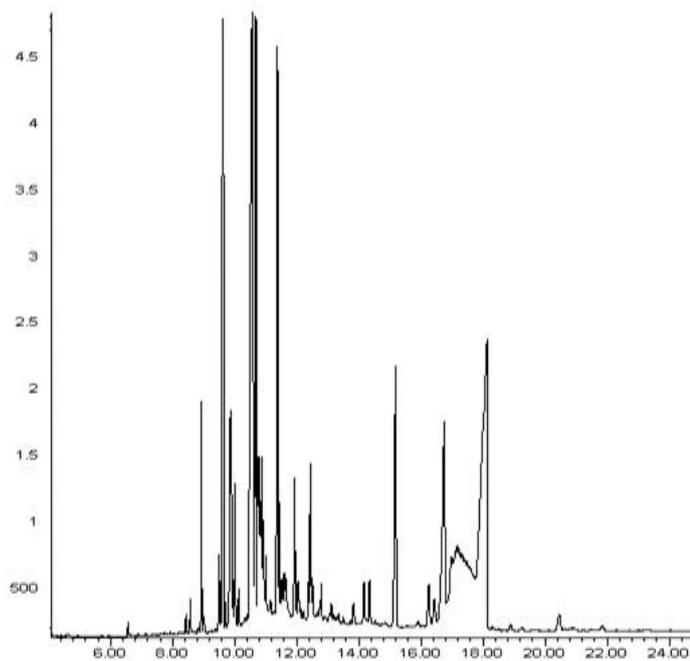


Рисунок А.11 – Хроматограмма по полному ионному току образца плазмы крови с нормальным содержанием длинноцепочечных жирных кислот (метод анализа ГХ-МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

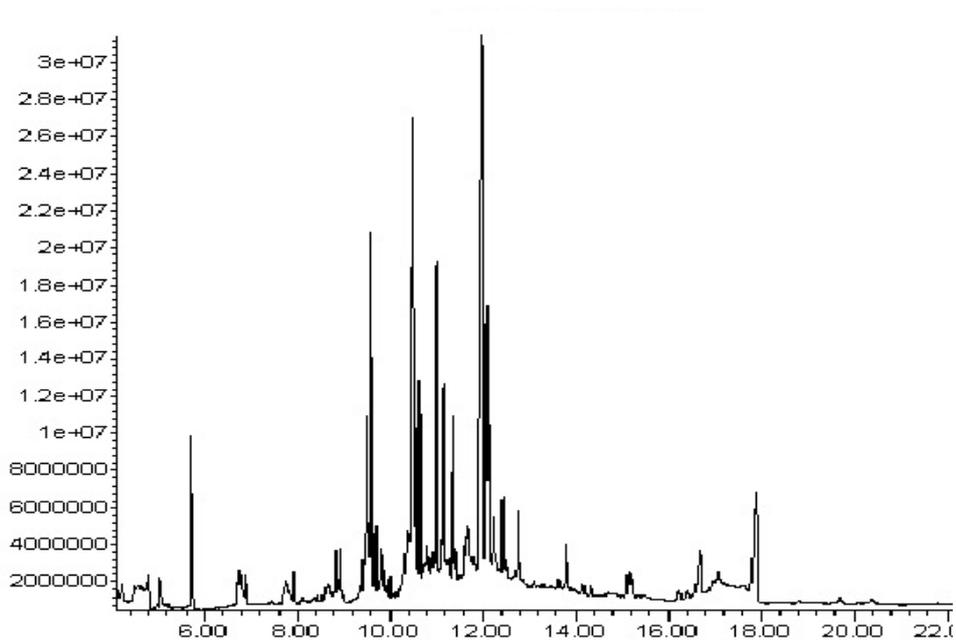


Рисунок А.12 – Хроматограмма по полному ионному току образца плазмы крови с повышенным содержанием длинноцепочечных жирных кислот (метод анализа ГХ-МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

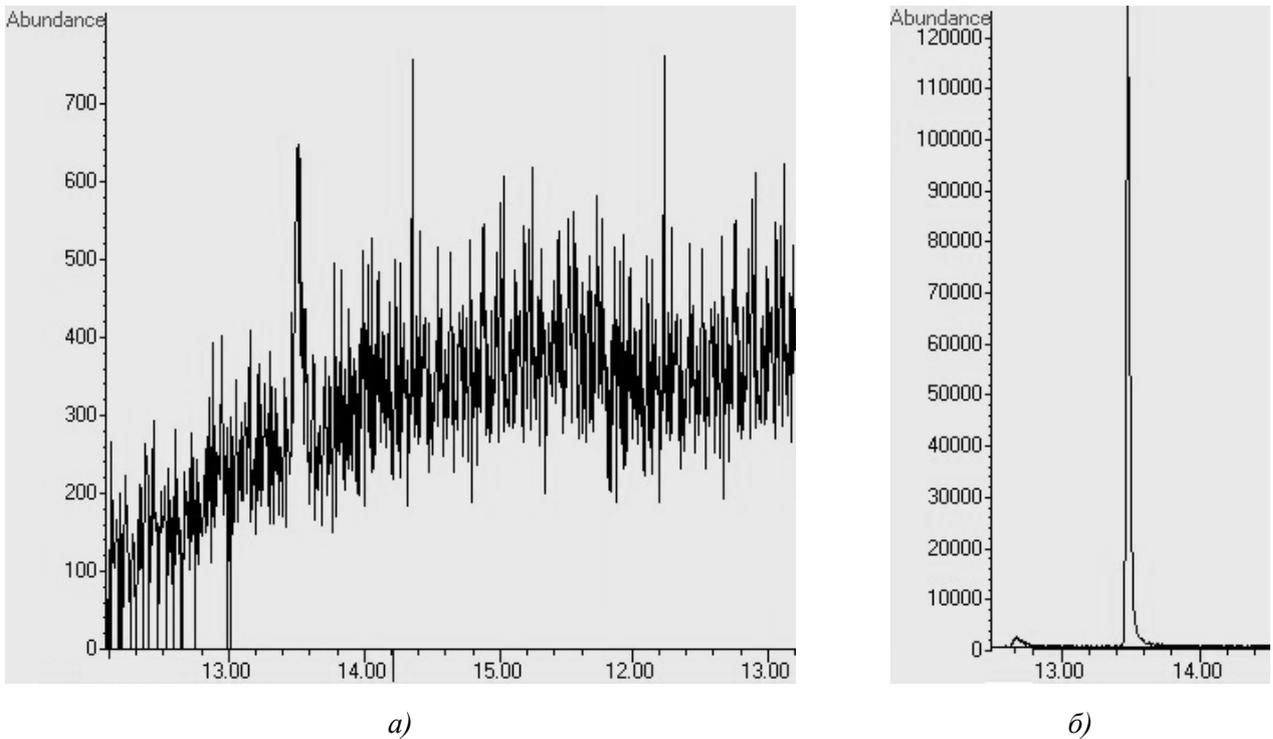


Рисунок А.13 – Сравнение хроматограмм по полному ионному току образцов плазмы крови у пациента из контрольной группы (а) и у пациента с синдромом Целльвегера (б) (диагностический маркер – гексакозановая кислота (C26:0); метод анализа ГХ-МС; по оси X указано время хроматографирования в минутах, по оси Y указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

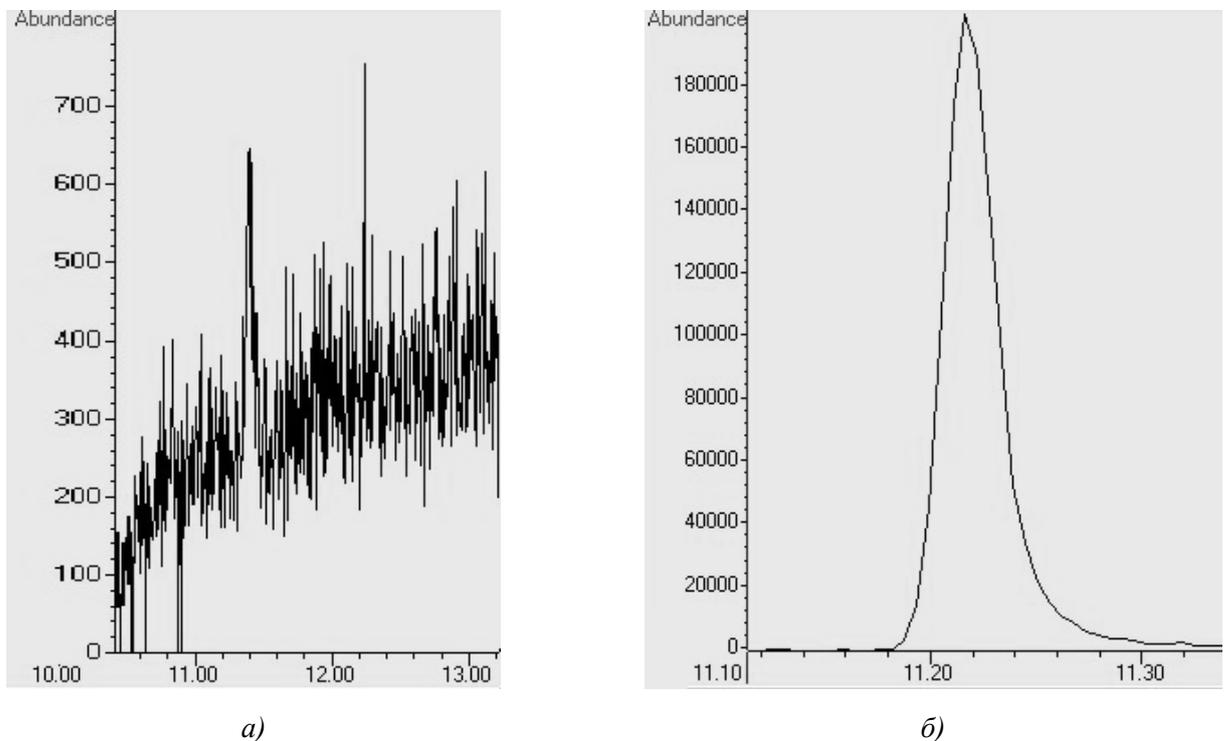


Рисунок А.14 – Сравнение хроматограмм по полному ионному току образцов плазмы крови у пациента из контрольной группы (а) и у пациента с недостаточностью белка, транспортирующего стирол (б) (диагностический маркер – пристановая кислота; метод анализа ГХ-МС; по оси X указано время хроматографирования в минутах, по оси Y указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

Таблица А.5 – Результаты анализов образцов плазмы крови на содержание длинноцепочечных жирных кислот *второй группы пациентов* с подозрениями на пероксисомные болезни (болезни клеточных органелл) методом ГХ-МС

| Патология           | СИНДРОМ ЦЕЛЬВЕГЕРА     |              |              | X-СЦЕПЛЕННАЯ АДРЕНОЛЕЙКОТРОФИЯ |              |              | Недостаточность СТБ |             | БОЛЕЗНЬ РЕФСУМА (инфантильная форма) |             |             |             |             | БОЛЕЗНЬ РЕФСУМА (взрослая форма) |             | РТХД I типа |             |        |
|---------------------|------------------------|--------------|--------------|--------------------------------|--------------|--------------|---------------------|-------------|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------|
|                     | 1                      | 2            | 3            | 1                              | 2            | 3            | 1                   | 2           | 1                                    | 2           | 3           | 4           | 5           | 1                                | 2           | 1           | 2           |        |
| № п/п пациента      | 1                      | 2            | 3            | 1                              | 2            | 3            | 1                   | 2           | 1                                    | 2           | 3           | 4           | 5           | 1                                | 2           | 1           | 2           |        |
| Возраст пациента    | 1 г. 2м.               | 2 года       | 2г. 3м.      | 3 года                         | 2.5 г.       | 4 года       | 2 года              | 6 м.        | 8 м.                                 | 4 м.        | 10 м.       | 1 год       | 7 м.        | 3 года                           | 4.5 года    | 2 года      | 5 лет       |        |
| Маркеры             | Концентрация, мкмоль/л |              |              |                                |              |              |                     |             |                                      |             |             |             |             |                                  |             |             |             |        |
| C22:0               | 109                    | <b>132</b>   | 102          | 85                             | <b>125</b>   | 90           | 45                  | 84          | 58                                   | 72          | 59          | 64          | 84          | 88                               | 61          | 82          | 79          |        |
| C24:0               | 65                     | <b>98</b>    | 80           | 58                             | <b>105</b>   | 79           | 38                  | 62          | 52                                   | 59          | 62          | 70          | 59          | 52                               | 63          | 68          | 53          |        |
| C26:0               | <b>3.58</b>            | <b>9.22</b>  | <b>12.8</b>  | 2.2                            | 4.1          | 3.8          | 0.58                | 0.66        | 0.83                                 | 0.91        | 0.78        | 0.64        | 0.9         | 0.81                             | 0.73        | 118         | 1.07        |        |
| C24:0/ C22:0        | 0.59                   | 0.74         | 0.78         | 0.68                           | 0.84         | 0.87         | 0.84                | 0.73        | 0.897                                | 0.819       | 1.051       | 1.09        | 0.70        | 0.591                            | 1.033       | 0.829       | 0.671       |        |
| C26:0/ C22:0        | <b>0.032</b>           | <b>0.069</b> | <b>0.125</b> | <b>0.026</b>                   | <b>0.030</b> | <b>0.042</b> | 0.012               | 0.008       | 0.014                                | 0.013       | 0.013       | 0.01        | 0.01        | 0.009                            | 0.012       | 0.014       | 0.014       |        |
| Фитановая кислота   | <b>8.3</b>             | <b>20.2</b>  | <b>11.9</b>  | 2.2                            | 3.1          | 2.18         | <b>18.7</b>         | <b>29.8</b> | <b>829</b>                           | <b>525</b>  | <b>997</b>  | <b>1255</b> | <b>1458</b> | <b>622</b>                       | <b>128</b>  | <b>911</b>  | <b>412</b>  |        |
| Пристановая кислота | <b>15</b>              | <b>8</b>     | <b>12</b>    | 0.36                           | 1.12         | 0.98         | <b>15.3</b>         | <b>22.8</b> | <b>0.36</b>                          | <b>0.45</b> | <b>0.68</b> | <b>1.14</b> | <b>1.85</b> | 1.72                             | 1.32        | <b>0.2</b>  | <b>0.8</b>  |        |
| Патология           | НЕ ОПРЕДЕЛЕНА          |              |              |                                |              |              |                     |             |                                      |             |             |             |             |                                  |             |             |             |        |
| № п/п пациента      | 1                      | 2            | 3            | 4                              | 5            | 6            | 7                   | 8           | 9                                    | 10          | 11          | 12          | 13          | 14                               | 15          | 16          | 17          | 18     |
| Возраст пациента    | 1 год                  | 1.5 года     | 9 м.         | 6 м.                           | 3 года       | 4 года       | 6 лет               | 2 года      | 1.5 года                             | 1г. 2м.     | 2.5 года    | 3 года      | 5 лет       | 8 м.                             | 2 года      | 4 года      | 6 лет       | 3 года |
| Маркеры             | Концентрация, мкмоль/л |              |              |                                |              |              |                     |             |                                      |             |             |             |             |                                  |             |             |             |        |
| C22:0               | 105                    | 87           | 43           | 107                            | 69           | 48           | 61                  | 117         | 74                                   | 82          | 96          | 109         | 94          | 71                               | 79          | 102         | 48          | 82     |
| C24:0               | 69                     | 40           | <b>98</b>    | 50                             | 72           | 69           | 76                  | 62          | 34                                   | 45          | 52          | 41          | 83          | 50                               | <b>101</b>  | 78          | 58          | 64     |
| C26:0               | 1.07                   | 0.63         | <b>2.52</b>  | 0.48                           | 1.11         | 0.6          | 0.56                | 0.97        | 0.68                                 | 0.86        | 1.14        | 0.88        | 0.62        | 0.95                             | <b>1.71</b> | 0.68        | 1.05        | 0.77   |
| C24:0/ C22:0        | 0.657                  | 0.460        | 2.279        | 0.467                          | 1.043        | 1.438        | 1.246               | 0.530       | 0.459                                | 0.549       | 0.542       | 0.376       | 0.883       | 0.704                            | 1.278       | 0.765       | 1.208       | 0.780  |
| C26:0/ C22:0        | 0.010                  | 0.007        | 0.059        | 0.004                          | 0.016        | 0.013        | 0.009               | 0.008       | 0.009                                | 0.010       | 0.012       | 0.008       | 0.007       | 0.013                            | 0.022       | 0.007       | 0.022       | 0.009  |
| Фитановая кислота   | 2.1                    | 2.1          | 2.5          | 3.8                            | 2.3          | 3.3          | <b>35.8</b>         | 2.9         | 3                                    | 2.4         | <b>16.3</b> | 3.2         | 3.2         | 3                                | 3.1         | 2.8         | <b>29.7</b> | 3.4    |
| Пристановая кислота | 1.42                   | 2.16         | 2.29         | 1.95                           | 0.2          | 0.52         | 1.85                | 2.2         | 1.54                                 | 0.95        | <b>15.8</b> | 0.74        | 1.36        | 2.18                             | 0.85        | 0.66        | <b>12.3</b> | 0.89   |

Таблица А.6 – Результаты анализов образцов плазмы крови на содержание длинноцепочечных жирных кислот *группы сравнения второй группы пациентов* с подозрениями на пероксисомные болезни (болезни клеточных органелл) методом ГХ-МС

| Патология           | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |              |              |              |              |             |              |             |             |              |             |             |
|---------------------|------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|-------------|--------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|
| № п/п пациента      | 1                      | 2            | 3            | 4            | 5            | 6           | 7            | 8           | 9           | 10           | 11          | 12          |
| Возраст пациента    | 10 лет                 | 11 лет       | 15 лет       | 6 лет        | 2 года       | 3 года      | 11 мес.      | 1 год       | 2 года      | 4 года       | 6 лет       | 10 лет      |
| Маркеры             | Концентрация, мкмоль/л |              |              |              |              |             |              |             |             |              |             |             |
| C22:0               | 115.64                 | 106.20       | 102.36       | 96.76        | 100.30       | 106.20      | 116.82       | 108.60      | 103.29      | 101.27       | 100.30      | 95.94       |
| C24:0               | 66.08                  | 81.42        | <b>95.58</b> | <b>84.96</b> | 70.80        | 64.90       | 67.26        | 77.88       | 50.74       | <b>92.04</b> | 79.06       | 50.84       |
| C26:0               | 0.85                   | 0.61         | <b>1.72</b>  | 0.80         | 0.65         | <b>1.52</b> | 0.79         | 1.29        | 1.33        | 0.72         | <b>1.55</b> | 0.80        |
| C24:0/ C22:0        | 0.57                   | 0.77         | 0.93         | 0.88         | 0.71         | 0.61        | 0.58         | 0.72        | 0.49        | 0.91         | 0.79        | 0.53        |
| C26:0/ C22:0        | 0.01                   | 0.01         | 0.02         | 0.01         | 0.01         | 0.01        | 0.01         | 0.01        | 0.01        | 0.01         | 0.02        | 0.01        |
| Фитановая кислота   | <b>1.04</b>            | <b>0.22</b>  | <b>0.62</b>  | <b>0.82</b>  | <b>0.07</b>  | <b>1.78</b> | <b>2.06</b>  | <b>0.18</b> | <b>1.49</b> | <b>1.26</b>  | <b>0.92</b> | 2.47        |
| Пристановая кислота | 1.95                   | 2.65         | 3.18         | 2.74         | 2.78         | 2.56        | 2.34         | 2.57        | 2.45        | 2.47         | 2.01        | 1.87        |
| Патология           | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |              |              |              |              |             |              |             |             |              |             |             |
| № п/п пациента      | 13                     | 14           | 15           | 16           | 17           | 18          | 19           | 20          | 21          | 22           | 23          | 24          |
| Возраст пациента    | 8 лет                  | 5 лет        | 3 года       | 4 года       | 2 года       | 1г. 2м.     | 1г. 4м.      | 3 года      | 5 лет       | 4 года       | 2.5 года    | 7 лет       |
| Маркеры             | Концентрация, мкмоль/л |              |              |              |              |             |              |             |             |              |             |             |
| C22:0               | 77.08                  | 78.72        | 86.10        | 60.68        | 50.02        | 89.38       | 67.24        | 71.34       | 39.36       | 30.2         | 21.3        | 56.2        |
| C24:0               | 68.06                  | 42.64        | 56.58        | 27.88        | 62.32        | 33.62       | 36.90        | 32.80       | 56.58       | 47.5         | 35.6        | 30.82       |
| C26:0               | 0.51                   | 0.93         | 0.88         | 0.56         | 0.46         | 0.72        | 0.71         | 0.52        | 0.49        | 0.4          | 0.2         | 0.49        |
| C24:0/ C22:0        | 0.88                   | 0.54         | 0.66         | 0.46         | 1.25         | 0.38        | 0.55         | 0.46        | 1.44        | 0.81         | 0.94        | 1.08        |
| C26:0/ C22:0        | 0.01                   | 0.01         | 0.01         | 0.01         | 0.01         | 0.01        | 0.01         | 0.01        | 0.01        | 0.023        | 0.01        | 0.02        |
| Фитановая кислота   | 2.72                   | <b>13.86</b> | <b>1.79</b>  | 2.55         | <b>30.43</b> | 2.72        | <b>2.04</b>  | <b>1.79</b> | 2.81        | 2.10         | <b>1.21</b> | <b>1.66</b> |
| Пристановая кислота | 1.16                   | 13.43        | 1.21         | 1.31         | 1.57         | 0.63        | 0.81         | 1.84        | 0.44        | 0.96         | 0.7         | 0.25        |
| Патология           | ГРУППА СРАВНЕНИЯ       |              |              |              |              |             |              |             |             |              |             |             |
| № п/п пациента      | 25                     | 26           | 27           | 28           | 29           | 30          | 31           | 32          | 33          | 34           | 35          |             |
| Возраст пациента    | 10 лет                 | 2.5 года     | 1 год        | 5 лет        | 3 года       | 8 лет       | 11 лет       | 4 года      | 1,5 года    | 9 лет        | 4 года      | –           |
| Маркеры             | Концентрация, мкмоль/л |              |              |              |              |             |              |             |             |              |             |             |
| C22:0               | 60.66                  | 70.97        | 108.74       | 111.03       | 89.28        | 81.27       | 101.17       | 91.57       | 84.70       | 62.95        | 101.87      | –           |
| C24:0               | 50.36                  | 37.77        | <b>91.57</b> | 44.64        | 58.37        | 60.66       | <b>90.42</b> | 70.97       | 74.40       | 53.80        | 61.81       | –           |
| C26:0               | 0.63                   | 0.60         | 0.96         | <b>1.45</b>  | 0.58         | 0.68        | 0.89         | 1.02        | 0.98        | 0.87         | 0.96        | –           |
| C24:0/ C22:0        | 0.81                   | 0.52         | 0.82         | 0.39         | 0.63         | 0.72        | 0.87         | 0.75        | 0.85        | 0.83         | 0.59        | –           |
| C26:0/ C22:0        | 0.01                   | 0.01         | 0.01         | 0.01         | 0.01         | 0.01        | 0.01         | 0.01        | 0.01        | 0.01         | 0.01        | –           |
| Фитановая кислота   | <b>1.34</b>            | <b>1.61</b>  | 2.26         | <b>1.71</b>  | <b>1.40</b>  | <b>0.86</b> | <b>1.34</b>  | <b>0.95</b> | 2.36        | <b>0.59</b>  | <b>1.49</b> | –           |
| Пристановая кислота | 3.18                   | 1.71         | 3.22         | 2.69         | 3.24         | 2.09        | 2.83         | 2.82        | 2.13        | 2.27         | 2.15        | –           |

