

На правах рукописи

АНТОНЕЦ
Анна Валерьевна

**РОЛЬ ТАНДЕМНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В НЕОНАТАЛЬНОМ
СКРИНИНГЕ НАСЛЕДСТВЕННЫХ БОЛЕЗНЕЙ ОБМЕНА ВЕЩЕСТВ**

03.02.07 - генетика

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Белгород – 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель: Куцев Сергей Иванович, доктор медицинских наук

Официальные оппоненты:

Иванов Владимир Петрович, доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки России, профессор; Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой биологии, медицинской генетики и экологии

Зинченко Рена Абульфазовна, доктор медицинских наук, профессор; Федеральное государственное бюджетное учреждение «Медико-генетический научный центр» Российской академии медицинских наук, руководитель лаборатории генетической эпидемиологии

Ведущая организация: Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный медицинский университет имени Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «___» _____ 2013 года в «___» часов на заседании совета по защите диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 212.015.13 при Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», по адресу: 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85.

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке ФГАОУ ВПО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Автореферат разослан «___» _____ 2013 г.

Ученый секретарь совета по защите диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук Д 212.015.13, доктор биологических наук

В.И.Кочкаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Наследственные болезни обмена веществ (НБО) - класс многочисленных моногенно наследуемых заболеваний, обусловленных мутациями генов, контролирующих синтез ферментов, структурных, транспортных или других белков (Краснопольская К.Д., 2005; Михайлова С.В., Захарова Е.Ю., 2011). Клинические проявления НБО разнообразны и зависят от функциональной значимости пораженного метаболического пути, вовлеченного в патогенез НБО. Как правило, НБО манифестируют неспецифическими симптомами, маскирующими их под другую, ненаследственную соматическую патологию. Вместе с тем своевременная диагностика метаболических наследственных заболеваний важна, так как для многих из них разработаны и продолжают разрабатываться эффективные методы патогенетического лечения, без которого исход заболеваний зачастую фатальный.

Общепризнано, что одним из наиболее плодотворных подходов к раннему выявлению наследственной патологии является неонатальный генетический скрининг. Развитие метода тандемной масс-спектрометрии (МС/МС) с электроспрейной ионизацией сделало крупномасштабный масс-спектрометрический скрининг применимым в практике массового обследования на НБО к концу 90-х годов XX века. Этот высокочувствительный метод позволяет одновременно определять в крови концентрации десятков аминокислот и ацилкарнитинов, имеющих значение для диагностики НБО. Эффективность лабораторного теста МС/МС позволила включить его в государственные программы неонатального скрининга новорожденных детей на НБО в ряде стран (Zytkovicz T.H. et al., 2001; Wilcken V. et al., 2003; Pandor A. et al., 2004).

Тем не менее, в Российской Федерации метод МС/МС не внедрен в систему массового обследования новорожденных детей и доступен для селективного скрининга на НБО только в единичных федеральных медицинских центрах России. В связи с этим, по-видимому, многие случаи наследственных нарушений обмена аминокислот и ацилкарнитинов остаются недиагностированными, и некоторые из них, вероятно, могут заканчиваться летальным исходом на первом году жизни детей.

Внедрение метода МС/МС в практику неонатального скрининга сопровождается одной из ключевых проблем - определением референсных значений физиологических концентраций исследуемых метаболитов. Кроме того, необходима оценка возможных факторов, влияющих на результаты исследований методом МС/МС. Без знания и учета таких факторов концепция диагностики методом тандемной масс-спектрометрии остается неполной. Для подтверждения необходимости внедрения скрининга новорожденных методом МС/МС необходимы пилотные проекты по массовому и селективному обследованию новорожденных детей на НБО методом тандемной масс-спектрометрии.

Цель исследования:

Разработать научные основы внедрения массового обследования новорожденных детей на наследственные болезни обмена веществ (аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот) методом тандемной масс-спектрометрии на региональном уровне в Российской Федерации.

Задачи исследования:

1. Определить референсные значения физиологических концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных Юга России.
2. Провести пилотное массовое обследование новорожденных детей четырех районов Ростовской области на аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот методом тандемной масс-спектрометрии.
3. Выявить особенности профиля концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у недоношенных новорожденных.
4. Проанализировать изменение профиля аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных в зависимости от состояния гипоксии на момент рождения.
5. Ретроспективно исследовать содержание аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у детей, умерших на первом году жизни.

Научная новизна

Впервые определены референсные значения физиологических концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных детей Юга России.

Впервые проведено массовое обследование новорожденных, родившихся на определенной административной территории Юга России в течение ограниченного периода времени, на аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот методом тандемной масс-спектрометрии.

Определена зависимость концентраций ряда аминокислот и ацилкарнитинов от физиологической зрелости новорожденного и гипоксических состояний при рождении.

На примере ретроспективного посмертного обследования детей первого года жизни показана необходимость использования метода тандемной масс-спектрометрии для массового скрининга аминоацидопатий, органических ацидурий и дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот.

Практическая значимость

Рассчитанные значения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных Юга России могут быть использованы в качестве референсных физиологических норм при организации массового скрининга на аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот методом МС/МС. Предложен алгоритм диагностики НБО у новорожденных при проведении неонатального

скрининга методом тандемной масс-спектрометрии. Разработана карта дополнительного обследования новорожденных с повышенными концентрациями аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови, выявленными при проведении неонатального скрининга. Доказана необходимость учета состояния физиологической зрелости и гипоксии у новорожденных на момент рождения при проведении исследования концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови методом МС/МС.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Референсные значения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных, используемых в массовом обследовании на НБО методом МС/МС, должны быть определены в популяции, для которой организуется неонатальный скрининг.
2. При интерпретации результатов исследования концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных методом МС/МС следует учитывать состояние доношенности, массу тела ребенка и гипоксические состояния.
3. Применение МС/МС в массовом обследовании новорожденных может быть рекомендовано в качестве эффективного метода ранней диагностики аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот.

Апробация работы

Материалы диссертации доложены на третьей международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины», 2009, г.Ростов-на-Дону; на VI съезде Российского общества медицинских генетиков, 2010; на X научной сессии молодых ученых «Современное решение актуальных научных проблем в медицине», г.Нижний Новгород, 2011; на II Всероссийской конференции по редким заболеваниям и редко применяемым медицинским технологиям «Дорога жизни» с международным участием, г.Санкт-Петербург, 2011; на международной научно-практической конференции «Эпигенетические заболевания», г.Харьков, Украина, 2011; на XVI конгрессе педиатров России, 2012.

Внедрение в практику здравоохранения

Полученные данные используются при чтении лекции и проведении семинаров на курсе медицинской генетики кафедры гематологии и трансфузиологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов с курсами клинической лабораторной диагностики, генетики и лабораторной генетики ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Результаты работы внедрены в работу лаборатории медицинской генетики ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Личный вклад диссертанта

Автор принимала непосредственное участие как на этапе планирования диссертационного исследования, изучения данных отечественной и зарубежной литературы, так и при проведении лабораторного исследования биологического материала, статистической обработки, анализа и обобщения результатов в виде рукописи.

Публикации

По результатам диссертации опубликовано 12 печатных работ соискателя, в том числе 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК МОН РФ для соискателей ученой степени кандидата медицинских наук. Подготовлено 1 учебно-методическое пособие для врачей

Структура и объём диссертации

Диссертация состоит из введения, обзора литературы и глав, посвященных описанию материалов и методов исследования, изложению полученных результатов и их обсуждения, содержит заключение и выводы. Работа изложена на 168 страницах машинописного текста, содержит 13 таблиц, 71 рисунок и 1 приложение. Библиографический указатель включает 162 наименования, из них 51 отечественных и 111 иностранных источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Материалы исследования

В соответствии с поставленными задачами в исследование были включены три группы детей:

- клинически здоровые новорожденные дети, рожденные на территории Юга России (n=438) для определения референсных значений физиологических концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови;

- все дети, рожденные на территории четырех районов Ростовской области (Красносулинского, Мясниковского, Целинского и Цимлянского) в период с 01.12.2009 г. по 31.12.2010 г. (n=1822) для пилотного неонатального скрининга НБО методом МС/МС;

- все дети, умершие на первом году жизни от различных причин в период с 01.01.2010 по 31.12.2010 на территории Краснодарского края, (n=86) для проведения ретроспективного исследования на НБО методом МС/МС.

