

DOI: 10.18523/2617-4529.2026.9.41-56

УДК 575.1+577.121.7-053.31

Самоненко П. Ю.^{1,2}, Барвінська О. Ю.², Єфіменко Т. С.¹,

Ольхович Н. В.², Куцик О. Е.², Самоненко Н. В.²

¹ Національний університет «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

² Національна дитяча спеціалізована лікарня «Охматдит» (НДСЛ «Охматдит»), Київ, Україна

МЕТАБОЛІЧНИЙ ПРОФІЛЬ У СУХИХ ПЛЯМАХ КРОВІ ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ

Щороку мільйони дітей по всьому світу народжуються передчасно (до 260 днів гестації). Фізіологічна незрілість передчасно народжених дітей часто є причиною перинатальної патології, а також неонатальної та малюкової смертності. В Україні смертність у цій групі дітей вища за цей показник серед доношених новонароджених. Крім того, внаслідок фізіологічної незрілості в передчасно народжених дітей спостерігається суттєва відмінність у метаболічному профілі, що значно ускладнює діагностику захворювань, у тому числі вроджених метаболічних порушень, які досліджують у програмах неонатального скринінгу.

Метою цього дослідження було виявлення відмінностей у концентраціях деяких амінокислот, ацилкарнітинів, метилмалонової кислоти та метилцитрату в сухих плямах крові доношених новонароджених та передчасно народжених дітей різного терміну гестації. Виявлено статистично достовірну різницю в концентраціях амінокислот, ацилкарнітинів, метилмалонової кислоти та метилцитрату в зразках крові передчасно народжених дітей та доношених новонароджених за Н-критерієм Краскела – Волліса, t-критерієм Стьюдента та t-критерієм Велча. Визначено референтні інтервали концентрації метилмалонової кислоти в сухих плямах крові для передчасно народжених дітей (<36 тижнів гестації) – 0,25–1,88 мкмоль/л; референтні інтервали концентрацій метилцитрату в сухих плямах крові дуже передчасно народжених дітей (<32 тижнів гестації) і передчасно народжених дітей (32–36 тижнів гестації) – 0,07–0,43 мкмоль/л і 0,05–0,23 мкмоль/л, відповідно. Отримані результати допоможуть підвищити ефективність неонатального скринінгу спадкових метаболічних порушень для ранньої та точної діагностики спадкових порушень обміну речовин і своєчасної корекції виявленої патології в передчасно народжених дітей.

Ключові слова: амінокислоти, ацилкарнітини, метилмалонова кислота, метилцитрат, неонатальний скринінг, тандемна мас-спектрометрія.

Вступ

За фізіологічних умов діти народжуються в межах від 36 до 41 тижня гестації (від 260 до 294 днів після зачаття відповідно) [1]. Передчасно народжені діти – це новонароджені, які з тієї чи іншої причини народилися до 36 тижня гестації. Серед передчасно народжених дітей виділяють пізно недоношених дітей (у межах від 32 до 36 тижнів гестації) і дуже передчасно народжених дітей (менше ніж 32 тижні гестації).

Передчасно народжені діти мають вищий ризик смерті у ранньому віці, ніж народжені вчасно.

У США у 2020 р. передчасно народжені діти становили 10,2 % від усіх новонароджених, а смертність передчасно народжених дітей у 4,6 раза перевищувала смертність звичайних новонароджених (4,1 смерті на 1000 народжених) [2]. В Україні ж за даними на 2021 р. кількість передчасно народжених становила 5,68 %, а смертність у цій групі дітей у 9,56 раза вища

за цей показник серед доношених новонароджених (3,54 проти 0,37 на 100 новонароджених відповідно) [3].

Причиною такої високої смертності є фізіологічна незрілість усіх органів і систем та фактори, пов'язані з цим. Така незрілість призводить до низки ускладнень, які можуть, зокрема, спричинити зміни метаболічного профілю. Наприклад, недостатня постнатальна адаптація легень у передчасно народжених дітей, включно із затримкою резорбції фетальної легеневої рідини, незрілістю легеневої тканини та дефіцитом сурфактанту, асоціюється з підвищеним ризиком транзиторного тахіпноє та респіраторного дистресу; гемодинамічно значуща відкрита артеріальна протока може додатково погіршувати респіраторний стан [1,4,5].

Енергетичний обмін є одним із найважливіших факторів, що впливає на фізіологічний розвиток передчасно народжених дітей і, як наслідок, на метаболічний профіль крові. Визначено, що енергетичні потреби таких дітей є доволі низькими та відповідають потребам плода відповідного терміну гестації – 24–28 калорій на кілограм маси дитини на добу (24–28 ккал/кг/доб). На показник енергетичних потреб можуть впливати термін гестації дитини, розмір тіла та його маса, температура навколишнього середовища, надані харчові добавки тощо [6,7]. Частково витрати енергії, пов'язані з терміном гестації, можна пояснити більшою фізичною активністю дітей з більшим терміном. Проте така відмінність, імовірно, мало впливатиме на рівень метаболітів у зразках крові. Особливо важливу роль в енергетичному обміні, зокрема бета-окисненні жирних кислот, відіграють карнітин та ацилкарнітини. Результатом бета-окиснення є продукування ацетил-СоА та пропіоніл-СоА внаслідок послідовного віднімання дволанцюгових ланок карбону з ацильного ланцюга та вивільнення молекул FADH₂ та NADH, які надалі йдуть у дихальний ланцюг та забезпечують вивільнення АТФ. Цей процес відбувається в матриксі мітохондрій, проте перед цим жирні кислоти проходять через декілька перетворень. Оскільки ацил-КоА не може самостійно проникати через внутрішню мембрану мітохондрій, її транспорт здійснюється за участю карнітинової системи: утворюється ацилкарнітин, який переноситься в матрикс за допомогою карнітин-ацилкарнітинової транслокази з одночасним вивільненням карнітину в цитозоль. У матриксі ацилкарнітин знову перетворюється на ацил-КоА.

Ацилкарнітини класифікують за довжиною ланцюга та хімічною будовою. Завдяки

важливій ролі в енергетичному обміні їх широко використовують як біомаркери в неонатальному скринінгу [7-14]. Окрім можливих відхилень від норми в результаті вродженого захворювання, концентрації ацилкарнітинів можуть залежати від маси дитини та терміну гестації. Припускають, що концентрація карнітину в крові передчасно народжених дітей може бути заниженою через ненадходження карнітину від матері та низький рівень γ -бутиробетайнгідроксилази, що бере участь у синтезі карнітину [8].

Катаболізм тирозину є ще одним метаболічним шляхом, що в передчасно народжених дітей є незрілим. Вважається, що в передчасно народжених дітей у клітинах, де відбувається метаболізм тирозину, активність ферментів тирозинамінотрансферази та оксидази *p*-гідроксифенілпірвіноградної кислоти знижена. Це призводить до більш частого виникнення транзиторної тирозинемії в таких дітей, яка на фоні дозрівання дитини та підвищення активності зазначених ферментів приходить у норму [15].

