

МЕТОДЫ ДИАГНОСТИКИ ФЕНИЛКЕТОНУРИИ У НОВОРОЖДЕННЫХ

К.А. Мустафаева, Г.Т. Мамед-заде

Министерство Здравоохранения Азербайджана, НИИ Акушерства и Гинекологии, Баку, Азербайджан

Ключевые слова: новорожденные, фенилкетонурия, фенилаланин, диагностика, масс-спектрометрия, модель машинного обучения

Фенилкетонурия (ФКУ) является распространенным генетическим нарушением обмена веществ, которое у новорожденных влияет на развитие нервной системы и проявляется в виде аномального поведения и задержки развития по мере роста ребенка. При ФКУ организм не вырабатывает фермент фенилаланингидроксилазу, что способствует поражению мозга у нелеченных новорожденных.

В данной статье представлен обзор современных данных литературы о наиболее используемых методах диагностики фенилкетонурии у новорожденных.

Поиск был выполнен по Ovid MEDLINE, Ovid Embase, Web of Science, PubMed, Scopus в период 2017 - 2022 гг. Для поиска использованы следующие термины: новорожденные, фенилкетонурия, фенилаланин, распространенность, диагностика, методы.

Название болезни фенилкетонурия было введено Лайонелом С. Пенроузом (Lionel S. Penrose) в 1935 г. [1]. Фенилкетонурия (ФКУ, OMIM 212600) — аутосомно-рецессивное наследственное нарушение обмена аминокислоты фенилаланин (ФА), поступающей в организм с белковой пищей. При ФКУ происходит накопление токсичного ФА, который повреждает главным образом центральную нервную систему, приводя к прогрессирующим и необратимым когнитивным нарушениям. Диагностика и последующее наблюдение за ФКУ зависят от измерения ФА в крови.

Фенилкетонурия варьируется в зависимости от этнических групп, рас и географических регионов и поскольку ФКУ имеет аутосомно-рецессивное наследование, кровнородственные браки являются важным фактором риска. В связи с чем, страны с высокой распространенностью кровнородственных браков имеют высокую распространенность заболеваний. Распространенность ФКУ в Европе оценивается в среднем в 1/10 000 живорождений [2]. Данные литературы

свидетельствуют о том, что распространенность классической ФКУ в арабских странах, Турции и Иране, имеющих национальные программы скрининга новорожденных, колеблется от 0,005% до 0,0167% [3]. Самая высокая распространенность была зарегистрирована в Турции в 1995 г. (0,0167%) [4], а самая низкая – в ОАЭ в 2003 г. (0,005%) [5]. Глобальное сравнение показателей заболеваемости между странами с общенациональными программами неонатального скрининга показывает, что в Японии среди азиатских стран наблюдается самый низкий уровень заболеваемости 1:125 000, тогда как заболеваемость в Китае составляет 1:17 000 [3]. Турция с заболеваемостью 1:6000 и Иран с заболеваемостью 1:4698 входят в число стран с самой высокой заболеваемостью ФКУ [3,4].

Дети с ФКУ кажутся нормальными в первые дни жизни; однако поражение нервной системы прогрессирует постепенно и становится очевидным в течение нескольких месяцев [6]. Поэтому ФКУ необходимо выявлять на ранней стадии и оптимально лечить на протяжении всей жизни, чтобы избежать неблагоприятных исходов и обеспечения нормального развития. Ранняя диагностика ФКУ до конца первого месяца жизни имеет решающее значение для контроля гиперфенилаланиемии.

Диагноз ставится вскоре после рождения благодаря скрининг - тестам новорожденных, после чего, при необходимости, сразу же начинается лечение, состоящее из пожизненного диетического вмешательства, обеспечивающего низкое потребление ФА. Частый мониторинг значений этой аминокислоты в крови позволяет подтвердить адекватность лечения. Однако скрининг новорожденных не является универсальным, и известно, что методы диагностики и лечения ФКУ сильно различаются в разных центрах и странах.

В настоящее время существует несколько диагностических компаний, которые предоставляют

наборы реагентов для измерения ФА в высохших пятнах крови на основе различных аналитических принципов. На рисунке приведены наиболее используемые на международном уровне методы

измерения ФА, упорядоченных в соответствии с приблизительным хронологическим временем, с момента их использования.