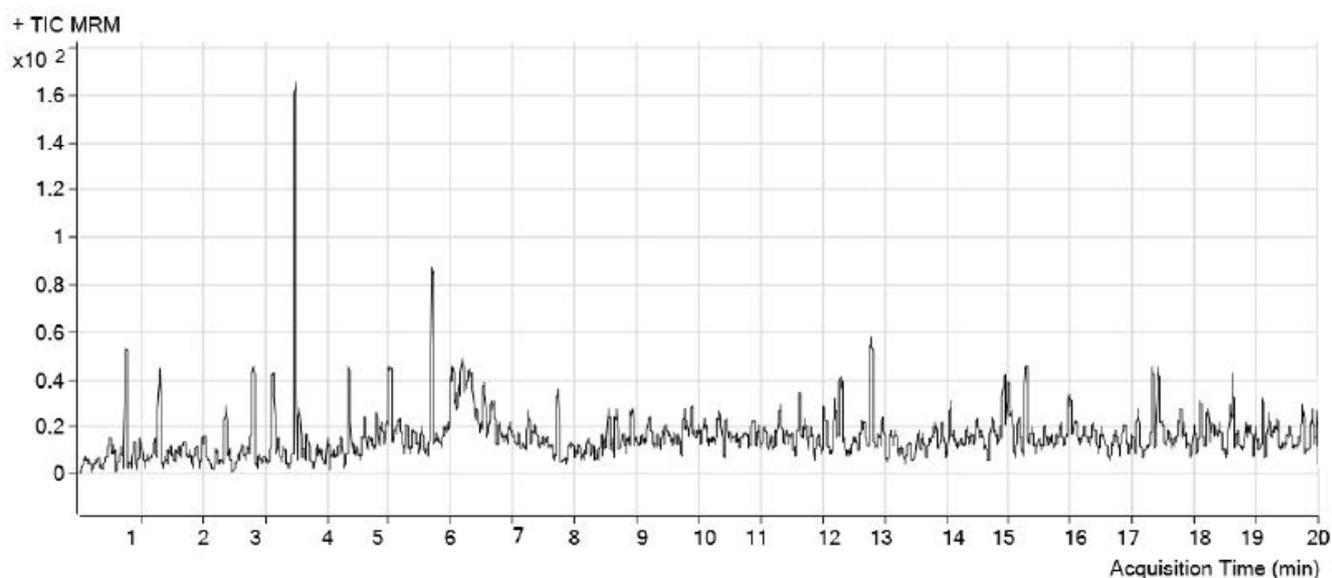


Рисунок А.15 – Хроматограмма по полному ионному току образца мочи пациента из контрольной группы с нормальным содержанием пуринов и пиримидинов (метод анализа ВЭЖХ-МС/МС;

по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

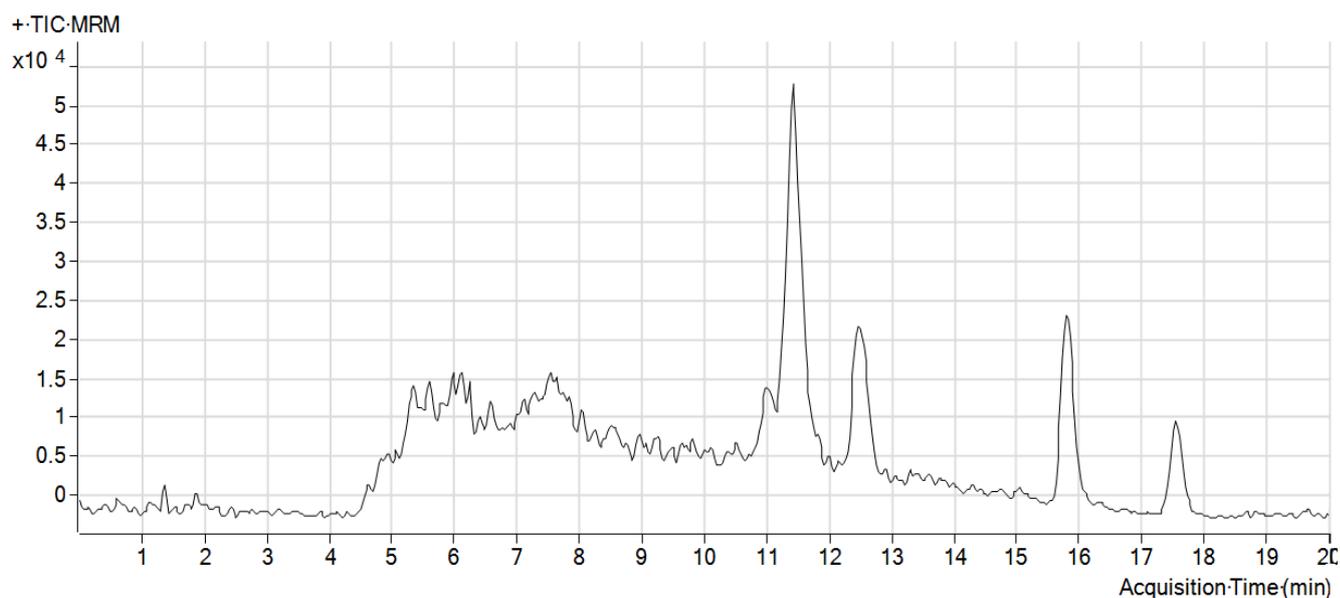


Рисунок А.16 – Хроматограмма по полному ионному току образца мочи пациента с повышенным содержанием пуринов и пиримидинов (метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

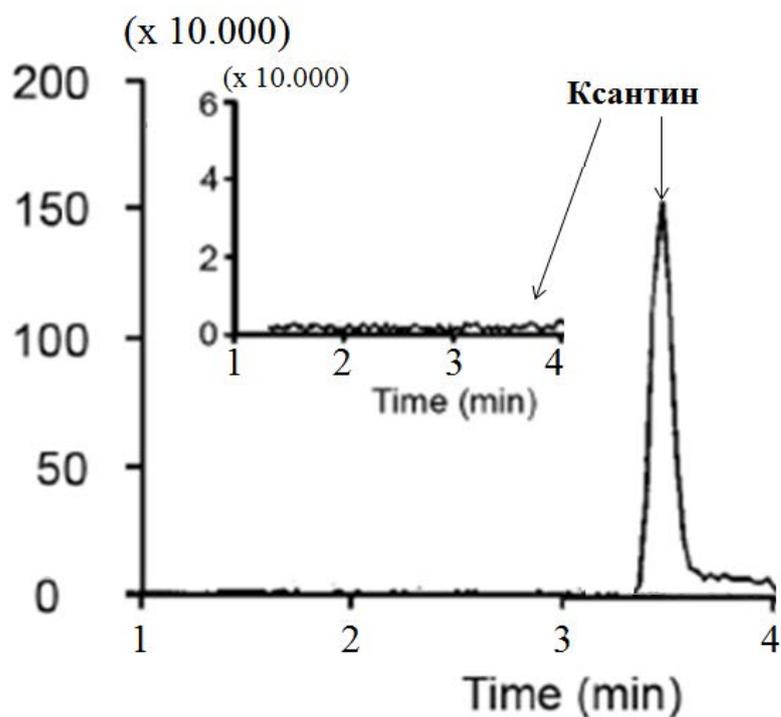


Рисунок А.17 – Сравнение хроматограмм образцов мочи у пациента из контрольной группы (малый график) и у пациента с наследственной ксантинурией (большой график) (диагностический маркер – ксантин; метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

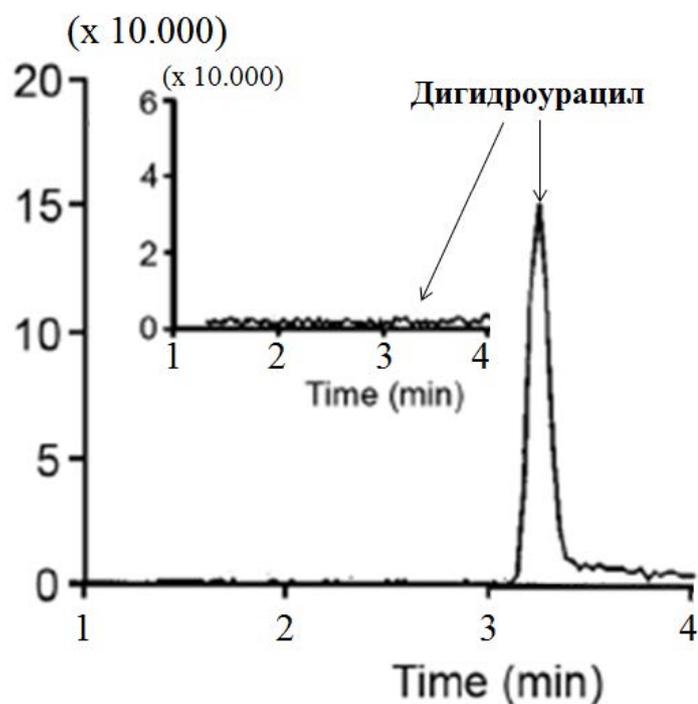


Рисунок А.18 – Сравнение хроматограмм образцов мочи у пациента из контрольной группы (малый график) и у пациента с дефицитом дигидропиримидиназы (большой график) (диагностический маркер – дигидроурацил; метод анализа ВЭЖХ-МС/МС; по оси  $X$  указано время хроматографирования в минутах, по оси  $Y$  указана интенсивность аналитического сигнала в абсолютных единицах).

Таблица А.7 – Результаты анализов образцов мочи *пациентов третьей группы* с выявленными нарушениями обмена пуринов и пиримидинов методом ВЭЖХ-МС/МС

| Патология                 | ДЕФИЦИТ<br>ДИГИДРОПИРИМИДИН-<br>ДЕГИДРОГЕНАЗЫ |               | ДЕФИЦИТ<br>ДИГИДРОПИРИМИДИНАЗЫ |               |               | СИНДРОМ<br>ЛЕША-НИХАНА |               |                | Гиперактивность<br>ФРПС I |
|---------------------------|---|---------------|--------------------------------|---------------|---------------|------------------------|---------------|----------------|---------------------------|
|                           | 1   | 2             | 1                              | 2             | 3             | 1                      | 2             | 3              |                           |
| № п/п пациента            | 7 лет   | 11 лет        | 10 лет                         | 5 лет         | 5 лет         | 11 лет                 | 10 лет        | 8 лет          | 7 лет                     |
| <b>Маркеры</b>            | <b>Концентрация, ммоль/моль креатинина</b>    |               |                                |               |               |                        |               |                |                           |
| Гуанин                    | 0.00  | 0.00          | 0.00                           | 1.20          | 0.00          | 0.00                   | 0.00          | 0.00           | 1.40                      |
| <b>Урацил</b>             | <b>325.00</b>                                 | <b>228.00</b> | <b>36.00</b>                   | 15.70         | <b>82.00</b>  | 0.32                   | 1.39          | 0.84           | 2.10                      |
| <b>Дигидроурацил</b>      | 6.21  | 6.30          | <b>189.00</b>                  | <b>202.00</b> | <b>263.00</b> | 1.28                   | 2.36          | 6.34           | 6.20                      |
| Оротовая кислота          | 3.60  | 4.10          | 2.14                           | 3.18          | 1.40          | 0.98                   | 3.60          | 6.80           | 5.21                      |
| <b>Мочевая кислота</b>    | 452.60  | 216.40        | 115.20                         | 132.60        | 95.20         | <b>1325.00</b>         | <b>958.00</b> | <b>1411.00</b> | 321.60                    |
| <b>Ксантин</b>            | 11.60   | 13.20         | 19.60                          | 12.47         | 15.60         | 11.36                  | 13.24         | 10.50          | <b>64.00</b>              |
| Уреидопропионовая кислота | 0.00  | 1.74          | 0.00                           | 0.00          | 14.67         | 0.47                   | 5.21          | 0.52           | 5.20                      |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 0.63  | 0.00          | 0.00                           | 0.87          | 4.16          | 0.00                   | 0.98          | 0.82           | 3.24                      |
| Аденин                    | 1.926   | 0.72          | 0.814                          | 0.62          | 0.925         | 0.74                   | 0.81          | 0.84           | 0.721                     |
| Цитидин                   | 8.50  | 0.50          | 2.16                           | 2.30          | 0.24          | 0.28                   | 1.32          | 0.28           | 2.60                      |
| Дезоксиаденозин           | 1.20  | 0.00          | 0.32                           | 0.10          | 0.00          | 1.40                   | 0.94          | 0.90           | 0.30                      |
| Уридин                    | 0.00  | 0.00          | 0.00                           | 0.00          | 0.00          | 0.00                   | 0.00          | 1.20           | 2.30                      |
| <b>Тимин</b>              | <b>25.00</b>                                  | <b>29.00</b>  | <b>12.30</b>                   | <b>12.60</b>  | <b>23.12</b>  | 0.11                   | 1.44          | 1.60           | 2.38                      |
| Дезоксиуридин             | 5.80  | 0.00          | 0.00                           | 0.72          | 0.87          | 0.65                   | 1.54          | 2.30           | 0.00                      |
| Инозин                    | 0.84  | 0.00          | 2.90                           | 1.40          | 0.00          | 0.64                   | 0.18          | 0.63           | 0.00                      |
| Гуанозин                  | 0.00  | 1.40          | 0.24                           | 0.39          | 0.62          | 0.16                   | 1.30          | 1.47           | 0.00                      |
| Дезоксигуанозин           | 0.69  | 0.00          | 0.10                           | 0.00          | 3.41          | 0.00                   | 0.87          | 1.48           | 0.00                      |
| Тимидин                   | 0.00  | 0.00          | 0.00                           | 0.00          | 0.00          | 0.00                   | 0.00          | 0.00           | 0.169                     |
| Аденозин                  | 0.25  | 0.36          | 0.31                           | 1.60          | 2.14          | 0.31                   | 1.23          | 0.16           | 1.64                      |

Продолжение таблицы А.7

| Патология                 | НАСЛЕДСТВЕННАЯ<br>КСАНТИНУРИЯ       |              |              | ДЕФИЦИТ ПУРИН-<br>НУКЛЕОЗИЛФОСФОРИЛАЗЫ |              | ОРОТОВАЯ АЦИДУРИЯ<br>I ТИПА |                |               |                |
|---------------------------|-------------------------------------|--------------|--------------|--|--------------|-----------------------------|----------------|---------------|----------------|
|                           | 1                                   | 2            | 3            | 1                                      | 2            | 1                           | 2              | 3             | 4              |
| № п/п пациента            | 6 лет                               | 4 года       | 12 лет       | 5 лет                                  | 3 года       | 4 года                      | 10 лет         | 8 лет         | 2.5 года       |
| Маркеры                   | Концентрация, ммоль/моль креатинина |              |              |  |              |                             |                |               |                |
| Гуанин                    | 0.00                                | 1.10         | 0.00         | 0.00                                   | 1.40         | 1.10                        | 0.00           | 0.00          | 0.00           |
| Урацил                    | 0.00                                | 0.00         | 0.00         | 2.98                                   | 0.18         | 1.56                        | 0.00           | 0.00          | 0.54           |
| Дигидроурацил             | 1.40                                | 6.90         | 5.50         | 5.48                                   | 2.60         | 3.65                        | 2.60           | 5.84          | 2.40           |
| <b>Оротовая кислота</b>   | 5.40                                | 3.24         | 4.65         | 3.21                                   | 3.69         | <b>610.00</b>               | <b>1420.00</b> | <b>380.00</b> | <b>1540.00</b> |
| Мочевая кислота           | 117.40                              | 365.20       | 412.50       | 248.60                                 | 365.20       | 485.60                      | 217.40         | 328.50        | 125.40         |
| <b>Ксантин</b>            | <b>98.00</b>                        | <b>44.00</b> | <b>58.00</b> | 13.90                                  | 13.80        | 12.20                       | 12.40          | 12.90         | 11.60          |
| Уреидопропионовая кислота | 0.00                                | 0.00         | 0.00         | 1.74                                   | 0.96         | 3.27                        | 0.29           | 0.00          | 0.00           |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 3.10                                | 0.90         | 0.00         | 0.27                                   | 4.15         | 3.64                        | 2.20           | 0.85          | 2.40           |
| Аденин                    | 0.63                                | 0.532        | 0.827        | 8.14                                   | 8.60         | 1.40                        | 0.72           | 0.75          | 1.57           |
| Цитидин                   | 6.20                                | 0.00         | 3.29         | 0.00                                   | 2.90         | 0.00                        | 0.00           | 0.00          | 0.47           |
| Дезоксиаденозин           | 3.14                                | 0.65         | 2.80         | 1.48                                   | 3.24         | 1.29                        | 0.00           | 0.00          | 0.50           |
| Уридин                    | 0.00                                | 0.00         | 0.00         | 1.10                                   | 1.10         | 0.00                        | 0.00           | 0.00          | 0.00           |
| Тимин                     | 0.26                                | 0.00         | 0.00         | 1.16                                   | 0.24         | 1.70                        | 3.20           | 1.57          | 0.37           |
| Дезоксиуридин             | 0.00                                | 0.00         | 0.29         | 0.32                                   | 0.87         | 1.28                        | 0.36           | 0.00          | 0.31           |
| <b>Инозин</b>             | 0.00                                | 0.00         | 0.00         | <b>15.00</b>                           | <b>29.00</b> | 0.00                        | 0.00           | 0.63          | 0.00           |
| <b>Гуанозин</b>           | 1.54                                | 0.32         | 2.69         | <b>23.00</b>                           | <b>39.00</b> | 1.59                        | 0.00           | 1.24          | 0.21           |
| <b>Дезоксигуанозин</b>    | 0.00                                | 1.74         | 1.60         | <b>24.00</b>                           | <b>26.00</b> | 1.48                        | 0.00           | 0.00          | 0.28           |
| Тимидин                   | 0.00                                | 0.00         | 0.00         | 0.00                                   | 0.00         | 0.00                        | 1.80           | 0.00          | 0.00           |
| Аденозин                  | 2.40                                | 0.14         | 1.60         | 0.00                                   | 3.50         | 1.20                        | 0.36           | 0.36          | 0.30           |

Продолжение таблицы А.7

| Патология                        | НЕ ОПРЕДЕЛЕНА                       |        |          |              |        |        |              |        |        |              |        |        |
|----------------------------------|-------------------------------------|--------|----------|--------------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------------|--------|--------|
| № п/п пациента                   | 1                                   | 2      | 3        | 4            | 5      | 6      | 7            | 8      | 9      | 10           | 11     | 12     |
| Возраст пациента                 | 1 год                               | 7 лет  | 1.5 года | 6 лет        | 2 года | 3 года | 8 лет        | 9 лет  | 8 лет  | 6 лет        | 10 лет | 2 года |
| Маркеры                          | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |          |              |        |        |              |        |        |              |        |        |
| Гуанин                           | 0.00                                | 0.00   | 0.00     | 0.00         | 1.10   | 0.00   | 0.00         | 0.00   | 0.00   | 0.30         | 0.12   | 0.00   |
| Урацил                           | 0.00                                | 0.00   | 0.00     | 1.87         | 2.98   | 2.80   | 2.20         | 0.29   | 0.55   | 3.20         | 9.50   | 0.00   |
| Дигидроурацил                    | 0.60                                | 6.35   | 10.20    | 1.91         | 1.29   | 2.25   | 10.28        | 5.28   | 4.15   | 8.50         | 10.30  | 1.24   |
| <b>Оротовая кислота</b>          | 1.80                                | 6.30   | 1.20     | <b>12.20</b> | 3.30   | 1.24   | <b>25.00</b> | 5.50   | 3.85   | <b>15.20</b> | 5.47   | 2.50   |
| Мочевая кислота                  | 236.50                              | 452.20 | 154.20   | 459.60       | 102.50 | 126.30 | 352.60       | 598.60 | 163.50 | 241.30       | 452.30 | 412.50 |
| Ксантин                          | 10.20                               | 15.20  | 12.30    | 12.30        | 14.20  | 10.29  | 13.28        | 12.60  | 13.20  | 15.20        | 10.20  | 12.20  |
| <b>Уреидопропионовая кислота</b> | 0.00                                | 0.00   | 0.00     | 2.50         | 3.60   | 0.60   | 6.35         | 0.48   | 0.39   | <b>15.20</b> | 2.40   | 0.00   |
| 5-Гидроксиметилурацил            | 2.20                                | 12.40  | 0.36     | 0.38         | 12.40  | 0.47   | 10.20        | 5.29   | 1.70   | 13.20        | 0.88   | 0.31   |
| Аденин                           | 0.56                                | 0.83   | 0.41     | 0.82         | 0.53   | 0.77   | 0.95         | 0.89   | 0.82   | 0.75         | 0.96   | 0.80   |
| <b>Цитидин</b>                   | 1.44                                | 5.40   | 0.28     | 3.20         | 0.85   | 0.10   | <b>15.60</b> | 0.00   | 0.00   | 2.80         | 3.20   | 0.36   |
| Дезоксиаденозин                  | 0.23                                | 2.80   | 0.55     | 0.25         | 0.00   | 0.00   | 1.65         | 0.00   | 1.50   | 2.90         | 0.26   | 0.27   |
| Уридин                           | 0.00                                | 0.00   | 2.10     | 0.00         | 0.00   | 0.00   | 0.00         | 0.00   | 0.00   | 2.20         | 2.00   | 0.00   |
| Тимин                            | 0.00                                | 1.24   | 2.80     | 1.32         | 0.00   | 0.26   | 0.36         | 1.20   | 1.47   | 1.22         | 1.16   | 0.30   |
| Дезоксиуридин                    | 0.00                                | 0.98   | 0.41     | 0.37         | 2.80   | 0.79   | 2.63         | 0.00   | 0.37   | 0.26         | 0.55   | 0.94   |
| Инозин                           | 0.00                                | 0.64   | 0.00     | 0.54         | 0.00   | 0.59   | 0.21         | 0.00   | 0.20   | 1.69         | 0.00   | 0.01   |
| Гуанозин                         | 0.30                                | 0.28   | 0.52     | 1.26         | 2.70   | 0.36   | 0.00         | 1.45   | 0.38   | 1.74         | 0.70   | 2.20   |
| Дезоксигуанозин                  | 0.52                                | 0.39   | 0.67     | 0.58         | 0.00   | 0.00   | 1.90         | 0.00   | 0.00   | 1.60         | 0.27   | 0.51   |
| Тимидин                          | 0.00                                | 1.10   | 1.30     | 0.00         | 0.00   | 0.00   | 0.00         | 0.00   | 0.00   | 0.00         | 0.00   | 0.00   |
| <b>Аденозин</b>                  | 0.00                                | 0.00   | 0.36     | <b>8.60</b>  | 0.10   | 0.22   | 1.24         | 1.20   | 0.00   | 1.30         | 1.25   | 0.28   |

