

**BİOLOGİYA****НЕОНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ****Р.Ф.МАМЕДОВА, М.Ш.БАБАЕВ*****Бакинский Государственный Университет***

*С использованием современных диагностических методов проведен генетический скрининг наследственных гемоглобинопатий, недостаточности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, фенилкетонурии и гипотиреоза среди новорожденных города Баку. Определены генные и фенотипические частоты выявленных наследственных заболеваний.*

Программа профилактики врожденных и наследственных заболеваний должна базироваться на данных о "грузе" наследственной патологии, который в обобщенном виде составляет 30-60 на 1000 живорожденных. По расчетным данным в России ежегодно рождается от 35 до 75 тысяч детей с наследственными болезнями. При этом в структуре наследственных болезней доля тяжелых форм патологии составляет около 2%. Частота врожденных и наследственных заболеваний у детей в среднем не превышает 5%, при этом на моногенные болезни приходится 1%, на хромосомные aberrации - 0,7%, на заболевания с наследственной предрасположенностью (полигенные-мультифакториальные болезни) - 3%, на генетическую несовместимость матери и плода по антигенам - 0,4% (7). В связи с невозможностью полного излечения и часто прогрессирующим характером врожденных и наследственных заболеваний основным направлением в борьбе с ними является их профилактика. Поэтому внимание медицинских генетиков все больше привлекает пренатальный и ранний неонатальный период.

Пути профилактики наследственной патологии включают следующие уровни: прегаметический (охрана репродуктивного здоровья; охрана окружающей среды); презиготический (медико-генетическое консультирование, искусственная инсеминация, периконцепционная профилактика); пренатальный (внедрение всех видов дородовой диагностики); постнатальный (ранняя идентификация патологии, лечение, профилактика инвалидизирующих расстройств).

Основной организационной формой профилактики врожденных и наследственных болезней является ранняя постнатальная диагностика (идентификация) наследственных болезней, поддающихся лечению и медико-генетическое консультирование.

Ранняя диагностика базируется на широком использовании современных методов обследования: массовый скрининг новорожденных. Скрининг новорожденных охватывает в настоящее время большинство государств и территорий.

Однако формальные доказательства клинической эффективности скрининга, за исключением фенилкетонурии, врожденного гипотиреоза, муковисцидоза, серповидноклеточной анемии и талассемий, недостаточно аргументированы (8-17).

За последние несколько десятилетий сперва совместно с сотрудниками РАМН Института медицинской генетики, затем самостоятельно учеными республики было исследовано население на распространение некоторых наследственных заболеваний. К таким наследственным заболеваниям относятся гемофилия, Синдром Элерса Данлоса, гемоглобинопатии, энзимопатии, аномалии скелета (врожденный вывих бедра), заболевания центральной нервной системы, зубо-челюстные аномалии, врожденная катаракта и т.д. (4,6). Все эти исследования были проведены среди широкого населения отдельных регионов Азербайджанской Республики. Однако, также существуют скрининговые исследования конкретных наследственных заболеваний, которые были проведены среди студентов, школьников, беременных, супружеских пар, а также новорожденных (1-3,5).

Следует отметить тот факт, что скрининг таких наследственных заболеваний как фенилкетонурия, гипотиреоз среди новорожденных не проведен. Существуют спорадические исследования гемоглобинопатий среди новорожденных республики.

Учитывая вышеизложенное, целью наших исследований явилось изучение наследственных заболеваний: фенилкетонурии, гипотиреоза, дефицита фермента Г6ФД и гемоглобинопатий среди новорожденных и разработка единой программы их скрининга.

Материал собран в родильном отделении Центральной больницы Нефтяников с 2003 по 2006 гг. Общее число новорожденных (1287 мальчиков и 1390 девочек). Кровь для анализов в количестве 1-1,5 мл брали в микропробирки эппендорф, содержащие антикоагулянт этилендиаминтетраацетат натрия (ЭДТА).

Впервые нами разработан «Генетический паспорт новорожденного», включающий наиболее часто встречающиеся наследственные заболевания крови и метаболизма, ранее регистрируемые среди населения Азербайджана. Для этого нами проведен скрининг тиреотропного гормона, фенилкетонурии, гемоглобинопатий, недостаточности фермента Г6ФД в сыворотке крови новорожденных г. Баку. Для этого использована венозная кровь новорожденных.

