

<https://doi.org/10.25557/2073-7998.2024.11.18-33>

**Нарушения цикла мочевины: клинико-генетические характеристики случаев, выявленных в Российской Федерации в рамках программы расширенного неонатального скрининга**

Байдакова Г.В.<sup>1</sup>, Авакян М.М.<sup>1</sup>, Кекеева Т.Н.<sup>2</sup>, Дегтярева А.В.<sup>3</sup>, Соколова Е.В.<sup>3</sup>, Абрикова А.В.<sup>4</sup>, Беляшова Е.Ю.<sup>5</sup>, Беляева В.Н.<sup>6</sup>, Бусыгина В.А.<sup>6</sup>, Горда М.В.<sup>7</sup>, Жукова Т.П.<sup>8</sup>, Ратникова С.Ю.<sup>8</sup>, Коталевская Ю.Ю.<sup>9</sup>, Латыпов А.Ш.<sup>9</sup>, Матулевич С.А.<sup>10</sup>, Оленникова Р.В.<sup>11</sup>, Осипова Е.В.<sup>12</sup>, Сумина М.Г.<sup>13</sup>, Шатохина Н.С.<sup>14</sup>, Иткис Ю.С.<sup>1</sup>, Цыганкова П.Г.<sup>1</sup>, Назаренко Я.Д.<sup>1</sup>, Пчелина С.Н.<sup>1,15,16</sup>, Захарова Е.Ю.<sup>1</sup>

- 1 – ФГБНУ Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова  
115522, г. Москва, ул. Москворечье, д. 1
- 2 – ГБУЗ Морозовская детская городская клиническая больница Департамента здравоохранения г. Москвы  
119049, г. Москва, 4-й Добрынинский переулок, д. 1/9
- 3 – ФГБУ Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова  
Минздрава России  
117997, г. Москва, ул. Академика Опарина, д. 4
- 4 – БУ Президентский перинатальный центр Минздрава Чувашии  
428018, г. Чебоксары, Московский проспект, д. 9 к. 1
- 5 – ГАУЗ Оренбургская областная клиническая больница №2  
460961, г. Оренбург, ул. Невельская, д. 24
- 6 – ГБУЗ РК Коми республиканский перинатальный центр  
167000, г. Сыктывкар, ул. Пушкина, д. 114/4
- 7 – ГБУЗ РК Республиканская клиническая больница имени Н.А. Семашко  
295017, г. Симферополь, ул. Киевская, д. 69
- 8 – ФГБУ Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова МЗ РФ  
153045, г. Иваново, ул. Победы, д. 20
- 9 – ГБУЗ МО Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского  
129110, г. Москва, ул. Щепкина, д. 61/2
- 10 – ГБУЗ Краевая клиническая больница №1 имени профессора С.В. Очаповского  
350086, г. Краснодар, ул. 1 мая, д. 167
- 11 – ГБУЗ Кузбасская детская клиническая больница имени профессора Ю.Е. Малаховского  
654063, г. Новокузнецк, ул. Димитрова, д. 33
- 12 – БУЗ УР Первая Республиканская клиническая больница Минздрава Удмуртской Республики  
426039, г. Ижевск, Воткинское шоссе, д. 57
- 13 – ГАУЗ СО Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка»  
620067, г. Екатеринбург, ул. Флотская, д. 52
- 14 – ГБУЗ Детская краевая клиническая больница Минздрава Краснодарского края  
350007, г. Краснодар, пл. Победы, д. 1
- 15 – ФГБУ Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра  
«Курчатовский институт»  
188300, Ленинградская область, г. Гатчина, мкр. Орлова роща, д. 1
- 16 – ФГБОУ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова Минздрава России  
197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

В статье приведены клинико-генетические характеристики 15 случаев нарушения цикла мочевины (НЦМ), выявленных в Российской Федерации в 2023 году в рамках расширенного неонатального скрининга. В результате первичного скрининга в региональных центрах была сформирована группа новорожденных для подтверждающей диагностики в ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова» (N=203). При подтверждающей диагностике проводилось повторное определение концентрации аминокислот и ацилкарнитинов крови методом tandemной масс-спектрометрии (ретест) в сочетании с определением концентрации органических кислот мочи методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии, а также молекулярно-генетическое исследование кодирующей области генов *ASS1*, *ASL*, *ARG1*. При молекулярно-генетическом

исследовании диагноз цитруллинемии тип 1 был подтвержден у 9 пациентов и аргининяктарной ацидурии у 6. Впервые в России оценена частота заболеваний из группы НЦМ – 1:82093 живых новорожденных. У пяти новорожденных с цитруллинемией тип 1 обнаружены биаллельные мутации в гене *ASS1*, у четырех – в гомозиготном состоянии. У трех новорожденных с аргининяктарной ацидурией обнаружены биаллельные мутации в гене *ASL*, у других трех — в гомозиготном состоянии. Обнаружены ранее не описанные варианты в гетерозиготном состоянии: с.682A>G (p.Asn228Asp) в гене *ASL*, а также с.420+3A>G и с.175-2A>G в гене *ASS1*. На момент обследования симптомы присутствовали у 13 новорожденных (87%). Следует отметить высокую смертность (47%) в первые месяцы жизни (в интервале от 5 до 67 суток жизни). У всех пациентов с подтвержденным НЦМ концентрация цитруллина крови была повышена как при первичном скрининге, так и при ретесте. Ретест выявил статистически более высокие значения концентрации цитруллина в крови у пациентов с цитруллинемией тип 1 с летальным исходом по сравнению с новорожденными с данным диагнозом без летального исхода ( $p=0,018$ ). Во всех случаях цитруллинемии тип 1 с летальным исходом данный показатель был выше 1000 мкмоль/л. Полученные результаты позволяют подтвердить значимость скрининга концентрации аминокислот и ацилкарнитинов крови для выявления НЦМ, а также демонстрируют, что оценка концентрации цитруллина в крови может быть маркером тяжести течения цитруллинемии тип 1.

**Ключевые слова:** расширенный неонатальный скрининг; гипераммониемия; нарушения цикла мочевины; цитруллинемия тип 1; аргининяктарная ацидурия; тандемная масс-спектрометрия; секвенирование нового поколения; Российская Федерация.

**Для цитирования:** Байдакова Г.В., Авакян М.М., Кекеева Т.Н., Дегтярева А.В., Соколова Е.В., Аbruкова А.В., Беляшова Е.Ю., Беляева В.Н., Бусыгина В.А., Горда М.В., Жукова Т.П., Ратникова С.Ю., Коталевская Ю.Ю., Латыпов А.Ш., Матулевич С.А., Оленникова Р.В., Осипова Е.В., Сумина М.Г., Шатохина Н.С., Иткис Ю.С., Цыганкова П.Г., Назаренко Я.Д., Пчелина С.Н., Захарова Е.Ю. Нарушения цикла мочевины: клинико-генетические характеристики случаев, выявленных в Российской Федерации в рамках программы расширенного неонатального скрининга. *Медицинская генетика*. 2024; 23(11): 18-33.

**Автор для корреспонденции:** Захарова Екатерина Юрьевна; e-mail: doctor.zakharova@gmail.com

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России для ФГБНУ МГНЦ.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 19.11.2024

## Urea cycle disorders: clinical and genetic characteristics of the cases identified in the Russian Federation during the expanded neonatal screening

Baydakova G.V.<sup>1</sup>, Avakyan M.M.<sup>1</sup>, Kekeeva T.N.<sup>2</sup>, Degtyareva A.V.<sup>3</sup>, Sokolova E.V.<sup>3</sup>, Abruкова A.V.<sup>4</sup>, Belyashova E.Y.<sup>5</sup>, Belyaeva V.N.<sup>6</sup>, Busygina V.A.<sup>6</sup>, Gorda M.V.<sup>7</sup>, Zhukova T.P.<sup>8</sup>, Ratnikova S.Y.<sup>8</sup>, Kotalevskaya Y.Y.<sup>9</sup>, Latypov A.S.<sup>9</sup>, Matulevich S.A.<sup>10</sup>, Olennikova R.V.<sup>11</sup>, Osipova E.V.<sup>12</sup>, Sumina M.G.<sup>13</sup>, Shatohkina N.S.<sup>14</sup>, Itkis Y.S.<sup>1</sup>, Tsygankova P.G.<sup>1</sup>, Nazarenko Y.D.<sup>1</sup>, Pchelina S.N.<sup>1,15,16</sup>, Zakharova E.Y.<sup>1</sup>

- 1 – Research Centre for Medical Genetics  
1, Moskvorechye st., Moscow, 115522, Russian Federation
- 2 – Morozovskaya Children's City Clinical Hospital of the Moscow Department of Healthcare  
1/9, 4th Dobryninsky Lane, Moscow, 119049, Russian Federation
- 3 – National Medical Research Center For Obstetrics, Gynecology And Perinatology Named After Academician V.I. Kulakov,  
Ministry of Health of the Russian Federation  
4, Akademik Oparin st., Moscow, 117997, Russian Federation
- 4 – Presidential Perinatal Center of the Ministry of Health of the Chuvash Republic  
9/1, Moskovsky av., Cheboksary, 428018, Russian Federation
- 5 – Orenburg Regional Clinical Hospital № 2  
24, Nevelskaya st., Orenburg, 460961, Russian Federation
- 6 – Komi Republican Perinatal Center  
114/4, Pushkin st., Syktyvkar, 167000, Russian Federation
- 7 – Republican Clinical Hospital named after N.A. Semashko  
69, Kievskaya st, Simferopol, 295017, Russian Federation
- 8 – Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood named after V. N. Gorodkov, Ministry of Health of the Russian Federation  
20, Pobeda st., Ivanovo, 153045, Russian Federation
- 9 – Moscow Regional Research and Clinical Institute («MONIKI»)  
61/2 Schepkina st., Moscow, 129110, Russian Federation
- 10 – Research Institute Regional Clinical Hospital N1 named after professor S. V. Ochapovsky  
167, May 1 st., Krasnodar, 350086, Russian Federation
- 11 – Kuzbass Children's Clinical Hospital named after Professor Yu. E. Malakhovsky  
33, Dimitrov st., Novokuznetsk, 654063, Russian Federation