Продолжение таблицы А.7

| Патология                        | НЕ ОПРЕДЕЛЕНА                       |              |              |              |        |        |              |        |        |        |              |        |
|----------------------------------|-------------------------------------|--------------|--------------|--------------|--------|--------|--------------|--------|--------|--------|--------------|--------|
| № п/п пациента                   | 13                                  | 14           | 15           | 16           | 17     | 18     | 19           | 20     | 21     | 22     | 23           | 24     |
| Возраст пациента                 | 1г. 2м.                             | 1г. 5м.      | 4 года       | 8 мес.       | 13 лет | 12 лет | 7 лет        | 6 лет  | 5 лет  | 12 лет | 4 года       | 11 лет |
| Маркеры                          | Концентрация, ммоль/моль креатинина |              |              |              |        |        |              |        |        |        |              |        |
| Гуанин                           | 0.00                                | 2.20         | 1.54         | 1.76         | 0.97   | 2.43   | 1.21         | 2.43   | 1.76   | 1.97   | 0.87         | 0.66   |
| Урацил                           | 7.34                                | 3.65         | 12.76        | 12.37        | 14.53  | 20.98  | 13.54        | 16.75  | 7.34   | 8.24   | 1.12         | 0.00   |
| Дигидроурацил                    | 2.85                                | 3.65         | 7.65         | 2.43         | 9.80   | 10.90  | 12.50        | 2.65   | 6.75   | 1.73   | 7.83         | 2.12   |
| <b>Оротовая кислота</b>          | 1.94                                | <b>19.40</b> | 4.50         | 3.20         | 2.21   | 3.40   | 5.43         | 0.87   | 1.12   | 1.00   | 1.32         | 1.53   |
| Мочевая кислота                  | 93.07                               | 435.00       | 354.00       | 234.00       | 387.00 | 569.00 | 523.00       | 442.00 | 602.00 | 447.00 | 529.00       | 566.00 |
| Ксантин                          | 11.44                               | 22.10        | 27.75        | 30.60        | 10.70  | 5.80   | 30.10        | 12.20  | 14.00  | 15.80  | 14.65        | 12.00  |
| <b>Уреидопропионовая кислота</b> | 3.49                                | 5.40         | 2.87         | <b>19.10</b> | 2.54   | 6.70   | <b>15.60</b> | 3.44   | 2.15   | 4.65   | 7.89         | 2.23   |
| 5-Гидроксиметилурацил            | 0.18                                | 0.00         | 1.20         | 4.30         | 2.50   | 6.20   | 8.70         | 3.40   | 5.20   | 1.76   | 0.00         | 1.76   |
| Аденин                           | 0.47                                | 0.65         | 1.12         | 0.88         | 0.54   | 0.23   | 0.00         | 0.123  | 0.432  | 0.769  | 1.43         | 1.23   |
| <b>Цитидин</b>                   | 0.07                                | 2.34         | <b>17.80</b> | 0.98         | 0.10   | 3.76   | <b>20.10</b> | 5.74   | 8.99   | 3.65   | <b>17.50</b> | 1.12   |
| Дезоксиаденозин                  | 0.00                                | 0.80         | 0.12         | 0.00         | 0.34   | 0.77   | 0.97         | 0.12   | 0.43   | 0.00   | 0.12         | 0.00   |
| Уридин                           | 4.06                                | 2.30         | 3.10         | 0.43         | 1.76   | 1.89   | 1.62         | 0.65   | 0.88   | 0.71   | 0.13         | 0.00   |
| Тимин                            | 0.49                                | 1.23         | 0.76         | 1.21         | 1.43   | 0.76   | 0.00         | 0.00   | 0.32   | 0.42   | 0.13         | 0.00   |
| Дезоксиуридин                    | 0.00                                | 0.12         | 0.90         | 0.00         | 0.00   | 0.35   | 0.00         | 0.71   | 0.32   | 0.00   | 1.65         | 1.12   |
| Инозин                           | 0.17                                | 1.32         | 2.43         | 2.12         | 2.87   | 1.76   | 1.97         | 1.55   | 0.73   | 0.23   | 0.90         | 0.00   |
| Гуанозин                         | 0.07                                | 0.98         | 0.94         | 0.00         | 0.00   | 1.20   | 1.43         | 0.64   | 0.00   | 0.00   | 0.00         | 1.21   |
| Дезоксигуанозин                  | 0.13                                | 0.97         | 0.34         | 0.54         | 0.75   | 0.97   | 0.35         | 0.13   | 0.00   | 0.21   | 1.76         | 1.98   |
| Тимидин                          | 0.00                                | 0.00         | 0.10         | 0.14         | 0.00   | 0.00   | 0.20         | 0.00   | 0.11   | 0.00   | 0.00         | 0.15   |
| <b>Аденозин</b>                  | 0.24                                | 1.10         | 1.43         | <b>6.30</b>  | 1.87   | 0.76   | 0.43         | 0.53   | 0.00   | 0.26   | 0.00         | 0.74   |

Продолжение таблицы А.7

| Патология                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ                    |        |        |         |       |        |       |       |        |       |       |        |        |
|---------------------------|-------------------------------------|--------|--------|---------|-------|--------|-------|-------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                           | 1                                   | 2      | 3      | 4       | 5     | 6      | 7     | 8     | 9      | 10    | 11    | 12     | 13     |
| № п/п пациента            | 12 лет                              | 16 лет | 14 лет | 10 мес. | 7 лет | 2 года | 5 лет | 9 лет | 4 года | 5 лет | 8 лет | 4 года | 2 года |
| Возраст пациента          | 12 лет                              | 16 лет | 14 лет | 10 мес. | 7 лет | 2 года | 5 лет | 9 лет | 4 года | 5 лет | 8 лет | 4 года | 2 года |
| Маркеры                   | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |        |         |       |        |       |       |        |       |       |        |        |
| Гуанин                    | 0.8                                 | 1.6    | 2.1    | 0.5     | 2     | 1      | 0.7   | 2.5   | 1.8    | 0.9   | 0.3   | 2.4    | 2.8    |
| Урацил                    | 19                                  | 5      | 19     | 3       | 1     | 21     | 22    | 13    | 9      | 24    | 3     | 25     | 20     |
| Дигидроурацил             | 1.12                                | 1.6    | 4.0    | 10      | 0.53  | 8.2    | 6.6   | 3.7   | 10.2   | 4.8   | 9.8   | 9.5    | 7.2    |
| Оротовая кислота          | 5.5                                 | 1.6    | 2.8    | 4.6     | 4.7   | 3.5    | 4.4   | 0.6   | 3.2    | 5.3   | 2.7   | 3.6    | 5.1    |
| Мочевая кислота           | 672                                 | 466    | 530    | 236     | 284   | 385    | 458   | 256   | 224    | 656   | 343   | 220    | 663    |
| Ксантин                   | 20                                  | 14.8   | 23.4   | 17.4    | 24.3  | 19.8   | 7.9   | 26.4  | 18.9   | 8.8   | 20.6  | 14.7   | 6.6    |
| Уреидопропионовая кислота | 9                                   | 9.5    | 2.7    | 3.8     | 2.7   | 9.6    | 5.7   | 8.2   | 7      | 6.7   | 8.8   | 1.6    | 4.2    |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 9.9                                 | 9.1    | 9.5    | 8.1     | 2.1   | 4.1    | 9.8   | 2.3   | 4.3    | 9.8   | 8.7   | 6      | 9.3    |
| Аденин                    | 0.2                                 | 1.8    | 0.7    | 1.9     | 0.7   | 2.6    | 2     | 2.4   | 2.3    | 1.6   | 2.2   | 1.5    | 0.3    |
| Цитидин                   | 0.15                                | 1.2    | 0.8    | 2.6     | 0.1   | 0.7    | 1.1   | 2.1   | 1.2    | 0.4   | 0.0   | 1.4    | 2.1    |
| Дезоксиаденозин           | 0.3                                 | 1.5    | 1.6    | 2.5     | 0.9   | 0      | 2.3   | 0.2   | 1.4    | 0.2   | 2.7   | 2      | 0.2    |
| Уридин                    | 0.7                                 | 1.8    | 0.6    | 2.8     | 0.6   | 1.9    | 2.8   | 0.7   | 1.9    | 2.1   | 1     | 1.4    | 2.3    |
| Тимин                     | 0.2                                 | 0.0    | 0.3    | 1       | 1.6   | 0.9    | 1.2   | 0.4   | 0.8    | 1.7   | 0.5   | 1      | 1.7    |
| Дезоксиуридин             | 0.2                                 | 1.9    | 0.2    | 1.7     | 1.2   | 0.6    | 0.7   | 0.6   | 0.1    | 1.9   | 0.5   | 0.7    | 1.6    |
| Инозин                    | 2.1                                 | 0.4    | 3.1    | 3.1     | 0.1   | 1.3    | 3.1   | 0.4   | 2.1    | 2.9   | 2.2   | 3.1    | 0.3    |
| Гуанозин                  | 1                                   | 0.9    | 0.3    | 0.0     | 0.6   | 0.1    | 1.4   | 0.8   | 0.5    | 0.6   | 0.1   | 1      | 0.0    |
| Дезоксигуанозин           | 0.33                                | 1.6    | 1.8    | 1       | 0.6   | 1.4    | 0.5   | 1.6   | 2      | 1.4   | 1.2   | 1.3    | 0.3    |
| Тимидин                   | 0.18                                | 0.19   | 0.08   | 0.08    | 0.04  | 0.19   | 0.07  | 0.11  | 0.14   | 0.04  | 0.01  | 0.04   | 0.1    |
| Аденозин                  | 0.16                                | 1.1    | 0.5    | 1.6     | 0.1   | 0.1    | 1.7   | 2.3   | 0.5    | 1.5   | 0.6   | 1.1    | 0.3    |

Продолжение таблицы А.7

| Патология                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ                    |        |        |       |        |        |        |       |        |       |        |        |        |
|---------------------------|-------------------------------------|--------|--------|-------|--------|--------|--------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
|                           | № п/п пациента                      | 14     | 15     | 16    | 17     | 18     | 19     | 20    | 21     | 22    | 23     | 24     | 25     |
| Возраст пациента          | 5 лет                               | 11 лет | 3 года | 1 год | 3 года | 4 года | 10 лет | 6 лет | 12 лет | 6 лет | 3 года | 13 лет | 14 лет |
| Маркеры                   | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |        |       |        |        |        |       |        |       |        |        |        |
| Гуанин                    | 0.1                                 | 0.4    | 2.8    | 1.5   | 2.6    | 1.6    | 1.6    | 1.1   | 0.9    | 2.1   | 0.3    | 2.1    | 0.9    |
| Урацил                    | 17                                  | 20     | 12     | 14    | 18     | 24     | 21     | 25    | 15     | 12    | 22     | 12     | 10     |
| Дигидроурацил             | 0.0                                 | 11.1   | 12.3   | 13    | 12     | 0.6    | 10.37  | 6.5   | 7.6    | 12.2  | 10     | 12.2   | 3.85   |
| Оротовая кислота          | 2.3                                 | 4.7    | 4.5    | 1.6   | 5.6    | 3      | 0.6    | 5.7   | 3      | 1     | 2      | 1.2    | 2.8    |
| Мочевая кислота           | 652                                 | 508    | 695    | 355   | 486    | 584    | 195    | 116   | 559    | 281   | 488    | 632    | 367    |
| Ксантин                   | 22.7                                | 27.1   | 7.8    | 27.8  | 21.4   | 25.2   | 6.2    | 25.7  | 17.9   | 24.7  | 14.5   | 9.9    | 19.8   |
| Уреидопропионовая кислота | 2.5                                 | 6.6    | 6.8    | 8.7   | 5      | 9.1    | 7.6    | 6.3   | 3.6    | 9.7   | 0.5    | 4.4    | 5.1    |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 9.5                                 | 4      | 9.1    | 5     | 4.8    | 8      | 8.5    | 0.2   | 9.5    | 6.3   | 0.5    | 8      | 3      |
| Аденин                    | 0.2                                 | 0.4    | 2.5    | 0.0   | 1.9    | 0.8    | 1.4    | 2.3   | 1.6    | 0.4   | 0.9    | 0.2    | 1.8    |
| Цитидин                   | 1.5                                 | 1.3    | 2.8    | 2.6   | 1.6    | 0.9    | 2.7    | 1.3   | 0.7    | 0.2   | 1.7    | 2.7    | 2.6    |
| Дезоксиаденозин           | 2.3                                 | 0.8    | 0.6    | 0.6   | 1.5    | 0.4    | 2.2    | 2.4   | 1.4    | 0.0   | 2.6    | 2.1    | 0.8    |
| Уридин                    | 1.4                                 | 1.2    | 0.7    | 0.7   | 3.2    | 0.8    | 1.6    | 2.5   | 1.3    | 0.5   | 0.7    | 2.1    | 1.4    |
| Тимин                     | 0.5                                 | 0.6    | 0.2    | 0.8   | 1.1    | 0.1    | 1.4    | 0.3   | 1.3    | 0.3   | 1.7    | 1.5    | 1.1    |
| Дезоксиуридин             | 2                                   | 1.5    | 1.7    | 1     | 1.4    | 0.2    | 0.7    | 1.8   | 0.7    | 1.1   | 1.9    | 0.1    | 0.0    |
| Инозин                    | 2                                   | 0.7    | 1.2    | 1.5   | 1.5    | 0.4    | 2.2    | 3     | 0.6    | 0.6   | 1.9    | 2.4    | 1.3    |
| Гуанозин                  | 1.5                                 | 1.2    | 0.7    | 1.3   | 0.7    | 0.3    | 0.4    | 1.5   | 0.0    | 0.5   | 0.0    | 0.6    | 1.1    |
| Дезоксигуанозин           | 0.1                                 | 0.4    | 1.1    | 2.1   | 1.3    | 1.1    | 1.9    | 1.2   | 1.6    | 0.7   | 1.7    | 0.2    | 1.6    |
| Тимидин                   | 0.01                                | 0.11   | 0.0    | 0.0   | 0.12   | 0.16   | 0.04   | 0.16  | 0.09   | 0.07  | 0.0    | 0.02   | 0.12   |
| Аденозин                  | 2.2                                 | 1.5    | 1.1    | 0.5   | 0.2    | 1.4    | 1.8    | 1.9   | 2      | 1.5   | 2.6    | 0.2    | 1.1    |

Продолжение таблицы А.7

| Патология                 | ГРУППА СРАВНЕНИЯ                    |        |       |        |        |        |        |       |        |
|---------------------------|-------------------------------------|--------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|--------|
|                           | № п/п пациента                      | 27     | 28    | 29     | 30     | 31     | 32     | 33    | 34     |
| Возраст пациента          | 10 лет                              | 2 года | 7 лет | 4 года | 12 лет | 11 лет | 2 года | 7 лет | 13 лет |
| Маркеры                   | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |       |        |        |        |        |       |        |
| Гуанин                    | 0.4                                 | 0.4    | 2.2   | 0.4    | 2.8    | 1.5    | 0.3    | 2.5   | 2.8    |
| Урацил                    | 8                                   | 5      | 16    | 22     | 5      | 24     | 16     | 18    | 6      |
| Дигидроурацил             | 10.6                                | 6.47   | 1.55  | 5.8    | 8.7    | 9.3    | 14     | 3.5   | 13     |
| Оротовая кислота          | 2.1                                 | 4.3    | 0.6   | 5.2    | 5.2    | 3.1    | 1.7    | 1.2   | 2      |
| Мочевая кислота           | 105                                 | 420    | 137   | 142    | 362    | 680    | 375    | 339   | 393    |
| Ксантин                   | 19.2                                | 13     | 13.6  | 24.9   | 30.7   | 30.6   | 28.9   | 11.8  | 29.2   |
| Уреидопропионовая кислота | 2.1                                 | 3.5    | 0.3   | 7.9    | 2.5    | 2.7    | 9.4    | 3     | 0.9    |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 0.5                                 | 1      | 4.7   | 9      | 9.4    | 5      | 8.5    | 1.6   | 1.7    |
| Аденин                    | 1.2                                 | 0.2    | 0.5   | 1.7    | 1.5    | 0.8    | 1.3    | 2.3   | 1.2    |
| Цитидин                   | 0.9                                 | 2.7    | 2     | 2.3    | 0.2    | 2.5    | 2.7    | 2.2   | 0.5    |
| Дезоксиаденозин           | 1                                   | 2.7    | 0.9   | 1.6    | 1.7    | 0.8    | 1.5    | 1.5   | 0.5    |
| Уридин                    | 2                                   | 0.2    | 2.3   | 2.4    | 2.4    | 2.7    | 3.5    | 3.1   | 1.8    |
| Тимин                     | 0.2                                 | 0.9    | 1.5   | 0.9    | 0.9    | 0.9    | 0.1    | 1.1   | 0.5    |
| Дезоксиуридин             | 1                                   | 0.7    | 2     | 1.4    | 1.1    | 1.6    | 1      | 1.8   | 2      |
| Инозин                    | 2.9                                 | 2.1    | 3     | 2.7    | 2.1    | 1.5    | 1.3    | 0.7   | 2.8    |
| Гуанозин                  | 1.1                                 | 0.1    | 0.9   | 0.0    | 1      | 0.6    | 0.1    | 1     | 1.5    |
| Дезоксигуанозин           | 1.8                                 | 1.2    | 1.7   | 0.5    | 1      | 1.6    | 1      | 2.1   | 1.8    |
| Тимидин                   | 0.01                                | 0.05   | 0.12  | 0.0    | 0.06   | 0.12   | 0.01   | 0.07  | 0.0    |
| Аденозин                  | 2.5                                 | 1.9    | 0.3   | 0.3    | 1.7    | 1.1    | 1.1    | 2.1   | 2      |

Таблица А.8 – Результаты анализов образцов биоматериала пациентов из контрольной группы