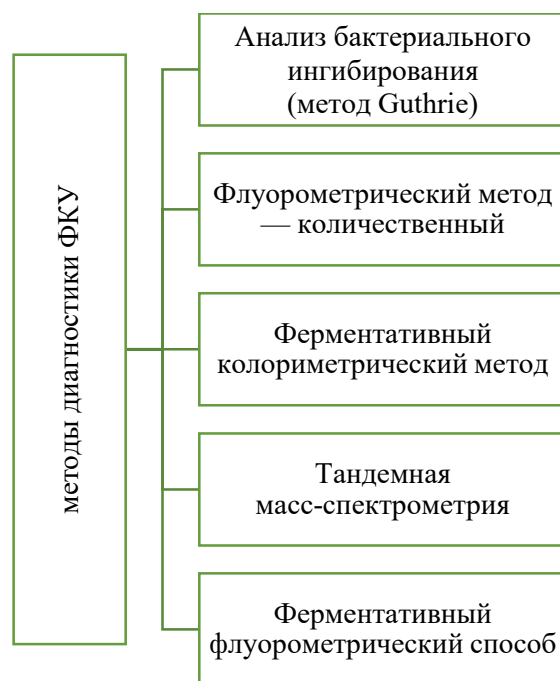


Рис. Часто используемые методы измерения фенилаланина

Анализ бактериального ингибирования (метод Guthrie) - простой, недорогой, легкий в разработке, но полуколичественный, трудный для работы в больших масштабах, с очень ограниченными возможностями автоматизации и высокой частотой отзыва из-за введения антибиотиков. Тест Guthrie, также называемый тестом ФКУ, представляет собой диагностический инструмент для проверки новорожденных на ФКУ через несколько дней после рождения. Для проведения этого теста используют карты Guthrie для сбора капиллярной крови из пятки новорожденного, и карты сохраняются для последующего тестирования. Robert Guthrie изобрел этот тест в 1962 году в Буффало (штат Нью-Йорк, США). Тест Guthrie обнаруживает ФА в крови новорожденных, что позволяет проводить раннюю диагностику ФКУ. До создания этого теста врачи проверяли новорожденных на ФКУ с помощью менее надежного анализа мочи на хлорид железа. Анализ мочи на хлорид железа выявил наличие в моче фенолов, в том числе фенилпирувата. Присутствие фенолфенилпирувата в моче указывало на то, что человек не смог переварить ФА, потому что фенилпируват является производным ФА.

Такой тест имел ограниченную чувствительность, и практикующие врачи могли легко пропустить более низкие концентрации ФА у людей с ФКУ. Многие новорожденные, протестированные с помощью анализа мочи на хлорид железа, не дали положительного результата теста на ФКУ в первые 6-8 недель после рождения. Однако данные свидетельствуют о том, что уровни ФА в крови быстро увеличиваются в первые несколько дней жизни, что, возможно, приводит к неврологическим нарушениям в этот период жизни. Из-за неточности анализа мочи на хлорид железа многие новорожденные с ФКУ оставались не диагностированными, и у них развивались симптомы, которые сохранялись на протяжении всей их жизни [7,8].

В тесте, разработанном R. Guthrie, для обнаружения ФА использовался анализ бактериального ингибирования. Анализы бактериального ингибирования - это тесты, в которых используют бактерии для измерения концентрации вещества в образце. β -2-тиенилаланин, аминокислота, подавляет рост бактерий *Bacillus subtilis*. R. Guthrie выявил, что ФА, химическое вещество, обнаруженное в крови людей с ФКУ, обращает

ингибирующее действие β -2-тиенилаланина на рост *B. Subtilis*. Таким образом, чтобы провести бактериальный анализ ингибирования ФКУ, R. Guthrie покрыл гель, используемый для выращивания бактерий, β -2-тиенилаланином, затем помещал образцы крови, высушенные на толстой фильтровальной бумаге, на этот гель [9].

Флуориметрический метод - количественный, надежный и выполнимый в разработке и автоматизации, с приемлемыми затратами и соответствующей чувствительностью и специфичностью. Этот метод считается методом выбора для тех лабораторий, которые работают с классическими методами [10].