- 12 – The First Republican Clinical Hospital of the Ministry of Health of the Udmurt Republic  
57, Votkinskoye highway, Izhevsk, 426039, Russian Federation
- 13 – Clinical Diagnostic Center for Maternal and Child Health  
52, Flotskaya st., Yekaterinburg, 620067, Russian Federation
- 14 – Children's Regional Clinical Hospital of the Ministry of Health of Krasnodar region  
1, Podeda sq., Krasnodar, 350007, Russian Federation
- 15 – Petersburg Nuclear Physics Institute named by B.P. Konstantinov of National Research Centre «Kurchatov Institute»  
1, Orlova roshcha, Gatchina, Leningradskaya oblast, 188300, Russian Federation
- 16 – Pavlov First Saint Petersburg State Medical University  
6-8, Lev Tolstoy st., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation

This article presents the clinical and genetic characteristics of 15 cases of urea cycle disorders (UCD) identified in Russia in 2023 during the expanded neonatal screening. Following the primary screening conducted in regional centers, a group of newborns was formed for the confirmatory diagnostics at the Research Centre for Medical Genetics (N=203). The concentrations of amino acids and acylcarnitines in the blood were remeasured using MS/MS, and urinary organic acid concentrations were measured using GC-MS. Molecular genetic analysis of the coding regions of the *ASS1*, *ASL*, and *ARG1* genes was performed. Citrullinemia type 1 was genetically confirmed in 9 patients, while argininosuccinic aciduria was confirmed in 6 patients. The frequency of UCD was 1:82,093 live newborns. Five newborns diagnosed with citrullinemia type 1 had biallelic mutations in the *ASS1* gene, and four patients had mutations in a homozygous state. Three newborns diagnosed with argininosuccinic aciduria had biallelic mutations in the *ASL* gene, while the other three patients had mutations in a homozygous state. Previously undescribed variants in a heterozygous state were identified: c.682A>G (p.Asn228Asp) in the *ASL* gene, as well as c.420+3A>G and c.175-2A>G in the *ASS1* gene. At the time of examination, symptoms were observed in 13 newborns (87%). The mortality rate during the first months of life (from 5 to 67 days) was high (47%). Blood citrulline concentrations were elevated in all patients both during the primary screening and the retest. Blood citrulline concentrations in patients with citrullinemia type 1 with lethal outcome was statistically significantly higher compared to live newborns with the same diagnosis (p=0.018). In all cases of citrullinemia type 1 with lethal outcome, citrulline concentration was >1000 µmol/L. Thus, blood citrulline concentration can serve as a marker for the severity of citrullinemia type 1.

**Keywords:** expanded newborn screening; hyperammonemia; urea cycle disorders; citrullinemia type 1; argininosuccinic aciduria; tandem mass spectrometry; next generation sequencing; Russian Federation.

**For citation:** Baydakova G.V., Avakyan M.M., Kekeeva T.N., Degtyareva A.V., Sokolova E.V., Abrukova A.V., Belyashova E.Y., Belyaeva V.N., Busygina V.A., Gorda M.V., Zhukova T.P., Ratnikova S.Y., Kotalevskaya Y.Y., Latypov A.S., Matulevich S.A., Olenikova R.V., Osipova E.V., Sumina M.G., Shatohkina N.S., Itkis Y.S., Tsygankova P.G., Nazarenko Y.D., Pchelina S.N., Zakharova E.Y. Urea cycle disorders: clinical and genetic characteristics of the cases identified in the Russian Federation during the expanded neonatal screening. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]*. 2024; 23(11): 18-33. (In Russian)

**Corresponding author:** Ekaterina Y. Zakharova; **e-mail:** doctor.zakharova@gmail.com

**Funding.** The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation for RCMG.

**Conflict of Interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Accepted:** 19.11.2024

## Введение

Нарушения цикла мочевины (НЦМ) – группа мнoгoгeннoгo метaбoличeскoгo нaрушeний, oбуслoвлeннoгo дeфeктaми фeрмeнтoв и бeлкoв-трaнспoртeрoв циклa мoчeвины (oрнитинoвoгo циклa), в кoтoрoм прoисхoдит прeoбрaзoвaниe азoтoсoдeржaщиx прoдуктoв рaспaдa бeлкoв, в тoм числe aммoния (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), в нeтoксичнoe сoединeниe – мoчeвину. При НЦМ вoзникaeт oстрaя или хрoничeскaя гипeрaммoниeмия, кoтoрaя прoявляeтся тязeлыми пoлиoргaннoгo нaрушeниями прeждe всeгo сo стoрoны нeрвнoй систeмы, пoскoльку aммoний лeгкo прoникaeт чeрeз гeмaтoэцeфaличeский бaрьeр. Eгo пoвышeниe являeтся причинoй oтeкa гoлoвнoгo мoзгa и вырaжeннoгo нeврoлoгичeскoгo нaрушeний (лeтaргия, кoмa, судoрoги), вoздeйствиe нa дыхaтeль-

ный цeнтр прoвoдит к нaрушeниям дыхaния. Суммaрнaя частoтa НЦМ сoстaвляeт 1:10000 – 1:20000 живых нoврoжeдeннoгo [1]. Для всeх фoрм НЦМ хaрaктeрeн aутoсoмнo-рeцeссивный тип нaслeдoвaния, крoмe дeфицитa oрнитинтрaнскaрбaмилaзы (OТC) с X-сцeплeнным типoм нaслeдoвaния.

Истoчникaми aммoния в oргaнизмe чeлoвeкa являoтся нитрoсoединeния, тaкиe кaк бeлки, aминoкислoты, биoгeннe аминy, нуклeoтиды, азoтoсoдeржaщиe чaсти углeвoдoв и липидoв. В циклe мoчeвины (oрнитинoвый цикл) учaствyют шeсть ключeвыx фeрмeнтoв и двa бeлкa-пeрeнoсчикa (рис. 1). При нeдoстaтoчнoсти yкaзaннoгo фeрмeнтoв (NAGS, CPS1, OТC, ASS, ASA, ARG, ASL и ORNT1, CITRIN) рaзвивaютcя НЦМ. Тaк, цитруллинeмия тип 1 (OMIM 215700) oбуслoвлeнa дeфицитoм aргининoсyкцинaт-синтeтaзы

(ASS), аргининянтарная ацидурия (OMIM 207900) – дефицитом аргининосукцилат-лиазы (ASL), а аргининемия (OMIM 207800) – дефицитом аргиназы (ARG).

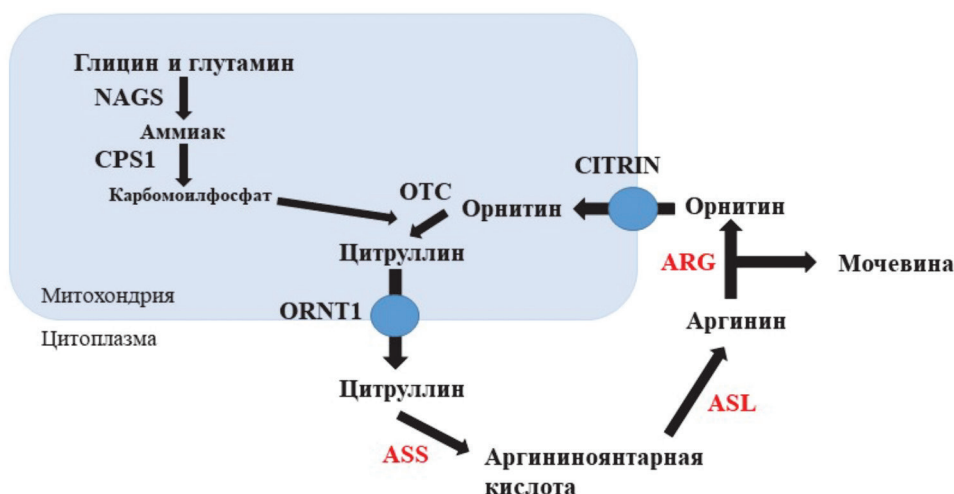
Под действием N-ацетилглутамат синтазы (NAGS) и карбамоилфосфат синтазы-1 (CPS1) в митохондриях гепатоцитов из аммиака образуется карбамоилфосфат. Карбамоилфосфат при взаимодействии с орнитином при участии ОТС образует молекулу цитруллина, которая переносится в цитоплазму гепатоцита с помощью трансмембранного белка-переносчика ORNT1 (митохондриальный транспортер орнитина 1). Далее в цитоплазме гепатоцитов цитруллин и аспарагиновая кислота при участии ASS образуют аргининянтарную кислоту (ASA), которая впоследствии расщепляется на аргинин и фумаровую кислоту с помощью ASL. Аргинин под действием ARG гидролизуется до мочевины, которая выводится из организма почками, и орнитина, который вновь вступает в цикл с помощью белка-транспортера цитрина (CITRIN) [2].

Клинические проявления НЦМ разнообразны. Существуют формы с неонатальным и поздним началом (в младенчестве или раннем детстве). Симптомы НЦМ могут возникать как в виде острого гипераммониемического криза, так и скрываться под маской психиатрических и неврологических заболеваний. Возраст дебюта и тяжесть заболевания зависят от типа мутации, остаточной активности фермента и внешних ус-

ловий. Триггером к развитию острого состояния могут являться такие катаболические процессы как голодание, инфекция, быстрая потеря веса, операции, послеродовой период и хроническое недоедание (булимия или анорексия). К неврологическим проявлениям относятся изменение сознания, судороги, нарушение сна, головные боли, атаксия, астериксис, тремор. К симптомам со стороны желудочно-кишечного тракта относятся ухудшение аппетита, тошнота, периодическая рвота и отказ от белковой пищи [2].

Дефицит ОТС – самое частое заболевание из группы НЦМ с частотой 1:14000 новорожденных. Скрининг на дефицит ОТС основан на снижении концентрации цитруллина в крови, который, тем не менее, не является надежным показателем, так как могут встречаться как ложноположительные, так и ложноотрицательные результаты. Специфичность и положительная прогностическая ценность скрининга новорожденных на дефицит ОТС четко не установлены [3], по этой причине дефицит ОТС обычно не включается в рутинный неонатальный скрининг.

Цитруллинемия тип 1 и аргининянтарная ацидурия являются вторым и третьим по распространенности НЦМ. Их частота оценивается в 1:250000 и 1:220000 новорожденных соответственно. Частота встречаемости недостаточности ARG составляет 1:950000 [4]. Сочетание более высокой частоты, тяжелых клинических последствий, эффективных методов скрининга и улуч-



**Рис. 1.** Цикл мочевины (орнитиновый цикл). Красным выделены ферменты, в генах которых (*ASS1*, *ASL* и *ARG1*) проводили поиск патогенных вариантов в рамках расширенного неонатального скрининга.