Неонатальний скринінг – сукупність методів діагностики метаболічних та ендокринних захворювань у новонароджених дітей з метою початку раннього лікування. Згідно з наказом Міністерства охорони здоров'я України від 01.10.2021 № 2142 «Про забезпечення розширеного неонатального скринінгу в Україні», до державної програми розширеного неонатального скринінгу було внесено 21 захворювання, 15 з яких є спадковими хворобами обміну речовин, включно з глутаровою ацидурією I та II типів, метилмалонною та пропіоною ацидурією [16]. Кожне з цих захворювань є небезпечним для новонародженої дитини. Через метаболічну незрілість ризик розвитку цих захворювань для передчасно народжених дітей може бути більшим, ніж для доношених. І невчасний початок лікування може бути фатальним. Проте визначення наявності вроджених захворювань у новонароджених безпосередньо залежить від правильно визначених референтних інтервалів концентрацій головних метаболітів – амінокислот та ацилкарнітинів. Використання референтних інтервалів, сформованих для новонароджених із терміном гестації понад 36 тижнів, є нерелевантним для передчасно народжених дітей через вказані вище їхні фізіологічні особливості.

Мета цього дослідження – визначити референтні інтервали метилмалонної кислоти та метилцитрату, з'ясувати, чи є різниця між метаболічними профілями ключових для скринінгу метаболітів у сухих плямах крові доношених і недоношених новонароджених.

Матеріали та методи

Дослідження охопило деперсонфіковані дані обстеження 105 новонароджених (за згодою батьків), сухі плями крові яких надійшли до лабораторії медичної генетики Центру генетичної діагностики та клітинної імунотерапії ДНП «НДСЛ “Охматдит” МОЗ України» для проведення неонатального скринінгу. Було сформовано три групи: група дуже передчасно народжених дітей (<32 тижнів гестації, 34 дитини), передчасно народжені діти (32–36 тижнів гестації, 34 дитини), група контролю (>36 тижнів гестації, 38 дітей). Групи також було диференційовано за таким показником, як вага дитини при народженні (табл. 1).

Відповідно до Порядку проведення неонатального скринінгу, затвердженого наказом МОЗ України № 2142 від 01.10.2021, забір сухих плям крові відбувається через 48–72 години після народження дитини. У випадку передчасно народжених дітей забір проводять після досягнення дитиною постконцепційного віку 32 тижня гестації. Для дослідження відбирали лише ті зразки, що зберігалися за відповідної температури (4–8 °C). Для проведення вимірювання концентрації ацилкарнітинів та амінокислот використовували метод FIA-MS-MS із внутрішнім стандартом, який попередньо реконституювали за допомогою екстракційного буфера (Chromsystems, Germany). Для екстракції метаболітів використовували по одному диску крові (діаметр 3,2 мм) на зразок. Для контролю використовували по одному сухому диску крові контролів Amino Acid, Acylcarnitines Dried Blood Spot Control Level 1 та 2 (Chromsystems, Germany) відповідно. Екстракцію здійснено згідно з інструкцією виробника. Для визначення концентрації метаболітів у зразках застосовували систему Renata DX Waters (складається з тандемного мас-спектрометра Waters XEVO TQD IVD, Binary Solvent Manager IVD та 3777C Sample Manager IVD). Для проведення вимірювань концентрації метилмалонової кислоти та метилцитрату використовували тандемний мас-спектрометр Xevo TQ-S micro IVD із розділенням зразка за допомогою рідинної хроматографії під високим тиском Acquity UPLC I-clas. Як

екстракційний буфер застосовували суміш метанолу та води у співвідношенні 1 : 1 з додаванням 1 мл внутрішнього стандарту (Метилмалонова кислота-D3 (98 %), Cambridge Isotope Laboratories) та 0,5 мкл мурашиної кислоти. Як мобільні фази використовували: А (0,4 % водний розчин мурашиної кислоти) та Б (суміш 1 : 1 метанолу та ацетонітрилу). Для екстракції застосовували по два сухі диски крові (3,2 мм) на лунку 7 калібраторів, двох контролів, та зразків із додаванням 120 мкл екстракційного буфера та 10 мкл 50 мМ ZnSO₄•7H₂O. Кінцеві проби аналізували в режимі MRM на тандемному мас-спектрометрі. Результати вимірювань аналізували в програмі MassLynx для виявлення піка на хроматограмі, що відповідає цільовому метаболіту. Для дослідження різниці концентрацій цільових метаболітів між групами новонароджених порівнювали групи А і Б між собою, а також із контролем. Попередньо кожен знак у кожній групі перевіряли на нормальний розподіл методом Шапіро – Вілка за допомогою програми MedCalc. Для порівняння ознак, що не мали нормального розподілу хоча б в одній з груп, застосовували непараметричний тест Краскела – Волліса за допомогою програми PSPP. У разі нормального розподілу ознак в обох порівнюваних групах було використано метод Т-критерію, перед використанням якого проводили аналіз груп на рівність дисперсій методом Лівнінга, нульова гіпотеза якої стверджує, що дисперсії в обох групах рівні. У разі, якщо цей аналіз показував рівень значущості >0,05, застосовували t-критерій Стюдента, якщо <0,05 – t-критерій Велча. Для дослідження коефіцієнта кореляції між метаболітами в межах груп застосовували коефіцієнт Спірмена в програмі MedCalc. Для груп недоношених дітей визначили референтні рівні метилцитрату та метилмалонової кислоти (2,5 % перцентиль для нижнього значення та 97,5 % перцентиль для верхнього значення) [17].

Результати та обговорення

У результаті проведення дослідження опрацьовано 105 зразків (68 зразків передчасно народжених дітей, 37 – контролю). Визначено концентрації таких амінокислот: аланін (ala),

Таблиця 1

Характеристика груп новонароджених, охоплених дослідженням

Група	Кількість дітей	Термін гестації, тижні	Маса тіла при народженні, г	Вік у днях
Дуже недоношені діти (група А)	34	<32	640–2320	2–68
Недоношені діти (група Б)	34	32–36	1465–3260	1–18
Контроль	37	>36	2500–4280	~2

аспарагінова кислота (aspartic acid), цитрулін (cit), гліцин (gly), глутамін (gln), глутамат (glu) лейцин (leu), орнітин (orn), фенілаланін (phe), пролін (pro), триптофан (trp), тирозин (tyr), валін (val), аргінін (arg), метіонін (met). Виміряно концентрацію метилмалонової кислоти (ММА), метилцитрату (МСА) та ряду ацилкарнітинів, а саме: C0, C2, C3, C3DC, C4, C4DC, C4OH, C5, C5:1, C5DC, C5OH, C6, C6DC, C8, C8:1, C10, C10:1, C10:2, C12, C12:1, C14, C14:1, C14:2, C14OH, C16, C16:1, C16:1OH, C16:2, C16OH, C18, C18:1, C18:1OH, C18:2, C18:2OH, C18OH. Для проведення статистичного аналізу отриманих результатів спочатку проаналізовано кожну з досліджуваних груп на нормальність розподілу за допомогою статистичного критерію Шапіро – Вілка для кожного зазначеного вище метаболіту. Під час перевірки на нормальність розподілу виявлено, що більшість метаболітів розподіляється ненормально. Проте частина метаболітів розподіляється як нормально, так і ненормально в різних групах. У групах А та Б кількість метаболітів, які відповідають нормальному розподілу, дорівнювала 14 та 18 відповідно. У групі контролю кількість цього типу розподілу дорівнювала 27. Після цього було проведено порівняння груп А та Б та обох груп окремо з групою контролю за Н-критерієм Краскела – Волліса. Визначено, що статистично значуща відмінність ($p < 0,05$) між групами спостерігається майже за всіма метаболітами, окрім гліцину, фенілаланіну, валіну, C3, C4, C10:1, C14:2 та C18:2OH (табл. 2). Отримані результати лише частково збігаються з результатами досліджень Мандоура та Мейбурга [11,18]. На відміну від нашого дослідження, у дослідженні Мандоура та ін. не виявлено різниці між доношеними та недоношеними дітьми за такими метаболітами, як C5, C6DC, C10, C14OH, C16OH та C18, проте спостерігалась різниця за аланіном, цитруліном, фенілаланіном, C0, C3, C4, C6 та C14 [11]. У дослідженні Мейбурга, на відміну від нашого дослідження, не виявлено різниці між групами недоношених дітей (32–36 тижнів гестації) та доношеними дітьми за такими ацилкарнітинами, як C2, C10, C12, C14:1, C14OH, C16, C16:1, C16OH, C18 та C18:1, проте була різниця за C0, C4, C6, C8, C8:1 та C10:1 [18]. Також у дослідженні Мейбурга, на відміну від нашого дослідження, не виявлено різниці між групами А (22–31 тиждень гестації) та контролю за такими ацилкарнітинами, як C8, C8:1, C10, C12, C14, C14OH, C16, C16:1OH, C16OH, C18, C18:1 та C18:1OH [18]. За результатами нашого дослідження, в групах недоношених дітей