Основным материалом для исследования были сухие пятна капиллярной крови новорожденных детей на стандартных фильтровальных бумажных тест-бланках. Дополнительно использовались клинические данные неонатального периода.

Забор образцов периферической крови из пятки новорожденных производился на 3-8 день жизни на фильтровальные бумажные тест-бланки в соответствии с определенными правилами, утвержденными Приказом Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации №185 от 22 марта 2006г. «О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания».

Лабораторные исследования методом МС/МС производились на базе лаборатории медицинской генетики ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ввиду того, что в диагностике НБО методом МС/МС ключевое значение имеют верхние значения концентраций метаболитов, в случае превышения верхнего референсного значения в 1,5 и более раз образцы периферической крови таких новорожденным подвергались ретесту и, в случае сохранения повышения по результатам повторного анализа, такие дети вызывались в МГК Ростовской области для клинического обследования и взятия повторного образца периферической крови. Тактика организационных мероприятий включала извещение районного педиатра посредством электронной почты или телефонной связи и вызов ребенка на осмотр врачом-генетиком.

В ходе проведения неонатального скрининга на НБО у новорожденных четырех районов Ростовской области методом МС/МС был предложен определенный алгоритм действий, адекватных для скоординированной работы лабораторного и клинического звена (рис. 1).

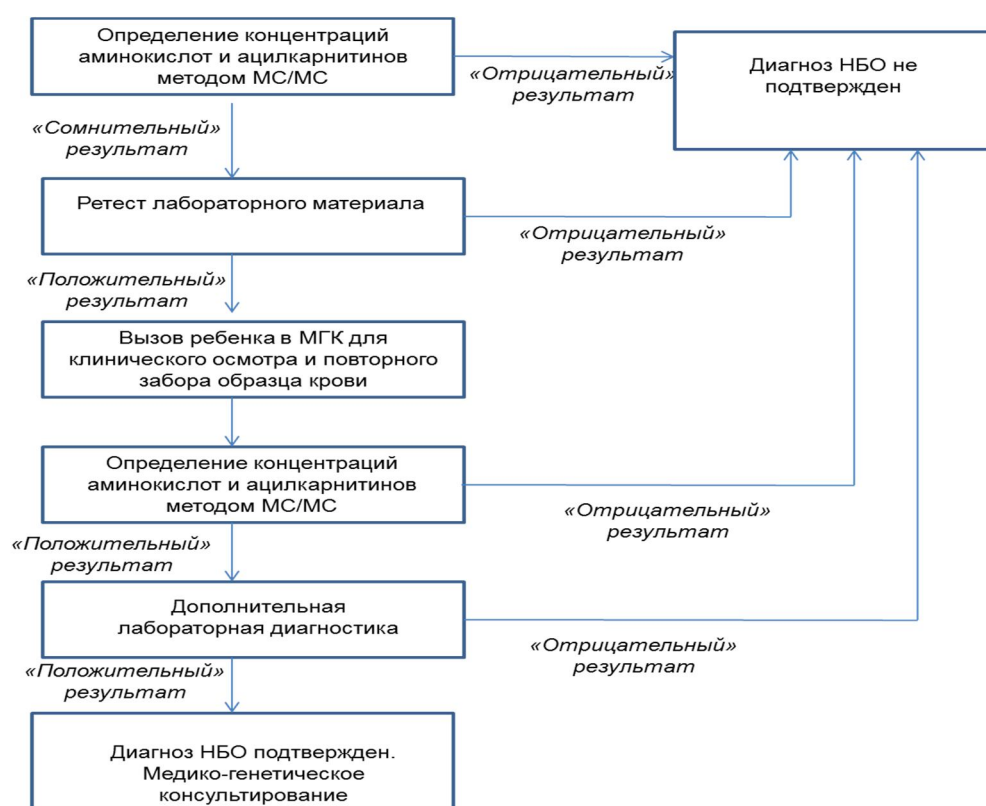


Рис. 1. Алгоритм мероприятий при неонатальном скрининге НБО методом МС/МС

Методы исследования

Для определения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в сухих пятнах крови с помощью тандемной масс-спектрометрии использовался набор реагентов «CHROMSYSTEM» (сертифицированная методика компании CHROMSYSTEM № V1 07 05 57136 001), тандемный масс-спектрометр Agilent 6410 (Agilent Technologies, США).

Для подтверждающей молекулярно-генетической диагностики лейциноза проводили выделение ДНК из сухих пятен крови, используя набор реактивов Diatom DNA Prep (ООО «Биоком», Россия), подбор праймеров для 10 экзонов генов *BCKDHA* и *BCKDHB*. Секвенирование ПЦР-фрагментов с целью

выявления редких мутаций проводилось согласно протоколу фирмы-производителя на приборе ABI Prism 3500 (Applied Biosystem).

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ Statistica 6,0 и электронных таблиц Excel 2007.

В ходе исследования применялись стандартные методики статистического анализа: определение 99,5 и 0,5 перцентилей, медиан, максимальных и минимальных значений концентраций исследуемых метаболитов (описательная (дескриптивная) статистика); оценка соответствия эмпирического закона распределения количественных переменных теоретическому закону нормального распределения по критерию Колмогорова-Смирнова и Лиллиефорса; оценка значимости различия χ^2 количественных показателей в независимых выборках по непараметрическому U-критерию Манна-Уитни; оценка корреляционной связи между признаками проводилась с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Уровень статистической значимости принимался как $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Определение референсных значений концентраций аминокислот и ацилкарнитиннов в периферической крови у новорожденных

С целью определения референсных значений физиологических концентраций аминокислот и ацилкарнитиннов в периферической крови было обследовано 438 клинически здоровых новорожденных детей, родившихся в срок 38-40 недель гестации. Средняя масса тела новорожденных детей составила $3546,5 \pm 487$ гр. Число девочек составило 227, мальчиков – 211.

В результате проведенного исследования были определены 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации аминокислот и ацилкарнитиннов (в т.ч. для ацилкарнитиннов с двойными связями и ОН-группами в молекуле) в периферической крови новорожденных детей Юга России, а также определены медианы, минимальные и максимальные значения (таб. 1, 2).

При сравнении полученных данных с референсными значениями производителя реагентов «Chromsystem» по концентрациям аминокислот, свободного карнитина и ацилкарнитиннов без ОН-групп и двойных связей в составе своей молекулы получены расхождения от 20 до 85% в ту или иную сторону (рис. 2).

Кроме того, впервые были рассчитаны значения концентраций ацилкарнитиннов с наличием ОН-группы и двойных связей в молекуле в периферической крови у новорожденных детей Юга России. Нормы содержания таких ацилкарнитиннов не представлены в наборе реагентов.

Таким образом, рассчитанные референсные значения концентраций аминокислот и ацилкарнитиннов в периферической крови у новорожденных детей Юга России могут являться региональными нормами при проведении массового обследования на НБО.