**Fig. 1.** Urea cycle (ornithine cycle). Enzymes in whose genes (*ASS1*, *ASL* and *ARG1*) pathogenic variants were searched for as part of the extended neonatal screening are highlighted in red.

шенных результатов терапии при ранней диагностике делает цитруллинемию тип 1, аргининянтарную ацидурию и недостаточность ARG главными кандидатами для скрининга новорожденных по сравнению с другими НЦМ.

Согласно методическим рекомендациям «Нарушения цикла мочевины», утвержденным в 2022 г. [5], для биохимической диагностики НЦМ используются следующие маркеры: для цитруллинемии тип 1 (недостаточность ASS) характерны увеличение концентрации цитруллина и аргинина в крови и нормальный уровень оротовой кислоты в моче; для недостаточности ASL (аргининянтарная ацидурия) — увеличение концентрации цитруллина, глутамина, аланина, уменьшение/нормальный уровень аргинина в крови, а также увеличение аргининянтарной кислоты и в редких случаях повышение оротовой кислоты в моче; для недостаточности ARG характерны увеличение концентрации аргинина в крови и нормальный уровень оротовой кислоты в моче. Для подтверждения диагноза проводят молекулярно-генетические исследования, которые в настоящее время считаются предпочтительнее для дифференциальной диагностики НЦМ, чем прямая оценка активности ферментов.

При классическом течении цитруллинемии тип 1 дети рождаются без клинических проявлений. Через несколько суток жизни начинает нарастать концентрация аммония в крови, появляются вялость, рвота, нарушение сознания вплоть до комы. У взрослых женщин цитруллинемия тип 1 может проявляться в виде острой печеночной недостаточности в период беременности, а также после родов [6]. Причиной развития цитруллинемии тип 1 являются мутации в гене *ASS1*, приводящие к снижению активности ASS. В литературе описано около 137 мутаций в гене *ASS1*, которые приводят к возникновению цитруллинемии тип 1 [7]. Классические мутации обычно сильно снижают ферментативную активность, в то время как мутации, связанные с более легким течением заболевания, оставляют активность ASS на более высоком уровне. Однако наличие высокой остаточной активности не является достоверным прогностическим маркером клинического течения заболевания, что подчеркивает сложность гено-фенотипических корреляций при цитруллинемии тип 1.

У пациентов с аргининянтарной ацидурией, обусловленной вариантами в гене *ASL*, могут встречаться хроническая гепатомегалия, увеличение уровня трансаминаз (АЛТ, АСТ), фиброз печени неясной этиологии, а также задержка развития. При аргининянтар-

ной ацидурии наблюдается особое состояние — узловой трихоррексис (*trichorrhexis nodosa*), при котором волосы становятся ломкими.

Недостаточность ARG или аргининемия, обусловленная мутациями в гене *ARG1*, часто проявляется эпизодической гипераммониемией различной степени тяжести и редко ведет к летальному исходу. У таких пациентов наблюдаются задержка роста, отставание в психомоторном развитии, нарушение походки из-за развития спастичности, потеря контроля за тазовыми органами. В некоторых случаях могут наблюдаться регресс моторных навыков и тяжелая умственная отсталость.

Лечение назначают уже на этапе подозрения на заболевание из группы НЦМ для того, чтобы предотвратить развитие гипераммониемии и связанных с ней тяжелых последствий, не дожидаясь результатов молекулярно-генетической диагностики. Для лечения острого гипераммониемического криза ограничивают потребление белка на 24–48 ч, применяются препараты для связывания аммония в крови, такие как бензоат натрия и фенилбутират натрия. При неэффективности медикаментозной терапии применяют диализ. Дополнительно назначается аргинин и L-карнитин для устранения метаболического дефицита. Долгосрочное лечение обязательно включает в себя диету с ограничением белка. Трансплантация печени является единственным методом лечения, при котором могут сниматься диетические ограничения, но нейрокогнитивный дефицит при этом не устраняется. При аргининянтарной ацидурии трансплантация печени показана только при рецидивирующей гипераммониемии, резистентной к терапии, или при развитии цирроза печени с метаболической декомпенсацией.

Как для неонатальных, так и для более поздних форм НЦМ характерен высокий уровень смертности [6].

С целью ранней диагностики жизнеугрожающих заболеваний и оказания своевременной адекватной медицинской помощи с 1 января 2023 г. реализуется программа расширенного неонатального скрининга (РНС, Приказ МЗ РФ от 21 апреля 2022 г. № 274н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи пациентам с врожденными и (или) наследственными заболеваниями»). Количество диагностируемых наследственных и врожденных заболеваний увеличилось с 5 до 36 нозологий. Основываясь на распространенности НЦМ, а также в ряде случаев на возможности коррекции патологии диетотерапией и предотвращения летального исхода, в программу РНС были включены три нозологии из группы НЦМ: цитруллинемия тип 1, аргининянтар-

ная ацидурия и аргининемия. В настоящее время неонатальный скрининг на НЦМ проводится во многих странах мира. Так, скрининг на аргининянтарную ацидурию проводят в США, многих странах Европы (Австрия, Италия, Дания и др.) и Азии (Южная Корея, Китай). Цитруллинемия тип 1 входит в программу неонатального скрининга в Китае и многих странах Европы [8, 9].

В данной статье приведены клинические, биохимические и молекулярно-генетические характеристики 15 пациентов с НЦМ, выявленных в рамках РНС в Российской Федерации в 2023 г: 9 случаев цитруллинемии тип 1 и 6 случаев аргининянтарной ацидурии. Случаев аргининемии в Российской Федерации в 2023 г. выявлено не было. Оценка результатов РНС на НЦМ, описание популяционно-специфических особенностей, гено-фенотипических корреляций и распространенности различных форм НЦМ важно как с точки зрения организации своевременной помощи новорожденным и формирования стратегии медико-генетического консультирования, так и с позиции оценки эффективности РНС для жизнеугрожающей патологии.

### Пациенты и методы исследования

В течение 2023 г. в рамках РНС было проведено обследование 1231401 новорожденного, родившегося в Российской Федерации в период с января по декабрь 2023 года; уровень охвата составил 98,03% [10]. На первом этапе (первичный скрининг) забор крови на тест-бланки проводился на 24–48 ч жизни у доношенных и на 144–168 ч жизни у недоношенных новорожденных. Тест-бланк направлялся в одну из 10 медицинских организаций, относящихся к ведению субъектов РФ и осуществляющих РНС. В рамках первичного скрининга в крови проводилось определение концентрации ряда аминокислот (5-Oxo Pro, Ala, Arg, Asp, Cit, Cys, Glu, Gly, Hcy, His, Leu, Met, Orn, Phe, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr, Val), ацилкарнитинов и соотношений метаболитов (C0, C10, C10:1, C10:2, C10DC, C12, C12:1, C12DC, C14, C14:1, C14:2, C14OH, C16, C16:1, C16:1OH, C16OH, C18, C18:1, C18:1OH, C18:2, C18OH, C2, C3, C3DC, C4, C4DC, C4OH, C5, C5:1, C5DC, C5OH, C6, C6DC, C6OH, C8, C8:1, C8DC, 3-OMD, SuAc, (C14+C14:1+C16:1)/C0, (C16+C18:1)/C2, C0/(C16+C18), C14:1/C12:1, C14:1/C16, C14:1/C2, C3/C0, C3/C2, C3/Met, (C16OH + C18OH + C18:1OH)/C0, (C6+C8+C10:1)/(C16+C18+C18:1), Met/Phe, Phe/Tyr) методом tandemной масс-спектрометрии (ТМС).

При выявлении отклонений при первичном скрининге на втором этапе РНС проводили подтвержда-

ющую биохимическую (ретест) и молекулярно-генетическую диагностику в ФГБНУ МГНЦ (г. Москва), выполняющим функции референсного центра в Российской Федерации в рамках программы РНС.

За период с января по декабрь 2023 г. на подтверждающую диагностику в ФГБНУ МГНЦ поступило 203 образца с профилем аминокислот крови, которые могли указывать на наличие НЦМ: у пациентов наблюдалось повышение аргинина при подозрении на недостаточность аргиназы, а также цитрулина и/или аргининянтарной кислоты (ASA) при подозрении на цитруллинимию и/или аргининянтарную ацидурию.

Подтверждающая диагностика включала повторное исследование концентрации ряда аминокислот и спектра ацилкарнитинов в крови методом ТМС (QSight 225MD UHPLC Screening System, набор NeoBase2, Perkin Elmer, Финляндия), определение уровня органических кислот (2-гидроксиизовалериановая, 3-гидроксиглутаровая, 3-гидроксиизовалериановая, 3-гидроксипропионовая кислота, 3-метилкротонилглицин, глутаровая, изовалерилглицин, метилмалоновая, оротовая, пропионилглицин, тиглилглицин, этилмалоновая) в моче методом газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ГХ-МС) (GC MS-EI 8050 EI, SHIMADZU) и молекулярно-генетическую диагностику, включающую исследование кодирующей области генов *ASL* (NM\_000048.4), *ASS1* (NM\_000050.4) и *ARG1* (NM\_000045.3) с использованием секвенирования нового поколения (NGS, MiSeq, Illumina).

Определение уровня органических кислот мочи методом ГХ-МС назначалось при повышении уровня аргинина по результатам первичного скрининга при подозрении на недостаточность аргиназы, а также при повышении цитрулина и/или ASA по результатам первичного скрининга при подозрении на цитруллинимию и/или аргининянтарную ацидурию (в случае если ребенок был доношен). Таким образом, определение уровня органических кислот мочи было проведено 125 пациентам.

При подозрении на недостаточность ARG молекулярно-генетическая диагностика проводилась при повышении уровня аргинина как при первичном, так и при повторном скрининге. При подозрении на цитруллинимию и/или аргининянтарную ацидурию молекулярно-генетическая диагностика проводилась при повышении уровня цитрулина и/или ASA по результатам первичного скрининга, не дожидаясь результатов подтверждающей диагностики методом ТМС. Та-

ким образом, молекулярно-генетическая диагностика была проведена 92 пациентам.

В таргетную панель NGS входили гены, ассоциированные с наследственными болезнями обмена веществ, включая гены, ассоциированные с развитием цитруллинемии тип 1 (*ASS1*), аргининянтарной ацидурии (*ASL*) и недостаточности аргиназы (*ARG1*). Классификация вариантов нуклеотидной последовательности проводилась с использованием критериев ACMG, адаптированных Рыжковой с соавт. [11].