концентрація ацилкарнітинів нижча, ніж у групі контролю, за винятком C0, C5, C6, C8 та C8:1. Закордонні ж дослідники отримали протилежні результати: ці концентрації вищі, ніж у доношених дітей [11,18]. Загалом наші результати вказують на те, що недоношені діти сильно відрізняються в метаболічному профілі ацилкарнітинів від доношених. Це можна пояснити парентеральним харчуванням недоношених новонароджених та метаболізмом загалом [7,19]. Також спостерігалася вища концентрація тирозину в групі Б як у порівнянні з групою А, так і з групою контролю. При цьому різниці між рівнем тирозину в сухих плямах крові між групою контролю та групою А не виявлено. Отримані результати можна пояснити фізіологічними особливостями недоношених дітей: у них у клітинах, де відбувається метаболізм тирозину, активність ферменту тирозинамінотрансферази знижена. Дослідження показують, що такі концентрації є транзиторними [15]. Порівняння концентрацій метилмалонової кислоти та метилцитрату між групами за допомогою Н-критерію Краскела – Волліса показало, що між групами А та Б немає статистично достовірної різниці в концентрації метилмалонової кислоти ($p = 0,241$), а також немає різниці в концентраціях між групою Б та групою контролю ($p = 0,277$).

Статистично достовірну різницю рівня метилмалонової кислоти в сухих плямах крові виявлено між групою контролю та групою А ($p = 0,021$) (табл. 2, рис. 1). Також визначено, що концентрація метилцитрату відрізняється між групами недоношених дітей ($p < 0,001$), між групами А та контролю ($p < 0,001$), між групами Б та контролю ($p < 0,001$) (табл. 2, рис. 2). Отримані результати можуть вказувати на те, що дійсні референтні інтервали можуть бути невалідними для аналізу дітей з раннім терміном гестації. Відповідно визначено референтні значення цих метаболітів для груп передчасно народжених дітей. Оскільки достовірної різниці між обома групами недоношених дітей не знайдено, референтне значення концентрації метилмалонової кислоти формувалось для обох груп, а саме 0,25–1,88 мкмоль/л. Оскільки за концентрацією метилцитрату є достовірні різниця між групами недоношених дітей, для обох визначено різні референтні групи Б – 0,05–0,23 мкмоль/л. Проте через малу вибірку отримані нові референтні значення також потребують перевірки. Для аналізу змін метаболічного профілю амінокислот та ацилкарнітинів у різних досліджуваних групах використано коефіцієнт Спірмена та побудовано корелограми. У результаті проведеної роботи виявлено вищі рівні

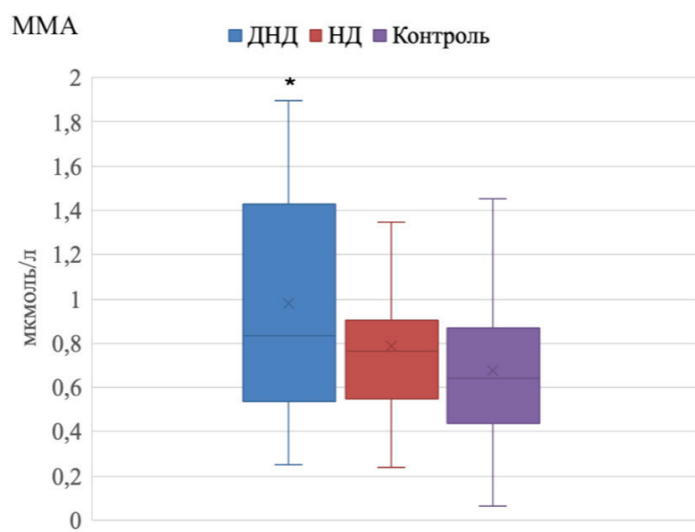


Рис. 1. Діаграма розкиду значень метилмалонової кислоти в сухих плямах крові дуже недоношених дітей (ДНД), недоношених дітей (НД) та контролю; * $p < 0,05$

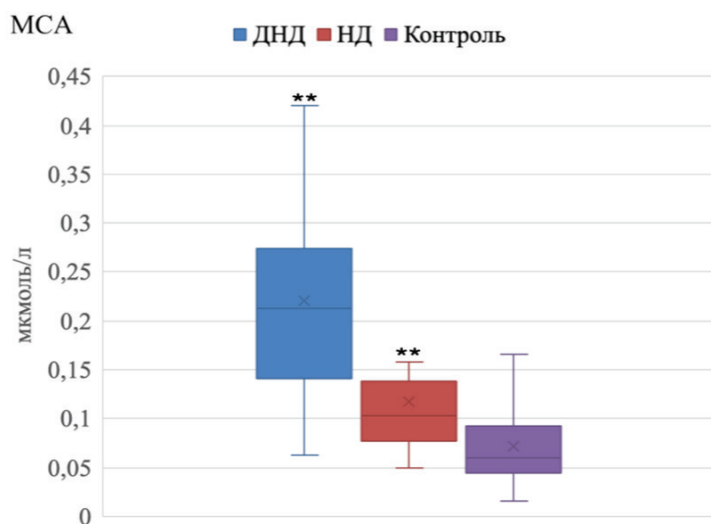


Рис. 2. Діаграма розкиду значень метилцитрату в сухих плямах крові дуже недоношених дітей (ДНД), недоношених дітей (НД) та контролю; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$

коефіцієнтів кореляції між рівнем ацилкарнітинів у групах А та Б порівняно з групою контролю.