Таблица 1

Референсные значения, медианы и крайние значения физиологических концентраций аминокислот в периферической крови у новорожденных Юга России

Метаболит	0,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	99,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	Медиана, $\mu\text{моль/л}$	Минимальное значение, $\mu\text{моль/л}$	Максимальное значение, $\mu\text{моль/л}$
Ala	63,6	667,8	266,3	19,8	755,9
Arg	4,93	37,7	12,4	3,8	47,9
Asp	25,7	226,2	67,9	23,7	241,3
Cit	4,75	33,5	12,7	4,3	53,1
Glu	262,2	1310,8	622,8	206,8	1507,8
Gly	179,3	979,02	388,4	128,5	1208,9
Met	7,02	28,9	14,6	6,0	30,2
Orn	39,2	354,5	125,9	20,98	374,1
Phe	23,09	94,9	49,8	20,96	104,5
Tyr	20,8	171,4	50,3	16,3	264,2
Val	41,5	196,8	41,5	31,3	210,9
Xle	55,4	266,9	138,9	47,4	337,9

Таблица 2

Референсные значения, медианы и крайние значения физиологических концентраций ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных Юга России

Метаболит	0,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	99,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	Медиана, $\mu\text{моль/л}$	Минимальное значение, $\mu\text{моль/л}$	Максимальное значение, $\mu\text{моль/л}$
C0	7,5	69,9	23,4	5,9	84,1
C2	6,1	63,9	23,4	5,1	71,2
C3	0,4	4,4	1,5	0,2	5,3
C4	0,06	0,7	0,18	0,05	0,72
C5	0,05	0,39	0,11	0,049	0,46
C6	0,008	0,1	0,04	0	0,13
C8	0,016	0,14	0,045	0,012	0,169
C10	0,024	0,21	0,07	0,016	0,24
C12	0,098	1,06	0,306	0,07	2,16
C14	0,05	0,42	0,177	0,04	0,52
C16	0,72	6,41	2,7	0,61	6,63
C18	0,24	1,51	0,69	0,15	1,69
C3DC	0,023	0,16	0,074	0,016	0,17
C4DC	0,091	0,56	0,22	0,07	0,66
C5DC	0,003	0,24	0,09	0	0,35
C16OH	0,01	0,05	0,023	0,01	0,054
C5OH	0,047	0,27	0,124	0,035	0,623
C5:1	0	0,03	0,011	0	0,048
C8:1	0,019	0,12	0,048	0,016	0,157
C10:1	0,01	0,07	0,3	0,004	0,084
C14:1	0,04	0,34	0,117	0,031	0,804
C14:2	0,007	0,04	0,02	0,006	0,054
C14OH	0,003	0,05	0,025	0,002	0,057
C16:1	0,031	0,35	0,14	0,028	0,382
C16:1OH	0,011	0,07	0,034	0,008	0,108
C18:1	0,29	2,34	1,031	0,251	2,683
C18:1OH	0,006	0,03	0,016	0,003	0,033
C18:2OH	0	0,01	0,003	0	0,016
C18OH	0,005	0,02	0,011	0,002	0,024

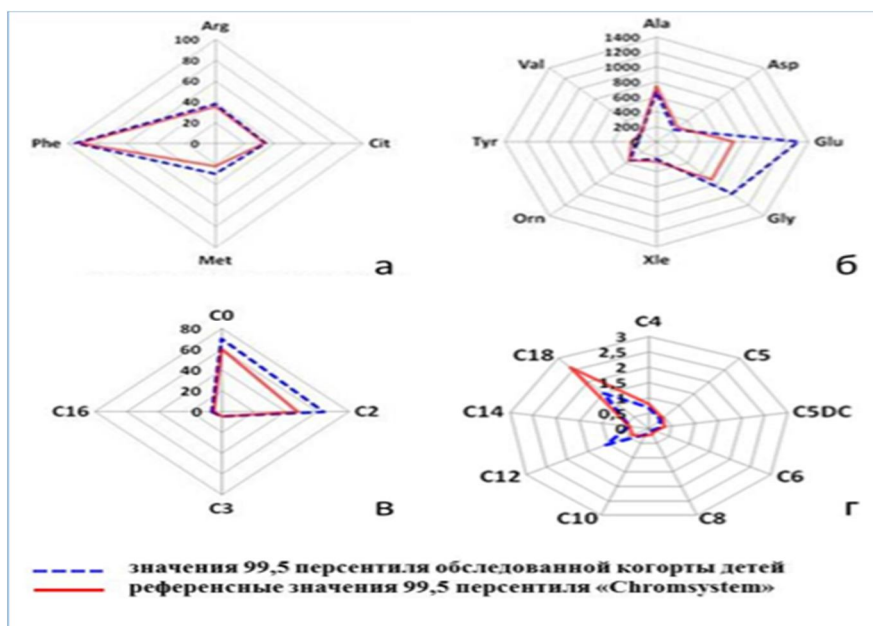


Рис. 2. Сравнение референсных значений 99,5 персентиля концентраций аминокислот (а, б) и ацилкарнитинов (в, г) в периферической крови новорожденных детей Ростовской области с референсными значениями производителя реагентов «Chromsystem»

Пилотное массовое обследование новорожденных на аминокислотопатию, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот

В рамках исследования были обследованы все новорожденные ($n=1822$), родившиеся на территории четырех районов Ростовской области (Красносулинского, Мясниковского, Цимлянского и Целинского) за период с 01.12.2009 г. по 31.12.2010 г.

Анализ данных по концентрациям аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у всех новорожденных четырех районов Ростовской области ($n=1822$) показал, что 1122 новорожденных (61,6%) имели несоответствие референсных значений по крайней мере по одному параметру, из них 741 детей (40,7%) имели значения концентраций аминокислот или ацилкарнитинов в крови ниже 0,5 персентиля, 260 детей (14,3%) – выше 99,5 персентиля, 121 (6,6%) - имели превышения 99,5 персентиля и значения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови ниже 0,5 персентиля (рис. 3).

При детальном рассмотрении случаев повышения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных четырех районов Ростовской области выяснилось, что у 273 новорожденных превышение 99,5 персентиля наблюдалось только по одному метаболиту, у 57 новорожденных - по двум метаболитам, у 20 новорожденных – по трем, у 49 новорожденных – по четырем, у 5 новорожденных – по пяти метаболитам, у 10 новорожденных по 6 и более метаболитам (рис. 4).

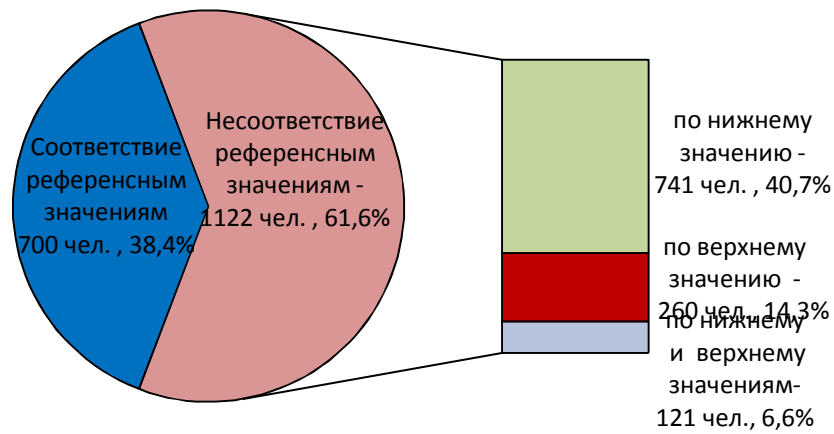


Рис. 3. Соответствие данных по концентрациям аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных 4-х районов Ростовской области референсным значениям, полученным для детей Юга России

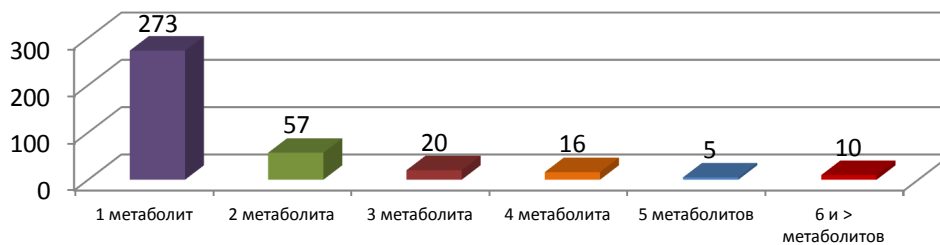


Рис. 4. Данные по числу новорожденных, имеющих значения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови выше 99,5 персентилля

Число значений концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных четырех районов Ростовской области, которые оказались ниже 0,5 персентилля, выше чем количество случаев превышенных значений концентрации. Так, у 469 новорожденных значения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов ниже 0,5 персентилля наблюдалось только по одному метаболиту, у 212 новорожденных - по двум метаболитам, у 99 новорожденных – по трем, у 49 новорожденных – по четырем, у 15 новорожденных – по пяти метаболитам, у 18 новорожденных по 6 и более метаболитам (рис. 5).