Ферментативный колориметрический метод — количественный, поддающийся автоматизации, но подверженный высокой вариабельности и низкой аналитической чувствительности, присущей его системе колориметрического обнаружения, оба свойства отвечают за его меньшую надежность по сравнению с флуориметрическими методами [10].

Масс-спектрометрия (МС) является мощным аналитическим инструментом для качественного и количественного анализа метаболитов, основанным на ее высокой чувствительности и специфичности. Качественная идентификация химических соединений и метаболитов может быть легко проведена на основе их удельного отношения массы к заряду (значение m/z) молекулярного иона. Количественное определение концентрации химических соединений и метаболитов также может быть легко выполнено на основе ионной интенсивности молекулярного иона, измеренной либо абсолютным количественным определением или относительным количественным определением с использованием внешнего или внутреннего стандартного метода [11].

Тандемная масс-спектрометрия (ТМС) – технология, внедренная в неонатальный скрининг в конце 90-х годов, которая постепенно вытеснила классические методы, особенно в развитых странах. ТМС была представлена в 1990-х годах, для анализа аминокислот, включая ФА. Исторически ТМС был разработан как инструмент клинической диагностики нарушений окисления жирных кислот с помощью аномальных ацилкарнитининов, и этот метод в дальнейшем был применен к пятнам сухой крови. ТМС может обнаруживать около 8 аминокислот одновременно и распознавать > 30 метаболических нарушений

наряду с ФКУ [12,13]. Это количественная технология, характеризующаяся высокой чувствительностью, работающая через мультиплексную платформу, которая позволяет одновременно измерять содержание аминокислот и ацилкарнитининов [12]. При скрининге на ФКУ это дает преимущество измерения уровня тирозина (Тур), снижающего частоту ложноположительных результатов за счет расчета отношения ФА к тирозину [13].

Основным преимуществом ТМС является полностью автоматизированный и одновременный анализ аминокислот. Кроме того, диагностическая чувствительность ТМС для ФКУ превосходит другие аналитические методы [7]. При ТМС смесь образцов вводится в систему, и все компоненты в образце анализируются одновременно для получения молекулярных ионов без обширной фрагментации. Эти молекулярные ионы разделяются в МС-ионизации в соответствии с отношением их массы к заряду (m/z). Отобранные по массе ионы подвергаются фрагментации в ячейке столкновений, и фрагменты разделяются в соответствии с их отношением m/z . Полученные смеси были повторно проанализированы за считанные секунды с помощью компьютерной программы, нацеленной на группы компонентов со сходной химической структурой.

Тандемная масс-спектрометрия (ТМС) обычно объединяет два масс-анализатора с коллизионной ячейкой посередине для выполнения различных сканирований, таких как сканирование продукции, сканирование ионов-предшественников и сканирование нейтральных потерь.

С момента внедрения ТМС для неонатального скрининга было разработано несколько методов, или с использованием высоко-эффективной колоночной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с обратным спариванием ионов в сочетании с масс-спектрометрией [14], или тандемной масс-спектрометрии сверх эффективной жидкостной хроматографии [15], или путем прямой инъекции в тандемный масс-спектрометр путем дериватизации анализируемого вещества и использования как внешних, так и внутренних стандартов.

Хроматография, включая газовую хроматографию и жидкостную хроматографию, обычно сочетается с МС для выполнения разделения химических соединений и метаболитов в сложной биологической матрице или смеси, например, сыворотке и моче, перед обнаружением с помощью МС-детектора. Если бы технология

хроматографии применялась без использования детектора МС, точность и результаты анализа были бы очень ограничены, поскольку идентификация соединений основана только на времени удерживания, неизвестные соединения, совместно элюируемые при том же времени удерживания, никогда не могут быть определены, и, следовательно, это повлияло бы на точность качественного и количественного анализа [11].

В настоящее время доступны коммерческие наборы для неонатального скрининга аминокислот и ацилкарнитинов без дериватизации и с использованием внутренних стандартов для количественного определения [16]. S.J. Moat et al. [17] (2020 г.) заявили, что разработка сверхэффективной жидкостной хроматографии ТМС означает, что метаболические лаборатории теперь имеют возможность регулярно анализировать образцы с засохшими пятнами крови с превосходной специфичностью и чувствительностью.