Можна вказати на різницю в коефіцієнтах кореляції рівнів ацилкарнітинів у групі А порівняно з групою Б та контролем. Спостерігався вищий рівень статистично достовірних позитивних кореляцій С0 з рядом інших ацилкарнітинів (С2, С3, С3DC, С4ОН, С5DC та ін.), чого не спостерігається в інших групах (рис. 3–5). Це можна пояснити тим, що забір крові в групі А проводять не раніше, ніж у постконцепційному віці 32 тижні. Формула парентерального харчування цих новонароджених зазвичай містить карнітин (С0), що й призводить як до підвищення його

концентрації в плазмі крові, так і до збільшення коефіцієнта кореляцій Спірмена між карнітином та іншими ацилкарнітинами [6]. Окремо варто наголосити на значній кількості негативних кореляцій у групі Б, зокрема негативній кореляції карнітину та довголанцюгових ацилкарнітинів. Негативні кореляції довголанцюгових ацилкарнітинів з С0 у групі Б можна пояснити кетозом та підвищеним рівнем метаболізму жирних кислот у новонароджених, перехід до якого відбувається одразу після народження [20]. Підвищений рівень жирних кислот призводить до більш активного їх окиснення та, відповідно, продукування довголанцюгових ацилкарнітинів зі зменшенням

Результати статистичних порівнянь рівня метаболітів у сухих плямах крові між групами дуже недоношених дітей, недоношених дітей та контролю

Метаболіт	Порівняння		
	Дуже недоношені діти – недоношені діти (асимптотичне значення p)	Дуже недоношені діти – контроль (асимптотичне значення p)	Недоношені діти – контроль (асимптотичне значення p)
Ala	p = 0,387	p = 0,019	p = 0,167
Aspartic Acid	p = 0,001	p < 0,001	p = 0,240
Cit	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,604
Gln	p = 0,009	p < 0,001	p = 0,135
Glu	p < 0,001	p < 0,001*	p = 0,401
Gly	p = 0,462	p = 0,468	p = 0,696
Leu	p = 0,015	p < 0,001	p = 0,040
Orn	p = 0,012	p = 0,147	p = 0,147
Phe	p = 0,722	p = 0,441	p = 0,982
Pro	p = 0,181	p = 0,011	p = 0,111
Trp	рівень значущості = 0,049*	рівень значущості = 0,015**	p = 0,811**
Tyr	p = 0,001	p = 0,351	p = 0,004
Val	p = 0,206	p = 0,130	p = 0,991
Arg	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,284
Met	p = 0,315	p = 0,001	p = 0,001
C0	p = 0,042	p = 0,007	p = 0,372
C2	p = 0,980	p = 0,073	p < 0,001
C3	p = 0,961	p = 0,306	p = 0,454
C3DC	p = 0,532	p = 0,001	p < 0,001
C4	p = 0,713	p = 0,818	p = 0,945
C4DC	p = 0,001	p = 0,927	p < 0,001**
C4OH	p = 0,932	p < 0,001	p < 0,001
C5	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,007
C5:1	p = 0,003	рівень значущості = 0,008**	p = 0,305
C5DC	рівень значущості = 0,870*	рівень значущості < 0,011*	p = 0,010*
C5OH	p = 0,004	p = 0,743	p < 0,001**
C6	p = 0,001	p = 0,007	p = 0,287
C6DC	p = 0,403	p = 0,010	p = 0,002*
C8	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,666
C8:1	p = 0,014	p = 0,001	p = 0,160
C10	p = 0,508	p = 0,041	p = 0,002
C10:1	p = 0,745	p = 0,096	p = 0,119
C10:2	p = 0,039	p = 0,410	p = 0,008
C12	p = 0,020	p < 0,001	p = 0,002
C12:1	p = 0,005	p < 0,001	p < 0,001
C14	p = 0,002	p < 0,001	p = 0,207*
C14:1	p = 0,002	p < 0,001	p < 0,001
C14:2	p = 0,740	p = 0,103	p < 0,069*
C14OH	p = 0,636	p = 0,003	p = 0,001
C16	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001*
C16:1	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001*
C16:1OH	p = 0,024	рівень значущості < 0,035**	p = 0,515
C16:2	p = 0,257	p = 0,785	p = 0,038
C16OH	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001
C18	p < 0,001	p < 0,001	p = 0,020*
C18:1	p = 0,006	p < 0,001	p = 0,021*
C18:1OH	p = 0,002	p < 0,001	p < 0,001*
C18:2	p = 0,138	p = 0,001	p = 0,001**
C18:2OH	p = 0,883	p = 0,474	p = 0,720
C18OH	p < 0,001	рівень значущості < 0,001**	p < 0,001
MMA	p = 0,241	p = 0,021	p = 0,277
MCA	p < 0,001	p < 0,001	p < 0,001

* порівняння за t-критерієм Стьюдента.

** порівняння за t-критерієм Велча; зелений – статистично значуща різниця.

концентрації вільного карнітину (C0), у тому числі через дефіцит ферменту γ -бутиробетайн-гідроксилази, що може спостерігатися в передчасно народжених дітей [8]. Порівнюючи корелограми рівнів амінокислот у різних групах новонароджених, можна помітити, що обидві досліджувані групи передчасно народжених дітей відрізняються від групи контролю. Загалом в обох груп порівняно з контролем спостерігається підвищення рівнів позитивних кореляцій ряду метаболітів, як-от аланін, валін, лейцин та метіонін, з усіма іншими метаболітами. Також значення коефіцієнта Спірмена є більшим у групі А порівняно з групою контролю (рис. 6 та 8). Подібне підвищення коефіцієнтів кореляцій Спірмена в групах недоношених дітей можна пояснити парентеральним типом харчування або фізіологічною особливістю недоношених дітей. Порівняння корелограм груп передчасно народжених дітей між собою показало подібність рівнів позитивних кореляцій, передовсім тих, що відрізнялись в обох групах від контролю (рис. 6 та 7). Проте показано, що рівні кореляції валіну з лейцином, метіоніном, глутаміном, аргініном, орнітином та глутаматом є вищими в групі А порівняно з групою Б. Група Б має вищі рівні кореляції валіну з гліцином, тирозином, аспаратом, метилцитратом та триптофаном порівняно з групою А.

Висновки

Отримані результати порівняння метаболічного профілю груп недоношених дітей між собою та групою контролю показують, що лише за деякими метаболітами немає різниці

між доношеними та недоношеними дітьми. До таких метаболітів належать такі амінокислоти, як гліцин, фенілаланін і валін, та ацилкарнітини C3, C4, C10:1, C14:2, C18:2ОН. Такі результати є очікуваними з огляду на значні фізіологічні відмінності між цими групами і підтверджують нашу позицію, що передчасно народжені діти потребують окремо встановлених референтних значень. Проте варто зазначити, що група недоношених дітей із терміном гестації 32–36 тижнів не відрізняється від доношених дітей, на відміну від дуже недоношених дітей, за концентрацією амінокислот, за винятком метіоніну, тирозину та лейцину. Це очікувано, оскільки ця група ближча за терміном гестації до вчасно народжених. У роботі визначено референтні інтервали концентрацій метилмалонової кислоти та метилцитрату для груп передчасно народжених дітей.

Виявлено статистично достовірну негативну кореляцію карнітину (C0) з довголанцюговими ацилкарнітинами (C12, C12:1, C14:1, C16ОН) у групі недоношених новонароджених (32–36 тижнів). Ці результати підтверджують дані щодо впливу на ці метаболіти зниженої внаслідок фізіологічної незрілості концентрації ферменту γ -бутиробетайн-гідроксилази [8]. Окрім цього, наші дані опосередковано підтверджують знижений рівень тирозинамінотрансферази в народжених дітей. Можна припустити, що це не єдині ферменти, дефіцит яких можна спостерігати в цієї групи новонароджених. Отже, для ширшого розуміння метаболічних відмінностей передчасно народжених дітей потрібні подальші дослідження.