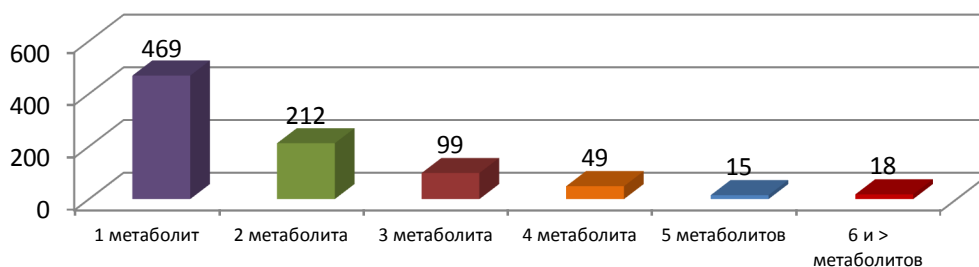


Рис. 5. Данные по числу новорожденных, имеющих значения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови ниже 0,5 персентилля

Однако, необходимо отметить, что в диагностике аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот большее значение имеют именно верхние пределы, так как накопление в

биологических средах метаболита, фермент превращения которого имеет генетически обусловленный дефект, и является основой диагностики наследственных нарушений обмена веществ. Тем не менее, существуют отдельные заболевания, для которых именно снижение концентрации метаболитов имеет диагностическое значение. К такой патологии относятся дефицит фермента карнитинпальмитоилтрансферазы I типа (снижаются концентрации C16, C18:1, C18:2); дефицит ферментов карнитинпальмитоилтрансферазы II типа и карнитин/ацилкарнитинтранслоказы (снижается концентрация свободного карнитина). При дефектах транспорта карнитина происходит тотальное снижение концентрации всех ацилкарнитинов (Николаева Е.А., 2005; Михайлова С.В., 2011; Bennet M.J., 2000).

В исследовании чаще всего наблюдались значения концентраций ниже 0,5 персентиля для следующих ацилкарнитинов: для C2 – у 167 новорожденных детей (9,2%), для C3DC – у 223 детей (12,2%), для C4DC – у 274 детей (15,0%), для C18OH – у 213 детей (11,7%). Случаев сочетанного снижения многих ацилкарнитинов не выявлено, поэтому, вероятнее всего, низкие концентрации ацилкарнитинов у новорожденных детей могут объясняться статусом энергетического обмена в состоянии неонатального стресса.

Низкая концентрация метионина в крови может свидетельствовать о тяжелом дефиците потребления белка, дефектах метаболизма кобаламина, недостаточности фермента фолатного цикла метилентетрагидрофолатредуктазы (Blau N. et al., 2008). Недостаточность этого фермента может быть обусловлена генетически или же вызвана дефицитом фолиевой кислоты и витаминов группы В (Гречанина Е.Я. с соавт., 2010). В исследовании у 280 детей (15,4%) наблюдались значения концентрации метионина в периферической крови ниже 0,5 персентиля. Однако, в этих случаях экстремально низких концентраций метионина в периферической крови у новорожденных четырех районов Ростовской области не наблюдалось. Снижение концентрации аргинина в крови наблюдается при недостаточности ферментов цикла мочевины карбамолфосфат синтетазы, орнитинтранскарбамилазы, цитруллинемии I типа, при аргининоянтарной ацидурии. Однако, при перечисленных нарушениях цикла мочевины при снижении концентрации аргинина в крови одновременно будет наблюдаться и повышение концентрации других метаболитов, характерных для дефекта того или иного фермента (Николаева Е.А., 2005; Михайлова С.В., 2011; Bennet M.J., 2000). В исследованной когорте новорожденных детей такого сочетания изменений концентрации метаболитов не обнаружено ни в одном случае. Более того, низкие концентрации аминокислот и ацилкарнитинов могут быть вследствие физиологических причин, связанных с интенсивным ростом и развитием ребенка, характером вскармливания и особенностями питания матери в случае естественного вскармливания (Николаева Е.А., 2005).

По мнению ряда авторов (Chase D.H., 2001, 2002; Dietzen D.J., 2009), для большинства из анализируемых метаболитов нижнее референсное значение равно нулю. В связи с этим, случаи снижения концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных четырех районов Ростовской области не рассматривались как критические. Случаев

экстремально низких концентраций метионина, аргинина, свободного карнитина и ацилкарнитинов, которые могут иметь диагностическое значение, зафиксировано не было.

Исследование концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у доношенных и недоношенных новорожденных

По мнению ряда авторов, группой новорожденных, которые требуют особого подхода в интерпретации лабораторных тестов, являются недоношенные дети с низкой массой (Bayes R. et al., 2001; Zytkovicz et al., 2001; M.S. Wainwright et al., 2006).

В ходе исследования новорожденных четырех районов Ростовской области в обследуемую группу были включены все дети (метод сплошного обследования), рожденные на данной территории в течение 13 месяцев ($n=1822$). В данную группу вошли 39 новорожденных с признаками недоношенности.

В ходе статистического анализа данных по концентрациям аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у доношенных и недоношенных новорожденных было обнаружено статистически значимое ($p<0,05$) различие между группами по концентрациям ряда метаболитов в крови.

Так, в ходе исследования выяснилось, что различие между группами доношенных и недоношенных новорожденных по концентрации аланина в периферической крови статистически значимо ($p=0,045$). В группе доношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации аланина в периферической крови составили 127,8 и 654,7 $\mu\text{моль/л}$ соответственно, медиана - 264,4 $\mu\text{моль/л}$ (рис. 6). Минимальное и максимальное значения в этой группе составили 97,1 и 971,8 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3). В группе недоношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации аланина в периферической крови составили 98,8 и 455,4 $\mu\text{моль/л}$ соответственно, медиана - 225,5 $\mu\text{моль/л}$, минимальное и максимальное значения - 94,2 и 455,3 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3).

Статистически значимое различие между данными группами обнаружилось и по концентрации глутаминовой кислоты ($p=0,0006$). В группе доношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации глутаминовой кислоты в периферической крови составили 329,2 и 1126,8 $\mu\text{моль/л}$ соответственно, медиана - 625,2 $\mu\text{моль/л}$ (рис. 6). Минимальное и максимальное значения в этой группе составили 202,2 и 1316,3 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3). В группе недоношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации глутаминовой кислоты периферической крови составили 234,1 и 1422,9 $\mu\text{моль/л}$ соответственно, медиана - 519,7 $\mu\text{моль/л}$, минимальное и максимальное значения - 216,4 и 1519,6 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3).

Также обнаружено, что обследуемые группы доношенных и недоношенных новорожденных различаются по концентрациям аспарагиновой кислоты ($p=0,013$), орнитина ($p=0,007$) и валина ($p=0,000025$) (рис. 6). В группе доношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации для аспарагиновой кислоты в периферической крови составили 29,3 и

240,7 $\mu\text{моль/л}$ соответственно; для орнитина – 25,6 и 284,7; для валина – 52,2 и 188,2 $\mu\text{моль/л}$ соответственно. Медианы концентраций аспарагиновой кислоты, орнитина и валина в периферической крови у доношенных новорожденных имели значения 71,1 $\mu\text{моль/л}$, 72,3 $\mu\text{моль/л}$, 96,0 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (рис. 6). Минимальное и максимальное значения в этой группе составили 26,3 и 317,9 $\mu\text{моль/л}$ для аспарагиновой кислоты; 13,6 и 529,5 $\mu\text{моль/л}$ для орнитина; 38,6 и 222,1 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3).