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>                 |                               |               |               |                |                  |               |              |               |               |              |
|---|-------------------------------|---------------|---------------|----------------|------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|--------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                     | <b>1</b>                      | <b>2</b>      | <b>3</b>      | <b>4</b>       | <b>5</b>         | <b>6</b>      | <b>7</b>     | <b>8</b>      | <b>9</b>      | <b>10</b>    |
| <b>Возраст пациента</b>                   | <b>2 года</b>                 | <b>10 лет</b> | <b>4 года</b> | <b>10 мес.</b> | <b>2 г. 7 м.</b> | <b>7 мес.</b> | <b>5 лет</b> | <b>3 года</b> | <b>4 года</b> | <b>6 лет</b> |
| <b>Маркеры</b>                            | <b>Концентрация, мкмоль/л</b> |               |               |                |                  |               |              |               |               |              |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                               |               |               |                |                  |               |              |               |               |              |
| Ala                                       | 206.58                        | 275.14        | 249.66        | 226.31         | 146.19           | 341.51        | 236.33       | 298.94        | 233.92        | 247.68       |
| Asp                                       | 64.82                         | 127.32        | 114.19        | 77.15          | 45.83            | 95.16         | 97.23        | 143.13        | 99.01         | 65.04        |
| Glu                                       | 181.37                        | 212.56        | 173.90        | 199.51         | 130.37           | 292.62        | 187.42       | 229.35        | 187.19        | 194.98       |
| Xle                                       | 42.30                         | 92.30         | 92.50         | 104.50         | 72.40            | 85.70         | 107.54       | 142.88        | 103.40        | 109.98       |
| Met                                       | 4.92                          | 6.38          | 5.07          | 6.25           | 5.58             | 7.21          | 5.12         | 8.23          | 4.74          | 5.75         |
| Phe                                       | 27.35                         | 33.46         | 23.11         | 38.71          | 24.73            | 41.60         | 25.28        | 42.36         | 24.68         | 25.94        |
| Tyr                                       | 37.07                         | 39.94         | 35.40         | 50.15          | 27.23            | 79.22         | 37.50        | 63.59         | 45.01         | 32.92        |
| Val                                       | 95.36                         | 144.21        | 94.38         | 185.36         | 69.80            | 138.39        | 104.00       | 129.52        | 104.95        | 98.36        |
| Arg                                       | 24.67                         | 41.29         | 26.73         | 31.61          | 39.77            | 28.31         | 25.85        | 43.97         | 31.79         | 24.34        |
| Cit                                       | 25.86                         | 28.50         | 35.77         | 13.52          | 25.27            | 19.67         | 16.35        | 29.04         | 21.14         | 28.63        |
| Gly                                       | 210.49                        | 226.17        | 203.96        | 227.01         | 133.84           | 358.42        | 249.54       | 308.96        | 236.68        | 200.40       |
| Orn                                       | 53.17                         | 58.61         | 87.22         | 69.54          | 53.83            | 137.45        | 69.62        | 178.74        | 68.51         | 79.18        |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                               |               |               |                |                  |               |              |               |               |              |
| C0  | 21.50                         | 27.28         | 16.00         | 32.82          | 24.51            | 17.58         | 17.68        | 21.89         | 25.70         | 18.32        |
| C2  | 14.58                         | 21.20         | 18.50         | 26.31          | 0.62             | 18.73         | 20.26        | 20.46         | 22.43         | 15.10        |
| C3  | 1.02                          | 0.88          | 1.59          | 1.90           | 0.03             | 0.77          | 0.95         | 1.79          | 1.58          | 1.49         |
| C3DC                                      | 0.07                          | 0.15          | 0.04          | 0.14           | 0.00             | 0.14          | 0.13         | 0.17          | 0.08          | 0.12         |
| C4  | 0.19                          | 0.20          | 0.18          | 0.24           | 0.03             | 0.22          | 0.32         | 0.29          | 0.20          | 0.18         |
| C4DC                                      | 0.58                          | 0.59          | 0.89          | 1.72           | 0.08             | 0.78          | 0.71         | 0.81          | 0.57          | 1.36         |
| C4OH                                      | 0.07                          | 0.13          | 0.05          | 0.22           | 0.01             | 0.16          | 0.24         | 0.06          | 0.11          | 0.07         |
| C5  | 0.11                          | 0.13          | 0.08          | 0.26           | 0.00             | 0.27          | 0.22         | 0.18          | 0.10          | 0.12         |
| C5DC                                      | 0.08                          | 0.19          | 0.08          | 0.21           | 0.02             | 0.22          | 0.23         | 0.12          | 0.08          | 0.08         |
| C5:1                                      | 0.03                          | 0.05          | 0.01          | 0.07           | 0.01             | 0.06          | 0.07         | 0.02          | 0.02          | 0.01         |
| C5OH                                      | 0.25                          | 0.17          | 0.16          | 0.53           | 0.02             | 0.27          | 0.30         | 0.26          | 0.38          | 0.24         |
| C6  | 0.08                          | 0.14          | 0.18          | 0.11           | 0.01             | 0.10          | 0.09         | 0.88          | 0.07          | 0.20         |
| C8  | 0.08                          | 0.23          | 0.04          | 0.09           | 0.00             | 0.09          | 0.09         | 0.16          | 0.06          | 0.20         |
| C8:1                                      | 0.05                          | 0.08          | 0.04          | 0.09           | 0.01             | 0.07          | 0.11         | 0.04          | 0.06          | 0.01         |
| C10                                       | 0.11                          | 0.25          | 0.30          | 0.12           | 0.02             | 0.11          | 0.08         | 0.44          | 0.08          | 0.92         |
| C10:1                                     | 0.08                          | 0.14          | 0.06          | 0.10           | 0.03             | 0.12          | 0.09         | 0.08          | 0.08          | 0.05         |
| C12                                       | 0.09                          | 0.12          | 0.09          | 0.22           | 0.02             | 0.13          | 0.08         | 0.10          | 0.17          | 0.07         |
| C14                                       | 0.08                          | 0.11          | 0.08          | 0.19           | 0.02             | 0.11          | 0.09         | 0.10          | 0.15          | 0.08         |
| C14:1                                     | 0.10                          | 0.14          | 0.09          | 0.26           | 0.01             | 0.13          | 0.11         | 0.11          | 0.16          | 0.07         |
| C14:2                                     | 0.04                          | 0.03          | 0.04          | 0.10           | 0.01             | 0.05          | 0.06         | 0.04          | 0.05          | 0.03         |
| C14OH                                     | 0.01                          | 0.02          | 0.01          | 0.03           | 0.01             | 0.02          | 0.03         | 0.01          | 0.01          | 0.01         |
| C16                                       | 0.56                          | 0.78          | 0.72          | 1.14           | 0.04             | 0.83          | 0.56         | 0.79          | 1.49          | 0.59         |
| C16:1                                     | 0.05                          | 0.06          | 0.04          | 0.13           | 0.00             | 0.06          | 0.07         | 0.04          | 0.08          | 0.03         |
| C16:1OH                                   | 0.04                          | 0.05          | 0.03          | 0.05           | 0.01             | 0.07          | 0.04         | 0.03          | 0.06          | 0.03         |
| C16OH                                     | 0.01                          | 0.01          | 0.02          | 0.02           | 0.02             | 0.02          | 0.01         | 0.02          | 0.02          | 0.03         |
| C18                                       | 0.28                          | 0.56          | 0.34          | 0.59           | 0.04             | 0.40          | 0.36         | 0.50          | 0.97          | 0.40         |
| C18:1                                     | 0.56                          | 0.75          | 0.53          | 1.14           | 0.02             | 0.70          | 0.66         | 0.82          | 1.24          | 0.46         |
| C18:1OH                                   | 0.00                          | 0.01          | 0.00          | 0.02           | 0.00             | 0.02          | 0.01         | 0.01          | 0.02          | 0.01         |
| C18:2OH                                   | 0.02                          | 0.02          | 0.02          | 0.03           | 0.02             | 0.03          | 0.02         | 0.02          | 0.02          | 0.02         |
| C18OH                                     | 0.01                          | 0.01          | 0.02          | 0.01           | 0.02             | 0.01          | 0.01         | 0.01          | 0.01          | 0.02         |

Продолжение таблицы А.8

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>                        |                               |              |               |               |                 |               |               |               |              |              |
|--|-------------------------------|--------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                            | <b>11</b>                     | <b>12</b>    | <b>13</b>     | <b>14</b>     | <b>15</b>       | <b>16</b>     | <b>17</b>     | <b>18</b>     | <b>19</b>    | <b>20</b>    |
| <b>Возраст пациента</b>                          | <b>7 лет</b>                  | <b>8 лет</b> | <b>4 года</b> | <b>2 года</b> | <b>1.6 года</b> | <b>3 года</b> | <b>9 мес.</b> | <b>3 года</b> | <b>5 лет</b> | <b>6 лет</b> |
| <b>Маркеры</b>                                   | <b>Концентрация, мкмоль/л</b> |              |               |               |                 |               |               |               |              |              |
| <i><b>Аминокислоты</b></i>                       |                               |              |               |               |                 |               |               |               |              |              |
| Ala  | 262.42                        | 112.67       | 364.50        | 154.48        | 334.73          | 308.98        | 189.67        | 258.62        | 486.56       | 261.42       |
| Asp  | 62.58                         | 42.00        | 113.84        | 38.51         | 129.55          | 82.67         | 69.41         | 95.46         | 174.01       | 69.18        |
| Glu  | 194.85                        | 126.50       | 206.90        | 155.85        | 212.70          | 155.46        | 126.49        | 213.64        | 244.23       | 168.10       |
| Xle  | 122.03                        | 111.16       | 118.16        | 64.48         | 124.28          | 167.55        | 182.73        | 123.54        | 167.82       | 81.72        |
| Met  | 5.89                          | 2.12         | 8.01          | 3.23          | 8.28            | 9.33          | 5.70          | 5.06          | 7.73         | 4.30         |
| Phe  | 40.98                         | 24.17        | 47.53         | 20.15         | 48.81           | 32.49         | 26.22         | 20.63         | 41.02        | 34.52        |
| Tyr  | 48.17                         | 26.44        | 54.67         | 24.57         | 64.46           | 33.25         | 37.86         | 23.76         | 63.95        | 43.92        |
| Val  | 128.93                        | 122.80       | 126.69        | 77.84         | 133.21          | 124.67        | 119.29        | 91.86         | 172.25       | 87.49        |
| Arg  | 20.39                         | 12.87        | 58.48         | 23.29         | 25.32           | 55.91         | 29.33         | 27.10         | 38.85        | 17.15        |
| Cit  | 15.73                         | 12.34        | 49.27         | 20.86         | 22.15           | 29.81         | 24.31         | 18.02         | 27.85        | 19.43        |
| Gly  | 191.00                        | 87.57        | 245.92        | 138.18        | 237.73          | 224.95        | 200.43        | 256.01        | 329.30       | 202.65       |
| Orn  | 60.51                         | 37.75        | 63.45         | 39.34         | 82.87           | 61.73         | 42.38         | 53.78         | 107.87       | 88.74        |
| <i><b>Ацилкарнитины и свободный карнитин</b></i> |                               |              |               |               |                 |               |               |               |              |              |
| C0   | 22.46                         | 9.77         | 30.34         | 23.18         | 26.00           | 21.42         | 12.49         | 14.58         | 28.12        | 15.26        |
| C2   | 16.36                         | 29.97        | 23.90         | 18.61         | 22.10           | 15.80         | 16.54         | 14.57         | 31.48        | 22.24        |
| C3   | 1.54                          | 1.90         | 2.58          | 1.31          | 1.74            | 1.78          | 0.87          | 0.99          | 4.32         | 1.35         |
| C3DC   | 0.13                          | 0.19         | 0.00          | 0.18          | 0.26            | 0.00          | 0.07          | 0.08          | 0.21         | 0.21         |
| C4   | 0.23                          | 0.13         | 0.18          | 0.09          | 0.16            | 0.14          | 0.09          | 0.19          | 0.53         | 0.12         |
| C4DC   | 1.21                          | 0.74         | 0.74          | 0.48          | 0.89            | 0.48          | 0.99          | 0.10          | 0.66         | 0.58         |
| C4OH   | 0.04                          | 0.30         | 0.07          | 0.07          | 0.06            | 0.06          | 0.06          | 0.04          | 0.12         | 0.09         |
| C5   | 0.14                          | 0.10         | 0.18          | 0.07          | 0.15            | 0.09          | 0.06          | 0.06          | 0.22         | 0.08         |
| C5DC   | 0.06                          | 0.11         | 0.10          | 0.10          | 0.12            | 0.19          | 0.09          | 0.09          | 0.15         | 0.13         |
| C5:1   | 0.02                          | 0.02         | 0.02          | 0.03          | 0.01            | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.04         | 0.02         |
| C5OH   | 0.24                          | 0.19         | 0.20          | 0.19          | 0.25            | 0.14          | 0.14          | 0.14          | 0.38         | 0.18         |
| C6   | 0.03                          | 0.05         | 0.05          | 0.04          | 0.08            | 0.08          | 0.03          | 0.03          | 0.06         | 0.05         |
| C8   | 0.02                          | 0.09         | 0.04          | 0.03          | 0.08            | 0.21          | 0.05          | 0.05          | 0.05         | 0.07         |
| C8:1   | 0.03                          | 0.03         | 0.03          | 0.04          | 0.05            | 0.04          | 0.03          | 0.02          | 0.04         | 0.05         |
| C10  | 0.03                          | 0.16         | 0.06          | 0.05          | 0.12            | 0.30          | 0.06          | 0.05          | 0.08         | 0.10         |
| C10:1  | 0.02                          | 0.10         | 0.04          | 0.05          | 0.10            | 0.17          | 0.06          | 0.04          | 0.07         | 0.09         |
| C12  | 0.05                          | 0.20         | 0.17          | 0.08          | 0.16            | 0.11          | 0.05          | 0.07          | 0.17         | 0.15         |
| C14  | 0.06                          | 0.15         | 0.17          | 0.07          | 0.13            | 0.07          | 0.05          | 0.06          | 0.13         | 0.11         |
| C14:1  | 0.04                          | 0.28         | 0.17          | 0.11          | 0.20            | 0.13          | 0.06          | 0.08          | 0.14         | 0.17         |
| C14:2  | 0.02                          | 0.11         | 0.07          | 0.02          | 0.06            | 0.06          | 0.03          | 0.03          | 0.06         | 0.06         |
| C14OH  | 0.01                          | 0.02         | 0.01          | 0.01          | 0.01            | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01         | 0.01         |
| C16  | 0.43                          | 0.69         | 0.80          | 0.42          | 0.73            | 0.54          | 0.36          | 0.53          | 0.79         | 0.70         |
| C16:1  | 0.03                          | 0.08         | 0.06          | 0.04          | 0.05            | 0.04          | 0.03          | 0.04          | 0.08         | 0.05         |
| C16:1OH  | 0.03                          | 0.05         | 0.04          | 0.03          | 0.03            | 0.02          | 0.02          | 0.03          | 0.04         | 0.03         |
| C16OH  | 0.01                          | 0.02         | 0.01          | 0.01          | 0.01            | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.02         | 0.01         |
| C18  | 0.19                          | 0.43         | 0.60          | 0.23          | 0.52            | 0.36          | 0.15          | 0.39          | 0.31         | 0.36         |
| C18:1  | 0.29                          | 0.65         | 0.70          | 0.41          | 0.80            | 0.58          | 0.37          | 0.73          | 0.57         | 0.65         |
| C18:1OH  | 0.01                          | 0.01         | 0.01          | 0.02          | 0.01            | 0.01          | 0.00          | 0.01          | 0.01         | 0.01         |
| C18:2OH  | 0.01                          | 0.02         | 0.04          | 0.02          | 0.02            | 0.02          | 0.01          | 0.01          | 0.03         | 0.02         |
| C18OH  | 0.01                          | 0.01         | 0.01          | 0.01          | 0.01            | 0.01          | 0.00          | 0.00          | 0.02         | 0.01         |

Продолжение таблицы А.8

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>                 |                               |               |               |               |               |               |               |              |               |               |
|---|-------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                     | <b>21</b>                     | <b>22</b>     | <b>23</b>     | <b>24</b>     | <b>25</b>     | <b>26</b>     | <b>27</b>     | <b>28</b>    | <b>29</b>     | <b>30</b>     |
| <b>Возраст пациента</b>                   | <b>10 лет</b>                 | <b>11 лет</b> | <b>4 года</b> | <b>2 года</b> | <b>10 лет</b> | <b>11 лет</b> | <b>15 лет</b> | <b>6 лет</b> | <b>2 года</b> | <b>3 года</b> |
| <b>Маркеры</b>                            | <b>Концентрация, мкмоль/л</b> |               |               |               |               |               |               |              |               |               |
| <i>Аминокислоты</i>                       |                               |               |               |               |               |               |               |              |               |               |
| Ala                                       | 434.32                        | 217.83        | 335.36        | 184.71        | 247.68        | 298.94        | 509.43        | 199.38       | 293.55        | 203.71        |
| Asp                                       | 133.05                        | 77.43         | 96.88         | 81.01         | 65.04         | 143.13        | 122.28        | 55.06        | 54.15         | 177.73        |
| Glu                                       | 195.99                        | 157.92        | 353.64        | 173.58        | 194.98        | 229.35        | 232.72        | 159.31       | 169.22        | 228.93        |
| Xle                                       | 205.26                        | 144.15        | 107.52        | 123.94        | 109.98        | 142.88        | 129.48        | 148.87       | 88.77         | 111.56        |
| Met                                       | 9.96                          | 6.44          | 12.71         | 7.16          | 5.75          | 8.23          | 6.36          | 4.58         | 4.71          | 5.96          |
| Phe                                       | 44.65                         | 25.62         | 50.77         | 28.43         | 25.94         | 42.36         | 34.01         | 38.00        | 24.42         | 39.63         |
| Tyr                                       | 69.72                         | 32.29         | 60.48         | 40.21         | 32.92         | 63.59         | 53.16         | 29.83        | 35.75         | 38.29         |
| Val                                       | 120.54                        | 107.00        | 158.19        | 54.60         | 98.36         | 129.52        | 137.69        | 110.19       | 95.93         | 109.68        |
| Arg                                       | 38.70                         | 18.83         | 16.63         | 29.68         | 24.34         | 43.97         | 36.49         | 17.59        | 24.00         | 21.04         |
| Cit                                       | 29.95                         | 18.33         | 25.84         | 25.80         | 28.63         | 29.04         | 32.20         | 12.51        | 20.03         | 32.96         |
| Gly                                       | 233.13                        | 146.93        | 311.61        | 215.17        | 200.40        | 308.96        | 322.32        | 108.68       | 199.31        | 306.11        |
| Orn                                       | 99.79                         | 42.19         | 76.65         | 69.82         | 79.18         | 178.74        | 99.89         | 46.51        | 50.72         | 66.78         |
| <i>Ацилкарнитины и свободный карнитин</i> |                               |               |               |               |               |               |               |              |               |               |
| C0  | 34.41                         | 24.33         | 33.01         | 15.67         | 18.32         | 21.89         | 40.01         | 18.41        | 14.21         | 22.60         |
| C2  | 42.66                         | 20.24         | 60.47         | 26.43         | 15.10         | 20.46         | 25.67         | 25.17        | 13.78         | 38.94         |
| C3  | 1.81                          | 1.70          | 2.43          | 1.90          | 1.49          | 1.79          | 2.30          | 1.00         | 1.02          | 3.34          |
| C3DC                                      | 0.06                          | 0.24          | 0.09          | 0.44          | 0.12          | 0.17          | 0.04          | 0.12         | 0.07          | 0.10          |
| C4  | 0.19                          | 0.23          | 0.38          | 0.18          | 0.18          | 0.29          | 0.51          | 0.14         | 0.12          | 0.24          |
| C4DC                                      | 0.83                          | 0.72          | 0.02          | 0.88          | 1.03          | 0.81          | 0.11          | 0.66         | 0.53          | 1.13          |
| C4OH                                      | 0.12                          | 0.09          | 0.18          | 0.15          | 0.07          | 0.06          | 0.09          | 0.10         | 0.05          | 0.12          |
| C5  | 0.07                          | 0.11          | 0.30          | 0.19          | 0.12          | 0.18          | 0.24          | 0.05         | 0.07          | 0.10          |
| C5DC                                      | 0.07                          | 0.08          | 0.07          | 0.11          | 0.08          | 0.12          | 0.26          | 0.08         | 0.06          | 0.10          |
| C5:1                                      | 0.00                          | 0.01          | 0.03          | 0.03          | 0.01          | 0.02          | 0.04          | 0.01         | 0.00          | 0.02          |
| C5OH                                      | 0.20                          | 0.26          | 0.29          | 0.43          | 0.24          | 0.26          | 0.32          | 0.16         | 0.16          | 0.55          |
| C6  | 0.03                          | 0.05          | 0.04          | 0.06          | 0.06          | 0.04          | 0.07          | 0.04         | 0.03          | 0.06          |
| C8  | 0.04                          | 0.07          | 0.09          | 0.08          | 0.03          | 0.06          | 0.06          | 0.06         | 0.05          | 0.05          |
| C8:1                                      | 0.05                          | 0.02          | 0.17          | 0.04          | 0.01          | 0.04          | 0.09          | 0.03         | 0.01          | 0.05          |
| C10                                       | 0.06                          | 0.09          | 0.11          | 0.10          | 0.03          | 0.07          | 0.09          | 0.09         | 0.06          | 0.08          |
| C10:1                                     | 0.05                          | 0.07          | 0.04          | 0.08          | 0.05          | 0.08          | 0.10          | 0.08         | 0.03          | 0.07          |
| C12                                       | 0.15                          | 0.08          | 0.09          | 0.10          | 0.07          | 0.10          | 0.13          | 0.08         | 0.12          | 0.12          |
| C14                                       | 0.15                          | 0.08          | 0.10          | 0.09          | 0.08          | 0.10          | 0.09          | 0.10         | 0.09          | 0.11          |
| C14:1                                     | 0.17                          | 0.09          | 0.09          | 0.09          | 0.07          | 0.11          | 0.09          | 0.11         | 0.08          | 0.17          |
| C14:2                                     | 0.05                          | 0.04          | 0.04          | 0.03          | 0.03          | 0.04          | 0.05          | 0.05         | 0.03          | 0.06          |
| C14OH                                     | 0.01                          | 0.01          | 0.02          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01         | 0.01          | 0.01          |
| C16                                       | 1.22                          | 0.50          | 0.61          | 0.55          | 0.59          | 0.79          | 0.64          | 0.70         | 0.67          | 0.65          |
| C16:1                                     | 0.07                          | 0.03          | 0.05          | 0.06          | 0.03          | 0.04          | 0.04          | 0.04         | 0.02          | 0.07          |
| C16:1OH                                   | 0.06                          | 0.03          | 0.03          | 0.05          | 0.03          | 0.03          | 0.04          | 0.03         | 0.03          | 0.05          |
| C16OH                                     | 0.01                          | 0.01          | 0.02          | 0.01          | 0.03          | 0.02          | 0.02          | 0.01         | 0.01          | 0.01          |
| C18                                       | 0.79                          | 0.38          | 0.32          | 0.26          | 0.40          | 0.50          | 0.40          | 0.67         | 0.33          | 0.42          |
| C18:1                                     | 1.13                          | 0.54          | 0.79          | 0.55          | 0.46          | 0.82          | 0.61          | 0.80         | 0.42          | 0.79          |
| C18:1OH                                   | 0.01                          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.01         | 0.01          | 0.01          |
| C18:2OH                                   | 0.03                          | 0.02          | 0.00          | 0.02          | 0.02          | 0.02          | 0.02          | 0.01         | 0.01          | 0.02          |
| C18OH                                     | 0.01                          | 0.01          | 0.01          | 0.01          | 0.02          | 0.01          | 0.02          | 0.00         | 0.01          | 0.01          |