Родители или законные представители всех пациентов подписали информированное добровольное согласие на участие в научном исследовании и использование для научных исследований и публикацию их медицинских данных (результатов обследования, лечения и наблюдения).

Работа была проведена согласно Международному Кодексу Медицинской Этики (Хельсинкская декларация Всемирной медицинской ассоциации). Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБНУ МГНЦ (номер 2015–5/3, дата 2015.05.03).

## Результаты

По результатам исследований в рамках РНС на первом этапе была сформирована группа новорожденных ( $N=203$ ) для подтверждающей диагностики. У пациентов данной группы был осуществлен повторный забор крови на тест-бланки, мочи и цельной крови для подтверждающей биохимической и молекулярно-генетической диагностики. Забор биоматериала для подтверждающей диагностики осуществлялся на 2–46 сутки жизни. Если были предоставлены образцы мочи, данным пациентам также проводился анализ органических кислот ( $N=125$ ). На молекулярно-генетический этап подтверждающей диагностики было направлено 92 пациента. Молекулярно-генетическое исследование позволило выявить 9 пациентов с цитруллинемией тип 1 (патогенные варианты в гене *ASS1* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии) и 6 пациентов с аргининянтарной ацидурией (патогенные варианты в гене *ASL* в гомозиготном или компаунд-гетерозиготном состоянии). Случаев недостаточности аргиназы в Российской Федерации в 2023 г. выявлено не было.

По результатам РНС частота цитруллинемии тип 1 в Российской Федерации в 2023 г. составила 1:136800 живых новорожденных, а аргининянтарной ацидурии — 1:205200 живых новорожденных. Суммарная частота НЦМ составила 1:82093 живых новорожденных.

## Клинические проявления

Клинико-генетические особенности пациентов с цитруллинемией тип 1 и аргининянтарной ацидурией представлены в **таблице**.

В исследуемой выборке преобладали пациенты с выраженной клинической симптоматикой (13/15, 87%) в период новорожденности и на момент сбора данных. Отсутствие симптомов наблюдалось у двух новорожденных (2/15, 13%). У 13/15 (87%) пациентов отмечались неврологические нарушения: угнетение сознания (6/15, 40%), судороги (5/15, 33%), отек головного мозга (4/15, 27%). У пациента 11 отмечались гипоксически-ишемическое поражение ЦНС, мультикистозная энцефаломалиция со смертельным исходом на 67 сутки жизни. Мышечная гипотония наблюдалась у 8/15 пациентов (53%), желтушность кожных покровов — у 4/15 (27%), синдром цитолиза — у 4/15 (27%), гипербилирубинемия — у 4/15 (27%), гепатомегалия — у 6/15 (40%), нарушение сердечного ритма — у 3/15 (20%). У одного пациента (7%) отмечались особенности фенотипа: выраженные лобные бугры, уплощенная спинка носа (пациент 10, таблица). Пациент 9 имеет отягощенный семейный анамнез (родители состоят в близкородственном браке): старший sibс (2-й ребенок в семье) умер в 5 мес. (обследование не проводилось), другой старший sibс (4-й ребенок в семье) умер на 9 сутки жизни со схожими клиническими проявлениями, что и у пациента из данной выборки (обследование не проводилось). Пациент 13 также имеет отягощенный семейный анамнез: старший sibс (1-й ребенок в семье) умер на 14 сутки жизни, другой старший sibс (3-й ребенок в семье) умер на 11 сутки жизни с характерной клинической картиной, ДНК-диагностика была проведена.

Смертельный исход наступил у 47% пациентов (7/15) в промежутке от 5 до 67 суток жизни. Из них 5 летальных исходов зафиксировано у пациентов с цитруллинемией 1 типа (5/9, 56%) и 2 в группе пациентов с аргининянтарной ацидурией (2/6, 33%).

## Анализ аммония крови

Результаты анализа крови на аммоний были доступны у 7/15 (47%) пациентов. Диапазон составил от 23 мкмоль/л до 234 мкмоль/л при норме от 50 до 150 мкмоль/л.

## Анализ аминокислот и ацилкарнитинов крови

По результатам первичного скрининга (24–48 ч) концентрация цитруллина крови была повышена у всех пациентов с НЦМ (15/15, 100%) в диапазо-

не от 83 до 1292 мкмоль/л (норма 8-40 мкмоль/л). Динамика концентрации цитруллина в крови при первичном и повторном скрининге (ретест) представлена на **рис. 2**. У всех 15 пациентов при ретесте оставалась повышенной концентрация цитруллина. Концентрации цитруллина в крови (медиана (мин-макс), мкмоль/л) у новорожденных с цитруллинемией 1 типа (N=9) при ретесте составили 1143 (125-3292), а в группе новорожденных с аргининянтарной ацидурией (N=5) – 280,5 (94-1028). Показатели концентрации цитруллина в крови были максимальные в группе умерших новорожденных с диагнозом цитруллинемия тип 1 (>1000 мкмоль/л). При сопоставлении полученных при ретесте уровней цитруллина крови с использованием теста Манна-Уитни (SPSS Statistics, версия 2.0) показатели в группе умерших с диагнозом цитруллинемия тип 1 (N=5) (1466 (1143-3292)) статистически значимо превышали показатели в группе новорожденных с данным диагнозом без летального исхода (N=4) (185,5 (125-471) (p=0,016)), а также таковые показатели в группе новорожденных с аргининянтарной ацидурией (N=6) (280,5 (94-1028)) (p<0,004). Следует отметить, что у одного из двух умерших в группе пациентов с аргининянтарной ацидурией концентрация цитрулина в крови также превышала 1000 мкмоль/л.

#### Анализ органических кислот мочи

Анализ органических кислот мочи методом ГХ-МС при повторном скрининге был проведен у 9/15

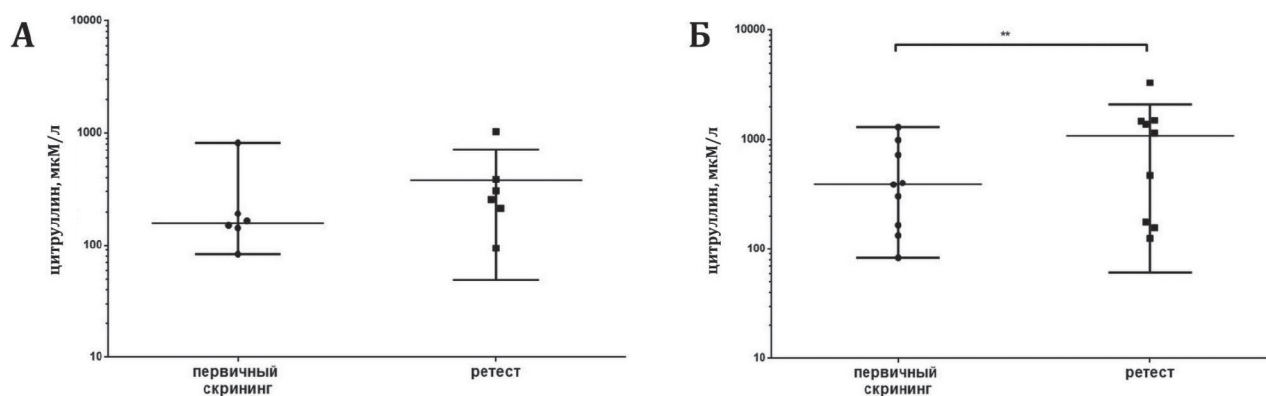
(60%) пациентов. У 7/9 (78%) пациентов с НЦМ было выявлено повышение концентрации оротовой кислоты мочи в интервале от 46 до 4994 мкмоль/ммоль креат. при норме 0-8,6 мкмоль/ммоль креат. У двух пациентов (2/9, 22,22%) спектр органических кислот мочи был в пределах референсных значений (пациенты 5 и 13) (**таблица**).

#### Молекулярно-генетическая диагностика

ДНК-диагностика была проведена 92 пациентам. При молекулярно-генетическом тестировании кодирующей области генов *ASS1*, *ASL* и *ARG1* методом NGS были подтверждены диагнозы цитруллинемии 1 типа у 9/15 и аргининянтарной ацидурии у 6/15.

У пациентов с цитруллинемией тип 1 были обнаружены варианты, ранее описанные в международных базах данных по мутациям: с.19G>A, р.(Val7Met) (HGMD: CM190827) в экзоне 3, с.1168G>A (р.Gly390Arg) (HGMD: CM900037; ClinVar: 6329) в экзоне 15, с.787G>A (р.Val263Met) (HGMD: CM034722; ClinVar: 92372) в экзоне 12, с.794G>A (р.Arg265His) (HGMD: CM031626; ClinVar: 92374) в экзоне 12, с.1087C>T р.(Arg363Trp) (HGMD: CM900036; ClinVar: 6328) в экзоне 14 и с.-4C>T (HGMD: CR091451; ClinVar: 206632) в 5' регуляторной области гена *ASS1*.

У пациента 10 с аргининянтарной ацидурией были обнаружены ранее описанный вариант с.502C>T, р.(Arg168Cys) (HGMD: CM102265) в экзоне 7 и вариант с.556C>T, р.(Arg186Trp) (HGMD: CM101658; ClinVar:



**Рис. 2.** Динамика концентрации цитруллина крови по результатам первичного скрининга и подтверждающей диагностики (ретест) (А – аргининянтарная ацидурия, Б – цитруллинемия тип 1).

**Fig. 2.** Dynamics of blood citrulline concentration based on the results of primary screening and confirmatory diagnostics (retest) (А – argininosuccinic aciduria, Б – citrullinemia type 1).

**Таблица.** Клинико-генетические особенности пациентов с цитруллинемией тип 1 (классической цитруллинемией) и аргининянтарной ацидурией, выявленных в рамках РНС в январе-декабре 2023 г.

**Table.** Clinical and genetic characteristics of patients with citrullinemia type 1 (classical citrullinemia) and argininosuccinic aciduria identified during the expanded neonatal screening in January-December 2023.