В группе недоношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации метаболитов в периферической крови составили 29,6 167,2 $\mu\text{моль/л}$ для аспарагиновой кислоты; 11,9 и 146,2 $\mu\text{моль/л}$ для орнитина; 44,3 и 151,5 $\mu\text{моль/л}$ для валина соответственно (рис. 6). Медианы концентраций аспарагиновой кислоты, орнитина и валина в периферической крови у недоношенных новорожденных имели значения 66,3 $\mu\text{моль/л}$, 51,4 $\mu\text{моль/л}$, 73,4 $\mu\text{моль/л}$ соответственно. Минимальное и максимальное значения в группе недоношенных новорожденных составили 29,5 и 173,1 $\mu\text{моль/л}$ для аспарагиновой кислоты; 10,8 и 146,5 $\mu\text{моль/л}$ для орнитина; 43,4 и 151,5 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3).

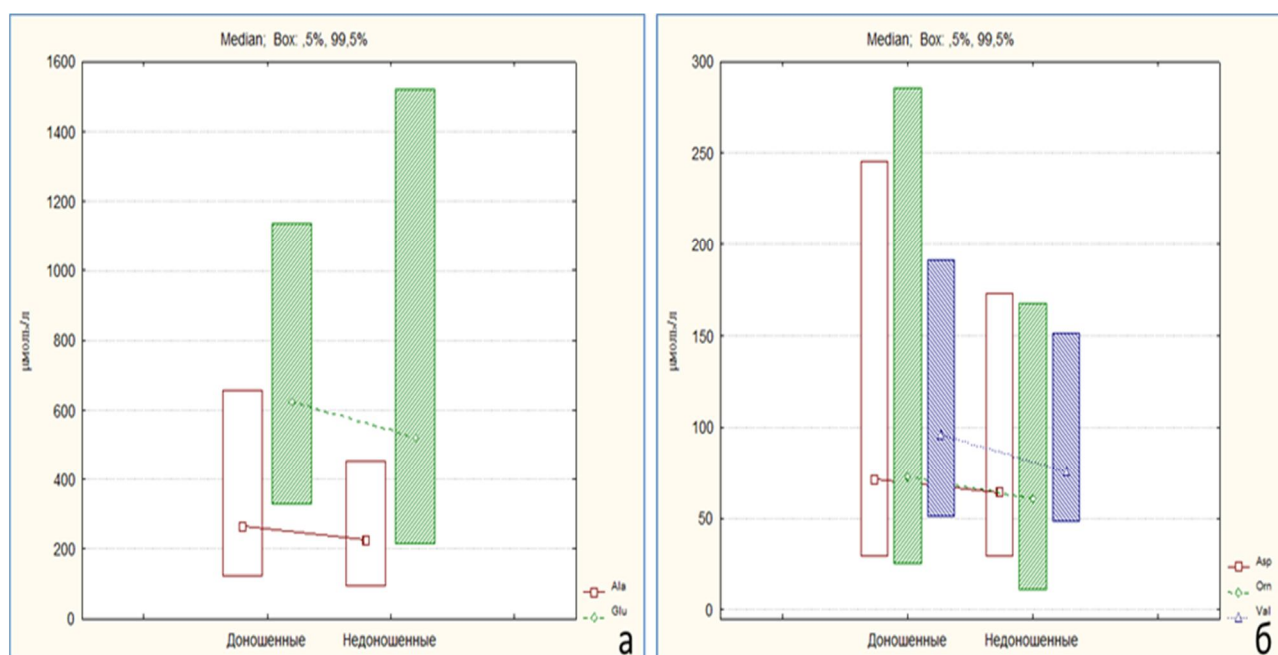


Рис. 6. Результаты сравнения концентраций аланина и глутаминовой кислоты (а), аспарагиновой кислоты, орнитина и валина (б) в периферической крови у доношенных и недоношенных новорожденных

Помимо выявленных различий по концентрациям аминокислот в периферической крови доношенных и недоношенных новорожденных, установлено, что существует статистически значимое различие ($p=0,000005$) в данных группах по одному ацилкарнитину – метилмалонилкарнитину. В группе доношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации С4DC в периферической крови составили 0,05 и 0,405 $\mu\text{моль/л}$ соответственно, медиана - 0,135 $\mu\text{моль/л}$. Минимальное и максимальное значения в этой группе

составили 0,022 и 0,558 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3). В группе недоношенных новорожденных 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации С4ДС в периферической крови составили 0,024 и 0,18 $\mu\text{моль/л}$ соответственно, медиана - 0,101 $\mu\text{моль/л}$, минимальное и максимальное значения - 0,02 и 0,181 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 3).

Таким образом, выявленные статистически значимые различия по концентрациям отдельных метаболитов в периферической крови у доношенных и недоношенных новорожденных позволили предположить, что существует связь между массой тела ребенка при рождении и концентрацией аминокислот и ацилкарнитинов в крови. В исследовании проанализировано наличие корреляционной связи между массой тела всех новорожденных ($n=1822$) и концентрацией не только аланина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, орнитина, валина и метилмалонилкарнитина, но и всех остальных аминокислот и ацилкарнитинов, которые определялись методом МС/МС.

В результате проведенной статистической обработки данных с использованием коэффициента ранговой корреляции Спирмена (r), обнаружено наличие статистически значимой ($p<0,05$) положительной корреляционной связи между массой тела новорожденных и концентрацией аланина ($r=0,054$, $p=0,02$), глутаминовой кислоты ($r=0,048$, $p=0,039$), аспарагиновой кислоты ($r=0,06$, $p=0,007$), орнитина ($r=0,07$, $p=0,002$), валина ($r=0,05$, $p=0,029$). Более того такая корреляция установлена и в отношении фенилаланина ($r=0,046$, $p=0,047$). При анализе данных не выявлено корреляции между массой тела новорожденных и концентрацией метилмалонилкарнитина и других анализируемых ацилкарнитинов.

Таким образом, наличие корреляционной связи между массой тела новорожденного и концентрацией метаболитов в крови, является аргументом в пользу дифференцированного подхода к оценке физиологических показателей обмена аминокислот и ацилкарнитинов в крови у новорожденных.

Исследование концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных при гипоксии

В ходе исследования новорожденных четырех районов Ростовской области в обследуемую группу были включены все дети (метод сплошного обследования), рожденные на данной территории в течение 13 месяцев ($n=1822$). В данной группе была выделена подгруппа из 29 новорожденных с признаками тяжелой степени гипоксии при рождении.

В ходе статистического анализа данных обнаружено статистически значимое ($p<0,05$) различие между группами по концентрациям ряда метаболитов в периферической крови, а именно, цитруллина ($p=0,003$), фенилаланина ($p=0,024$), глутаминовой кислоты ($p=0,017$), децеаноилкарнитина ($p=0,023$) и гидроксидолеилкарнитина ($p=0,022$).

В группе новорожденных без признаков гипоксии 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации метаболитов в периферической крови составили

5,9 и 51,5 $\mu\text{моль/л}$ для цитруллина; 31,2 и 99,1 $\mu\text{моль/л}$ для фенилаланина; 329,2 и 1134,3 для глутаминовой кислоты соответственно.