Основным недостатком метода является стоимость прибора и реагентов, хотя последние также могут быть приготовлены собственными силами, что значительно снижает их стоимость [7]. Так, A.S. Gouda & W.S. Nazim [18] разработали и предложили новый простой метод количественного определения ФА в высушенном пятне крови с использованием ТМС, который экономичен материально и по времени. Переходы мониторинга множественных реакций, а также параметры, включая энергию столкновения, конусность и капиллярное напряжение, были оптимизированы путем прямой инфузии для получения максимальной чувствительности. Элюирование проводилось с использованием нескольких элюентов (деионизированная вода, ацетонитрил, метанол, вода и ацетонитрил, вода и метанол), наиболее чувствительным из которых был метанол. Вода вызывала гемолиз образца, что усиливало матричный эффект и снижало чувствительность. Благодаря высокой селективности тандемной масс-спектрометрии приложение не требовало использования колонки для ВЭЖХ, что обеспечивает короткое время анализа (1 мин) и позволяет избежать обычного поиска и устранения неисправностей колонок для ВЭЖХ. Для повышения чувствительности использовали градиент скорости потока. В предложенном методе стадия дериватизации, которая требует больше усилий, времени и химических веществ, исключена. Для

избегания эффекта ионной супрессии и точного определения фенилаланина, внешние стандарты были приготовлены в виде высушенного пятна крови, чтобы обеспечить тот же матричный эффект и восстановление [18].

Ферментативный флуорометрический метод - недавно внедренный аналитический принцип, количественный, автоматизированный, с соответствующей чувствительностью и специфичностью, но более дорогой, чем флуорометрический метод, поскольку зависит от поставщика и прибора [10].

В 2008 г. Р.Ф. Мамедова и М.Ш. Бабаев [19] представили результаты диагностики ФКУ среди новорожденных в пробах мочи и капиллярной крови, используя пробу Фелинга и метод тонкослойной хроматографии. Авторы провели скрининг ФКУ среди 1827 новорожденных и в 4 случаях выявили на пленке пятна зеленого цвета, что характерно для генного дефекта при ФКУ. Для подтверждения диагноза образцы венозной крови исследовали методом тонкослойной хроматографии. В этих 4-х случаях по сравнению с контрольной группой отмечалось значительное увеличение ФА. Родословная этих 4-х новорожденных с гомозиготной формой патологического гена ФКУ свидетельствовала о кровном родстве между их родителями.

В настоящее время распространенным высокоточным клиническим методом скрининга ФКУ является тройной квадрупольный масс-спектрометр (ТК-МС). Трехквадрупольный масс-спектрометр (мониторинг множественных реакций) используется для измерения 44 метаболитов в образцах крови новорожденных, и в клинической практике с использованием этих биомаркеров диагностируется более 30 типов генетических метаболических заболеваний (включая ФКУ) [7].

Тройной квадрупольный масс-спектрометр (ТК-МС) обычно используется для выполнения тандемного МС. Он сочетает в себе три квадрупольных масс-анализатора, при этом средний выполняет функцию коллизионной ячейки. Это позволяет дополнительно подтвердить обнаруженные соединения, выбрав продукцию в первом масс-анализе (Q1), а затем фрагментируя продукцию в коллизионной ячейке (Q2) с помощью коллизионного газа, фрагменты продукции окончательно обнаруживаются в последнем масс-анализаторе (Q3). Изучая характер фрагментации продукции, несомненно,

можно идентифицировать химические соединения или метаболиты, поскольку разные молекулы дают разные паттерны фрагментации. Конкретные паттерны фрагментации являются уникальными отпечатками каждой молекулы и, следовательно, ложноположительные результаты можно исключить и избежать [11]. Тандемная МС также может быть объединена с хроматографией для молекулярного разделения, и время выполнения тандемной МС в сочетании с хроматографией для однократного обнаружения значительно быстрее, чем время выполнения анализа ВЭЖХ или ГХ/МС. Например, ионоселективный хроматографический тандем МС занимает всего около 30 минут для определения одного ФА, в то время как обычный ГХ/МС занимает около 60 минут для определения органических кислот. Без соединения с хроматографией образцы могут быть непосредственно введены в ТМС для анализа [11].