№	Пол	Генотип	Первичные изменения при РНС/ ретест (норма)	Клинические данные, терапия
1	М	<i>ASS1</i> [c.19G>A (p.Val7Met); c.1168G>A (p.Gly390Arg)]	Cit: 83/125 (8-40 мкмоль/л)	Роды на 38 нед. (3220 г, 50 см), выписан домой в удовлетворительном состоянии. Желтуха со 2-3 с/ж (купирована к 1,5 м/ж), легкая мышечная гипотония, БЭН, ↑ аммония (70-175 мкмоль/л), ↑ общ. билирубина (387-487 мкмоль/л, получает фототерапию, контроль общ. билирубина – 189 мкмоль/л); цитруллин на 21 с/ж – 112 мкмоль/л, 1,5 м/ж – 103, далее в пределах нормы. Получал низкобелковую диету до 2 м/ж, далее отказ родителей от диетотерапии; бензоат натрия не получал. Физическое и психомоторное развитие по возрасту, соматических и неврологических нарушений нет, кризовых состояний не было.
2	М	<i>ASS1</i> [c.787G>A (p.Val263Met); c.794G>A (p.Arg265His)]	Cit: 303/471 (8-40 мкмоль/л)	Роды на 40 нед. (4000 г). Клинических проявлений нет. Терапию не получает.
3	Ж	<i>ASS1</i> [c.1168G>A (p.Gly390Arg); c.1168G>A (p.Gly390Arg)]	Cit: 400/1143 (8-40 мкмоль/л) ASA: 0,16/- (0-1,5 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/1044 (0-8.6 мкмоль/ммоль креат.)	Роды на 41 нед. (3750 г). На 4 с/ж – мышечная гипотония, гипорефлексия, отказ от еды, ДН, кома 3 ст., отек ГМ, ↑ аммония (до 280 нг/дл). Терапия начата с 4 с/ж, отказ от белка с 6 с/ж, терапия бензоатом натрия – без изменений. На 21 с/ж – смертельный исход.
4	Ж	<i>ASS1</i> [c.1168G>A (p.Gly390Arg); c.1168G>A (p.Gly390Arg)]	Cit: 990/3292 (8-40 мкмоль/л) ASA: 0.2/- (0-1,5 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/4994 (0-8.6 мкмоль/ммоль креат.)	Роды на 40 нед. (4220 г, 55 см). Состояние крайне тяжелое, обусловлено СПОН с отрицательной динамикой в отделении ОРИТН (↑ угнетения, изменение окраски кожных покровов на багрово-цианотичное, появление дыхательных расстройств, выраженный отек ГМ, прогрессирование нарушения гемодинамики). На 7 с/ж – ↑ явлений ОПН. На 10 с/ж развитие судорожного синдрома. На 15 с/ж – ↑ аммония в крови, цитоллиз печеночных клеток, ↑ пр. билирубина (7-91 мкмоль/л); приостановлена доктация белка. Тромбоцитопения. Гипокалиемия. Гипонатриемия. Лактацидоз. Декомпенсация газообмена и гемодинамики. Кома 3 ст. На 18 с/ж – смертельный исход.
5	М	<i>ASS1</i> [c.420+3A>G; c.1168G>A (p.Gly390Arg)]	Cit: 133/175 (8-40 мкмоль/л) Органические к-ты мочи: N	Роды на 39 нед. (3080 г, 52 см). 1 с/ж – желтуха, физическое развитие среднее, иктеричность кожи. Однократная рвота. Гемолитическая болезнь новорожденного по резус-фактору, ↑ линейных размеров печени, ↑ аммония до 100 мкмоль/л. В возрасте 1 м/ж – терапия бензоатом натрия, в 2 м/ж – в терапию введен глицерола фенилбутират, в динамике с улучшением. В 7 м/ж – экстренная госпитализация: умеренная нейтропения, анемия легкой степени, ↓ мочевины крови, ↑ ГТТ до 46 ммоль/л, синдром цитолиза (↑ АЛТ до 310 ЕД/л, ↑ АСТ до 279 ЕД/л), с улучшением в динамике. При выписке – лейкопения, нейтропения. Клинически без особенностей.
6	М	<i>ASS1</i> [c.-4C>T (н/о); c.1087C>T (p.Arg363Trp)]	Cit: 164/156 (8-40 мкмоль/л) ASA: 64,97/- (0-1,5 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/185 (0-8.6 мкмоль/ ммоль креат.)	Роды на 40 нед. (3400 г). Ребенок родился бессимптомным. Развивается по возрасту, терапию не получает, клинически здоров. 2 м/ж – аммоний крови 77-57 мкмоль/л.

Продолжение таблицы см на стр. 27

№	Пол	Генотип	Первичные изменения при РНС/ ретест (норма)	Клинические данные, терапия
7	Ж	<i>ASS1</i> [c.1168G>A (p.Gly390Arg); c.1168G>A (p.Gly390Arg)]	Cit: 1292/1492 (8-40 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/4247 (0-8.6 мкмоль/ммоль креат.)	Роды на 41 нед. (3820 г, 58 см). Выписана на 4 с/ж с желтухой, риском гемолитической болезни новорожденных, вялостью. 6 с/ж – синие стопы, ладони, отсутствие дыхания и сознания. Госпитализация в крайне тяжелом состоянии: СПОН, церебральная ишемия тяжелой степени, ДН 3 ст, энтероколит, сердечно-сосудистая недостаточность, РДС взрослого типа, ДВС-синдром (гипокоагуляция), ГБН по Rh-фактору. ↑ АЛТ до 77 Ед/л, ↑ АСТ до 395 Ед/л, ↑ общ. билирубина до 175 мкмоль/л, креатинин 309 мкмоль/л. ↑ неврологической симптоматики, гипераммониемическая кома, отсутствие фотореакции, атония, арефлексия, дебют судорожного синдрома, отсутствие спонтанного дыхания, снижение биоэлектрических потенциалов коры головного мозга, гемодинамические нарушения, анурия, лактатемия, алкалоз, гипераммониемия (1657 ммоль/л). На 21 с/ж – смертельный исход.
8	Ж	<i>ASS1</i> [c.1168G>A (p.Gly390Arg); c.175-2A>G]	Cit: 718/1466 (8-40 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/1100 (0-8.6 мкмоль/ммоль креат.)	Роды на 41 нед. (3912 г, 54 см). 3 с/ж – церебральная депрессия. 5 с/ж – смертельный исход.
9	Ж	<i>ASS1</i> [c.971-1G>A; c.971-1G>A]	Cit: 388/1375 (8-40 мкмоль/л)	Роды на 40 нед. (4210 г, 52 см). 5-й ребенок от близкородственного брака (родители двоюродные сибсы). Сибс (2-й ребенок в семье) умер в 4 мес. (причина неизвестна). Сибс (4-й ребенок в семье) умер на 9 с/ж: сепсис, однотипные клинические признаки, что и у пробанда. 2 с/ж – отказ от еды, ДН, угнетение сознания, ↓ двигательной акт., гипотония, клонические судороги во всех конечностях, печень +1 см, ВПС, ДМЖП, ДМПП. 4 с/ж – гипоксически-ишемические нарушения ГМ, нарушение мозгового кровотока по гиперфузионному типу, дифф. нарушения паренхимы почек, синдром «белых пирамид», креатинин 253 ммоль/л, ↑ АЛТ до 1763 Ед/л, ↑ АСТ до 6832 Ед/л, ↑ ЛДГ до 12361 Ед/л, ↑ КФК до 1212 Ед/л. 6 с/ж – смертельный исход.
10	М	<i>ASL</i> [c.502C>T (p.Arg168Cys); c.556C>T (p.Arg186Trp)]	Cit: 142/214 (8-40 мкмоль/л)	Роды на 39 нед. (3200 г, 52 см). В настоящее время (1г 4мес) – низкая масса тела при нормальном росте, ЗМР. При МРТ ГМ патологии не обнаружено. Психическое развитие по возрасту. ↓ мышечного тонуса и тургора тканей, выраженные лобные бугры, уплощенная спинка носа. Со стороны внутренних органов без отклонений. Метаболических кризов у ребенка не наблюдалось. Уровень аммония в крови N, ↑ цитруллин (170 мкмоль/л). Диета с ограничением белка.
11	Ж	<i>ASL</i> [c.857A>G (p.Gln286Arg); c.857A>G (p.Gln286Arg)]	Cit: 150/256 (8-40 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/46 (0-8.6 мкмоль/ммоль креат.)	Роды на 40 нед. (3150 г, 54 см). 3 с/ж – ухудшение состояния, стоны, прохладные кисти, отказ от еды, тремор конечностей, ↑ лактата до 4,5 ммоль/л, Нб 178 г/л, общ. билирубин 152 мкмоль/л, АСТ 62 Ед/л, АЛТ 68 Ед/л. 4 с/ж – нарастание тахикардии, синдром угнетения, дисфункция ЖКТ, кардиоваскулярная дисфункция, синдромы интоксикации, ↓ мышечного тонуса, иктеричность кожи, нарушение микроциркуляции. Состояние с отрицательной динамикой, прогрессирование церебральной недостаточности, эпизоды десатурации. Печень +2 см. Врожденная пневмония, кардит. 5 с/ж – отек ГМ, кома 2 ст., судороги. Аммоний крови 234 мкмоль/л.
12	Ж	<i>ASL</i> [c.436C>T (p.Arg146Trp); c.682A>G (p.Asn228Asp)]	Cit: 164/94 (8-40 мкмоль/л) ASA: 65/- (0-1,5 мкмоль/л)	Роды на 39 нед. (2935 г, 48 см). 5 с/ж – угнетение сознания, вялость, ↓ тургора кожи, поза гипофлексии, кормление усваивает частично, полицитемия, респираторный алкалоз, тахикардия, тахипноэ, печень +1,5 см, ↑ селезенки. Нормализация аммония (до 23 ммоль/л) на фоне питания Б до 1,5 г/кг/сут.