Таблица 3

Параметры значений концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови
в группах недоношенных и доношенных новорожденных

Метаболит	Недоношенные новорожденные (n=39)					Доношенные новорожденные (n=1883)				
	Медиана, μмоль/л	0,5 перцентиль, μмоль/л	99,5 перцентиль, μмоль/л	Минималь- ное значение, μмоль/л	Максималь- ное значение, μмоль/л	Медиана, μмоль/л	0,5 перцентиль, μмоль/л	99,5 перцентиль, μмоль/л	Минималь- ное значение, μмоль/л	Максималь- ное значение, μмоль/л
Ala*	225,5	98,8	445,4	94,2	455,3	264,40	127,8	654,7	97,1	971,8
Arg	10,2	4,5	54,6	4,4	58,9	10,2	4,0	41,0	2,3	71,2
Asp*	66,3	29,6	167,2	29,5	173,1	71,1	29,3	240,7	26,3	317,9
Cit	11,6	5,2	33,3	5,10	34,8	12,7	5,9	51,5	4,1	203,0
Glu*	519,7	234,1	1422,9	216,4	1519,6	625,2	329,2	1126,8	202,2	1316,3
Gly	331,4	187,0	810,0	185,2	844,1	359,1	179,9	1063,9	132,2	3111,7
Met	8,9	3,0	69,9	2,9	78,9	10,04	3,5	21,7	1,7	28,8
Orn*	51,4	11,9	146,2	10,8	146,5	72,3	25,6	284,7	13,6	529,5
Phe	50,6	24,2	136,4	23,7	149,8	51,6	31,2	99,1	24,9	151,8
Tyr	50,9	19,6	125,5	17,9	126,9	50,1	22,0	158,6	17,5	352,2
Val*	73,4	44,3	151,5	43,4	151,5	96,0	52,2	188,2	38,6	222,1
Xle	132,4	77,2	257,3	74,3	260,6	144,0	79,8	276,6	37,0	334,7
C0	28,7	11,2	103,0	11,7	106,4	30,2	12,0	75,1	8,1	95,2
C14	0,2	0,06	0,41	0,06	0,43	0,18	0,08	0,37	0,05	0,9
C2	11,3	0,71	82,0	0,65	92,6	14,4	2,0	57,2	0,89	85,5
C3	1,2	0,09	4,0	0,07	4,07	1,4	0,32	4,9	0,17	8,8
C4	0,2	0,09	1,08	0,08	1,23	0,19	0,07	0,64	0,03	3,18
C5	0,14	0,05	0,42	0,05	0,56	0,14	0,05	0,54	0,05	1,73
C5DC	0,09	0,03	0,21	0,02	0,3	0,08	0,02	0,23	0	0,77
C8	0,04	0,02	0,29	0,02	0,31	0,04	0,01	0,16	0,01	0,38
C6	0,04	0,02	0,19	0,01	0,202	0,049	0,01	0,12	0,009	0,54
C10	0,08	0,02	0,23	0,03	0,23	0,085	0,03	0,235	0,03	0,39
C3DC	0,03	0	0,11	0,005	0,12	0,036	0,010	0,119	0,005	0,25
C4DC*	0,1	0,02	0,18	0,02	0,181	0,135	0,050	0,405	0,02	0,55

* Статистически значимые различия в группах доношенных и недоношенных новорожденных ($p < 0,5$).

Медиана концентраций цитруллина, фенилаланина и глутаминовой кислоты в периферической крови у новорожденных без признаков гипоксии имели значения 12,7 $\mu\text{моль/л}$, 51,6 $\mu\text{моль/л}$, 624,5 $\mu\text{моль/л}$ соответственно. Минимальное и максимальное значения в группе новорожденных без признаков гипоксии составили 4,1 и 203,0 $\mu\text{моль/л}$ для цитруллина; 26,6 и 151,8 $\mu\text{моль/л}$ для фенилаланина; 202,2 и 1519,6 $\mu\text{моль/л}$ для глутаминовой кислоты соответственно (табл. 4).

В группе новорожденных с признаками гипоксии 0,5 и 99,5 перцентили значений концентрации метаболитов в периферической крови составили 5,2 и 32,3 $\mu\text{моль/л}$ для цитруллина; 23,9 и 102,9 $\mu\text{моль/л}$ для фенилаланина; 329,2 и 1126,8 для глутаминовой кислоты соответственно.

Медианы концентраций цитруллина, фенилаланина и глутаминовой кислоты в периферической крови у новорожденных с признаками гипоксии имели значения 10,7 $\mu\text{моль/л}$, 47,3 $\mu\text{моль/л}$, 625,2 $\mu\text{моль/л}$ соответственно. Минимальное и максимальное значения в группе новорожденных с признаками гипоксии составили 5,2 и 34,8 $\mu\text{моль/л}$ для цитруллина; 23,7 и 105,9 $\mu\text{моль/л}$ для фенилаланина; 202,2 и 1316,3 $\mu\text{моль/л}$ для глутаминовой кислоты соответственно (табл. 4).

В ходе исследования установлено, что существует статистически значимое различие в группах новорожденных с признаками гипоксии и без признаков гипоксии по концентрациям деценоилкарнитина ($p=0,023$) и гидроксиолеилкарнитина ($p=0,022$) в периферической крови. Для C10:1 0,5 и 99,5 перцентили в группе новорожденных, не имеющих признаков гипоксии, составили 0,012 и 0,094 $\mu\text{моль/л}$ соответственно. Минимальное и максимальное - 0,004 и 0,153 $\mu\text{моль/л}$, медиана - 0,033 $\mu\text{моль/л}$ (рис. 7). В этой же группе для C18:1ОН 0,5 и 99,5 перцентили составили 0,005 и 0,034 $\mu\text{моль/л}$, минимальное и максимальное значения - 0,001 и 0,229 $\mu\text{моль/л}$, медиана - 0,016 $\mu\text{моль/л}$ соответственно.

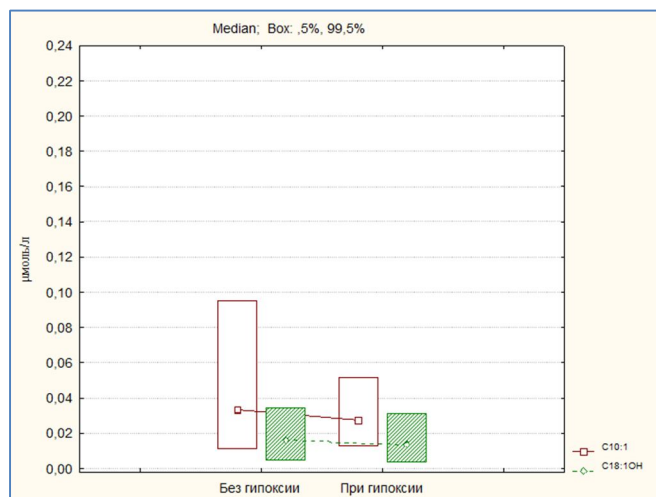


Рис.7. Результаты сравнения концентраций деценоилкарнитина и гидроксиолеилкарнитина в периферической крови у новорожденных с признаками и без признаков гипоксии

Таблица 4

Параметры значений концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови в группах новорожденных с признаками гипоксии и без признаков гипоксии