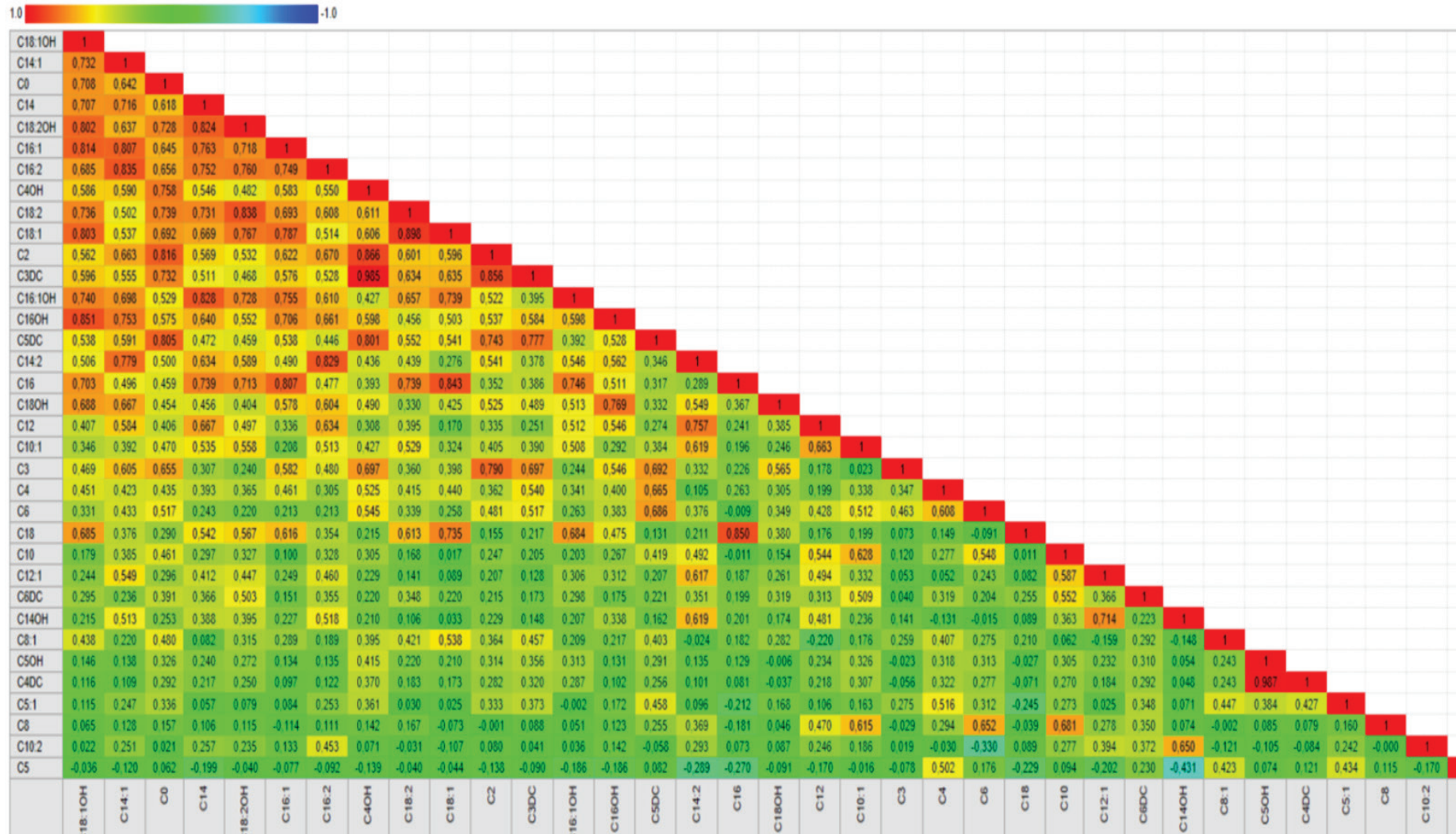


Рис. 3. Рівні кореляцій між ацилкарнітинами групи дуже недоношених дітей; 1 – позитивна лінійна кореляція; -1 – негативна лінійна кореляція

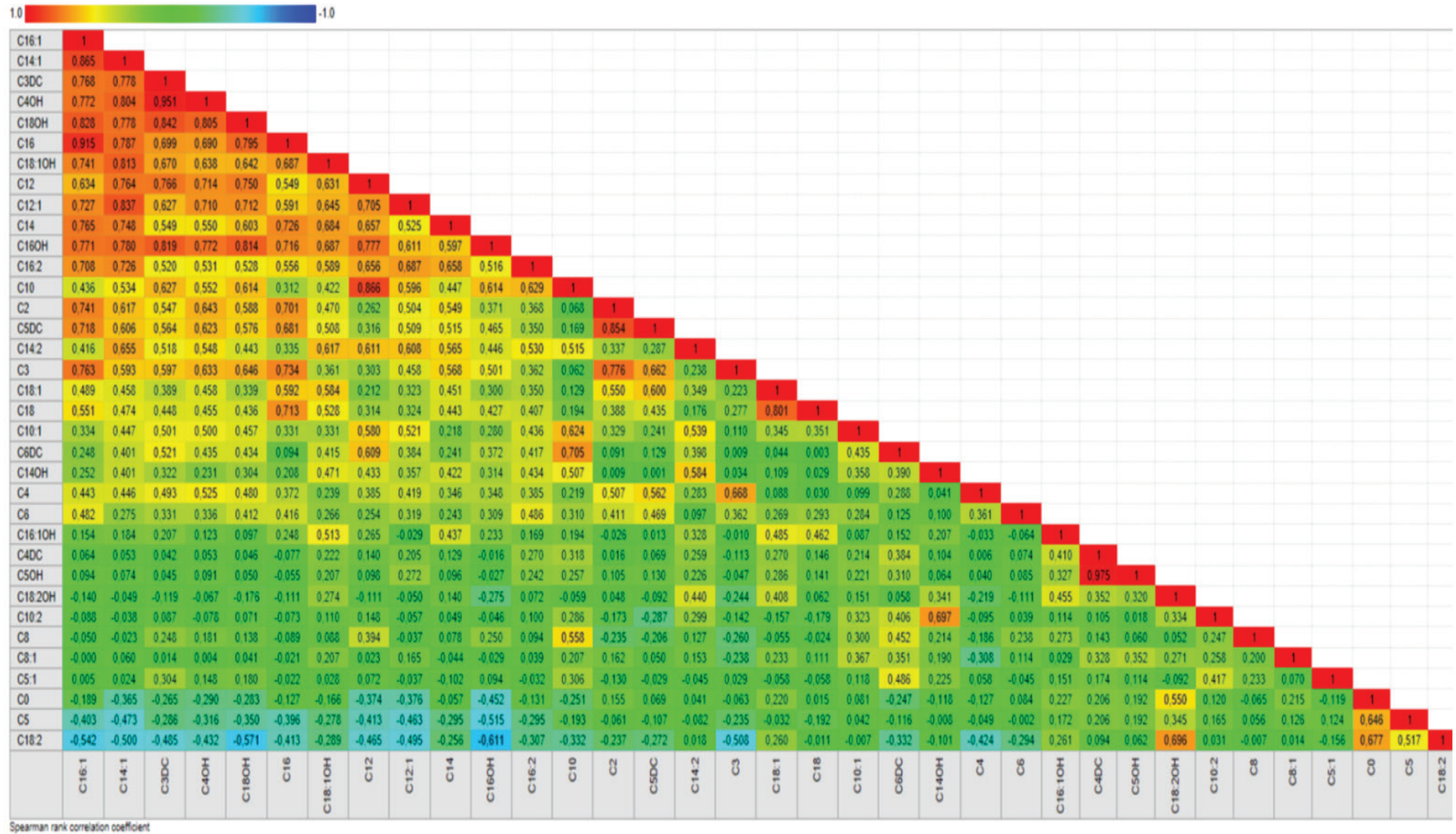


Рис. 4. Рівні кореляції між ацилкарнітинами групи недоношених дітей; 1 – позитивна лінійна кореляція; -1 – негативна лінійна кореляція