Тем не менее, существует высокий уровень ложноположительных результатов, связанных с этим методом, и его снижение может обеспечить диагностическую и экономическую выгоду как для пациентов, так и для медицинских работников. Преимущество методов машинного обучения заключается в использовании многомерных и сложных признаков, которые можно получить из метаболических паттернов пациента и опросить, чтобы снизить частоту ложноположительных результатов диагностического теста на ФКУ. Новые факторы также могут быть обнаружены для помощи в диагностике ФКУ без априорных знаний.

В последние годы несколько методов машинного обучения использовались для сопоставления баз данных метаболомики [20], а методы машинного обучения использовались для построения классификационных моделей с высоким диагностическим прогнозом [21]. Для того чтобы определить модель, необходимо получить информацию о параметрах, которые управляют изменениями этих переменных. Решение проблемы идентификации системы, т.е. определение параметров из переменных, часто очень сильно недоопределено из-за множества параметров, которые необходимо решить из нескольких переменных в дополнение ко многим возможным комбинациям параметров, что приводит к полученным значениям для переменных. Алгоритмы машинного обучения способны извлекать оптимальные

решения для анализа новых данных из ранее определенной информации. Без сомнения, с появлением более продвинутых алгоритмов и растущей доступностью данных машинное обучение будет все более актуальным для анализа метаболизма. Одним из основных применений моделей метаболизма является метаболическая инженерия, где модели могут тестировать генетические и регуляторные изменения, направленные на повышение производительности и снижение себестоимости продукции. Модели метаболических сетей играют важную роль в оказании помощи в определении целей, побочных эффектов и токсичности лекарств или токсинов, через их прямое действие или побочные эффекты, а также в тестировании возможного токсического воздействия химических веществ в окружающей среде. Машинное обучение может быть реализовано для интеграции метаболических сетей с доступными данными [22].

Большинство этих моделей используются для прогнозирования нормальных и болезненных состояний и использования метаболических паттернов в данных мониторинга множественных реакций для скрининга новорожденных для разработки классификатора. В то же время такие модели могут иметь хорошие возможности для обнаружения потенциальных биомаркеров заболеваний на основе многомерных метаболических данных на основе мониторинга множественных реакций. Например, C. Baumgartner et al. [23] разработали несколько моделей классификации и определили метаболиты с аномально измененными концентрациями. Более того, некоторые модели смогли предсказать случаи в пределах подозреваемой группы, которые первоначально были диагностированы как положительные (превышающие пороговые значения скрининга при первоначальном скрининге по широко используемой схеме отсечения), но в конечном итоге были диагностированы как отрицательные случаи, и случаи, которые имели значения, превышающие пороговые значения скрининга, и впоследствии были диагностированы как положительные случаи [21]. Однако такие вычислительные модели еще не нашли широкого применения в педиатрической клинической практике. Первичный клинический скрининг на ФКУ является хорошо зарекомендовавшим себя и зрелым процессом; таким образом, более насущная проблема, которую необходимо решить для этого

редкого, но поддающегося лечению метаболического расстройства, заключается в разработке и точной настройке классификационных моделей, которые точно определяют ложноположительные результаты и сокращают число предполагаемых случаев, подлежащих последующему скринингу и верификации, обеспечивая при этом отсутствие ложноотрицательных результатов.

Z. Zhu et al. [7] разработали подходящую модель машинного обучения на основе логистической регрессии с использованием данных метаболомики, настроенной на минимизацию количества ложноположительных результатов при диагностике ФКУ. Дополнительной целью авторов было способствовать открытию биомаркеров и, таким образом, предоставлять и улучшать подходы к прецизионной медицине при редких генетических заболеваниях, таких как ФКУ, и служить ориентиром для будущих внедрений. Авторы получили метаболические данные новорожденных из скрининга мониторинга множественных реакций, применили метод Обучение Векторное квантование (Learning Vector Quantization – LVQ) для выполнения упорядочения важности признаков и использовали корреляционный анализ и логистическую регрессию для создания оптимального алгоритма классификации. В целом, результаты показывают, что, несмотря на изначально зашумленные клинические данные, из метаболических данных можно извлечь значимые признаки для выявления ложноположительных результатов при ФКУ. Примечательно, что сокращение числа ложноположительных результатов может облегчить работу медицинских работников, проводящих скрининг, повысить эффективность обнаружения и сократить расходы и затраты времени на обследование педиатрических пациентов и лиц, осуществляющих уход за ними. Дополнительные модели скрининга, основанные на данных мониторинга множественных реакций, также могут обеспечить более эффективную идентификацию когорты для проспективных исследований.