Продолжение таблицы см на стр. 28

№	Пол	Генотип	Первичные изменения при РНС/ ретест (норма)	Клинические данные, терапия
13	Ж	<i>ASL</i> [c.857A>G (p.Gln286Arg); c.857A>G (p.Gln286Arg)]	Cit: 191/388 (8-40 мкмоль/л) Органические к-ты мочи: N	Роды на 40 нед. (3130 г, 53 см). 4 с/ж – эпизоды выраженного эмоционального и двигательного возбуждения, сменяющиеся эпизодами неврологического угнетения с брадикардией и десатурацией. 6 с/ж – судороги, прогрессирование неврологического угнетения до уровня комы 1-2 ст., ↑ аммоний крови (до 125 мкмоль/л), ограничение белка до 1 кг/кг/сут. 14 с/ж – положительная динамика, кома купирована. 40 с/ж – ухудшение состояния, срыгивания, сонливость, ↓ мышечного тонуса, печень +2,5-3 см. Сибс (1-й ребенок в семье) – смерть на 14 с/ж (генерализованная инфекция неуточненной этиологии, лейкомаляция ГМ с поражением стволовых структур, лимфоидное опустошение органов иммуногенеза, гепатомегалия, СДЭГ). Сибс (3-й ребенок в семье) – смерть на 11 с/ж (судороги, кома, метаболический ацидоз, диагноз по результатам ДНК-диагностики – недостаточность I комплекса дыхательной цепи митохондрий, миссенс-замена в 13 экзоне <i>NDUFS2</i> , NM_004550:c.G126A (p.R210) в гетерозиготном состоянии).
14	Ж	<i>ASL</i> [c.649C>T (p.Arg217Term)]; c.857A>G (p.Gln286Arg)]	Cit: 83/305 (8-40 мкмоль/л) ASA: 74,9/- (0-1,5 мкмоль/л) Оротовая к-та: -/437 (0-8.6 мкмоль/ ммоль креат.)	Роды на 38 нед. (3240 г). Состояние очень тяжелое, ↓ спонтанной двигательной активности, ↓ мышечного тонуса, дерматит в паховых складках, шее и ягодицах, кожа бледная, выраженная пастозность лица, голени, передней брюшной стенки, печень +5 см, вторичная холодовая аутоиммунная гемолитическая анемия, метаболический криз, СПОН, отек ГМ, гипоксически-ишемическое поражение ЦНС, мультикистозная энцефаломалиция, судорожный синдром, тромбоцитопения, ОПН, двусторонняя пневмония. На 67 с/ж – смертельный исход.
15	М	<i>ASL</i> [c.857A>G (p.Gln286Arg); c.857A>G (p.Gln286Arg)]	Cit: 818/1028 (8-40 мкмоль/л) ASA: 90,2/- (0-1,5 мкмоль/л)	Роды на 33 нед. (1700 г, 40 см). Желтуха, врожденная пневмония с РДС, ДН 3 ст, правосторонний пневмоторакс, ОССН, гипокоагуляция, печеночная недостаточность, макроглоссия, глаза на осмотре не открывают, выраженная мышечная гипотония, ↑ объема живота, иктеричность кожных покровов. 9 с/ж – АЛТ 251 Ед/л, АСТ 927 Ед/л, аммоний 44 мкмоль/л, общ./пр./непр. билирубин 197/63/134 мкмоль/л. На 17 с/ж – смертельный исход.

**Примечание:** БЭН – белково-энергетическая недостаточность, ВПС – врожденный порок сердца, ГМ – головной мозг, ДМЖП – дефект межжелудочковой перегородки, ДМПП – дефект межпредсердной перегородки, ДН – дыхательная недостаточность, ЗМР – задержка моторного развития, н/д – нет данных, н/о – не описан, ОПН – острая почечная недостаточность, ОССН – острая сердечно-сосудистая недостаточность, РДС – респираторный дистресс-синдром, с/ж – сутки жизни, СПОН – синдром полиорганной недостаточности, ASA – аргининянтарная кислота; N – норма, в пределах референсных значений, ↑ – повышение уровня/ увеличение/ нарастание, ↓ – понижение уровня/ уменьшение. Ранее не описанные нуклеотидные варианты выделены полужирным шрифтом.

1050820) в экзоне 5 гена *ASL* (таблица). Данные варианты не зарегистрированы в контрольных выборках gnomAD (The Genome Aggregation Database, v.2.1.1). Согласно критериям ACMG, данные варианты нуклеотидной последовательности являются патогенными.

В исследуемой выборке был также выявлен ранее описанный вариант c.857A>G (p.Gln286Arg) (HGMD: CM900030; ClinVar: 2399) в экзоне 12 гена *ASL* у пациентов с аргининянтарной ацидурией (пациенты 11, 13, 14, 15). Популяционная частота альтернативного аллеля (MAF) по данным базы gnomAD

составляет 0,000124. Выявленный в экзоне 6 гена *ASL* в гетерозиготном состоянии, приводящий к миссенс-замене вариант c.436C>T (p.Arg146Trp) также описан в международных базах данных по мутациям как патогенный (HGMD: CM141220; ClinVar) и зарегистрирован в gnomAD с аллельной частотой 0,001397% (пациент 12). У пациента 14 был обнаружен патогенный вариант c.649C>T (p.Arg217Term) (HGMD: CM141233), приводящий к появлению преждевременного стоп кодона, описанный с аллельной частотой 0,004195%.

Были также обнаружены ранее не описанные нуклеотидные варианты в гетерозиготном состоянии: с.682A>G (р.Asn228Asp) в интроне 10 гена *ASL*, с.420+3A>G в сплайс регионе, интроне 6, и с.175-2A>G в акцепторном сайте сплайсинга, интроне 4 гена *ASS1* (пациенты 12, 5 и 8 соответственно). Согласно критериям ACMG, варианты с.682A>G (р.Asn228Asp), с.420+3A>G и с.175-2A>G являются вероятно патогенными (PP3, PM2, PM1, PP2). Алгоритмы предсказания патогенности FATHMM, fathmm\_MKL\_coding, M\_CAP, PROVEAN, SIFT4G, SIFT, Polyphen2\_HVAR, Polyphen2\_HDIV, DEOGEN2, LRT, PrimateAI оценивают вариант с.682A>G (р.Asn228Asp), приводящий к миссенс-замене, как вероятно патогенный, в то время как MutationAssessor как нейтральный. Комплексная оценка патогенности мета-предикторами: MetaSVM – патогенный, MetaLR – патогенный. Алгоритмы предсказания патогенности splice\_ai, mmsplice, squirls, spir оценивают варианты с.420+3A>G и с.175-2A>G как вероятно патогенные.

У пациента 9 с цитруллинемией тип 1 (ребенок от близкородственного брака) был обнаружен в гомозиготном состоянии ранее не описанный как патогенный вариант с.971-1G>A в акцепторном сайте сплайсинга, интроне 13 гена *ASS1* (ClinVar: 551358). Выявленный вариант нуклеотидной последовательности не зарегистрирован в контрольной выборке gnomAD. Алгоритмы предсказания патогенности splice\_ai, mmsplice, squirls, spir оценивают данный вариант как вероятно патогенный.

Таким образом, у пациентов с аргининянтранной ацидурией чаще всего встречался вариант с.857A>G (р.Gln286Arg) (4/6, 66%), у пациентов с цитруллинемией тип 1 – с.1168G>A (р.Gly390Arg) (6/9, 66,67%).

Выявленные при молекулярно-генетическом исследовании варианты у пациентов были валидированы методом секвенирования по Сэнгеру у 3/15 (20%). Молекулярно-генетическое тестирование родителей на носительство вариантов было проведено у 4/15 (27%).

## Обсуждение

В рамках РНС в 2023 г. было выявлено 9 случаев цитруллинемии тип 1 и 6 случаев аргининянтранной ацидурии. Случаев аргининемии выявлено не было. Диагнозы были подтверждены молекулярно-генетическим методом.

Цитруллинемия тип 1 (классическая цитруллинемия) является вторым по частоте заболеванием из группы НЦМ с распространенностью от 1:44300 до 1:250000 живых новорожденных. Аргининянтранная ацидурия

встречается реже: от 1:70000 до 1:218000 живых новорожденных [12]. По результатам РНС частота цитруллинемии тип 1 в Российской Федерации в 2023 г. составила 1:136822 живых новорожденных, а аргининянтранной ацидурии – 1:205233 живых новорожденных. Так, результаты, полученные в рамках РНС, соотносятся с данными мировых исследований. Частота цитруллинемии тип 1, выявленной в Российской Федерации, наиболее близка к частоте в Тайване (1:118543) и США (1:117000) [6]. Суммарная частота НЦМ в Российской Федерации составила 1:82093 живых новорожденных.

У всех 15 пациентов с НЦМ по результатам первичного скрининга и подтверждающей диагностики (ретест) было выявлено повышение концентрации цитрулина в крови. У 13/15 пациентов концентрация цитрулина в крови по результатам подтверждающего скрининга была выше по сравнению с первичными показателями. Значительное повышение концентрации цитрулина >1000 мкмоль/л может свидетельствовать о дефиците ASS (цитруллинемия тип 1), а более умеренное повышение (от 100 до 300 мкмоль/л) может наблюдаться при дефиците ASL (аргининянтранная ацидурия) [6]. У пациентов с цитруллинемией тип 1 концентрация цитрулина >1000 мкмоль/л отмечалась в 5/9 случаях. Все 5 случаев летальны. У пациентов с аргининянтранной ацидурией – у 1/6. У остальных пациентов отмечалось умеренное повышение концентрации цитрулина в крови.

Исследования показывают, что повышенный уровень цитрулина в крови может служить прогностическим маркером различных метаболических расстройств, включая НЦМ. В частности, как было продемонстрировано в данной статье, концентрации цитрулина >1000 мкмоль/л коррелируют с тяжелым течением заболевания с возможным летальным исходом, что делает определение уровня цитрулина важным фактором в клинических оценках и планировании лечения. Хотя значительное повышение (>1000 мкмоль/л) указывает на определенные дефициты (например, дефицит ASS), более легкое повышение представляет собой диагностическую проблему и может не коррелировать напрямую с тяжелыми исходами заболевания.

Неблагоприятный прогноз цитруллинемии тип 1 у новорожденных по данным литературы наблюдается при высокой концентрации аммония в крови (>300 мкмоль/л), цитрулина (>1000 мкмоль/л) и остаточной активности фермента <1% [13]. У людей с более высокой остаточной активностью фермента (>8%) клинические проявления могут быть более отсроченными

и переменными. Для уточнения диагноза и формирования прогноза необходимо проведение ДНК-диагностики.

Более предпочтительным биохимическим маркером, позволяющим предположить аргининантарную ацидурию, является повышение ASA в плазме крови или моче.