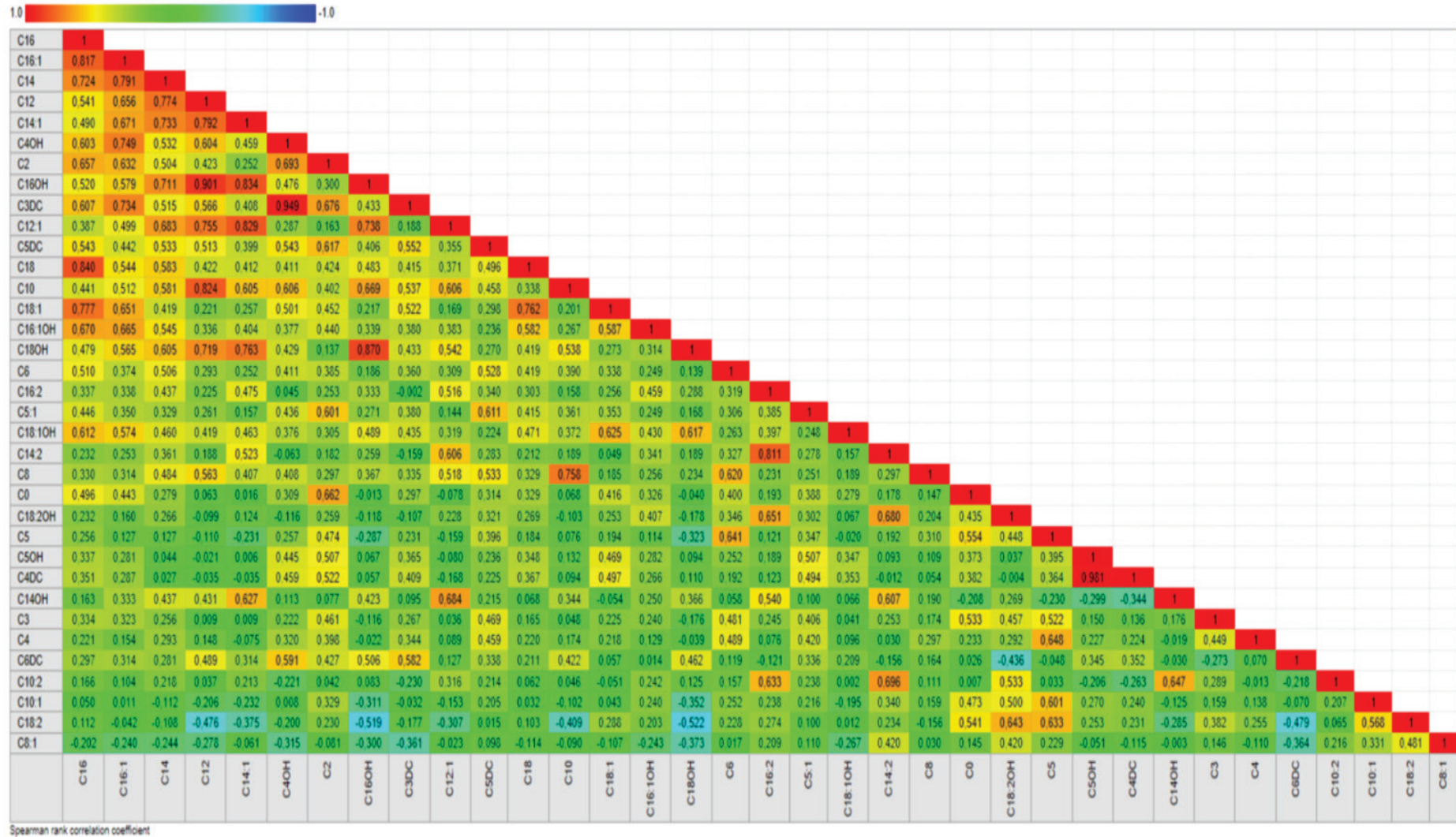


Рис. 5. Рівні кореляцій між ацилкарнітинами групи контролю; 1 – позитивна лінійна кореляція; -1 – негативна лінійна кореляція