Выбор признаков обычно играет ключевую роль в машинном обучении для исключения атрибутов, что может привести к переоснащению результатов классификационного анализа и ухудшить интерпретируемость. Данные о генетических метаболических заболеваниях, основанные на масс-спектрометрии, имеют такие характеристики, как ограниченное количество

образцов, множество функций и шумовые помехи, и это лишь некоторые из них. Из-за несвязанных и избыточных атрибутов традиционные методы неконтролируемого уменьшения размерности не используют эффективно информацию о метках, поэтому найденные ими подпространства могут быть не самыми разделимыми в данных. С одной стороны, выбор подмножества признаков может идентифицировать и удалить как можно больше нерелевантных и избыточных переменных, тем самым уменьшая размерность данных. Выбирая только соответствующие атрибуты данных, можно повысить точность прогнозирования машинного обучения и эффективность классификации [7]. С другой стороны, педиатрам также полезно знать переменные, влияющие на заболевание; эти новые переменные могут быть проверены и могут стать частью обновленного плана скрининга. Однако выбор переменных экспертами и обзор литературы могут привести к систематической ошибке. Z. Zhu et al. [7] в моделях предложили лучше понять, какие сигналы могут быть тесно связаны с ФКУ. Авторы применили стратегию выбора признаков, которая вычисляет евклидово расстояние между входной выборкой и вектором весов до тех пор, пока не будет найден вектор-прототип, ближайший к выборке. Все переменные были ранжированы в соответствии с важностью переменной кривой ROC в алгоритме LVQ, большинство из двух признаков указаны или используются в качестве скрининговых маркеров ФКУ, что подтверждает обоснованность этой стратегии. По мнению авторов, когда в модель включаются новые функции, чистый индекс реклассификации (Net Reclassification Index – NRI) можно использовать для сравнения производительности между исходной моделью и моделью после включения новых функций. Новые предлагаемые функции отличаются от традиционных клинических индикаторов. Таким образом, клиническая проверка будет необходима для установления точности этих признаков. О некоторых связанных доказательствах уже сообщалось [21]. В своей работе Z. Zhu et al. [7] выбрали метод логистического регрессионного анализа, который представляет собой традиционную клиническую модель с высокой клинической интерпретируемостью. Модель Z. Zhu et al. [7] логистического регрессионного анализа показывает улучшенную производительность по

сравнению с существующими моделями с перекрестной проверкой $Sp = 0,5314 \pm 0,0800$. В этом исследовании авторы применили несколько моделей логистического регрессионного анализа, контролируемый алгоритм машинного обучения для построения метода, применимого в педиатрическом диагностическом скрининге на ФКУ с использованием многомерных метаболических данных.

Новорожденные с ФКУ подвержены риску постнатальных осложнений, поскольку повышенный уровень ФА в крови матери связан с тератогенным действием [6, 8]. В этих случаях существует более высокий риск низкой массы тела при рождении, микроцефалии, лицевого дисморфизма, умственной отсталости и внутриутробной и/или постнатальной задержки роста.

Кроме того, повышенный уровень ФА в материнской крови был связан с эмбриогенезом пороков сердца [9]. Все эти риски можно снизить с помощью соответствующих пищевых добавок и контроля уровня ФА в крови до и во время беременности [10,11].

Заключение. На основании проведенного обзора можно констатировать, что в качестве альтернативы можно использовать фотометрические анализы или тандемную масс-спектрометрию (ТМС) для измерения ФА, а не тест на ингибирование бактерий. Тандемная масс-спектрометрия является ключевым методом молекулярной диагностики для скрининга новорожденных за последнее десятилетие. Необходимы целенаправленные усилия для оптимизации подходов к диагностике ФКУ у новорожденных.