Продолжение таблицы А.8

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>                        |                               |              |               |               |              |               |              |              |               |               |
|--|-------------------------------|--------------|---------------|---------------|--------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                            | <b>31</b>                     | <b>32</b>    | <b>33</b>     | <b>34</b>     | <b>35</b>    | <b>36</b>     | <b>37</b>    | <b>38</b>    | <b>39</b>     | <b>40</b>     |
| <b>Возраст пациента</b>                          | <b>11 мес.</b>                | <b>1 год</b> | <b>2 года</b> | <b>4 года</b> | <b>6 лет</b> | <b>10 лет</b> | <b>8 лет</b> | <b>5 лет</b> | <b>3 года</b> | <b>4 года</b> |
| <b>Маркеры</b>                                   | <b>Концентрация, мкмоль/л</b> |              |               |               |              |               |              |              |               |               |
| <i><b>Аминокислоты</b></i>                       |                               |              |               |               |              |               |              |              |               |               |
| Ala  | 185.35                        | 324.83       | 234.31        | 249.66        | 235.27       | 368.18        | 278.56       | 247.92       | 214.11        | 609.31        |
| Asp  | 86.69                         | 83.82        | 142.42        | 114.19        | 73.69        | 47.38         | 67.71        | 70.94        | 51.18         | 81.18         |
| Glu  | 164.83                        | 126.64       | 292.45        | 173.90        | 207.00       | 209.00        | 140.32       | 164.80       | 146.67        | 374.16        |
| Xle  | 108.07                        | 84.06        | 115.31        | 92.50         | 102.11       | 150.04        | 134.44       | 167.83       | 146.24        | 537.80        |
| Met  | 4.87                          | 6.66         | 5.10          | 5.07          | 8.28         | 5.14          | 5.46         | 4.74         | 6.68          | 13.74         |
| Phe  | 29.08                         | 20.80        | 47.55         | 23.11         | 32.37        | 25.54         | 25.69        | 29.37        | 27.35         | 45.46         |
| Tyr  | 39.67                         | 34.87        | 40.26         | 35.40         | 49.73        | 34.85         | 33.07        | 38.14        | 39.83         | 65.21         |
| Val  | 143.45                        | 90.44        | 138.61        | 94.38         | 102.97       | 94.26         | 99.02        | 111.76       | 125.51        | 134.03        |
| Arg  | 21.95                         | 29.73        | 43.67         | 26.73         | 23.47        | 38.19         | 31.97        | 21.24        | 21.15         | 31.73         |
| Cit  | 30.34                         | 30.59        | 23.11         | 35.77         | 28.76        | 26.05         | 19.20        | 18.45        | 24.95         | 22.91         |
| Gly  | 149.92                        | 234.09       | 306.04        | 203.96        | 232.61       | 371.55        | 149.96       | 130.33       | 149.37        | 294.95        |
| Orn  | 48.25                         | 60.11        | 118.82        | 87.22         | 100.67       | 52.53         | 53.39        | 44.79        | 63.18         | 116.65        |
| <i><b>Ацилкарнитины и свободный карнитин</b></i> |                               |              |               |               |              |               |              |              |               |               |
| C0   | 24.77                         | 26.32        | 13.11         | 16.00         | 20.36        | 46.64         | 25.35        | 28.07        | 23.12         | 27.06         |
| C2   | 28.28                         | 21.37        | 24.99         | 18.50         | 27.55        | 48.79         | 19.94        | 25.08        | 13.12         | 29.15         |
| C3   | 2.08                          | 1.82         | 1.75          | 1.59          | 0.73         | 0.79          | 1.73         | 2.74         | 1.14          | 2.60          |
| C3DC   | 0.09                          | 0.09         | 0.15          | 0.04          | 0.03         | 0.02          | 0.13         | 0.10         | 0.21          | 0.07          |
| C4   | 0.13                          | 0.18         | 0.23          | 0.18          | 0.12         | 0.36          | 0.20         | 0.21         | 0.03          | 0.09          |
| C4DC   | 0.78                          | 0.25         | 1.14          | 0.89          | 0.73         | 0.30          | 1.39         | 0.76         | 0.45          | 0.99          |
| C4OH   | 0.07                          | 0.06         | 0.13          | 0.05          | 0.10         | 0.10          | 0.04         | 0.07         | 0.06          | 0.19          |
| C5   | 0.07                          | 0.07         | 0.09          | 0.08          | 0.19         | 0.03          | 0.06         | 0.12         | 0.12          | 0.10          |
| C5DC   | 0.08                          | 0.07         | 0.08          | 0.08          | 0.09         | 0.07          | 0.06         | 0.08         | 0.08          | 0.10          |
| C5:1   | 0.01                          | 0.01         | 0.00          | 0.01          | 0.00         | 0.01          | 0.02         | 0.01         | 0.03          | 0.02          |
| C5OH   | 0.20                          | 0.19         | 0.20          | 0.16          | 0.14         | 0.07          | 0.17         | 0.22         | 0.87          | 0.18          |
| C6   | 0.04                          | 0.03         | 0.09          | 0.05          | 0.09         | 0.08          | 0.04         | 0.04         | 0.05          | 0.10          |
| C8   | 0.06                          | 0.05         | 0.07          | 0.04          | 0.06         | 0.11          | 0.06         | 0.05         | 0.06          | 0.14          |
| C8:1   | 0.05                          | 0.02         | 0.09          | 0.04          | 0.11         | 0.05          | 0.02         | 0.02         | 0.03          | 0.28          |
| C10  | 0.08                          | 0.06         | 0.08          | 0.04          | 0.09         | 0.13          | 0.05         | 0.06         | 0.08          | 0.15          |
| C10:1  | 0.08                          | 0.06         | 0.06          | 0.06          | 0.08         | 0.13          | 0.03         | 0.04         | 0.07          | 0.09          |
| C12  | 0.09                          | 0.10         | 0.21          | 0.09          | 0.08         | 0.17          | 0.11         | 0.13         | 0.08          | 0.20          |
| C14  | 0.08                          | 0.07         | 0.19          | 0.08          | 0.08         | 0.12          | 0.12         | 0.12         | 0.07          | 0.16          |
| C14:1  | 0.11                          | 0.09         | 0.23          | 0.09          | 0.10         | 0.22          | 0.09         | 0.14         | 0.05          | 0.19          |
| C14:2  | 0.06                          | 0.03         | 0.06          | 0.04          | 0.04         | 0.10          | 0.03         | 0.05         | 0.02          | 0.09          |
| C14OH  | 0.01                          | 0.01         | 0.03          | 0.01          | 0.01         | 0.02          | 0.01         | 0.01         | 0.00          | 0.03          |
| C16  | 0.72                          | 0.59         | 0.91          | 0.72          | 0.63         | 1.19          | 0.80         | 1.11         | 0.43          | 0.53          |
| C16:1  | 0.05                          | 0.03         | 0.08          | 0.04          | 0.04         | 0.13          | 0.04         | 0.06         | 0.03          | 0.06          |
| C16:1OH  | 0.03                          | 0.01         | 0.06          | 0.03          | 0.05         | 0.04          | 0.06         | 0.04         | 0.02          | 0.02          |
| C16OH  | 0.01                          | 0.02         | 0.03          | 0.02          | 0.01         | 0.02          | 0.01         | 0.01         | 0.01          | 0.03          |
| C18  | 0.34                          | 0.32         | 0.56          | 0.34          | 0.47         | 0.46          | 0.50         | 0.66         | 0.23          | 0.27          |
| C18:1  | 0.82                          | 0.48         | 0.74          | 0.53          | 0.60         | 1.44          | 0.60         | 0.98         | 0.35          | 0.64          |
| C18:1OH  | 0.01                          | 0.01         | 0.03          | 0.00          | 0.01         | 0.01          | 0.01         | 0.01         | 0.01          | 0.02          |
| C18:2OH  | 0.01                          | 0.01         | 0.04          | 0.02          | 0.02         | 0.03          | 0.03         | 0.02         | 0.03          | 0.03          |
| C18OH  | 0.01                          | 0.02         | 0.03          | 0.02          | 0.02         | 0.01          | 0.00         | 0.00         | 0.01          | 0.01          |

Продолжение таблицы А.8

| КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА                     |                                     |        |         |         |           |        |        |        |        |         |        |        |        |
|--|-------------------------------------|--------|---------|---------|-----------|--------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|
| № п/п пациента                         | 1                                   | 2      | 3       | 4       | 5         | 6      | 7      | 8      | 9      | 10      | 11     | 12     | 13     |
| Возраст пациента                       | 2 года                              | 10 лет | 4 года  | 10 мес. | 2 г. 7 м. | 7 мес. | 5 лет  | 3 года | 4 года | 6 лет   | 7 лет  | 8 лет  | 4 года |
| Маркеры                                | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |         |         |           |        |        |        |        |         |        |        |        |
| Органические кислоты                   |                                     |        |         |         |           |        |        |        |        |         |        |        |        |
| Молочная кислота                       | 130.29                              | 123.17 | 92.55   | 18.08   | 8.36      | 145.66 | 18.31  | 41.81  | 38.76  | 234.25  | 96.28  | 24.41  | 21.58  |
| Гликолиевая кислота                    | 117.75                              | 58.53  | 136.96  | 32.21   | 41.81     | 177.75 | 135.26 | 53.11  | 14.13  | 122.04  | 74.24  | 23.50  | 39.78  |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 0.00                                | 1.13   | 3.84    | 40.68   | 3.28      | 2.41   | 0.00   | 3.39   | 2.37   | 1.42    | 1.70   | 1.70   | 2.49   |
| Глицериновая кислота                   | 0.00                                | 2.95   | 14.01   | 3.05    | 7.23      | 3.37   | 0.00   | 4.41   | 8.81   | 2.38    | 5.42   | 2.26   | 9.94   |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.00                                | 1.37   | 0.23    | 0.00    | 0.23      | 1.33   | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00   |
| Пировиноградная кислота                | 7.06                                | 4.75   | 25.99   | 37.29   | 18.08     | 153.57 | 13.90  | 31.64  | 7.91   | 7.01    | 9.27   | 12.54  | 6.89   |
| Изовалериановая кислота                | 1.15                                | 1.13   | 40.34   | 10.62   | 2.60      | 1.90   | 0.00   | 4.18   | 4.63   | 0.00    | 1.24   | 1.70   | 10.62  |
| Адипиновая кислота                     | 17.18                               | 289.28 | 5.42    | 54.24   | 68.03     | 185.55 | 29.95  | 38.42  | 81.70  | 49.95   | 22.94  | 17.06  | 36.16  |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 0.00                                | 4.29   | 0.68    | 1.13    | 2.60      | 2.46   | 0.00   | 0.68   | 2.94   | 0.43    | 0.00   | 1.81   | 0.00   |
| Этилмалоновая кислота                  | 0.00                                | 0.72   | 3.28    | 3.84    | 3.05      | 0.53   | 2.79   | 0.34   | 0.68   | 1.41    | 2.49   | 0.79   | 0.45   |
| Мевалоновая кислота                    | 0.00                                | 1.36   | 0.11    | 2.26    | 0.23      | 2.19   | 0.00   | 0.11   | 0.11   | 0.64    | 0.23   | 0.23   | 0.34   |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 2.94                                | 7.01   | 9.27    | 50.85   | 23.28     | 16.35  | 14.46  | 4.75   | 25.43  | 3.63    | 6.33   | 8.14   | 21.02  |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 0.34                                | 0.00   | 0.00    | 0.00    | 3.28      | 4.09   | 0.00   | 14.24  | 9.04   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00   |
| Метилмалоновая кислота                 | 0.00                                | 2.12   | 5.76    | 1.36    | 1.47      | 0.86   | 1.29   | 0.45   | 0.57   | 1.04    | 0.34   | 0.23   | 0.68   |
| Фенилмолочная кислота                  | 0.00                                | 12.66  | 1.70    | 0.23    | 6.67      | 0.75   | 0.00   | 7.01   | 3.05   | 0.24    | 0.00   | 0.40   | 0.23   |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 1.11                                | 3.28   | 2.71    | 4.52    | 5.31      | 4.02   | 2.71   | 2.37   | 2.60   | 1.84    | 5.42   | 2.37   | 2.71   |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 0.00                                | 0.00   | 0.45    | 0.00    | 0.11      | 0.00   | 0.00   | 4.18   | 0.11   | 0.00    | 0.00   | 0.11   | 0.11   |
| Сукциновая кислота                     | 32.35                               | 17.06  | 0.68    | 97.18   | 3.16      | 17.58  | 7.80   | 1.92   | 16.27  | 7.80    | 18.42  | 14.69  | 11.41  |
| Гомогентизиновая кислота               | 2.94                                | 0.00   | 8.59    | 2.71    | 1.92      | 1.86   | 0.00   | 7.35   | 0.90   | 1.89    | 1.81   | 1.92   | 2.83   |
| Гиппуровая кислота                     | 118.91                              | 143.40 | 1614.54 | 444.66  | 120.57    | 198.09 | 112.55 | 610.88 | 468.39 | 1765.06 | 141.93 | 197.07 | 196.39 |
| Себациновая кислота                    | 0.00                                | 0.00   | 2.03    | 16.95   | 1.92      | 0.37   | 0.00   | 0.68   | 0.23   | 8.36    | 0.00   | 1.92   | 0.68   |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 1.36                                | 1.47   | 6.67    | 1.70    | 2.83      | 3.96   | 1.83   | 1.24   | 1.13   | 0.70    | 2.03   | 2.94   | 1.47   |
| Глутаровая кислота                     | 0.26                                | 4.29   | 0.79    | 4.97    | 6.33      | 0.72   | 0.00   | 4.75   | 1.70   | 0.26    | 0.73   | 0.23   | 0.96   |
| Фенилпировиноградная кислота           | 0.73                                | 1.81   | 4.52    | 2.15    | 1.36      | 3.37   | 0.00   | 1.47   | 2.71   | 1.82    | 0.00   | 0.53   | 2.49   |
| Субериновая кислота                    | 0.61                                | 2.18   | 0.23    | 0.45    | 1.92      | 2.12   | 0.00   | 0.23   | 0.23   | 4.63    | 1.58   | 0.23   | 0.23   |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0.00                                | 0.00   | 0.11    | 0.00    | 0.57      | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.57   | 0.00    | 0.68   | 0.34   | 0.57   |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 29.72                               | 111.76 | 10.17   | 83.62   | 73.45     | 84.94  | 53.34  | 29.38  | 50.85  | 3.88    | 23.28  | 20.79  | 36.16  |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.00                                | 0.00   | 0.23    | 0.34    | 0.34      | 0.41   | 0.00   | 0.45   | 0.34   | 0.00    | 0.00   | 0.11   | 0.45   |

Продолжение таблицы А.8

| КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА                     |                                     |          |        |        |        |        |         |         |        |        |        |        |         |
|--|-------------------------------------|----------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|--------|--------|--------|--------|---------|
| № п/п пациента                         | 14                                  | 15       | 16     | 17     | 18     | 19     | 20      | 21      | 22     | 23     | 24     | 25     | 26      |
| Возраст пациента                       | 2 года                              | 1.6 года | 3 года | 9 мес. | 3 года | 5 лет  | 6 лет   | 10 лет  | 11 лет | 4 года | 2 года | 10 лет | 11 лет  |
| Маркеры                                | Концентрация, ммоль/моль креатинина |          |        |        |        |        |         |         |        |        |        |        |         |
| <i>Органические кислоты</i>            |                                     |          |        |        |        |        |         |         |        |        |        |        |         |
| Молочная кислота                       | 8.36                                | 103.73   | 52.88  | 10.06  | 22.26  | 4.86   | 14.87   | 29.15   | 29.72  | 58.76  | 16.72  | 12.54  | 211.54  |
| Гликолиевая кислота                    | 9.04                                | 93.45    | 26.44  | 9.83   | 171.08 | 98.42  | 37.18   | 13.90   | 71.82  | 44.07  | 26.10  | 32.62  | 107.24  |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 0.34                                | 3.62     | 0.66   | 2.37   | 1.81   | 8.59   | 183.40  | 2.80    | 90.72  | 3.16   | 18.53  | 4.07   | 0.67    |
| Глицериновая кислота                   | 8.14                                | 6.22     | 5.09   | 20.68  | 6.78   | 9.04   | 5.54    | 6.89    | 6.80   | 62.15  | 1.58   | 20.91  | 0.00    |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.00                                | 0.07     | 0.07   | 0.00   | 0.11   | 0.11   | 40.84   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.11   | 0.00   | 0.00    |
| Пировиноградная кислота                | 6.78                                | 49.49    | 41.36  | 7.68   | 5.20   | 8.59   | 19.78   | 30.96   | 83.16  | 12.43  | 8.81   | 0.00   | 94.81   |
| Изовалериановая кислота                | 2.03                                | 7.73     | 16.16  | 1.36   | 21.36  | 25.65  | 241.71  | 0.00    | 23.69  | 5.65   | 7.46   | 3.08   | 6.41    |
| Адипиновая кислота                     | 27.35                               | 53.56    | 51.08  | 7.80   | 30.96  | 35.03  | 108.03  | 52.88   | 120.96 | 24.63  | 61.02  | 9.98   | 55.26   |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 1.02                                | 4.75     | 15.26  | 2.26   | 1.92   | 1.70   | 5.09    | 1.72    | 2.52   | 9.04   | 2.15   | 0.00   | 0.07    |
| Этилмалоновая кислота                  | 0.23                                | 4.72     | 4.19   | 1.02   | 1.41   | 2.03   | 0.72    | 0.96    | 8.57   | 3.05   | 1.92   | 0.25   | 2.71    |
| Мевалоновая кислота                    | 0.11                                | 20.45    | 6.51   | 0.11   | 0.23   | 0.34   | 0.79    | 1.68    | 5.04   | 2.26   | 0.90   | 0.00   | 1.66    |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 4.97                                | 6.80     | 6.80   | 5.88   | 18.08  | 15.37  | 58.65   | 17.42   | 113.40 | 3.62   | 11.07  | 31.81  | 7.01    |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 0.00                                | 0.00     | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 5.88    | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.00    |
| Метилмалоновая кислота                 | 1.02                                | 0.86     | 0.93   | 1.36   | 0.34   | 1.02   | 1.45    | 1.72    | 3.02   | 2.37   | 0.68   | 0.00   | 1.83    |
| Фенилмолочная кислота                  | 1.36                                | 0.72     | 9.33   | 1.24   | 1.92   | 4.86   | 1.97    | 0.00    | 0.50   | 5.65   | 2.94   | 0.00   | 0.00    |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 2.37                                | 4.07     | 3.10   | 2.83   | 4.86   | 3.84   | 2.20    | 0.00    | 10.08  | 0.45   | 8.36   | 2.49   | 3.21    |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 0.11                                | 0.00     | 0.00   | 0.23   | 0.68   | 0.23   | 1.92    | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 0.23    |
| Сукциновая кислота                     | 0.45                                | 18.98    | 19.66  | 15.03  | 2.94   | 2.60   | 0.40    | 66.67   | 216.71 | 18.08  | 16.95  | 0.06   | 20.68   |
| Гомогентизиновая кислота               | 10.17                               | 2.94     | 0.38   | 1.36   | 1.70   | 2.03   | 1.34    | 0.00    | 6.05   | 0.00   | 1.24   | 4.10   | 0.00    |
| Гиппуровая кислота                     | 135.60                              | 185.89   | 438.44 | 71.98  | 473.58 | 721.39 | 1563.00 | 2982.07 | 991.58 | 925.47 | 220.12 | 50.85  | 568.28  |
| Себациновая кислота                    | 0.23                                | 0.69     | 1.99   | 0.45   | 0.34   | 1.58   | 0.36    | 0.00    | 5.99   | 1.81   | 0.68   | 10.51  | 1.24    |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 1.47                                | 1.74     | 1.74   | 0.68   | 1.36   | 1.92   | 0.72    | 0.00    | 3.78   | 15.82  | 1.36   | 0.42   | 1.24    |
| Глутаровая кислота                     | 0.79                                | 6.10     | 10.40  | 4.29   | 1.70   | 1.81   | 0.90    | 1.56    | 11.09  | 6.78   | 4.52   | 0.15   | 5.76    |
| Фенилпировиноградная кислота           | 5.42                                | 2.42     | 4.29   | 2.94   | 2.26   | 4.97   | 4.84    | 3.03    | 4.79   | 4.18   | 1.24   | 15.82  | 3.08    |
| Субериновая кислота                    | 0.23                                | 1.11     | 1.49   | 0.57   | 0.57   | 0.45   | 2.08    | 0.00    | 10.74  | 1.70   | 0.23   | 0.00   | 2.03    |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0.11                                | 0.07     | 0.10   | 0.11   | 0.45   | 0.00   | 0.53    | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.45   | 0.00   | 0.23    |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 11.30                               | 22.71    | 20.79  | 23.05  | 124.87 | 108.48 | 72.66   | 13.90   | 186.47 | 22.94  | 87.01  | 14.86  | 1962.81 |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.00                                | 0.09     | 0.05   | 0.11   | 0.23   | 0.34   | 2.14    | 0.03    | 0.76   | 0.00   | 0.11   | 1.31   | 0.00    |