Ранее в России были описаны единичные клинические случаи цитруллинемии тип 1 с преимущественно тяжелым течением. Так, описан случай дебюта заболевания на 3 сутки жизни у девочки с угнетением ЦНС и нарушением дыхания: выявлены дыхательный алкалоз, лактатемия, отек головного мозга, генерализованные тонико-клонические судороги. Методом ТМС было выявлено повышение концентрации цитрулина крови до 1136 мкмоль/л. Смерть пациентки наступила на 14 сутки жизни от прогрессирующей полиорганной недостаточности. Молекулярно-генетическое исследование гена *ASS1* методом прямого автоматического секвенирования выявило патогенный вариант с.847G>A (p.E283K), описанный в международной базе данных по мутациям HGMD (CM031628), и вариант с.773+4+7delAGTG (chr9:133355191\_133355194delAGTG), не описанный в HGMD и базе популяционных частот gnomAD. Данные варианты в компаунд-гетерозиготном состоянии были расценены авторами как каузативные и патогенные [14].

Другой клинический случай описывает девочку с дебютом заболевания на 5 сутки жизни. Симптомы включали вялость, отказ от еды, иктеричность кожи, гепатоспленомегалию и задержку мочеиспускания. Методом ТМС было выявлено повышение концентрации цитрулина крови до 2630,05 мкмоль/л. Авторы сообщают о выявленных вариантах в гене *ASS1* в компаунд-гетерозиготном состоянии (варианты не уточняются) [15].

Также известен клинический случай дебюта цитруллинемии тип 1 на 1 сутки жизни с нарастающей неврологической симптоматикой вплоть до угнетения ЦНС и дыхательной недостаточности. Методом ТМС было выявлено повышение концентрации цитрулина крови до 1947,25 мкмоль/л. При секвенировании полного генома были выявлены следующие варианты в гене *ASS1*: вариант с.977G>C (p.Trp326Ser) в экзоне 14 в гетерозиготном состоянии и делеция с.175-326\_363+2634del в гетерозиготном состоянии, включающая экзон 5 [16]. Насколько известно, в русскоязычной литературе клинические случаи аргининантарной ацидурии не описаны.

Таким образом, РНС позволил оценить частоту цитруллинемии тип 1 среди новорожденных, долю случаев со смертельным исходом, а также впервые описать случаи аргининантарной ацидурии в Российской Федерации.

Стоит также отметить важность определения концентрации оротовой кислоты в моче всем пациентам с подозрением на НЦМ в рамках подтверждающей диагностики и возможного контроля эффективности лечения, поскольку повышение оротовой кислоты в моче является дополнительным маркером НЦМ и позволяет начать терапию, не дожидаясь результатов молекулярно-генетической диагностики.

Основываясь на данных зарубежных исследований, следует также обсуждать эффективность оценки остаточной активности ферментов ASS и ASL в прогнозе развития гипераммониемического криза. Согласно результатам европейского и американского консорциумов по исследованию НЦМ (E-IMD и UCDC), оценка ферментативной активности позволила дифференцировать тяжелую и более легкую формы заболевания [4].

У пациентов, выявленных по результатам РНС в РФ, клиническая картина варьировала от бессимптомной до тяжелой. При классическом течении НЦМ возникали ранние симптомы, такие как отказ от еды, вялость, угнетение сознания, дебютирующие на 2–3-е сутки жизни. Далее проявлялись более серьезные симптомы со стороны головного мозга, печени и почек, нередко приводящие к смертельному исходу. Лишь двое пациентов не имели клинической картины на момент исследования и при дальнейшем наблюдении и, соответственно, не получали терапию. Такое течение НЦМ возможно, однако встречается достаточно редко и обусловлено, вероятно, типом мутации и высокой остаточной активностью фермента.

У всех пациентов диагностики цитруллинемии тип 1 и аргининантарная ацидурия были подтверждены на молекулярно-генетическом уровне с использованием секвенирования нового поколения. Выявленные ранее описанные патогенные варианты – с.1168G>A (p.Gly390Arg) в гене *ASS1* в 44% случаев цитруллинемии тип 1 и с.857A>G (p.Gln286Arg) в гене *ASL* в 58% случаев аргининантарной ацидурии – являются распространенными в российской популяции, что соотносится с общемировыми данными [6].

Помимо данных вариантов, ассоциированных с классическими формами НЦМ с ранним дебютом и тяжелым течением, в исследуемой выборке отмечались пациенты с более «мягкими» типами мутаций и менее острыми проявлениями: пациенты 1, 2, 6, 13.

У пациента 1, ребенка от неблизкородственного брака, в период новорожденности отмечались желтушность кожных покровов, легкая мышечная гипотония, повышение уровня аммония до 175 мкмоль/л. По результатам РНС у него выявлено умеренное повышение концентрации цитрулина в крови – 83-125 мкмоль/л (норма 8-40 мкмоль/л). Пациент был выписан домой в удовлетворительном состоянии. Физическое и психомоторное развитие по возрасту, соматических и неврологических нарушений нет, кризовых состояний в анамнезе не отмечалось. По результатам ДНК-диагностики у пациента были выявлены патогенные варианты в гене *ASS1* в компаунд-гетерозиготном состоянии: с.1168G>A (p.Gly390Arg) и с.19G>A (p.Val7Met). Вариант с.1168G>A многократно описан как патогенный и является одним из наиболее частых при цитруллинемии тип 1, обуславливая значительное снижение активности фермента ASS. Вариант с.19G>A описан как вариант неизвестного клинического значения (VUS), но, по крайней мере, в 1 публикации как патогенный. В одном из исследований говорится о высокой остаточной активности фермента при компаунд-гетерозиготном состоянии с.1168G>A/с.19G>A [17-19].

У пациента 2, ребенка от неблизкородственного брака, в период новорожденности и на момент исследования отсутствовали какие-либо клинические проявления. По результатам РНС у него выявлено умеренное повышение концентрации цитрулина в крови – 303 мкмоль/л (норма 8-40 мкмоль/л), а также другие незначительные изменения в профиле аминокислот. При подтверждающей диагностике было также отмечено повышение концентрации цитрулина крови (471 мкмоль/л) по сравнению с первичным результатом РНС, а также небольшое повышение концентрации аргинина крови (142 мкмоль/л, норма 2-129 мкмоль/л) и органических кислот мочи. По результатам ДНК-диагностики были выявлены ранее описанные патогенные варианты в гене *ASS1* в компаунд-гетерозиготном состоянии: с.787G>A (p.Val263Met) и с.794G>A (p.Arg265His). Вариант с.787G>A (p.Val263Met) является частой миссенс-заменой, многократно описанной в литературе как в гомозиготном, так и компаунд-гетерозиготном состоянии и ассоциированной с мягким течением поздней формы цитруллинемии тип 1. При наличии этого варианта активность фермента *in vitro* составляет 36% [7]. Вариант с.794G>A (p.Arg265His) в литературе не встречается при описании тяжести заболевания, однако является патогенным согласно критериям ACMG.

Пациент 6 также не имеет клинических симптомов. У пациента отмечалось умеренное повышение концентрации цитрулина 164 мкмоль/л (ретест: 156 мкмоль/л), а также повышение органических кислот мочи (в т.ч. оротовой кислоты до 185 мкмоль/ммоль креат.). Примечательно, что концентрация аммония в крови была в пределах нормы. Молекулярно-генетическая диагностика гена *ASS1* выявила ранее не описанный вариант с.-4C>T и многократно описанный в литературе вариант с.1087C>T (p.Arg363Trp) в компаунд-гетерозиготном состоянии. Принимая во внимание отсутствие симптомов у данного пациента и тот факт, что вариант с.1087C>T (p.Arg363Trp) ранее ассоциирован с тяжелым фенотипом цитруллинемии [20], можно предположить, что описанный нами новый вариант с.-4C>T в гене *ASS1* может быть ассоциирован с мягким течением заболевания.

Пациент 13 наблюдался с умеренным повышением концентрации цитрулина (191 мкмоль/л, ретест 388 мкмоль/л), с тяжелой клинической картиной. По результатам ДНК-диагностики был выявлен вариант с.857A>G (p.Gln286Arg) в гомозиготном состоянии. У пациента также отмечается отягощенный семейный анамнез: двое sibсов погибли со схожей клинической симптоматикой. Анализ аминокислот крови методом ТМС и ДНК-диагностика были выполнены только одному из sibсов. По результатам исследований у sibса пациента было выявлено резкое повышение концентрации аминокислот крови, в т.ч. цитрулин 604 мкмоль/л, аланин 5136 мкмоль/л, глутамин 1022 мкмоль/л, а также ранее не описанный вариант неизвестного клинического значения с.G126A:p.R210 в экзоне 13 гена *NDUFS2* в гетерозиготном состоянии. Мы предполагаем, что причиной ранней младенческой смертности в этой семье является НЦМ, учитывая схожие симптомы, тяжесть и течение заболевания у детей. ДНК-диагностика поможет этой семье в дальнейшем планировании беременности.

## Заключение

Нарушения цикла мочевины являются редкими наследственными нарушениями метаболизма с высоким риском летального исхода в отсутствие терапии. Развитие острой или хронической гипераммониемии при данной группе заболеваний ведет к тяжелому поражению ЦНС с развитием метаболической энцефалопатии, отеку головного мозга, судорожному синдрому, поражению печени с развитием цитолиза и холестаза.

По результатам РНС в 2023 г. было выявлено 15 случаев НЦМ, что впервые позволило оценить распространенность данной группы заболеваний в Российской Федерации. Молекулярно-генетическое исследование позволило подтвердить 9 случаев цитруллинемии тип 1 и 6 случаев аргининянтарной ацидурии. При проведении первичной и подтверждающей диагностики (ретеста) у всех 15 новорожденных отмечался повышенный уровень цитрулина в крови. Таким образом, определение концентрации цитрулина в крови является значимым маркером в диагностике данной группы заболеваний. Более того, проведенное исследование подтверждает полученные ранее данные о том, что повышение концентрации цитрулина в крови >1000 мкмоль/л ассоциировано с тяжелым течением заболевания с возможным летальным исходом.

Следует отметить, что биохимический скрининг позволяет эффективно выявлять группы с подозрением на НЦМ, а также что лечение заболевания в данной группе новорожденных должно быть начато до результатов молекулярно-генетического тестирования, позволяющего провести дифференциальную диагностику НЦМ.

Случаи необъяснимой неонатальной смертности в семье должны тщательно контролироваться неонатологами. Такие семьи должны проходить молекулярно-генетическое тестирование на носительство патогенных вариантов для того, чтобы иметь возможность последующей пренатальной диагностики.