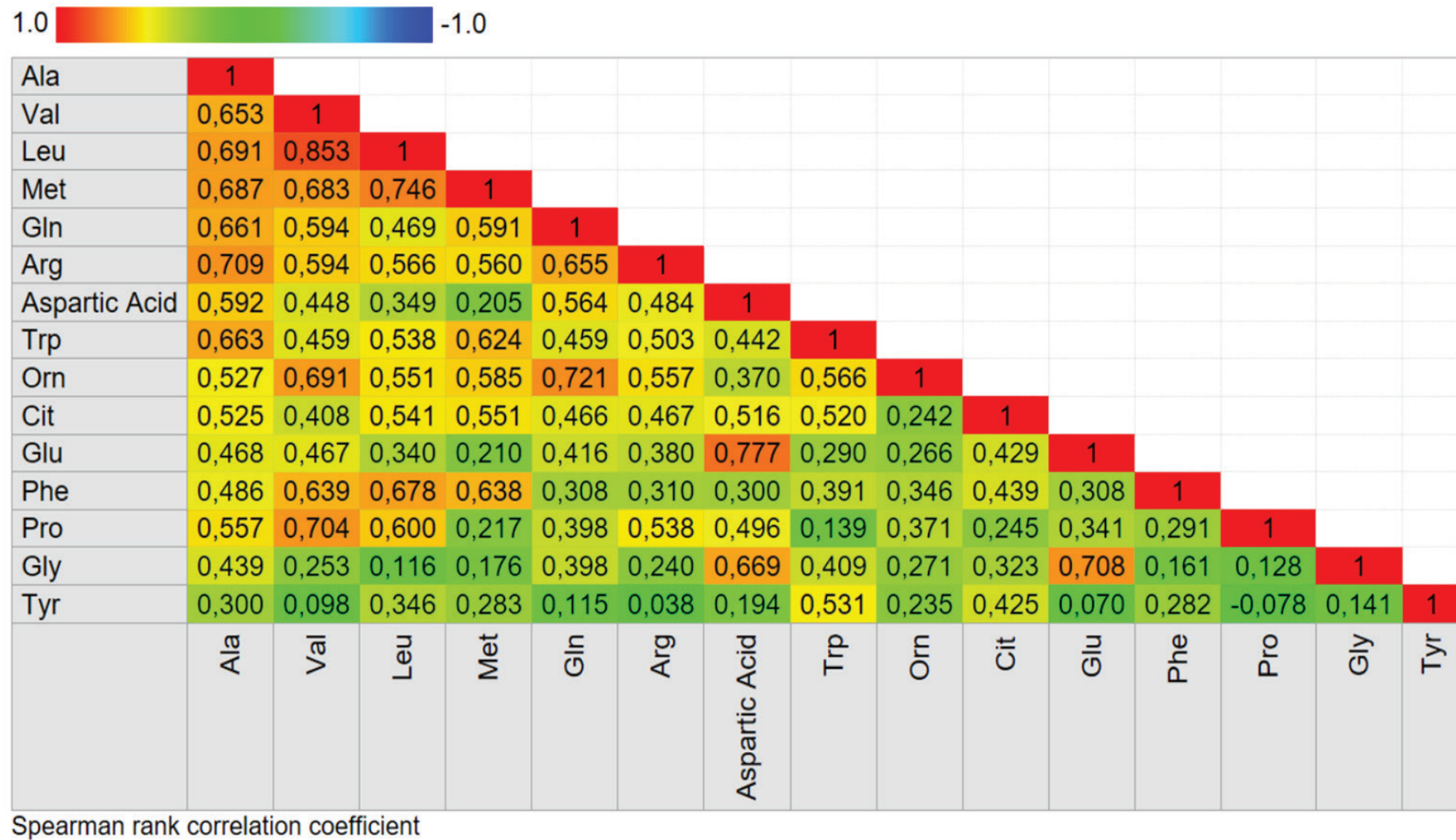


Рис. 6. Рівні кореляцій між амінокислотами групи дуже недоношених дітей; 1 – позитивна лінійна кореляція; -1 – негативна лінійна кореляція



Ala	1														
Val	0,631	1													
Met	0,689	0,552	1												
Pro	0,792	0,736	0,516	1											
Aspartic Acid	0,704	0,669	0,603	0,506	1										
Cit	0,487	0,625	0,677	0,431	0,579	1									
Trp	0,493	0,560	0,631	0,413	0,451	0,734	1								
Gly	0,730	0,549	0,496	0,651	0,634	0,388	0,245	1							
Leu	0,661	0,638	0,610	0,619	0,519	0,446	0,554	0,421	1						
Phe	0,436	0,595	0,404	0,286	0,600	0,511	0,378	0,528	0,234	1					
Tyr	0,386	0,487	0,485	0,498	0,222	0,448	0,499	0,304	0,195	0,237	1				
Om	0,295	0,413	0,364	0,381	0,303	0,524	0,617	0,054	0,228	-0,014	0,523	1			
Arg	0,423	0,431	0,447	0,527	0,256	0,294	0,354	0,239	0,548	0,159	0,261	0,140	1		
Gln	0,335	0,075	0,281	0,254	0,321	0,309	0,047	0,486	-0,106	0,080	0,215	0,308	-0,174	1	
Glu	0,417	0,135	0,269	0,200	0,491	0,246	0,115	0,359	0,240	0,178	-0,029	0,049	-0,197	0,301	1
	Ala	Val	Met	Pro	Aspartic Acid	Cit	Trp	Gly	Leu	Phe	Tyr	Om	Arg	Gln	Glu

Spearman rank correlation coefficient

Рис. 7. Рівні кореляції між амінокислотами групи недоношених дітей; 1 – позитивна лінійна кореляція; -1 – негативна лінійна кореляція



Leu	1														
Ala	0,580	1													
Val	0,777	0,460	1												
Pro	0,558	0,570	0,447	1											
Phe	0,615	0,417	0,374	0,321	1										
Gly	0,392	0,602	0,306	0,343	0,391	1									
Aspartic Acid	0,355	0,588	0,394	0,484	0,151	0,421	1								
Met	0,473	0,463	0,304	0,473	0,783	0,307	0,210	1							
Cit	0,312	0,409	0,547	0,360	0,098	0,451	0,523	0,221	1						
Trp	0,553	0,483	0,613	0,276	0,083	0,208	0,421	0,019	0,506	1					
Glu	0,123	0,427	0,179	0,468	0,142	0,480	0,466	0,170	0,312	0,105	1				
Tyr	0,299	0,085	0,267	0,263	0,264	0,170	0,029	0,195	-0,018	0,022	-0,042	1			
Arg	0,209	0,135	0,109	0,048	0,406	0,276	0,062	0,338	0,021	-0,312	0,016	0,290	1		
Orn	-0,076	-0,136	0,194	-0,166	0,091	0,018	-0,015	0,044	0,142	-0,007	0,033	0,218	0,343	1	
Gln	-0,014	0,101	0,084	0,236	0,009	0,267	-0,131	0,064	0,257	0,167	0,251	-0,061	-0,331	0,089	1
	Leu	Ala	Val	Pro	Phe	Gly	Aspartic Acid	Met	Cit	Trp	Glu	Tyr	Arg	Orn	Gln

Spearman rank correlation coefficient

Рис. 8. Рівні кореляцій між амінокислотами групи контролю; 1 – позитивна лінійна кореляція; -1 – негативна лінійна кореляція

References

- Adamkin DH. Late preterm infants: severe hyperbilirubinemia and postnatal glucose homeostasis. *J Perinatol* 2009;29 Suppl 2(S2):S12-7. doi: 10.1038/jp.2009.41
- Zierden HC, Shapiro RL, DeLong K, Carter DM, Ensign LM. Next generation strategies for preventing preterm birth. *Adv Drug Deliv Rev* 2021;174:190-209. doi: 10.1016/j.addr.2021.04.021
- Volosovets OP, Abaturov AE, Beketova GV, Zabolotko VM, Rudenko NG, Kryvopustov SP, et al. Birth rate, perinatal mortality and infant mortality in Ukraine: evolution from 1991 to 2021 and current risks. *Child's Health*. 2023 Jan 4;17(7):315-25. doi: 10.22141/2224-0551.17.7.2022.1535
- Engle WA, Tomashek KM, Wallman C, Committee on Fetus and Newborn, American Academy of Pediatrics. "Late-preterm" infants: a population at risk. *Pediatrics* 2007;120(6):1390-401. doi: 10.1542/peds.2007-2952
- Raju TNK, Higgins RD, Stark AR, Leveno KJ. Optimizing care and outcome for late-preterm (near-term) infants: a summary of the workshop sponsored by the National Institute of Child Health and Human Development. *Pediatrics* 2006;118(3):1207-14. doi: 10.1542/peds.2006-0018
- Hay WW Jr, Brown LD, Denne SC. Energy requirements, protein-energy metabolism and balance, and carbohydrates in preterm infants. *World Rev Nutr Diet* 2014;110:64-81. doi: 10.1159/000358459
- Thomas N. Nutritional care of preterm infants: Scientific basis and practical guidelines. *Indian J Med Res* 2016;143(4):531. doi: 10.4103/0971-5916.184296
- Longo N, Frigeni M, Pasquali M. Carnitine transport and fatty acid oxidation. *Biochim Biophys Acta* 2016;1863(10):2422-35. doi: 10.1016/j.bbamcr.2016.01.023
- Gucciardi A, Zaramella P, Costa I, Pirillo P, Nardo D, Naturale M, et al. Analysis and interpretation of acylcarnitine profiles in dried blood spot and plasma of preterm and full-term newborns. *Pediatr Res* 2015;77(1-1):36-47. doi: 10.1038/pr.2014.142
- Dambrova M, Makrecka-Kuka M, Kuka J, Vilskersts R, Nordberg D, Attwood MM, et al. Acylcarnitines: Nomenclature, biomarkers, therapeutic potential, drug targets, and clinical trials. *Pharmacol Rev* 2022;74(3):506-51. doi: 10.1124/pharmrev.121.000408
- Mandour I, El Gayar D, Amin M, Farid TM, Ali AA. Amino acid and acylcarnitine profiles in premature neonates: a pilot study. *Indian J Pediatr* 2013;80(9):736-44. doi: 10.1007/s12098-013-0980-4
- Harms E, Olgemöller B. Neonatal screening for metabolic and endocrine disorders. *Dtsch Arztebl Int* 2011;108(1-2):11-21; quiz 22. doi: 10.3238/arztebl.2011.0011
- Messina M, Arena A, Fiumara A, Iacobacci R, Meli C, Raudino F. Neonatal screening on tandem mass spectrometry as a powerful tool for the reassessment of the prevalence of underestimated diseases in newborns and their family members: A focus on short chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Int J Neonatal Screen* 2020;6(3):58. doi: 10.3390/ijns6030058
- Badiu Tişa I, Achim AC, Cozma-Petruţ A. The importance of neonatal screening for galactosemia. *Nutrients* 2022;15(1):10. doi: 10.3390/nu15010010
- Klein CJ. Nutrient requirements for preterm infant formulas. *J Nutr* 2002;132(6 Suppl 1):1395S-577S. doi: 10.1093/jn/132.6.1395S
- Znamenska TK, Holota TV. State of diagnostic markers of inherited metabolic diseases in newborn: analysis of previous results of neonatal screening in Ukraine. *Modern pediatrics Ukraine*. 2023 Nov 28;7(135):16-22. doi: 10.15574/SP.2023.135.16
- Solberg HE, Gräsbeck R. Reference values. *Adv Clin Chem*. 1989;27:1-79. doi: 10.1016/s0065-2423(08)60181-x
- Meyburg J, Schulze A, Kohlmüller D, Pöschl J, Linderkamp O, Hoffmann GF, et al. Acylcarnitine profiles of preterm infants over the first four weeks of life. *Pediatr Res*. 2002;52(5):720-3. doi: 10.1203/00006450-200211000-00018
- Thoene M, Anderson-Berry A. Early enteral feeding in preterm infants: A narrative review of the nutritional, metabolic, and developmental benefits. *Nutrients* 2021;13(7):2289. doi: 10.3390/nu13072289
- Ward Platt M, Deshpande S. Metabolic adaptation at birth. *Semin Fetal Neonatal Med*. 2005;10(4):341-50. doi: 10.1016/j.siny.2005.04.001