XÜLASƏ

Yenidoğulmuşlarda fenilketonuriya diaqnozu üsulları

K.A. Mustafayeva, G.T. Məmməd-zadə
Səhiyyə Nazirliyi Azərbaycan Respublikası
Elmi Tədqiqat Məmalıq və Ginekologiya İnstitutu

Açar sözlər: *yenidoğulmuşlar, fenilketonuriya, fenilalanin, diaqnostika, kütləvi spektrometriya, maşın öyrənmə modeli*

Məqalədə yenidoğulmuşlarda fenilketonuriya diaqnozu və fenilalaninin ölçülməsi üsulları haqqında cari məlumatlar təqdim olunur. Tandem-kütlə spektrometriyasına (TKS) böyük diqqət yetirilir, xüsusilə qeyd olunur ki, TKS-nin əsas üstünlüyü amin turşularının tam avtomatlaşdırılmış və eyni vaxtda analiz edilməsidir. Maşın öyrənmə modeli kifayət qədər ətraflı təsvir edilmişdir. Ədəbiyyat məlumatlarının təhlilinə əsasən, müəlliflər yenidoğulmuşlarda fenilalanini ölçmək üçün alternativ olaraq fotometrik analizlər və ya tandem kütlə spektrometriyasından (TKS) istifadə oluna biləcəyi qənaətinə gəlirlər.

SUMMARY

Methods for diagnosing phenylketonuria in newborns

K.A. Mustafayeva, G.T. Mamed-zadeh
Ministry of Health of Azerbaijan
Scientific Research Institute of
Obstetrics and Gynecology

Keywords: *newborns, phenylketonuria, phenylalanine, diagnostics, mass spectrometry, machine learning model*

The article presents current data on methods for diagnosing phenylketonuria and measuring phenylalanine in newborns. Much attention is paid to tandem mass spectrometry (TMS), in particular, it is noted that the main advantage of TMS is the fully automated and simultaneous analysis of amino acids. The machine learning model is described in sufficient detail. Based on their analysis of literature data, the authors conclude that photometric assays or tandem mass spectrometry (TMS) can be used as an alternative to measure phenylalanine in neonates.