Продолжение таблицы А.8

| КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА                     |                                     |        |        |        |         |        |        |         |        |        |         |        |        |        |
|--|-------------------------------------|--------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|---------|--------|--------|--------|
| № п/п пациента                         | 27                                  | 28     | 29     | 30     | 31      | 32     | 33     | 34      | 35     | 36     | 37      | 38     | 39     | 40     |
| Возраст пациента                       | 15 лет                              | 6 лет  | 2 года | 3 года | 11 мес. | 1 год  | 2 года | 4 года  | 6 лет  | 10 лет | 8 лет   | 5 лет  | 3 года | 4 года |
| Маркеры                                | Концентрация, ммоль/моль креатинина |        |        |        |         |        |        |         |        |        |         |        |        |        |
| <i>Органические кислоты</i>            |                                     |        |        |        |         |        |        |         |        |        |         |        |        |        |
| Молочная кислота                       | 88.59                               | 14.24  | 14.92  | 14.92  | 25.65   | 13.33  | 236.17 | 107.80  | 42.71  | 27.63  | 40.00   | 68.50  | 120.00 | 42.75  |
| Гликолиевая кислота                    | 49.72                               | 85.77  | 70.40  | 8.59   | 117.52  | 11.98  | 117.97 | 68.25   | 7.80   | 105.25 | 202.50  | 131.25 | 141.25 | 21.13  |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 10.96                               | 3.28   | 1.40   | 1.13   | 1.42    | 4.07   | 2.98   | 5.99    | 6.44   | 14.01  | 18.75   | 2.18   | 4.63   | 24.50  |
| Глицериновая кислота                   | 1.36                                | 2.37   | 0.23   | 5.20   | 3.01    | 8.36   | 1.53   | 13.00   | 5.65   | 39.63  | 50.00   | 0.00   | 8.75   | 6.41   |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.23                                | 0.00   | 0.00   | 0.00   | 1.39    | 0.11   | 1.37   | 0.00    | 0.00   | 13.63  | 0.00    | 0.26   | 0.00   | 0.00   |
| Пировиноградная кислота                | 9.04                                | 11.64  | 10.45  | 1.47   | 2.60    | 3.16   | 8.36   | 7.01    | 5.65   | 7.50   | 20.00   | 4.43   | 31.25  | 8.59   |
| Изовалериановая кислота                | 57.63                               | 8.93   | 0.00   | 3.73   | 0.00    | 25.31  | 0.00   | 0.00    | 4.86   | 1.20   | 6.25    | 3.90   | 16.25  | 7.13   |
| Адипиновая кислота                     | 8.48                                | 31.53  | 22.94  | 72.77  | 51.42   | 9.94   | 50.51  | 20.68   | 30.74  | 20.00  | 8.75    | 35.25  | 22.75  | 8.88   |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 1.70                                | 0.79   | 4.76   | 0.57   | 4.28    | 0.23   | 4.31   | 0.00    | 1.92   | 4.54   | 0.00    | 0.00   | 5.13   | 7.31   |
| Этилмалоновая кислота                  | 0.90                                | 5.99   | 0.00   | 0.45   | 1.40    | 0.90   | 3.06   | 5.83    | 3.16   | 1.39   | 18.75   | 1.54   | 4.38   | 2.44   |
| Мевалоновая кислота                    | 0.23                                | 1.36   | 0.00   | 0.00   | 0.71    | 0.23   | 1.62   | 1.81    | 0.23   | 1.61   | 3.75    | 3.13   | 3.75   | 2.50   |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 8.36                                | 24.07  | 3.62   | 5.88   | 2.94    | 11.98  | 0.00   | 4.75    | 8.70   | 3.75   | 3.75    | 2.50   | 3.88   | 0.00   |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 3.28                                | 0.00   | 0.00   | 0.23   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00    | 4.88   | 0.00   | 0.00   |
| Метилмалоновая кислота                 | 1.36                                | 2.15   | 1.70   | 0.57   | 1.05    | 0.68   | 1.04   | 1.48    | 4.07   | 2.36   | 1.56    | 1.63   | 2.25   | 0.29   |
| Фенилмолочная кислота                  | 1.70                                | 0.11   | 0.00   | 3.96   | 0.24    | 0.79   | 0.42   | 2.17    | 2.26   | 2.44   | 3.75    | 2.09   | 2.12   | 4.25   |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 3.84                                | 5.54   | 0.00   | 2.26   | 1.01    | 2.15   | 3.13   | 5.37    | 5.65   | 0.00   | 0.00    | 2.36   | 440.00 | 0.00   |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 0.11                                | 0.11   | 0.00   | 0.57   | 0.00    | 0.11   | 0.00   | 0.00    | 0.00   | 0.28   | 0.00    | 1.86   | 0.75   | 0.00   |
| Сукциновая кислота                     | 5.65                                | 17.29  | 5.92   | 5.65   | 7.99    | 11.30  | 3.73   | 32.49   | 9.04   | 7.76   | 12.50   | 5.63   | 27.50  | 17.75  |
| Гомогентизиновая кислота               | 0.68                                | 1.70   | 0.00   | 1.24   | 0.00    | 0.45   | 2.97   | 0.00    | 3.96   | 0.00   | 0.00    | 0.33   | 0.00   | 3.13   |
| Гиппуровая кислота                     | 101.93                              | 46.33  | 183.40 | 115.71 | 113.90  | 102.60 | 370.75 | 2463.40 | 193.00 | 204.38 | 1237.50 | 80.50  | 878.75 | 168.25 |
| Себациновая кислота                    | 0.45                                | 1.24   | 0.68   | 0.79   | 0.87    | 0.57   | 0.87   | 1.54    | 1.13   | 0.85   | 2.25    | 0.00   | 0.00   | 1.43   |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 0.90                                | 1.92   | 0.00   | 0.34   | 0.72    | 0.79   | 0.78   | 2.94    | 1.58   | 6.98   | 8.75    | 0.00   | 2.13   | 2.06   |
| Глутаровая кислота                     | 0.79                                | 0.45   | 0.11   | 1.92   | 2.08    | 1.47   | 3.45   | 1.13    | 0.58   | 3.76   | 5.00    | 1.95   | 12.50  | 6.38   |
| Фенилпировиноградная кислота           | 4.75                                | 1.92   | 0.00   | 6.55   | 1.84    | 6.55   | 1.90   | 0.00    | 0.90   | 2.45   | 0.00    | 4.55   | 3.38   | 4.50   |
| Субериновая кислота                    | 1.24                                | 0.23   | 0.36   | 0.11   | 0.13    | 0.23   | 1.40   | 0.63    | 0.45   | 1.36   | 2.25    | 0.00   | 0.00   | 2.35   |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0.45                                | 1.02   | 0.00   | 0.45   | 0.00    | 0.11   | 0.00   | 0.00    | 0.23   | 0.00   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00   |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 12.54                               | 109.38 | 12.70  | 24.86  | 30.17   | 23.84  | 38.14  | 0.00    | 292.67 | 25.75  | 402.50  | 78.33  | 25.38  | 15.16  |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.17                                | 0.57   | 0.00   | 0.00   | 0.00    | 1.02   | 0.00   | 0.00    | 0.24   | 0.00   | 0.00    | 0.00   | 0.00   | 0.00   |

Продолжение таблицы А.8

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>              |                               |               |                 |               |                 |               |                |              |                 |                  |               |               |                 |
|--|-------------------------------|---------------|-----------------|---------------|-----------------|---------------|----------------|--------------|-----------------|------------------|---------------|---------------|-----------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                  | <b>1</b>                      | <b>2</b>      | <b>3</b>        | <b>4</b>      | <b>5</b>        | <b>6</b>      | <b>7</b>       | <b>8</b>     | <b>9</b>        | <b>10</b>        | <b>11</b>     | <b>12</b>     | <b>13</b>       |
| <b>Возраст пациента</b>                | <b>2.5 года</b>               | <b>5 лет</b>  | <b>3 года</b>   | <b>8 лет</b>  | <b>1.5 года</b> | <b>4 года</b> | <b>7 лет</b>   | <b>9 лет</b> | <b>3.5 года</b> | <b>2 года</b>    | <b>5 лет</b>  | <b>7 лет</b>  | <b>1.5 года</b> |
| <b>Маркеры</b>                         | <b>Концентрация, мкмоль/л</b> |               |                 |               |                 |               |                |              |                 |                  |               |               |                 |
| <i>Длинноцепочечные жирные кислоты</i> |                               |               |                 |               |                 |               |                |              |                 |                  |               |               |                 |
| C22:0                                  | 100.30                        | 115.00        | 90.86           | 84.96         | 75.52           | 62.54         | 73.16          | 112.10       | 114.46          | 92.04            | 80.25         | 66.20         | 82.4            |
| C24:0                                  | 38.94                         | 88.50         | 44.84           | 60.18         | 69.62           | 51.92         | 38.94          | 94.40        | 46.02           | 60.18            | 55.9          | 41.72         | 64.1            |
| C26:0                                  | 1.37                          | 1.12          | 0.94            | 1.39          | 1.48            | 0.65          | 0.61           | 0.99         | 1.50            | 0.60             | 0.70          | 0.58          | 0.72            |
| C24:0/ C22:0                           | 0.39                          | 0.77          | 0.49            | 0.71          | 0.92            | 0.83          | 0.53           | 0.84         | 0.40            | 0.65             | 0.41          | 0.74          | 0.69            |
| C26:0/ C22:0                           | 0.01                          | 0.01          | 0.01            | 0.02          | 0.02            | 0.01          | 0.01           | 0.01         | 0.01            | 0.01             | 0.02          | 0.02          | 0.01            |
| Фитановая кислота                      | 0.13                          | 1.42          | 1.83            | 1.21          | 1.02            | 1.38          | 1.66           | 2.33         | 1.77            | 1.44             | 1.28          | 0.85          | 1.54            |
| Пристановая кислота                    | 3.10                          | 2.10          | 2.90            | 2.62          | 2.10            | 3.28          | 1.77           | 3.32         | 2.78            | 3.34             | 2.97          | 1.94          | 2.8             |
| <b>№ п/п пациента</b>                  | <b>14</b>                     | <b>15</b>     | <b>16</b>       | <b>17</b>     | <b>18</b>       | <b>19</b>     | <b>20</b>      | <b>21</b>    | <b>22</b>       | <b>23</b>        | <b>24</b>     | <b>25</b>     | <b>–</b>        |
| <b>Возраст пациента</b>                | <b>6 лет</b>                  | <b>2 года</b> | <b>1.5 года</b> | <b>4 года</b> | <b>7 лет</b>    | <b>8 мес.</b> | <b>10 мес.</b> | <b>8 лет</b> | <b>4 года</b>   | <b>1 г. 2 м.</b> | <b>3 года</b> | <b>7 мес.</b> | <b>–</b>        |
| <b>Маркеры</b>                         | <b>Концентрация, мкмоль/л</b> |               |                 |               |                 |               |                |              |                 |                  |               |               |                 |
| <i>Длинноцепочечные жирные кислоты</i> |                               |               |                 |               |                 |               |                |              |                 |                  |               |               |                 |
| C22:0                                  | 83.78                         | 104.30        | 94.40           | 87.32         | 64.90           | 105.02        | 112.00         | 55.46        | 75.52           | 101.48           | 82.6          | 68.26         | –               |
| C24:0                                  | 62.54                         | 93.22         | 73.16           | 76.70         | 55.46           | 63.72         | 69.62          | 47.20        | 53.10           | 87.32            | 47.2          | 70.58         | –               |
| C26:0                                  | 0.70                          | 0.92          | 1.05            | 1.01          | 0.90            | 0.99          | 0.74           | 0.52         | 1.64            | 1.22             | 0.97          | 1.62          | –               |
| C24:0/ C22:0                           | 0.75                          | 0.89          | 0.78            | 0.88          | 0.85            | 0.61          | 0.62           | 0.85         | 0.70            | 0.86             | 0.74          | 0.35          | –               |
| C26:0/ C22:0                           | 0.01                          | 0.01          | 0.01            | 0.01          | 0.01            | 0.01          | 0.01           | 0.01         | 0.02            | 0.01             | 0.01          | 0.02          | –               |
| Фитановая кислота                      | 0.89                          | 1.38          | 0.98            | 2.43          | 0.61            | 1.54          | 1.81           | 0.92         | 2.00            | 1.57             | 2.21          | 2.31          | –               |
| Пристановая кислота                    | 2.15                          | 2.92          | 2.90            | 2.20          | 2.34            | 2.22          | 3.10           | 2.47         | 3.18            | 3.36             | 2.69          | 3.06          | –               |

Продолжение таблицы А.8

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>                         |  |               |                |               |              |              |              |               |              |               |                 |               |               |               |                 |
|---|--|---------------|----------------|---------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|-----------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                             | <b>1</b>                                   | <b>2</b>      | <b>3</b>       | <b>4</b>      | <b>5</b>     | <b>6</b>     | <b>7</b>     | <b>8</b>      | <b>9</b>     | <b>10</b>     | <b>11</b>       | <b>12</b>     | <b>13</b>     | <b>14</b>     | <b>15</b>       |
| <b>Возраст пациента</b>                           | <b>5 лет</b>                               | <b>2 года</b> | <b>1г. 7м.</b> | <b>3 года</b> | <b>1 год</b> | <b>5 лет</b> | <b>7 лет</b> | <b>12 лет</b> | <b>8 лет</b> | <b>2 года</b> | <b>2.5 года</b> | <b>8 мес.</b> | <b>10 лет</b> | <b>9 мес.</b> | <b>1.5 года</b> |
| <b>Маркеры</b>                                    | <b>Концентрация, ммоль/моль креатинина</b> |               |                |               |              |              |              |               |              |               |                 |               |               |               |                 |
| <i><b>Пуриновые и пиримидиновые основания</b></i> |  |               |                |               |              |              |              |               |              |               |                 |               |               |               |                 |
| Гуанин  | 1.06                                       | 2.11          | 2.77           | 0.66          | 2.64         | 1.32         | 0.92         | 1.30          | 2.38         | 1.19          | 0.40            | 1.15          | 1.70          | 0.13          | 0.53            |
| Урацил  | 15.02                                      | 6.60          | 13.15          | 3.96          | 1.32         | 17.21        | 9.32         | 17.16         | 11.88        | 16.21         | 3.96            | 13.21         | 16.48         | 14.21         | 16.21           |
| Дигидроурацил                                     | 1.48                                       | 2.11          | 5.28           | 13.20         | 0.70         | 10.82        | 8.71         | 4.88          | 13.46        | 6.34          | 12.94           | 12.54         | 9.50          | 0.00          | 12.62           |
| Оротовая кислота                                  | 7.26                                       | 2.11          | 3.70           | 6.07          | 6.20         | 4.62         | 5.81         | 0.79          | 4.22         | 7.00          | 3.56            | 4.75          | 6.73          | 3.04          | 6.20            |
| Мочевая кислота                                   | 887.04                                     | 615.12        | 699.60         | 311.52        | 374.88       | 508.20       | 604.56       | 337.92        | 295.68       | 865.92        | 452.76          | 290.40        | 875.16        | 860.64        | 670.56          |
| Ксантин   | 26.40                                      | 19.54         | 30.89          | 22.97         | 22.08        | 26.14        | 10.43        | 14.85         | 24.95        | 11.62         | 27.19           | 19.40         | 8.71          | 29.96         | 5.77            |
| Уреидопропионовая кислота                         | 11.88                                      | 5.32          | 3.56           | 5.02          | 3.56         | 6.27         | 7.52         | 10.82         | 9.24         | 8.84          | 11.62           | 2.11          | 5.54          | 3.30          | 8.71            |
| 5-Гидроксиметилурацил                             | 13.07                                      | 12.01         | 12.54          | 10.69         | 2.77         | 5.41         | 12.94        | 3.04          | 5.68         | 12.94         | 11.48           | 7.92          | 12.28         | 12.54         | 5.28            |
| Аденин  | 0.26                                       | 2.38          | 0.92           | 2.51          | 0.92         | 2.43         | 2.64         | 1.17          | 2.06         | 2.11          | 1.90            | 1.98          | 0.40          | 0.26          | 0.53            |
| Цитидин   | 0.20                                       | 1.58          | 1.06           | 3.43          | 0.13         | 0.92         | 1.45         | 2.77          | 1.58         | 0.53          | 0.00            | 1.85          | 2.77          | 1.98          | 1.72            |
| Дезоксиаденозин                                   | 0.40                                       | 1.98          | 2.11           | 3.30          | 1.19         | 0.00         | 1.46         | 0.26          | 1.85         | 0.26          | 1.67            | 1.56          | 0.26          | 1.67          | 1.06            |
| Уридин  | 0.92                                       | 2.38          | 0.79           | 3.70          | 0.79         | 2.51         | 3.70         | 0.92          | 2.51         | 2.77          | 1.32            | 1.85          | 3.04          | 1.85          | 1.58            |
| Тимин   | 0.26                                       | 0.00          | 0.40           | 1.32          | 2.11         | 1.19         | 1.58         | 0.53          | 1.06         | 2.24          | 0.66            | 1.32          | 2.24          | 0.66          | 0.79            |
| Дезоксиуридин                                     | 0.26                                       | 1.51          | 0.26           | 1.48          | 1.58         | 0.79         | 0.92         | 0.79          | 0.13         | 1.55          | 0.66            | 0.92          | 1.24          | 1.00          | 1.98            |
| Инозин  | 2.77                                       | 0.53          | 4.09           | 4.09          | 0.13         | 1.72         | 4.09         | 0.53          | 2.77         | 3.83          | 2.90            | 4.09          | 0.40          | 2.64          | 0.92            |
| Гуанозин  | 1.32                                       | 1.19          | 0.40           | 0.00          | 0.79         | 0.13         | 1.85         | 1.06          | 0.66         | 0.79          | 0.13            | 1.32          | 0.00          | 1.98          | 1.58            |
| Дезоксигуанозин                                   | 0.44                                       | 1.91          | 1.83           | 1.32          | 0.79         | 1.85         | 0.66         | 1.21          | 1.67         | 1.85          | 1.58            | 1.72          | 0.40          | 0.13          | 0.53            |
| Тимидин   | 0.24                                       | 0.25          | 0.11           | 0.11          | 0.05         | 0.25         | 0.09         | 0.15          | 0.18         | 0.05          | 0.01            | 0.05          | 0.13          | 0.01          | 0.15            |
| Аденозин  | 0.21                                       | 1.45          | 0.66           | 1.61          | 0.13         | 0.13         | 1.18         | 1.46          | 0.66         | 1.98          | 0.79            | 1.45          | 0.40          | 1.90          | 1.98            |

Продолжение таблицы А.8

| <b>КОНТРОЛЬНАЯ ГРУППА</b>                  |  |              |              |              |               |               |               |              |                 |               |               |              |              |               |               |
|--|--|--------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|-----------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|
| <b>№ п/п пациента</b>                      | <b>16</b>                                  | <b>17</b>    | <b>18</b>    | <b>19</b>    | <b>20</b>     | <b>21</b>     | <b>22</b>     | <b>23</b>    | <b>24</b>       | <b>25</b>     | <b>26</b>     | <b>27</b>    | <b>28</b>    | <b>29</b>     | <b>30</b>     |
| <b>Возраст пациента</b>                    | <b>4 года</b>                              | <b>7 лет</b> | <b>1 год</b> | <b>6 лет</b> | <b>4 года</b> | <b>3 года</b> | <b>11 лет</b> | <b>5 лет</b> | <b>2.5 года</b> | <b>9 мес.</b> | <b>6 мес.</b> | <b>5 лет</b> | <b>8 лет</b> | <b>10 лет</b> | <b>12 лет</b> |
| <b>Маркеры</b>                             | <b>Концентрация, ммоль/моль креатинина</b> |              |              |              |               |               |               |              |                 |               |               |              |              |               |               |
| <i>Пуриновые и пиримидиновые основания</i> |  |              |              |              |               |               |               |              |                 |               |               |              |              |               |               |
| Гуанин                                     | 3.70                                       | 1.98         | 2.43         | 2.11         | 2.11          | 1.45          | 1.19          | 2.18         | 0.40            | 2.30          | 1.19          | 0.53         | 0.53         | 1.95          | 0.53          |
| Урацил                                     | 15.84                                      | 18.48        | 17.62        | 18.21        | 17.16         | 13.21         | 19.80         | 15.84        | 19.33           | 15.84         | 13.20         | 10.56        | 6.60         | 12.24         | 15.21         |
| Дигидроурацил                              | 6.24                                       | 7.16         | 12.53        | 0.79         | 13.69         | 8.58          | 10.03         | 6.89         | 13.20           | 8.28          | 5.08          | 13.99        | 8.54         | 2.05          | 7.66          |
| Оротовая кислота                           | 5.94                                       | 2.11         | 7.39         | 3.96         | 0.79          | 7.52          | 3.96          | 1.32         | 2.64            | 1.58          | 3.70          | 2.77         | 5.68         | 0.79          | 6.86          |
| Мочевая кислота                            | 917.40                                     | 468.60       | 641.52       | 770.88       | 257.40        | 153.12        | 737.88        | 370.92       | 644.16          | 834.24        | 484.44        | 138.60       | 554.40       | 180.84        | 187.44        |
| Ксантин                                    | 10.30                                      | 26.63        | 28.25        | 13.21        | 8.18          | 13.26         | 23.63         | 10.26        | 19.14           | 13.07         | 26.14         | 25.34        | 17.16        | 17.95         | 20.17         |
| Уреидопропионовая кислота                  | 8.98                                       | 11.48        | 6.60         | 6.32         | 10.03         | 8.32          | 4.75          | 8.21         | 0.66            | 5.81          | 6.73          | 2.77         | 4.62         | 0.40          | 10.43         |
| 5-Гидроксиметилурацил                      | 12.01                                      | 6.60         | 6.34         | 10.56        | 11.22         | 0.26          | 12.54         | 8.32         | 0.66            | 10.56         | 3.96          | 0.66         | 1.32         | 6.20          | 11.88         |
| Аденин                                     | 1.32                                       | 0.00         | 2.51         | 1.06         | 1.85          | 2.01          | 2.11          | 0.53         | 1.19            | 0.26          | 2.38          | 1.58         | 0.26         | 0.66          | 2.24          |
| Цитидин                                    | 3.70                                       | 3.43         | 2.11         | 1.19         | 3.56          | 1.72          | 0.92          | 0.26         | 2.24            | 3.56          | 3.43          | 1.19         | 3.56         | 2.64          | 3.04          |
| Дезоксиаденозин                            | 0.79                                       | 0.79         | 1.98         | 0.53         | 2.90          | 1.24          | 1.85          | 0.00         | 1.43            | 1.75          | 1.06          | 1.32         | 1.62         | 1.19          | 1.91          |
| Уридин                                     | 0.92                                       | 0.92         | 4.22         | 1.06         | 2.11          | 3.30          | 1.72          | 0.66         | 0.92            | 2.77          | 1.85          | 2.64         | 0.26         | 3.04          | 3.17          |
| Тимин                                      | 0.26                                       | 1.06         | 1.45         | 0.13         | 1.85          | 0.40          | 1.72          | 0.40         | 2.24            | 1.98          | 1.45          | 0.26         | 1.19         | 1.98          | 1.19          |
| Дезоксиуридин                              | 1.55                                       | 1.32         | 1.85         | 0.26         | 0.92          | 2.38          | 0.92          | 1.45         | 2.51            | 0.13          | 0.00          | 1.32         | 0.92         | 2.64          | 1.85          |
| Инозин                                     | 1.58                                       | 1.98         | 1.98         | 0.53         | 2.90          | 3.96          | 0.79          | 0.79         | 2.51            | 3.17          | 1.72          | 3.83         | 2.77         | 3.96          | 3.56          |
| Гуанозин                                   | 0.92                                       | 1.72         | 0.92         | 0.40         | 0.53          | 1.98          | 0.00          | 0.66         | 0.00            | 0.79          | 1.45          | 1.45         | 0.13         | 1.19          | 0.00          |
| Дезоксигуанозин                            | 1.45                                       | 1.84         | 1.72         | 1.45         | 1.59          | 1.58          | 1.73          | 0.92         | 1.24            | 0.26          | 1.62          | 1.85         | 1.58         | 1.49          | 0.66          |
| Тимидин                                    | 0.00                                       | 0.00         | 0.16         | 0.21         | 0.05          | 0.21          | 0.12          | 0.09         | 0.00            | 0.03          | 0.16          | 0.01         | 0.07         | 0.16          | 0.00          |
| Аденозин                                   | 1.45                                       | 0.66         | 0.26         | 1.85         | 1.19          | 1.52          | 1.65          | 1.98         | 1.43            | 0.26          | 1.45          | 3.30         | 2.51         | 0.40          | 0.40          |