Метаболит	Новорожденные без признаков гипоксии (n=1893)					Новорожденные с признаками гипоксии (n=29)				
	Медиана, $\mu\text{моль/л}$	0,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	99,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	Минимальное значение, $\mu\text{моль/л}$	Максимальное значение, $\mu\text{моль/л}$	Медиана, $\mu\text{моль/л}$	0,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	99,5 перцентиль, $\mu\text{моль/л}$	Минимальное значение, $\mu\text{моль/л}$	Максимальное значение, $\mu\text{моль/л}$
Ala	264,0	120,6	654,5	94,2	971,9	273,5	129,1	556,9	128,5	557,1
Arg	10,3	4,0	41,6	2,3	71,3	9,9	2,9	26,4	2,5	26,9
Asp	71,0	29,3	240,4	26,3	317,9	63,1	30,7	213,7	29,7	218,3
Cit*	12,7	5,974	51,536	4,0	203,0	10,7	5,2	32,3	5,2	34,8
Glu*	624,5	329,2	1136,3	202,2	1519,6	539,8	299,3	928,5	297,8	929,8
Gly	359,0	180,8	1063,2	143,1	3111,7	322,7	146,1	642,1	132,2	649,9
Met	10,0	3,5	22,129	1,7	31,8	8,3	3,04	71,4	2,9	78,9
Orn	71,9	25,2	284,6	16,8	529,5	66,6	11,2	143,6	10,8	144,1
Phe*	51,6	31,2	99,0	26,6	151,8	47,3	23,9	102,9	23,7	105,9
Tyr	50,2	22,1	158,0	17,5	352,1	43,3	18,9	169,3	17,9	183,2
Val	95,7	51,1	186,2	38,6	222,0	92,6	48,3	202,9	47,5	204,8
Xle	143,8	79,8	276,6	37,0	334,7	144,5	63,2	257,8	58,8	263,9
C0	30,2	11,7	79,1	8,1	106,4	27,5	12,2	53,1	11,8	55,1
C2	14,4	1,9	57,7	0,89	92,6	12,1	0,69	54,2	0,69	54,5
C3	1,41	0,27	4,62	0,17	8,82	1,13	0,09	6,9	0,07	7,2
C4	0,2	0,076	0,65	0,034	3,18	0,018	0,10	4,27	0,10	0,43
C5	0,14	0,058	0,54	0,051	1,734	0,139	0,076	0,387	0,075	0,388
C8	0,04	0,018	0,17	0,014	0,388	0,042	0,017	0,093	0,016	0,094
C6	0,04	0,018	0,13	0,01	0,544	0,05	0,28	0,102	0,028	0,106
C10	0,08	0,038	0,23	0,03	0,39	0,08	0,03	0,16	0,03	0,16
C10:1*	0,03	0,012	0,094	0,004	0,153	0,027	0,013	0,052	0,013	0,052
C18:1OH*	0,01	0,005	0,034	0,001	0,229	0,014	0,004	0,031	0,004	0,031

* Статистически значимые различия в группах новорожденных с признаками гипоксии и новорожденных без признаков гипоксии ($p < 0,5$).

Аналогичные показатели для C10:1 и C18:1ОН в группе новорожденных с признаками гипоксии составили 0,5 и 99,5 перцентили – 0,013 и 0,052 $\mu\text{моль/л}$ и 0,004 и 0,031 $\mu\text{моль/л}$ соответственно. Минимальное и максимальное значение для C10:1 составили 0,013 и 0,052 $\mu\text{моль/л}$; для C18:1ОН – 0,004 и 0,031 $\mu\text{моль/л}$ соответственно (табл. 4). Медианы находились в значениях 0,027 $\mu\text{моль/л}$ для C10:1 и 0,014 $\mu\text{моль/л}$ для C18:1ОН (рис. 7).

Таким образом, показано, что гипоксические состояния, влияют на спектр аминокислот и ацилкарнитинов в крови у новорожденного, что следует учитывать при интерпретации данных скрининга.

Ретроспективное обследование детей, умерших на первом году жизни, на аминокислотопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот

С целью дифференциальной диагностики аминокислотопатий, органических ацидурий и дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот с различными заболеваниями, признанными причиной смерти детей первого года жизни, проведено ретроспективное обследование 86 детей (38 девочек и 48 мальчиков), умерших в возрасте от 5 суток до 11 месяцев. Сопоставление концентраций аминокислот и ацилкарнитинов, определенных в образцах крови 86 умерших на первом году жизни детей, с референсными значениями концентраций показало, что у 82 пациентов (95,3%) ни один из исследуемых показателей не выходил за пределы 0,5 и 99,5 перцентилей контрольной группы. Однако, у 4 детей (4,7%) концентрации некоторых аминокислот и ацилкарнитинов в несколько раз превышали верхние границы референсного интервала контрольной группы.

В одном случае у пациента К.М., умершего в возрасте 11 месяцев с диагнозом обструктивного бронхолита, обнаружено увеличение концентрации лейцина и изолейцина более чем в 9 раз и валина – более чем в 3 раза по сравнению с референсными значениями, что позволило предположить диагноз болезни с запахом «кленового сиропа» мочи. Из имеющихся клинических данных в пользу лейциноза у ребенка К.М. свидетельствовали следующие клинические проявления: ранний отказ от естественного вскармливания, симптомы неонатальной энцефалопатии, нарастание неврологической симптоматики – изменения мышечного тонуса, судороги, эпилепсия, задержка психомоторного развития. Кроме того, в пользу диагноза болезни с запахом «кленового сиропа» мочи свидетельствуют результаты проведенной ДНК диагностики лейциноза с использованием архивных образцов крови. Молекулярно-генетический анализ позволил выявить у ребенка делецию с.98delG в первом экзоне гена *BCKDHB* в гетерозиготном состоянии. Эта же мутация обнаружена в крови матери. Ввиду ограниченного количества архивных образцов крови ребенка и недоступности биологического материала его отца вторую мутацию обнаружить не удалось. Тем не менее, совокупность клинических, биохимических и молекулярно-генетических данных подтверждают диагноз лейциноза (или болезни с запахом «кленового сиропа» мочи, MIM ID 248600) в изученном случае (рис. 8).

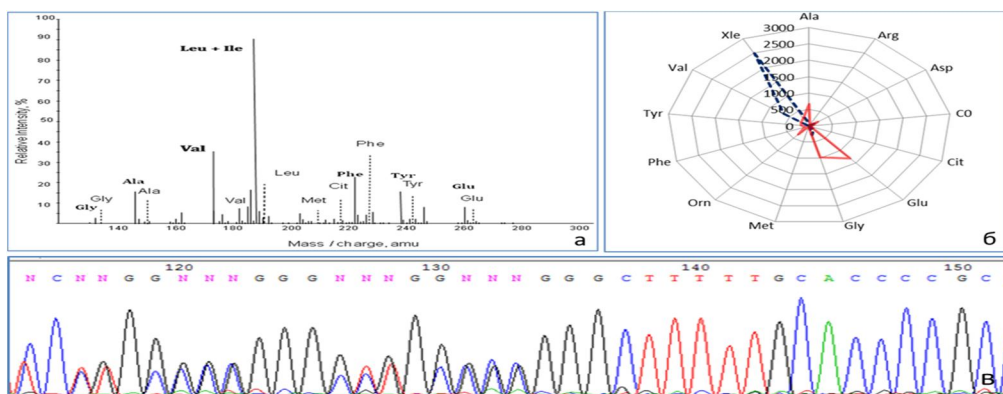


Рис.8. а. Масс-спектры пробы крови ребенка К.М. с повышенным содержанием валина, лейцина и изолейцина. Пунктиром обозначены меченые изотопом внутренние стандарты аминокислот. б. Диаграмма сравнения концентраций аминокислот в пробе крови ребенка К.М. с референсными значениями (99,5 перцентиль концентраций аминокислот контрольной группы). Пунктиром обозначены концентрации аминокислот в пробе крови ребенка К.М. в. Делеция с.98delG в гене *BCKDHB* у пациента К.М.

ВЫВОДЫ

1. Определены значения физиологических концентраций аминокислот и ацилкарнитинов у здоровых новорожденных детей Юга России, которые могут быть использованы при проведении массового обследования новорожденных на аминокислотопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального окисления жирных кислот методом МС/МС.

2. Проведенное массовое обследование новорожденных детей четырех районов Ростовской области на аминокислотопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот подтвердило гипотезу о необходимости дифференцированного подхода к интерпретации результатов исследования концентраций аминокислот и ацилкарнитинов методом МС/МС.

3. Анализ профиля аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у доношенных и недоношенных новорожденных выявил статистически значимые ($p < 0,05$) различия концентраций аланина, глутаминовой кислоты, аспарагиновой кислоты, орнитина, валина, метилмалонилкарнитина в периферической крови и статистически значимую ($p < 0,05$) положительную корреляционную связь между массой тела новорожденного и концентрациями аланина, глутаминовой кислоты, аспарагина, орнитина, валина и фенилаланина в периферической крови.