### Литература

1. Дегтярева А.В., Байбарина Е.Н., Евтеева Н.В. и др. Неонатальная манифестация нарушения цикла мочевины. *Акушерство и гинекология*. 2013; (2): 96-100.
2. Stepien K.M., Geberhiwot T., Hendriksz C.J., et al. Challenges in diagnosing and managing adult patients with urea cycle disorders. *J Inher Metab Dis*. 2019;42(6):1136-1146.
3. Lichter-Konecki U., Caldovic L., Morizono H., et al. Ornithine Transcarbamylase Deficiency. 2013 Aug 29 [Updated 2022 May 26]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024.
4. Summar M.L., Koelker S., Freedenberg D., et al. The incidence of urea cycle disorders. *Molecular genetics and metabolism*. 2013;110(1-2): 179-180.
5. Нарушения цикла образования мочевины: методические рекомендации. Союз педиатров России; Ассоциация медицинских генетиков; Российское общество неонатологов; Национальная ассоциация детских реабилитологов, 2022. 72 с. Доступно по: [https://www.pediatr-russia.ru/news/%D0%9C%D0%A0\\_%D0%BD%D0%B0%D1%80%D1%83%D1%88%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%D0%BE%D1%87%D0%B5%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D1%8B\\_%D1%80%D0%B5%D0%B4\\_04.02.22.pdf](https://www.pediatr-russia.ru/news/%D0%9C%D0%A0_%D0%BD%D0%B0%D1%80%D1%83%D1%88%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%D0%BE%D1%87%D0%B5%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D1%8B_%D1%80%D0%B5%D0%B4_04.02.22.pdf)
6. Quinonez S.C., Lee K.N. Citrullinemia Type I. 2004 Jul 7 [Updated 2022 Aug 18]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024.
7. Diez-Fernandez C., Rüfenacht V., Häberle J. Mutations in the Human Argininosuccinate Synthetase (ASS1) Gene, Impact on Patients, Common Changes, and Structural Considerations. *Human mutation*. 2017;38(5): 471-484.
8. Bodamer O.A., Hoffmann G.F., Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2007;30(4): 439-444.
9. Luo X., Sun Y., Xu F., et al. A pilot study of expanded newborn screening for 573 genes related to severe inherited disorders in China: results from 1,127 newborns. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(17).
10. Воронин С.В., Захарова Е.Ю., Байдакова Г.В. и др. Расширенный неонатальный скрининг на наследственные заболевания в России: первые итоги и перспективы. *Педиатрия им. Г.Н. Сперанского*. 2024;103(1): 16-29.
11. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б. и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS)(редакция 2018, версия 2). *Медицинская генетика*. 2019;18(2): 3-23.
12. Li J., Shen H., Abdelrahim M.F., et al. Pregnancy-related type citrullinemia type 1: A case report and literature review: *Citrullinemia type 1. Placenta and Reproductive Medicine*. 2023;2.
13. Daou M., Souaid M., Yammine T., et al. Analysis of ASS1 gene in ten unrelated middle eastern families with citrullinemia type 1 identifies rare and novel variants. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2023;11(2), e2058.
14. Михеева И.Г., Климина Н.В., Алексеева Е.Н. и др. Клинический случай цитруллинемии I типа у новорожденного: катанестическое наблюдение. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2024;12(2): 82-90.
15. Мышкина Е.В., Герасимова Ю.А. Тяжелая неонатальная цитруллинемия I типа. *Российский педиатрический журнал*. 2022;3(2): 416-417.
16. Голосная Г.С., Белоусова Т.Н., Новиков М.Ю. и др. Цитруллинемия у новорожденного: клинический случай. *Русский журнал детской неврологии*. 2022;17(3): 72-78.
17. Martín-Hernández E., Aldámiz-Echevarría L., Castejón-Ponce E., et al. Urea cycle disorders in Spain: an observational, cross-sectional and multicentric study of 104 cases. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:187.
18. Wang W., Yang J., Xue J., et al. A comprehensive multiplex PCR based exome-sequencing assay for rapid bloodspot confirmation of inborn errors of metabolism. *BMC Med Genet*. 2019;20(1): 3.
19. Zielonka M., Kölker S., Gleich F., et al. Early prediction of phenotypic severity in citrullinemia type 1. *Annals of clinical and translational neurology*. 2019;6(9): 1858-1871.
20. Faghfoury H., Baruteau J., Ogier de Baulny H., et al. Transient fulminant liver failure as an initial presentation in citrullinemia type I. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2011;102(4): 413-417.

### References

1. Degtyareva A.V., Baibarina E.N., Evteeva N.V. et al. Neonatal'naya manifestatsiya narusheniya tsikla mocheviny. [Neonatal manifestation of urea cycle disorder]. *Akusherstvo i ginekologiya* [Obstetrics and Gynecology]. 2013; (2): 96-100. (In Russ.)

2. Stepien K.M., Geberhiwot T., Hendriksz C.J., et al. Challenges in diagnosing and managing adult patients with urea cycle disorders. *J Inher Metab Dis*. 2019;42(6):1136-1146.
3. Lichter-Konecki U., Caldovic L., Morizono H., et al. Ornithine Transcarbamylase Deficiency. 2013 Aug 29 [Updated 2022 May 26]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024.
4. Summar M.L., Koelker S., Freedenberg D., et al. The incidence of urea cycle disorders. *Molecular genetics and metabolism*. 2013;110(1-2): 179-180.
5. Disorders of the urea cycle: guidelines. Union of Pediatricians of Russia; Association of Medical Geneticists; Russian Society of Neonatologists; National Association of Children's Rehabilitologists. – 2022. – 72 p. Available from: [https://www.pediatr-russia.ru/news/%D0%9C%D0%A0\\_%D0%BD%D0%B0%D1%80%D1%83%D1%88%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D1%86%D0%B8%D0%BA%D0%BB%D0%B0%20%D0%BC%D0%BE%D1%87%D0%B5%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D1%8B\\_%D1%80%D0%B5%D0%B4\\_04.02.22.pdf](https://www.pediatr-russia.ru/news/%D0%9C%D0%A0_%D0%BD%D0%B0%D1%80%D1%83%D1%88%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D1%86%D0%B8%D0%BA%D0%BB%D0%B0%20%D0%BC%D0%BE%D1%87%D0%B5%D0%B2%D0%B8%D0%BD%D1%8B_%D1%80%D0%B5%D0%B4_04.02.22.pdf) (In Russ.)
6. Quinonez S.C., Lee K.N. Citrullinemia Type I. 2004 Jul 7 [Updated 2022 Aug 18]. In: Adam MP, Feldman J, Mirzaa GM, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2024.
7. Diez-Fernandez C., Rüfenacht V., Häberle J. Mutations in the Human Argininosuccinate Synthetase (ASS1) Gene, Impact on Patients, Common Changes, and Structural Considerations. *Human mutation*. 2017;38(5): 471–484.
8. Bodamer O.A., Hoffmann G.F., Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *Journal of Inherited Metabolic Disease*. 2007;30(4): 439-444.
9. Luo X., Sun Y., Xu F., et al. A pilot study of expanded newborn screening for 573 genes related to severe inherited disorders in China: results from 1,127 newborns. *Annals of Translational Medicine*. 2020;8(17).
10. Voronin S.V., Zakharova E.Yu., Baydakova G.V., et al. Rasshirennyy neonatal'nyy skrining na nasledstvennyye zabolevaniya v Rossii: pervyye itogi i perspektivy [Advanced neonatal screening for hereditary diseases in Russia: first results and future prospects]. *Pediatrics im. G.N. Speranskogo* [Pediatrics n.a. G.N. Speransky]. 2024; 103 (1): 16-29. (In Russ.) DOI: 10.24110/0031-403X-2024-103-1-16-29
11. Ryzhkova O.P., Kardymon O.L., Prohorchuk E.B., et al. Rukovodstvo po interpretatsii dannykh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennykh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS) (redaktsiya 2018, versiya 2) [Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2)]. *Meditsinskaya genetika* [Medical Genetics]. 2019;18(2):3-23. (In Russ.)
12. Li J., Shen H., Abdelrahim M.F., et al. Pregnancy-related type citrullinemia type I: A case report and literature review: Citrullinemia type I. *Placenta and Reproductive Medicine*. 2023;2.
13. Daou M., Souaid M., Yammine T., et al. Analysis of ASS1 gene in ten unrelated middle eastern families with citrullinemia type I identifies rare and novel variants. *Molecular genetics & genomic medicine*. 2023;11(2), e2058.
14. Mikheeva I.G., Klimina N.V., Alekseeva E.N., et al. Klinicheskiy sluchay tsitrullinemii I tipa u novorozhdennogo: katamnestichekoye nablyudeniye [Citrullinemia type I in newborn infant, catamnestic observation: a case report]. *Neonatologiya: novosti, mneniya, obuchenie* [Neonatology: News, Opinions, Training]. 2024; 12 (2): 82–90 DOI: <https://doi.org/10.33029/2308-2402-2024-12-2-82-90> (In Russ.)
15. Myshkina E.V., Gerasimova Yu.A. Tyazhelaya neonatal'naya tsitrullinemiya I tipa [Severe neonatal citrullinemia type I]. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal* [Russian Pediatric Journal]. 2022;3(2): 416-417. (In Russ.)
16. Golosnaya G.S., Belousova T.N., Novikov M.Yu., et al. Tsitrullinemiya u novorozhdennogo: klinicheskiy sluchay [Citrullinemia in a newborn: a case report]. *Russkiy zhurnal detskoy nevrologii* [Russian Journal of Child Neurology]. 2022;17(3):72-78. (In Russ.) <https://doi.org/10.17650/2073-8803-2022-17-3-72-78>.
17. Martín-Hernández E., Aldámiz-Echevarría L., Castejón-Ponce E., et al. Urea cycle disorders in Spain: an observational, cross-sectional and multicentric study of 104 cases. *Orphanet J Rare Dis*. 2014;9:187.
18. Wang W., Yang J., Xue J., et al. A comprehensive multiplex PCR based exome-sequencing assay for rapid bloodspot confirmation of inborn errors of metabolism. *BMC Med Genet*. 2019;20(1): 3.
19. Zielonka M., Kölker S., Gleich F., et al. Early prediction of phenotypic severity in citrullinemia type I. *Annals of clinical and translational neurology*. 2019;6(9): 1858-1871.
20. Faghfoury H., Baruteau J., Ogier de Baulny H., et al. Transient fulminant liver failure as an initial presentation in citrullinemia type I. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2011;102(4): 413-417.