Таблица А.9 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *обследованных из группы сравнения для первой группы пациентов* с подозрением на аминокислотопатию, органические ацидемии/ацидурии (число обследованных в группе сравнения 35, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр                   | Среднее | Статистическая ошибка | Медиана | Мода | Статистическое отклонение | Дисперсия | Экцесс | Асимметричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма | Ур. Над-ги |
|---|---------|-----------------------|---------|------|---------------------------|-----------|--------|-----------------|----------|---------|----------|-------|------------|
| <b>Аминокислоты</b>                       |         |                       |         |      |                           |           |        |                 |          |         |          |       |            |
| Ala                                       | 369.13  | 22.88                 | 328     |      | 135                       | 18330     | 0.88   | 0.91            | 621      | 140.83  | 761.63   | 12920 | 46.51      |
| Asp                                       | 113.02  | 7.39                  | 103.34  |      | 43.71                     | 1911      | 0.32   | 0.85            | 174.02   | 48.14   | 222.16   | 3956  | 15.01      |
| Glu                                       | 0.13    | 0.01                  | 0.12    |      | 0.04                      | 0         | -0.32  | 0.68            | 0.18     | 0.06    | 0.24     | 4.56  | 0.02       |
| Xle                                       | 0.12    | 0.01                  | 0.11    |      | 0.05                      | 0         | 8.05   | 2.44            | 0.26     | 0.06    | 0.32     | 4.24  | 0.02       |
| Met                                       | 0.02    | 0                     | 0.02    |      | 0.01                      | 0         | 0.87   | 1.04            | 0.03     | 0.01    | 0.04     | 0.63  | 0          |
| Phe                                       | 2.28    | 0.18                  | 2.17    |      | 1.08                      | 1.16      | 1.07   | 1.04            | 4.54     | 0.86    | 5.4      | 79.9  | 0.37       |
| Tyr                                       | 0.26    | 0.02                  | 0.23    |      | 0.14                      | 0.02      | 2.45   | 1.39            | 0.63     | 0.04    | 0.67     | 9.12  | 0.05       |
| Val                                       | 0.14    | 0.01                  | 0.12    |      | 0.08                      | 0.01      | 1.13   | 1.13            | 0.33     | 0.04    | 0.37     | 5.01  | 0.03       |
| Arg                                       | 35.93   | 2.23                  | 31.72   |      | 13.2                      | 174       | 1.28   | 1.15            | 57.01    | 16.09   | 73.1     | 1258  | 4.54       |
| Cit                                       | 29.8    | 1.73                  | 28.98   |      | 10.22                     | 104       | 0.95   | 0.8             | 46.1     | 12.21   | 58.31    | 1043  | 3.51       |
| Gly                                       | 0.93    | 0.06                  | 0.83    |      | 0.36                      | 0.13      | 4      | 1.75            | 1.8      | 0.45    | 2.25     | 32.42 | 0.12       |
| Orn                                       | 32.32   | 2.22                  | 31.24   |      | 13.12                     | 172       | 2.52   | 1.47            | 59.19    | 16.4    | 75.59    | 1131  | 4.51       |
| <b>Ацилкарнитины и свободный карнитин</b> |         |                       |         |      |                           |           |        |                 |          |         |          |       |            |
| C0  | 0.08    | 0.01                  | 0.07    |      | 0.04                      | 0         | 8.62   | 2.54            | 0.24     | 0.02    | 0.26     | 2.79  | 0.01       |
| C2  | 8.32    | 0.52                  | 7.96    |      | 3.08                      | 9.49      | 1.49   | 1.02            | 14.52    | 2.66    | 17.18    | 291   | 1.06       |
| C3  | 89.99   | 6.3                   | 78.98   |      | 37.24                     | 1387      | 3.39   | 1.55            | 176      | 47      | 223      | 3150  | 12.79      |
| C3DC                                      | 0.16    | 0.02                  | 0.13    |      | 0.11                      | 0.01      | 4.71   | 1.77            | 0.53     | 0.03    | 0.56     | 5.18  | 0.04       |
| C4  | 40.89   | 1.95                  | 36.71   |      | 11.55                     | 133       | -1.09  | 0.47            | 38.27    | 25.19   | 63.46    | 1431  | 3.97       |
| C4DC                                      | 1.17    | 0.08                  | 1.1     |      | 0.47                      | 0.22      | -0.16  | 0.51            | 1.97     | 0.37    | 2.35     | 40.92 | 0.16       |
| C4OH                                      | 0.11    | 0.01                  | 0.1     |      | 0.07                      | 0         | 6.26   | 2.14            | 0.33     | 0.04    | 0.37     | 4     | 0.02       |
| C5  | 53.82   | 2.68                  | 49.59   |      | 15.86                     | 252       | -0.68  | 0.59            | 57.45    | 29.7    | 87.15    | 1884  | 5.45       |
| C5DC                                      | 154.76  | 12.94                 | 149.12  |      | 76.58                     | 5865      | 21.48  | 4.12            | 488      | 60.29   | 549      | 5417  | 26.31      |
| C5:1                                      | 0.02    | 0                     | 0.02    |      | 0.02                      | 0         | 10.4   | 2.67            | 0.11     | 0       | 0.11     | 0.77  | 0.01       |
| C5OH                                      | 0.31    | 0.03                  | 0.25    |      | 0.18                      | 0.03      | 9.19   | 2.69            | 1        | 0.09    | 1.09     | 10.78 | 0.06       |
| C6  | 0.06    | 0                     | 0.06    |      | 0.03                      | 0         | -0.16  | 0.79            | 0.1      | 0.02    | 0.12     | 2.21  | 0.01       |
| C8  | 180.15  | 16.24                 | 155.35  |      | 96.05                     | 9225      | 21.04  | 4.13            | 592      | 80.6    | 672      | 6305  | 32.99      |
| C8:1                                      | 0.06    | 0.01                  | 0.04    |      | 0.06                      | 0         | 13.4   | 3.39            | 0.34     | 0.01    | 0.35     | 2.18  | 0.02       |
| C10                                       | 0.11    | 0.01                  | 0.1     |      | 0.06                      | 0         | 11.52  | 2.84            | 0.34     | 0.03    | 0.38     | 3.75  | 0.02       |
| C10:1                                     | 0.08    | 0.01                  | 0.08    |      | 0.04                      | 0         | 2.22   | 1.16            | 0.18     | 0.03    | 0.21     | 2.97  | 0.01       |
| C12                                       | 0.15    | 0.01                  | 0.14    |      | 0.06                      | 0         | -0.77  | 0.48            | 0.21     | 0.06    | 0.27     | 5.17  | 0.02       |
| C14                                       | 31.48   | 1.48                  | 31.85   |      | 8.76                      | 76.76     | 2.97   | 0.9             | 46.17    | 15.42   | 61.59    | 1102  | 3.01       |
| C14:1                                     | 0.15    | 0.01                  | 0.13    |      | 0.07                      | 0         | 0.67   | 0.98            | 0.3      | 0.05    | 0.35     | 5.32  | 0.02       |
| C14:2                                     | 0.06    | 0                     | 0.06    |      | 0.03                      | 0         | 1.24   | 1.13            | 0.12     | 0.02    | 0.14     | 2.12  | 0.01       |
| C14OH                                     | 0.02    | 0                     | 0.01    |      | 0.01                      | 0         | 2.79   | 1.42            | 0.04     | 0       | 0.04     | 0.53  | 0          |
| C16                                       | 248.25  | 12.56                 | 243.57  |      | 74.31                     | 5522      | 2.03   | 1.4             | 310      | 158     | 468      | 8689  | 25.53      |
| C16:1                                     | 0.06    | 0                     | 0.06    |      | 0.03                      | 0         | 3.76   | 1.57            | 0.13     | 0.03    | 0.16     | 2.24  | 0.01       |
| C16:1OH                                   | 0.05    | 0                     | 0.04    |      | 0.02                      | 0         | 7.05   | 2.1             | 0.11     | 0.02    | 0.13     | 1.68  | 0.01       |
| C16OH                                     | 279.52  | 14.73                 | 268.96  |      | 87.14                     | 7594      | -0.66  | 0.14            | 355      | 109     | 464      | 9783  | 29.93      |
| C18                                       | 0.54    | 0.03                  | 0.5     |      | 0.2                       | 0.04      | 0.12   | 0.59            | 0.81     | 0.19    | 1        | 18.73 | 0.07       |
| C18:1                                     | 0.87    | 0.06                  | 0.81    |      | 0.33                      | 0.11      | 2.83   | 1.43            | 1.52     | 0.36    | 1.88     | 30.28 | 0.11       |
| C18:1OH                                   | 0.01    | 0                     | 0.01    |      | 0.01                      | 0         | 2.53   | 1.16            | 0.03     | 0       | 0.03     | 0.47  | 0          |
| C18:2OH                                   | 0.03    | 0                     | 0.02    |      | 0.01                      | 0         | 0.16   | -0.01           | 0.05     | 0       | 0.05     | 0.89  | 0          |
| C18OH                                     | 0.01    | 0                     | 0.01    |      | 0.01                      | 0         | 1.84   | 1.32            | 0.04     | 0       | 0.04     | 0.45  | 0          |

Таблица А.10 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *пациентов из первой группы* с подозрением на аминокислотопатию, органические ацидемии/ацидурии *с выявленными патологиями обмена аминокислот и ацилкарнитин* (число пациентов 54, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр                   | Среднее | Статистическая ошибка | Медиана | Мода   | Статистическое отклонение | Дисперсия | Экцесс | Асимметричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма | Ур. Над-ти |
|---|---------|-----------------------|---------|--------|---------------------------|-----------|--------|-----------------|----------|---------|----------|-------|------------|
| <b>Аминокислоты</b>                       |         |                       |         |        |                           |           |        |                 |          |         |          |       |            |
| Ala                                       | 405.73  | 28.91                 | 336.16  | 309.6  | 212.42                    | 45123     | 4.37   | 2.11            | 998.63   | 202.68  | 1201.31  | 21909 | 57.98      |
| Asp                                       | 109.73  | 4.69                  | 113.68  | 81.3   | 34.46                     | 1188      | 0.5    | 0.48            | 174.84   | 30.7    | 205.54   | 5925  | 9.41       |
| Glu                                       | 276.16  | 10.96                 | 264.96  | 243.72 | 80.56                     | 6490      | 2.87   | 0.14            | 524.9    | 0.61    | 525.51   | 14913 | 21.99      |
| Xle                                       | 187.09  | 15.85                 | 154.57  | 137.48 | 116.46                    | 13564     | 3.03   | 1.78            | 552.06   | 0.61    | 552.67   | 10103 | 31.79      |
| Met                                       | 13.21   | 3.14                  | 7.81    | 7.19   | 23.08                     | 533       | 16.15  | 4.09            | 123      | 0.61    | 123.61   | 714   | 6.3        |
| Phe                                       | 121.13  | 34.34                 | 39.59   | 32.42  | 252.38                    | 63694     | 11.03  | 3.39            | 1224.29  | 0.61    | 1224.9   | 6541  | 68.89      |
| Tyr                                       | 86.89   | 17.79                 | 50.08   | 41.15  | 130.74                    | 17092     | 11.97  | 3.54            | 661.32   | 0.61    | 661.93   | 4692  | 35.68      |
| Val                                       | 146.77  | 6.33                  | 145.97  | 122.95 | 46.54                     | 2166      | 1.07   | -0.51           | 236.22   | 0.61    | 236.83   | 7926  | 12.7       |
| Arg                                       | 41.93   | 6.28                  | 30.43   | 30.43  | 46.12                     | 2127      | 8.92   | 3.1             | 222.02   | 3.23    | 225.24   | 2264  | 12.59      |
| Cit                                       | 31.19   | 2.57                  | 27.82   | 35.79  | 18.88                     | 357       | 14.37  | 3.18            | 128.37   | 0.61    | 128.98   | 1685  | 5.15       |
| Gly                                       | 337.76  | 19.7                  | 304.32  | 250.5  | 144.76                    | 20957     | 3.69   | 1.37            | 880.65   | 0.61    | 881.26   | 18239 | 39.51      |
| Orn                                       | 102.67  | 6.93                  | 98.98   | 98.98  | 50.95                     | 2596      | 3.95   | 1.6             | 296.51   | 0.61    | 297.12   | 5544  | 13.91      |
| <b>Ацилкарнитины и свободный карнитин</b> |         |                       |         |        |                           |           |        |                 |          |         |          |       |            |
| C0  | 32.96   | 1.61                  | 30.63   | 22.9   | 11.83                     | 140       | 1.21   | 1.12            | 59.08    | 12.2    | 71.28    | 1780  | 3.23       |
| C2  | 27.44   | 1.64                  | 25.39   | 18.87  | 12.04                     | 144.93    | 3.18   | 1.33            | 67.38    | 0.61    | 67.99    | 1481  | 3.29       |
| C3  | 4.34    | 1.05                  | 2.01    | 1.86   | 7.74                      | 59.97     | 11.65  | 3.45            | 39.54    | 0.56    | 40.1     | 234   | 2.11       |
| C3DC                                      | 0.13    | 0.01                  | 0.11    | 0.14   | 0.1                       | 0.01      | 11.12  | 3               | 0.6      | 0.01    | 0.61     | 6.73  | 0.03       |
| C4  | 0.29    | 0.02                  | 0.26    | 0.23   | 0.14                      | 0.02      | 3.82   | 1.77            | 0.68     | 0.11    | 0.8      | 15.49 | 0.04       |
| C4DC                                      | 1.02    | 0.05                  | 1.01    | 1.7    | 0.36                      | 0.13      | 0.87   | 0.61            | 1.83     | 0.32    | 2.15     | 55.24 | 0.1        |
| C4OH                                      | 0.14    | 0.01                  | 0.12    | 0.09   | 0.1                       | 0.01      | 9.2    | 2.62            | 0.57     | 0.04    | 0.61     | 7.82  | 0.03       |
| C5  | 0.24    | 0.04                  | 0.16    | 0.15   | 0.29                      | 0.09      | 25.61  | 4.72            | 1.93     | 0.05    | 1.98     | 12.76 | 0.08       |
| C5DC                                      | 0.37    | 0.15                  | 0.12    | 0.1    | 1.1                       | 1.2       | 21.28  | 4.66            | 5.85     | 0.03    | 5.89     | 19.99 | 0.3        |
| C5:1                                      | 0.04    | 0.01                  | 0.02    | 0.01   | 0.08                      | 0.01      | 43.32  | 6.31            | 0.61     | 0       | 0.61     | 2.29  | 0.02       |
| C5OH                                      | 0.32    | 0.02                  | 0.29    | 0.31   | 0.17                      | 0.03      | 4.68   | 1.74            | 0.92     | 0.09    | 1.01     | 17.19 | 0.05       |
| C6  | 0.22    | 0.08                  | 0.07    | -      | 0.59                      | 0.34      | 23.53  | 4.72            | 3.56     | 0.04    | 3.6      | 11.64 | 0.16       |
| C8  | 0.26    | 0.1                   | 0.08    | -      | 0.75                      | 0.56      | 16.96  | 4.18            | 3.97     | 0.03    | 4        | 14.29 | 0.2        |
| C8:1                                      | 0.07    | 0.01                  | 0.05    | 0.02   | 0.08                      | 0.01      | 35.62  | 5.54            | 0.59     | 0.02    | 0.61     | 3.93  | 0.02       |
| C10                                       | 0.25    | 0.09                  | 0.1     | -      | 0.63                      | 0.4       | 21.94  | 4.59            | 3.76     | 0.04    | 3.8      | 13.5  | 0.17       |
| C10:1                                     | 0.1     | 0.01                  | 0.09    | 0.06   | 0.08                      | 0.01      | 32.72  | 5.16            | 0.58     | 0.03    | 0.61     | 5.39  | 0.02       |
| C12                                       | 0.13    | 0.01                  | 0.12    | 0.09   | 0.08                      | 0.01      | 19.57  | 3.66            | 0.57     | 0.04    | 0.61     | 7.2   | 0.02       |
| C14                                       | 0.13    | 0.01                  | 0.12    | 0.11   | 0.05                      | 0         | -0.16  | 0.65            | 0.21     | 0.04    | 0.25     | 6.94  | 0.01       |
| C14:1                                     | 0.14    | 0.01                  | 0.13    | 0.09   | 0.09                      | 0.01      | 15.38  | 3.27            | 0.57     | 0.04    | 0.61     | 7.66  | 0.02       |
| C14:2                                     | 0.06    | 0.01                  | 0.05    | 0.04   | 0.08                      | 0.01      | 47.13  | 6.66            | 0.59     | 0.02    | 0.61     | 3.49  | 0.02       |
| C14OH                                     | 0.03    | 0.01                  | 0.02    | 0.01   | 0.08                      | 0.01      | 53.06  | 7.26            | 0.6      | 0.01    | 0.61     | 1.62  | 0.02       |
| C16                                       | 0.97    | 0.05                  | 0.92    | 0.74   | 0.4                       | 0.16      | -0.44  | 0.47            | 1.66     | 0.21    | 1.87     | 52.42 | 0.11       |
| C16:1                                     | 0.08    | 0.01                  | 0.06    | 0.04   | 0.08                      | 0.01      | 35.36  | 5.49            | 0.59     | 0.02    | 0.61     | 4.25  | 0.02       |
| C16:1OH                                   | 0.06    | 0.01                  | 0.05    | 0.04   | 0.08                      | 0.01      | 44.05  | 6.35            | 0.6      | 0.01    | 0.61     | 3.42  | 0.02       |
| C16OH                                     | 0.03    | 0.01                  | 0.02    | 0.04   | 0.08                      | 0.01      | 53.12  | 7.26            | 0.6      | 0.01    | 0.61     | 1.57  | 0.02       |
| C18                                       | 0.6     | 0.04                  | 0.53    | 0.5    | 0.28                      | 0.08      | 0.53   | 0.92            | 1.22     | 0.18    | 1.4      | 32.38 | 0.08       |
| C18:1                                     | 0.95    | 0.05                  | 0.86    | 0.57   | 0.36                      | 0.13      | -0.03  | 0.73            | 1.52     | 0.32    | 1.84     | 51.3  | 0.1        |
| C18:1OH                                   | 0.03    | 0.01                  | 0.02    | 0.01   | 0.08                      | 0.01      | 53.43  | 7.29            | 0.61     | 0       | 0.61     | 1.39  | 0.02       |
| C18:2OH                                   | 0.04    | 0.01                  | 0.03    | 0.02   | 0.08                      | 0.01      | 52.86  | 7.23            | 0.6      | 0.01    | 0.61     | 2.08  | 0.02       |
| C18OH                                     | 0.02    | 0.01                  | 0.01    | 0.02   | 0.08                      | 0.01      | 53.52  | 7.3             | 0.61     | 0       | 0.61     | 1.1   | 0.02       |