ЛИТЕРАТУРА

1. Penrose LS. Inheritance of phenylpyruvic amentia (phenylketonuria). *Lancet*. 1935; 2: 192-194.
2. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, Rigter T, Weinreich SS, Rupp K. et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. *J Inherit Metab Dis*. 2012;35(4):603-11. doi: 10.1007/s10545-012-9483-0.
3. El-Metwally A, Yousef Al-Ahaidib L, Ayman Sunqurah A, Al-Surimi K, Househ M, Alshehri A, et al. The Prevalence of Phenylketonuria in Arab Countries, Turkey, and Iran: A Systematic Review. *Biomed Res Int*. 2018; 2018: 7697210. doi: 10.1155/2018/7697210.
4. Özalp I, Coşkun T, Tokatli A, Tokola S, Özgüç M, Köksal G, et al. Neonatal PKU screening in Turkey: 7 years experience in a developing country. *Screening*. 1995;4(3):139-147. doi: 10.1016/0925-6164(95)00125-5.
5. Al-Hosani H, Salah M, Saade D, Osman H, Al-Zahid J. United Arab Emirates National Newborn Screening Programme: An evaluation 1998-2000. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2003; 9(3): 324-332.
6. Shoraka HR, Haghdoost AA, Baneshi MR, Bagherinezhad Z, Zolala F. Global prevalence of classic phenylketonuria based on Neonatal Screening Program Data: systematic review and meta-analysis. *Clinical and Experimental Pediatrics*. 2020; 63(2): 34-43. doi: 10.3345/kjp.2019.00465
7. Zhu Z, Gu J, Genchev GZ, Cai X, Wang Y, Guo J, et al. Improving the Diagnosis of Phenylketonuria by Using a Machine Learning-Based Screening Model of Neonatal MRM Data. *Front. Mol. Biosci.*, 2020; doi: 10.3389/fmolb.2020.0011
8. Giżewska M, MacDonald A, Bélanger-Quintana A, Burlina A, Cleary M, Coşkun T. et al. Diagnostic and management practices for phenylketonuria in 19 countries of the South and Eastern European Region: survey results. *Eur J Pediatr*. 2016; 175: 261-272. doi: 10.1007/s00431-015-2622-5
9. Guthrie R. Blood screening for phenylketonuria. *JAMA*. 1961;178:863. doi: 10.1001/jama.1961.03040470079019
10. Borrajo GJC. Newborn Screening for Phenylketonuria: Latin American Consensus Guidelines. *Journal of Inborn Errors of Metabolism & Screening* 2016; 4: 1-5. doi: 10.1177/2326409816682764
11. Wong HY. Diagnosis of Phenylketonuria by mass spectrometry: An overview. *Med. Med. Sci*. 2022; 10(8): 058-064.
12. Pieragostino D, Cicalini I, Di Michele S, Fusilli P, Cotugno G, Ferrante R, et al. A Case of Suspected Hyperphenylalaninemia at Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry during Total Parenteral Nutrition. *Metabolites* 2020, 10(2), 44; doi: 10.3390/metabo10020044
13. Swiner DJ, Jackson S, Burris BJ, Badu-Tawiah AK. Applications of Mass Spectrometry for Clinical Diagnostics: The Influence of Turnaround Time. *Anal Chem*. 2020; 92(1): 183-202. doi: 10.1021/acs.analchem.9b04901
14. Piraud M, Vianey-Saban C, Petritis K, Elfakir C, Steghens JP, Bouchu D Ion-pairing reversed-phase liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometric analysis of 76 underivatized amino acids of biological interest: a new tool for the diagnosis of inherited disorders of amino acid metabolism. *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2005; 19(12): 1587-1602. doi: 10.1002/rcm.1957
15. Galba J, Michalicova A, Parrak V, Novak M, Kovac A. Quantitative analysis of phenylalanine, tyrosine, tryptophan and kynurenine in rat model for tauopathies by ultra-high-performance liquid chromatography with fluorescence and mass spectrometry detection. *J Pharm Biomed Anal*. 2016; 117:85-90. doi: 10.1016/j.jpba.2015.08.026
16. Groselj U, Murko S, Zerjav Tansek M, Kovac J, Trampus Bakija A, Repic Lampret B, et al. Comparison of tandem mass spectrometry and amino acid analyzer for phenylalanine and tyrosine monitoring-implications for clinical management of patients with hyperphenylalaninemia. *Clin Biochem*. 2015;48(1-2):14-18. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.09.014
17. Moat SJ, George SR, Carling SR. Use of dried blood spot specimens to monitor patients with inherited metabolic disorders. *Int. J. Neonatal Screening*. 2020;6(26):1-17.

18. Gouda AS, Nazim WS. Development of a simple method for the analysis of phenylalanine in dried blood spot using tandem mass spectrometry. *Egypt J Med Hum Genet.* 2020; 21: 56. doi: 10.1186/s43042-020-00100-5
19. Мамедова Р.Ф., Бабаев М.Ш. Неонатальный скрининг наследственных заболеваний. *Вак Университетинин Хəбərləri.* 2008; №3: 36-41.
20. Baumgartner C, Bohm C, Baumgartner D, Marini G, Weinberger K, Olgemoller B, et al. Supervised machine learning techniques for the classification of metabolic disorders in newborns. *Bioinformatics.* 2004; 20: 2985–2996. doi: 10.1093/bioinformatics/bth343
21. Chen WH, Hsieh SL, Hsu KP, Chen HP, Su XY, Tseng YJ, et al. Web-based newborn screening system for metabolic diseases: machine learning versus clinicians. *J. Med. Internet Res.* 2013;15:e98. doi: 10.2196/jmir.2495
22. Cuperlovic-Culf M. Machine Learning Methods for Analysis of Metabolic Data and Metabolic Pathway Modeling. *Metabolites.* 2018; 8(1): 4. doi:10.3390/metabo8010004
23. Baumgartner C, Bohm C, Baumgartner D. Modelling of classification rules on metabolic patterns including machine learning and expert knowledge. *J. Biomed. Inform.* 2005;38: 89–98. doi: 10.1016/j.jbi.2004.08.009