P. Samonenko^{1,2}, O. Barvinska², T. Yefimenko¹,

N. Olhovich², O. Kutsyk², N. Samonenko²

¹National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

²National Specialized Children's Hospital "OKHMATDYT" (NSCH "OHMATDYT"), Kyiv, Ukraine

METABOLIC PROFILE IN DRIED BLOOD SPOTS OF PREMATURE INFANTS

Abstract

Premature infants are newborns born before 260 days' gestation. Every year, millions of children around the world are born prematurely. In 2020, in the United States, the number of premature infants was 10.2% of all newborns. In Ukraine, as of 2021, this number was 5.68%. The physiological immaturity of premature children is often the cause of perinatal pathology, as well as neonatal and infant mortality. Thus, in Ukraine, the mortality rate in this group of children was 9.56 times higher than that among full-term newborns (3.54 versus 0.37 per 100 newborns, respectively). In addition, due to physiological immaturity, premature infants have a significant difference in metabolic profile, which significantly complicates the diagnosis of diseases, including congenital metabolic disorders, during neonatal screening. The aim of this study was to identify differences in the concentrations of some amino acids, acylcarnitines, methylmalonic acid and methylcitrate in dried blood spots of full-term newborns and premature infants of different gestational ages. A statistically significant difference was found in the concentrations of amino acids, acylcarnitines, methylmalonic acid and methylcitrate in blood samples of premature infants and full-term newborns according to the Kruskal – Wallis H-test, Student's t-test and

Welch's t-test. Reference intervals for methylmalonic acid concentrations in dried blood spots for premature infants (<36 weeks of gestation) were determined – 0.25–1.88 $\mu\text{mol/L}$. Reference intervals for methylcitrate concentrations in dried blood spots for very premature infants (<32 weeks of gestation) and premature infants (32–36 weeks of gestation) were determined – 0.07–0.43 $\mu\text{mol/L}$ and 0.05–0.23 $\mu\text{mol/L}$, respectively. The results obtained will allow increasing the efficiency of neonatal screening for hereditary metabolic disorders for the purpose of early and accurate diagnosis of hereditary metabolic disorders and timely correction of the identified pathology in premature infants.

Keywords: amino acids, acylcarnitines, methylmalonic acid, methylcitrate, neonatal screening, tandem mass spectrometry.

Submitted 09.03.2026

Accepted 19.03.2026

Published 28.05.2026

Відомості про авторів Authors Information

Самоненко Павло Юрійович – студент магістерської програми «Молекулярна біологія» кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Pavel Samonenko – student of the Master's program in "Molecular Biology" at the Department of Biology, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0009-0004-1574-9978>

pavlo.samonenko@ukma.edu.ua

Барвінська Оксана Юрійівна – кандидат біологічних наук, завідувачка відділу неонатального скринінгу лабораторії медичної генетики Центру генетичної діагностики та клітинної імунотерапії ДНП «Національна дитяча спеціалізована лікарня "Охматдит" МОЗ України», Київ, Україна

Oksana Barvinska – PhD, Head of the Neonatal Screening Department of the Medical Genetics Laboratory of the Center for Genetic Diagnostics and Cellular Immunotherapy, State Non-Profit Enterprise "National Children's Specialized Hospital OKHMATDYT of the Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0003-4076-7575>

oiaminska@gmail.com

Єфіменко Тетяна Сергіївна – кандидат біологічних наук, старший викладач кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Tetiana Yefimenko – PhD, Senior Lecturer at the Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-7814-7588>

t.yefimenko@ukma.edu.ua

Ольхович Наталія Вікторівна – доктор біологічних наук, завідувачка Центру генетичної діагностики та клітинної імунотерапії ДНП «Національна дитяча спеціалізована лікарня "Охматдит" МОЗ України», Київ, Україна

Nataliia Olhovich – Doctor of Biological Sciences, Head of the Center for Genetic Diagnostics and Cellular Immunotherapy, State Non-Profit Enterprise "National Children's Specialized Hospital OKHMATDYT of the Ministry of Health of Ukraine", Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0001-6468-2782>

nolhovich@gmail.com

Куцик Олена Едуардівна – генетик відділу неонатального скринінгу лабораторії медичної генетики Центру генетичної діагностики та клітинної імунотерапії ДНП «Національна дитяча спеціалізована лікарня “Охматдит” МОЗ України», Київ, Україна

Olena Kutsyk – Geneticist of the neonatal screening department of the Medical Genetics Laboratory of the Center for Genetic Diagnostics and Cellular Immunotherapy, State Non-Profit Enterprise “National Children’s Specialized Hospital OKHMATDYT of the Ministry of Health of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-7289-8409>

oktsk.work@gmail.com

Самоненко Наталія В’ячеславівна – лікар-педіатр, генетик, завідувачка Центру орфанних захворювань та генної терапії ДНП «Національна дитяча спеціалізована лікарня “Охматдит” МОЗ України», Київ, Україна

Nataliia Samonenko – Pediatrician, Geneticist, Head of the Center of Orphan Diseases and Gene Therapy, State Non-Profit Enterprise “National Children’s Specialized Hospital OKHMATDYT of the Ministry of Health of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

<https://orcid.org/0000-0002-6927-3301>

natalisam@gmail.com



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)