Таблица А.11 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *обследованных из группы сравнения для первой группы пациентов* с подозрением на нарушения обмена органических кислот (число обследованных в группе сравнения 35, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр                | Среднее | Ст. ошибка | Медиана | Мода | Ст. откл. | Дисперсия | Экссесс | Асиммет-ричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма    | Ур. Над-ти |
|--|---------|------------|---------|------|-----------|-----------|---------|------------------|----------|---------|----------|----------|------------|
| Молочная кислота                       | 53.79   | 9.78       | 25.8    | 13.2 | 57.83     | 3345      | 1.62    | 1.54             | 204.7    | 4.3     | 209      | 1882.56  | 19.87      |
| Гликолиевая кислота                    | 58.31   | 7.27       | 47      | #Н/Д | 42.99     | 1849      | -0.5    | 0.67             | 150.4    | 6.9     | 157.3    | 2040.93  | 14.77      |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 10.69   | 5.08       | 2.48    | 2.9  | 30.04     | 903       | 20.51   | 4.39             | 162.3    | 0       | 162.3    | 374.16   | 10.32      |
| Глицериновая кислота                   | 6.68    | 1.61       | 4.8     | 0    | 9.53      | 90.91     | 20.08   | 4.11             | 55       | 0       | 55       | 233.93   | 3.28       |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 1.2     | 1.03       | 0       | 0    | 6.09      | 37.1      | 34.7    | 5.88             | 36.14    | 0       | 36.14    | 42.1     | 2.09       |
| Пировиноградная кислота                | 19.33   | 4.68       | 8       | 6.2  | 27.7      | 767       | 9.37    | 2.91             | 135.9    | 0       | 135.9    | 676.39   | 9.51       |
| Изовалериановая кислота                | 13.73   | 6.19       | 3.7     | 0    | 36.59     | 1339      | 28.2    | 5.12             | 213.9    | 0       | 213.9    | 480.4    | 12.57      |
| Адипиновая кислота                     | 46.36   | 8.2        | 32      | 20.3 | 48.53     | 2355      | 10.39   | 2.93             | 251.2    | 4.8     | 256      | 1622.47  | 16.67      |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 2.1     | 0.45       | 1.52    | 0    | 2.65      | 7.03      | 9.78    | 2.75             | 13.5     | 0       | 13.5     | 73.48    | 0.91       |
| Этилмалоновая кислота                  | 1.87    | 0.3        | 1.25    | 0    | 1.75      | 3.05      | 2.16    | 1.41             | 7.58     | 0       | 7.58     | 65.37    | 0.6        |
| Мевалоновая кислота                    | 1.37    | 0.54       | 0.3     | 0.2  | 3.17      | 10.04     | 24.2    | 4.67             | 18.1     | 0       | 18.1     | 47.85    | 1.09       |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 14.28   | 3.18       | 7.4     | 3.2  | 18.79     | 353       | 13.05   | 3.31             | 100.35   | 0       | 100.35   | 499.64   | 6.46       |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 1.02    | 0.45       | 0       | 0    | 2.68      | 7.16      | 10.93   | 3.2              | 12.6     | 0       | 12.6     | 35.72    | 0.92       |
| Метилмалоновая кислота                 | 1.18    | 0.17       | 0.92    | 1.2  | 1.01      | 1.01      | 6.39    | 2.19             | 5.1      | 0       | 5.1      | 41.44    | 0.35       |
| Фенилмолочная кислота                  | 1.9     | 0.44       | 0.7     | 0    | 2.62      | 6.87      | 4.17    | 2.02             | 11.2     | 0       | 11.2     | 66.41    | 0.9        |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 2.98    | 0.32       | 2.5     | 2.4  | 1.87      | 3.48      | 2.33    | 1.13             | 8.92     | 0       | 8.92     | 104.23   | 0.64       |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 0.24    | 0.11       | 0       | 0    | 0.68      | 0.46      | 21.52   | 4.47             | 3.7      | 0       | 3.7      | 8.3      | 0.23       |
| Сукциновая кислота                     | 18.83   | 5.82       | 10.1    | 5    | 34.45     | 1187      | 19.62   | 4.18             | 192      | 0.05    | 191.78   | 659      | 11.83      |
| Гомогентизиновая кислота               | 1.95    | 0.37       | 1.5     | 0    | 2.19      | 4.79      | 3.15    | 1.79             | 9        | 0       | 9        | 68.16    | 0.75       |
| Гиппуровая кислота                     | 457.8   | 105.81     | 174.1   | #Н/Д | 616.97    | 380653    | 5.27    | 2.34             | 2598     | 41      | 2639     | 15565.24 | 215.27     |
| Себациновая кислота                    | 1.7     | 0.52       | 0.61    | 0    | 3.07      | 9.41      | 10.98   | 3.21             | 15       | 0       | 15       | 59.41    | 1.05       |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 1.81    | 0.41       | 1.3     | 1.2  | 2.4       | 5.77      | 20.32   | 4.18             | 14       | 0       | 14       | 63.31    | 0.83       |
| Глутаровая кислота                     | 2.37    | 0.43       | 1.38    | 0.7  | 2.54      | 6         | 1.7     | 1.45             | 9.81     | 0       | 9.81     | 83.02    | 0.87       |
| Фенилпировиноградная кислота           | 2.7     | 0.43       | 2.14    | 0    | 2.55      | 6.51      | 10.66   | 2.65             | 14       | 0       | 14       | 94.39    | 0.88       |
| Субериновая кислота                    | 1.03    | 0.29       | 0.4     | 0.2  | 1.7       | 2.9       | 18.61   | 3.97             | 9.5      | 0       | 9.5      | 35.93    | 0.59       |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 0.18    | 0.04       | 0.09    | 0    | 0.23      | 0.05      | 0.98    | 1.25             | 0.9      | 0       | 0.9      | 6.32     | 0.08       |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 96.78   | 49.04      | 26.3    | 18.4 | 290.14    | 84182     | 32.57   | 5.63             | 1737     | 0       | 1737     | 3387.16  | 99.67      |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.25    | 0.07       | 0.1     | 0    | 0.39      | 0.15      | 8.77    | 2.73             | 1.89     | 0       | 1.89     | 8.69     | 0.14       |

Таблица А.12 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *пациентов из первой группы* с подозрением на аминокислотопатию, органические ацидемии/ацидурии с *выявленными нарушениями обмена органических кислот* (число пациентов 34, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр                | Среднее | Ст. ошибка | Медиана | Мода | Ст. откл. | Дисперсия | Экссесс | Асиммет-ричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма   | Ур. Над-ти |
|--|---------|------------|---------|------|-----------|-----------|---------|------------------|----------|---------|----------|---------|------------|
| Молочная кислота                       | 72.49   | 10.24      | 46.5    | 22.1 | 60        | 3565      | -0.37   | 0.95             | 200      | 4.8     | 205      | 2465    | 20.83      |
| Гликолиевая кислота                    | 80.3    | 11.19      | 65.88   | 113  | 65        | 4255      | 2.83    | 1.63             | 279      | 11.3    | 291      | 2730    | 22.76      |
| 3-Гидроксимасляная кислота             | 9.67    | 3.83       | 2.65    | 2.7  | 22.34     | 499       | 21.72   | 4.44             | 124      | 0       | 124      | 329     | 7.79       |
| Глицериновая кислота                   | 7.76    | 1.64       | 3.36    | 2.9  | 9.56      | 91.44     | 4.04    | 2.15             | 40       | 0       | 40       | 263.79  | 3.34       |
| 3-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 1.39    | 0.54       | 0.01    | 0    | 3.17      | 10.02     | 10.08   | 3.15             | 14.35    | 0       | 14.35    | 47.16   | 1.1        |
| Пировиноградная кислота                | 11.96   | 2.18       | 6.84    | 16   | 12.71     | 162       | 6.7     | 2.36             | 61       | 0.97    | 62       | 407     | 4.44       |
| Изовалериановая кислота                | 10.17   | 4.36       | 1.91    | 0    | 25.44     | 647       | 19.57   | 4.21             | 137      | 0       | 137      | 346     | 8.88       |
| Адипиновая кислота                     | 130.95  | 47.78      | 33.1    | 18.2 | 279       | 77626     | 10.63   | 3.23             | 1305     | 7       | 1312     | 4452    | 97.21      |
| 3-Метилглутаровая кислота              | 2.98    | 0.61       | 2.64    | 0    | 3.58      | 12.85     | 8.44    | 2.37             | 18       | 0       | 18       | 101.25  | 1.25       |
| Этилмалоновая кислота                  | 107.54  | 46.85      | 2.31    | 0    | 273       | 74623     | 9.16    | 3.04             | 1205     | 0       | 1205     | 3656    | 95.31      |
| Мевалоновая кислота                    | 34.21   | 19.83      | 0.69    | 0    | 115.63    | 13370     | 14      | 3.71             | 558      | 0       | 558      | 1163    | 40.35      |
| 3-Гидрокси-3-метилглутаровая кислота   | 40.96   | 24.97      | 4.79    | 0    | 146       | 21196     | 31.72   | 5.56             | 852      | 0       | 852      | 1393    | 50.8       |
| 2-Метил-3-гидроксимасляная кислота     | 1       | 0.35       | 0       | 0    | 2.03      | 4.11      | 4.26    | 2.16             | 8        | 0       | 8        | 33.88   | 0.71       |
| Метилмалоновая кислота                 | 673.14  | 346.79     | 1.65    | 0    | 2022      | 4089009   | 8.54    | 3.11             | 8120     | 0       | 8120     | 22887   | 705.55     |
| Фенилмолочная кислота                  | 2.52    | 0.68       | 1.26    | 0    | 3.96      | 15.65     | 10.2    | 3.16             | 18       | 0       | 18       | 85.8    | 1.38       |
| 4-Гидроксифенилмолочная кислота        | 70.21   | 41.35      | 1.98    | 0    | 241       | 58143     | 13.01   | 3.68             | 1089     | 0       | 1089     | 2387    | 84.13      |
| N-ацетиласпартиковая кислота           | 133.84  | 81.57      | 0       | 0    | 475.61    | 226201    | 12.62   | 3.66             | 2021     | 0       | 2021     | 4550.49 | 165.95     |
| Сукциновая кислота                     | 14.17   | 2.44       | 9.51    | 22   | 14.25     | 202.95    | 4.7     | 2.09             | 59.47    | 0.53    | 60       | 481.71  | 4.97       |
| Гомогентизиновая кислота               | 21.29   | 20.14      | 1.09    | 0    | 117.46    | 13797     | 33.99   | 5.83             | 686      | 0       | 686      | 724     | 40.98      |
| Гиппуровая кислота                     | 745.73  | 217.57     | 445     | 445  | 1269      | 1609389   | 21.58   | 4.32             | 7223     | 0.32    | 7223     | 25355   | 442.64     |
| Себациновая кислота                    | 3.45    | 1.02       | 1.17    | 0    | 5.95      | 35.44     | 9.05    | 2.83             | 28.4     | 0       | 28.4     | 117.21  | 2.08       |
| 2-Гидроксиизокапроновая кислота        | 5.24    | 1.7        | 1.64    | 0    | 9.93      | 98.65     | 8.06    | 2.91             | 42.1     | 0       | 42.1     | 178.12  | 3.47       |
| Глутаровая кислота                     | 276.99  | 131.68     | 3.06    | 0.26 | 768       | 589585    | 14.3    | 3.63             | 3815     | 0       | 3815     | 9418    | 267.91     |
| Фенилпировиноградная кислота           | 2.25    | 0.47       | 1.66    | 0    | 2.76      | 7.64      | 5.87    | 2.32             | 11.5     | 0       | 11.5     | 76.55   | 0.96       |
| Субериновая кислота                    | 18.95   | 8.93       | 1.48    | 0    | 52.1      | 2714      | 23.07   | 4.55             | 289      | 0       | 289      | 644     | 18.18      |
| 4-Гидроксифенилпировиноградная кислота | 18.14   | 15.58      | 0       | 0    | 91        | 8248      | 31.99   | 5.6              | 525      | 0       | 525      | 617     | 31.69      |
| 4-Гидроксифенилуксусная кислота        | 52.28   | 12.06      | 21.35   | 20.3 | 70        | 4944      | 6.98    | 2.63             | 322      | 0       | 322      | 1778    | 24.53      |
| 4-Метил-2-оксвалериановая кислота      | 0.69    | 0.34       | 0       | 0    | 1.99      | 3.96      | 14.43   | 3.7              | 9.8      | 0       | 9.8      | 23.33   | 0.69       |

Таблица А.13 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *обследованных из группы сравнения для второй группы пациентов* с подозрением на пероксисомные болезни (число обследованных в группе сравнения 35, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр | Среднее | Ст. ошибка | Медиана | Мода  | Ст. откл. | Дисперсия | Экссесс | Асиммет- ричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма   | Ур. Над-ти |
|-------------------------|---------|------------|---------|-------|-----------|-----------|---------|-------------------|----------|---------|----------|---------|------------|
| C22:0                   | 84.16   | 4.16       | 89.38   | 106.2 | 24.59     | 604.69    | 0.13    | -0.89             | 95.52    | 21.3    | 116.82   | 2945.5  | 8.45       |
| C24:0                   | 60.22   | 3.25       | 60.66   | 56.58 | 19.23     | 369.77    | -0.90   | 0.12              | 67.7     | 27.88   | 95.58    | 2107.63 | 6.61       |
| C26:0                   | 0.83    | 0.06       | 0.79    | 0.96  | 0.35      | 0.13      | 0.38    | 0.88              | 1.52     | 0.20    | 1.72     | 29.12   | 0.12       |
| C24:0/ C22:0            | 0.73    | 0.04       | 0.72    | -     | 0.23      | 0.05      | 1.48    | 0.93              | 1.06     | 0.38    | 1.44     | 25.69   | 0.08       |
| C26:0/ C22:0            | 0.01    | 0          | 0.01    | -     | 0         | 0         | 2.53    | 1.5               | 0.02     | 0.01    | 0.02     | 0.37    | 0          |
| Фитановая кислота       | 2.7     | 0.9        | 1.61    | 2.72  | 5.31      | 28.16     | 23.58   | 4.72              | 30.36    | 0.07    | 30.43    | 94.5    | 1.82       |
| Пристановая кислота     | 2.35    | 0.36       | 2.15    | -     | 2.1       | 4.43      | 23.8    | 4.44              | 13.18    | 0.25    | 13.43    | 82.2    | 0.72       |

Таблица А.14 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *пациентов из второй группы* с подозрением на пероксисомные болезни *с выявленными патологиями* (число пациентов 17, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр | Среднее | Ст. ошибка | Медиана | Мода | Ст. откл. | Дисперсия | Экссесс | Асиммет- ричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма   | Ур. Над-ти |
|-------------------------|---------|------------|---------|------|-----------|-----------|---------|-------------------|----------|---------|----------|---------|------------|
| C22:0                   | 83.47   | 5.72       | 84      | 84   | 23.59     | 556.64    | 0       | 0.54              | 87       | 45      | 132      | 1419    | 12.13      |
| C24:0                   | 66.06   | 4.06       | 62      | 62   | 16.73     | 279.93    | 1.16    | 0.99              | 67       | 38      | 105      | 1123    | 8.6        |
| C26:0                   | 2.63    | 0.83       | 0.91    | -    | 3.42      | 11.72     | 4.75    | 2.25              | 12.22    | 0.58    | 12.8     | 44.79   | 1.76       |
| C24:0/ C22:0            | 0.81    | 0.04       | 0.82    | 0.84 | 0.15      | 0.02      | -0.39   | 0.45              | 0.50     | 0.59    | 1.09     | 13.76   | 0.08       |
| C26:0/ C22:0            | 0.03    | 0.01       | 0.01    | -    | 0.03      | 0         | 7.57    | 2.65              | 0.12     | 0.01    | 0.13     | 0.45    | 0.02       |
| Фитановая кислота       | 425.32  | 120.96     | 128     | -    | 498.73    | 248734.49 | -0.66   | 0.83              | 1455.82  | 2.18    | 1458     | 7230.38 | 256.42     |
| Пристановая кислота     | 4.95    | 1.70       | 1.14    | 0.36 | 7         | 49.02     | 1.25    | 1.52              | 22.6     | 0.2     | 22.8     | 84.08   | 3.60       |

Таблица А.15 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *обследованных из группы сравнения для третьей группы пациентов* с подозрением на нарушение обмена пуринов и пиримидинов (число обследованных в группе сравнения 35, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр   | Среднее | Ст. ошибка | Медиана | Мода | Ст. откл. | Дисперсия | Экцесс | Асимметричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма  | Ур. Над-ти |
|---------------------------|---------|------------|---------|------|-----------|-----------|--------|-----------------|----------|---------|----------|--------|------------|
| Гуанин                    | 1.45    | 0.15       | 1.5     | 2.8  | 0.9       | 0.8       | -1.42  | 0.10            | 2.7      | 0.1     | 2.8      | 50.7   | 0.31       |
| Урацил                    | 15.03   | 1.22       | 16      | 5    | 7.23      | 52.21     | -1.06  | -0.39           | 24.0     | 1.0     | 25.0     | 526    | 2.48       |
| Дигидроурацил             | 7.48    | 0.7        | 8.2     | 10   | 4.16      | 17.29     | -1.08  | -0.34           | 14.0     | 0.0     | 14.0     | 261.89 | 1.43       |
| Оротовая кислота          | 3.17    | 0.28       | 3       | 0.6  | 1.63      | 2.66      | -1.29  | 0.00            | 5.1      | 0.6     | 5.7      | 111    | 0.56       |
| Мочевая кислота           | 407.54  | 30.36      | 385     |      | 179.62    | 32262     | -1.07  | 0.04            | 590      | 105     | 695      | 14264  | 61.7       |
| Ксантин                   | 19.32   | 1.24       | 19.8    | 19.8 | 7.32      | 53.54     | -1.01  | -0.26           | 24.5     | 6.2     | 30.7     | 676.2  | 2.51       |
| Уреидопропионовая кислота | 5.36    | 0.5        | 5.1     | 2.7  | 2.96      | 8.75      | -1.32  | -0.03           | 9.4      | 0.3     | 9.7      | 187.7  | 1.02       |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 6.02    | 0.56       | 6.3     | 9.5  | 3.32      | 11.01     | -1.35  | -0.40           | 9.7      | 0.2     | 9.9      | 210.8  | 1.14       |
| Аденин                    | 1.29    | 0.13       | 1.4     | 0.2  | 0.79      | 0.63      | -1.30  | -0.05           | 2.6      | 0.0     | 2.6      | 45.3   | 0.27       |
| Цитидин                   | 1.5     | 0.16       | 1.4     | 2.7  | 0.92      | 0.85      | -1.36  | -0.06           | 2.8      | 0.0     | 2.8      | 52.45  | 0.32       |
| Дезоксиаденозин           | 1.31    | 0.14       | 1.4     | 1.5  | 0.85      | 0.72      | -1.21  | 0.11            | 2.7      | 0.0     | 2.7      | 45.7   | 0.29       |
| Уридин                    | 1.69    | 0.15       | 1.8     | 0.7  | 0.89      | 0.79      | -0.98  | 0.19            | 3.3      | 0.2     | 3.5      | 59.1   | 0.31       |
| Тимин                     | 0.83    | 0.09       | 0.9     | 0.9  | 0.52      | 0.27      | -1.09  | 0.13            | 1.7      | 0.0     | 1.7      | 29.2   | 0.18       |
| Дезоксиуридин             | 1.1     | 0.11       | 1.1     | 0.7  | 0.65      | 0.42      | -1.29  | -0.14           | 2.0      | 0.0     | 2.0      | 38.6   | 0.22       |
| Инозин                    | 1.79    | 0.17       | 2       | 2.1  | 0.98      | 0.96      | -1.29  | -0.17           | 3.0      | 0.1     | 3.1      | 62.6   | 0.34       |
| Гуанозин                  | 0.67    | 0.08       | 0.6     | 0.00 | 0.49      | 0.24      | -1.13  | 0.13            | 1.5      | 0.0     | 1.5      | 23.4   | 0.17       |
| Дезоксигуанозин           | 1.22    | 0.1        | 1.3     | 1.6  | 0.58      | 0.33      | -0.91  | -0.39           | 2.0      | 0.1     | 2.1      | 42.73  | 0.20       |
| Тимидин                   | 0.07    | 0.01       | 0.07    | 0    | 0.06      | 0.00      | -0.91  | 0.40            | 0.19     | 0.0     | 0.19     | 2.61   | 0.02       |
| Аденозин                  | 1.22    | 0.13       | 1.1     | 1.1  | 0.77      | 0.59      | -1.24  | 0.01            | 2.5      | 0.1     | 2.6      | 42.56  | 0.26       |

Таблица А.16 – Статистические параметры, рассчитанные по результатам *пациентов из третьей группы* с подозрением на нарушения обмена пуринов и пиримидинов *с выявленными патологиями* (число пациентов 18, доверительная вероятность 95%)

| Статистический параметр   | Среднее | Ст. ошибка | Медиана | Мода  | Ст. откл. | Дисперсия | Экцесс | Асимметричность | Интервал | Минимум | Максимум | Сумма  | Ур. Над-ти |
|---------------------------|---------|------------|---------|-------|-----------|-----------|--------|-----------------|----------|---------|----------|--------|------------|
| Гуанин                    | 0.34    | 0.14       | 0.00    | 0.00  | 0.58      | 0.33      | -0.68  | 1.14            | 1.4      | 0       | 1.4      | 6.2    | 0.29       |
| Урацил                    | 38.7    | 21.31      | 1.12    | 0.00  | 90.4      | 8173      | 6.47   | 2.65            | 325      | 0       | 325      | 697    | 44.96      |
| Дигидроурацил             | 39.95   | 19.58      | 5.67    | 2.6   | 83.07     | 6901      | 2.87   | 2.08            | 261.72   | 1.28    | 263      | 719    | 41.31      |
| Оротовая кислота          | 222.29  | 114.55     | 3.9     | 3.6   | 486       | 236194    | 4.09   | 2.26            | 1539     | 0.98    | 1540     | 4001   | 241.68     |
| Мочевая кислота           | 427.41  | 93.76      | 325.05  | 365.2 | 397.81    | 158251    | 2.13   | 1.73            | 1315.8   | 95.2    | 1411     | 7693   | 197.83     |
| Ксантин                   | 24.91   | 5.81       | 13.22   | 11.6  | 24.64     | 607       | 3.78   | 2.07            | 87.5     | 10.5    | 98       | 448    | 12.26      |
| Уреидопропионовая кислота | 1.89    | 0.85       | 0.38    | 0.00  | 3.62      | 13.13     | 9.53   | 2.92            | 14.67    | 0.00    | 14.67    | 34.07  | 1.8        |
| 5-Гидроксиметилурацил     | 1.57    | 0.36       | 0.89    | 0.00  | 1.51      | 2.27      | -1.17  | 0.63            | 4.16     | 0.00    | 4.16     | 28.21  | 0.75       |
| Аденин                    | 1.74    | 0.58       | 0.81    | 0.72  | 2.44      | 5.96      | 5.62   | 2.6             | 8.07     | 0.53    | 8.6      | 31.29  | 1.21       |
| Цитидин                   | 1.72    | 0.56       | 0.49    | 0.00  | 2.37      | 5.62      | 3.23   | 1.83            | 8.5      | 0.00    | 8.5      | 31.04  | 1.18       |
| Дезоксиаденозин           | 1.01    | 0.25       | 0.78    | 0.00  | 1.07      | 1.15      | 0.26   | 1.11            | 3.24     | 0.00    | 3.24     | 18.26  | 0.53       |
| Уридин                    | 0.32    | 0.15       | 0.00    | 0.00  | 0.66      | 0.43      | 4.01   | 2.1             | 2.3      | 0.00    | 2.3      | 5.7    | 0.33       |
| Тимин                     | 6.45    | 2.28       | 1.59    | 0.00  | 9.67      | 93.52     | 0.89   | 1.52            | 29       | 0.00    | 29       | 116.05 | 4.81       |
| Дезоксиуридин             | 0.85    | 0.33       | 0.34    | 0.00  | 1.39      | 1.93      | 10.1   | 2.97            | 5.8      | 0.00    | 5.8      | 15.31  | 0.69       |
| Инозин                    | 2.85    | 1.75       | 0.09    | 0.00  | 7.41      | 54.86     | 10.05  | 3.16            | 29       | 0.00    | 29       | 51.22  | 3.68       |
| Гуанозин                  | 4.18    | 2.4        | 0.93    | 0.00  | 10.16     | 103       | 8.94   | 3.04            | 39       | 0.00    | 39       | 75     | 5.05       |
| Дезоксигуанозин           | 3.43    | 1.86       | 0.49    | 0.00  | 7.91      | 62.57     | 5.81   | 2.65            | 26       | 0.00    | 26       | 61.65  | 3.93       |
| Тимидин                   | 0.11    | 0.1        | 0.00    | 0.00  | 0.42      | 0.18      | 17.62  | 4.18            | 1.8      | 0.00    | 1.8      | 1.97   | 0.21       |
| Аденозин                  | 0.99    | 0.23       | 0.36    | 0.36  | 0.98      | 0.97      | 0.8    | 1.15            | 3.5      | 0.00    | 3.5      | 17.86  | 0.49       |