4. Анализ профиля аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у новорожденных в зависимости от состояния гипоксии на момент рождения выявил статистически значимые ($p < 0,05$) различия концентраций цитруллина, глутаминовой кислоты, фенилаланина, деценоилкарнитина, гидроксиолеилкарнитина в периферической крови.

5. Ретроспективное исследование концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови у детей, умерших в течение первого года жизни от различных причин, показало необходимость массового обследования новорожденных на НБО методом МС/МС и селективного скрининга контингента детей с различными заболеваниями, симптоматика которых может маскировать НБО.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Рекомендуется проведение массового обследования новорожденных на аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления жирных кислот методом МС/МС.

2. Целесообразно проведение массового обследования новорожденных на НБО методом МС/МС с применением поэтапного алгоритма обследования с проведением ретестов, повторных заборов образцов периферической крови, клинического обследования в случае настороженности в отношении НБО и подтверждающей диагностики.

3. При интерпретации результатов исследования концентраций аминокислот и ацилкарнитинов в периферической крови следует учитывать физиологическую зрелость новорожденного, массу тела, состояние гипоксии на момент рождения.

4. Селективный скрининг аминоацидопатий, органических ацидурий и дефектов митохондриального β -окисления жирных кислот рекомендован для детей разного возраста с симптоматикой, которая может маскировать НБО.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. **Антонец, А.В.** Референсные значения концентрации аминокислот и ацилкарнитинов для массового обследования новорожденных на наследственные болезни обмена веществ методом тандемной масс-спектрометрии / А.В. Антонец, О.С., Оксенюк, С.С. Амелина, С.И. Куцев // Вопросы диагностики в педиатрии. – 2013. – Т.5, №2. – С.22-27.

2. Байдакова, Г.В., Ретроспективная диагностика наследственных болезней обмена веществ [электронный ресурс] / Г.В. Байдакова, **А.В. Антонец**, Т.А. Голихина, С.А. Матулевич, С.С. Амелина, С.И. Куцев // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 2; URL: <http://www.science-education.ru/108-8953>.

3. **Антонец, А.В.** Высокоэффективная жидкостная хроматография и тандемная масс-спектрометрия в диагностике наследственных болезней обмена веществ / А.В. Антонец // Материалы III Международной практической конференции «Актуальные проблемы биологии, нанотехнологий и медицины». – Ростов-на-Дону, 2009. – С. 202-203.

4. **Антонец, А.В.** Опыт селективного скрининга наследственных болезней обмена веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии (ВЭЖХ/МС/МС) / А.В. Антонец, О.С. Оксенюк, А.А. Сависько, С.С. Амелина, Т.А. Голихина, Ю.В. Габисова, Г.Г. Листопад, С.А. Матулевич, З.Н. Сахтарбек, Е.Е. Шиповскова, С.И. Куцев //

Медицинская генетика. Материалы VI Съезда Российского общества медицинских генетиков. - Ростов-на-Дону, 2010. – С. 10.

5. Чернышов, В.Н. Референтные значения концентраций ацилкарнитинов в крови у новорожденных детей ЮФО / В.Н.Чернышов, **А.В. Антонец**, О.С. Оксенюк, В.Д. Павленко, А.А. Сависько, С.И. Куцев // Медицинская генетика. Материалы VI Съезда Российского общества медицинских генетиков. - Ростов-на-Дону, 2010. – С. 192.

6. Сависько, А.А. Референтные значения концентраций аминокислот у новорожденных детей ЮФО / А.А. Сависько, **А.В. Антонец**, О.С. Оксенюк, В.Д. Павленко, С.И. Куцев // Медицинская генетика. Материалы VI Съезда Российского общества медицинских генетиков. - Ростов-на-Дону, 2010. – С. 157.

7. **Антонец, А.В.** Дифференциальная диагностика наследственных болезней обмена веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии / А.В. Антонец, Т.А. Голихина, О.С. Оксенюк, С.И. Куцев // Медицинский альманах. – 2011. – С. 11-12.

8. **Антонец, А.В.** Высокоэффективная жидкостная хроматография и тандемная масс-спектрометрия в селективном скрининге наследственных болезней обмена веществ / А.В. Антонец, О.С. Оксенюк, Г.И. Иконникова, Т.А. Голихина, С.В. Пестрецова, С.И. Куцев. // Тезисы II Всероссийской конференции по редким заболеваниям и редко применяемым медицинским технологиям «Дорога Жизни» с международным участием. – Санкт-Петербург, 2011. – С.20-21.

9. **Антонец, А.В.** Неонатальный скрининг на наследственные болезни обмена веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии / А.В. Антонец, О.С. Оксенюк, С.И. Куцев // Клиническая генетика. Материалы международной научно-практической конференции «Эпигенетические заболевания» . – Харьков, 2011. – С. 190.

10. **Антонец А.В.** Референтные значения аминокислот в неонатальном скрининге наследственных болезней обмена веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии / А.В. Антонец, С.С. Амелина, С.И. Куцев // Сборник материалов XVI конгресса педиатров России «Актуальные вопросы педиатрии». – Москва, 2012. – С. 24.

11. **Антонец А.В.** Референтные значения ацилкарнитинов в неонатальном скрининге наследственных болезней обмена веществ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии / А.В. Антонец, С.С. Амелина, С.И. Куцев // Сборник материалов XVI конгресса педиатров России «Актуальные вопросы педиатрии». – Москва, 2012. – С. 25.

12. Наследственные болезни обмена веществ: некоторые аспекты клиники и диагностики. / Ю. В. Шатохин, **А.В. Антонец**, Е.В. Дегтерева, О.С. Оксенюк, С.В. Морданов // Учебно-методическое пособие для врачей-ординаторов: Ростов-на-Дону, 2011.- 38 с.

Список сокращений:

ДНК	Дезоксирибонуклеиновая кислота	C8	Октаноилкарнитин
НБО	Наследственные болезни обмена веществ	C10	Деканоилкарнитин
МС/МС	Тандемная масс-спектрометрия	C12	Додеканоилкарнитин
ЦНС	Центральная нервная система	C14	Миристилкарнитин
Ala	Аланин	C16	Пальмитоилкарнитин
Arg	Аргинин	C18	Стеароилкарнитин
Asp	Аспарагиновая кислота	C3DC	Малонилкарнитин
Cit	Цитруллин	C4DC	Метилмалонилкарнитин
Glu	Глутаминовая кислота	C5DC	Глутарилкарнитин
Gly	Глицин	C16ОН	Гидроксипальмитоилкарнитин
Met	Метионин	C5ОН	3-гидроксиизовалерилкарнитин
Orn	Орнитин	C5:1	3-метилкротонилкарнитин
Phe	Фенилаланин	C8:1	Октеноилкарнитин
Tyr	Тирозин	C10:1	Деценоилкарнитин
Val	Валин	C14:1	Тетрадеценоилкарнитин
Xle	Лейцин+изолейцин	C14:2	Тетрадециноилкарнитин
C0	Свободный карнитин	C14ОН	Гидроксимиристилкарнитин
C2	Ацетилкарнитин	C16:1	Гексадеценилкарнитин
C3	Пропионилкарнитин	C16:1ОН	Гидроскигексадеценилкарнитин
C4	Бутирилкарнитин	C18:1	Олеилкарнитин
C5	Изовалерилкарнитин	C18:1ОН	Гидроксиолеилкарнитин
C6	Гексаноилкарнитин	C18:2ОН	Гидроксилиноилкарнитин
		C18ОН	Гидроксистеароилкарнитин

Печать цифровая. Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс».

Формат 60x84/16. Объем 4.3 уч.-изд.-л.

Заказ № 3005. Тираж 100 экз.

Отпечатано в КМЦ «КОПИЦЕНТР»

344006, г. Ростов-на-Дону, ул. Суворова, 19, тел. 247-34-88