Уровень ТТГ определяли в первые 3-5 дней жизни новорожденного. При уровне ТТГ от 30 мЕл до 50 мЕл тест повторяли. При уровне более 50 мЕл проверяли дополнительно лабораторные показатели функции щитовидной железы и советовали матери обращаться к врачу педиатру после выписки из родильного дома. У новорожденных наблюдали модальное распределение тиреотропного гормона (ТТГ).

Таблица 1

**Результаты генетического скрининга гипотиреоза среди новорожденных**

<i>Уровни тиреотропного гормона (мЕл)</i>							
	0-10	10-20	20-30	30-40	40-50	50-60	и выше
Количество новорожденных	90	279	272	121	30	10	11
Число %	11,07%	34,31%	33,45%	13,88%	3,69%	1,23%	1,35%

Наибольшее количество новорожденных имело уровень тиреотропного гормона в пределах – 10-30 мЕ\л; 279 новорожденных (34,31%) и 272 новорожденных (33,45%) составляли 67,76% от всех подверженных к скринингу новорожденных. 90 новорожденных (11,07%) имели уровень тиреотропного гормона в пределах 0-10 мЕ\л. Начиная с 30 мЕ\л наблюдали уменьшение числа новорожденных, обладавших повышенными концентрациями гормона; 30-40 мЕ\л – 121 новорожденный (13,88%), 40-50 мЕ\л – 30 новорожденный (3,69%), 50-60 мЕ\л – 10 новорожденный (1,23%) и выше 60 мЕ\л – 11 новорожденных (1,35%). Установлены гипо- и гиперфункция щитовидной железы, что напрямую связано с дальнейшими нарушениями центральной нервной системы у детей. Также установлена связь между повышенными значениями ТТГ и ЩбА<sub>1b</sub>. Полученные результаты генетического скрининга ТТГ и Щб А<sub>1c</sub> позволят врачам педиатрам своевременно проводить лечение больных детей до проявления клиники заболевания.

Для определения частоты встречаемости наследственных гемоглинопатий среди новорожденных мы использовали комплекс методов, включающий аналитический метод изоэлектрофокусирования на полиакриламидно-амфилиновых пластинках с рН 3,5-9,5 и 5,5-8,5, электрофорез гемолизата на ацетатцеллюлозных пленках, проба на серповидность, проба на растворимость гемоглобина, количественное определение фетального гемоглобина и определение осмотической резистентности эритроцитов. Генетический скрининг крови новорожденных на наследственные гемоглинопатии у 50-ти новорожденных из 1128 обследованных позволил идентифицировать  $\alpha$ -талассемию – 28 новорожденных и  $\beta$ -талассемию – 22 новорожденных с фенотипической частотой 2,48% и 1,95%, соответственно.

Мы в своих исследованиях для диагностики фенилкетонурии (ФКУ) среди новорожденных использовали пробу Фелинга и метод тонкослойной хроматографии. Для этого использовали мочу и капиллярную кровь новорожденного. Диагностику ФКУ на уровне мочи проводили пробой Фелинга, на уровне сыворотки крови методом тонкослойной хроматографии. Скрининг ФКУ, проводимый нами в моче среди 1827 новорожденных, позволил у четверых обнаружить на пеленке пятна зеленого цвета, что характерно для генного дефекта при ФКУ. Зеленый цвет появляется на месте контакта пробы Фелинга и мочи новорожденного. Для подтверждения диагноза был произведен забор венозной крови у этих новорожденных и проведена тонкослойная хроматография сывороточных аминокислот. Во всех четырех случаях по сравнению с контрольной группой наблюдали значительное увеличение уровня ФКУ. Спектрофотометрическое определение уровней фенилаланина среди новорожденных с положительной реакцией на пробу Фелинга показало следующие распределения; новорожденный от матери М.А. – 0,18 г/л; новорожденный от матери К.Л. – 0,15 г/л; новорожденный от матери А.А. – 0,13 г/л и новорожденный от матери Р.А. – 0,19 г/л. Анализ четырех родословных с гомозиготной формой патологического гена ФКУ у новорожденных показал кровное родство между их родителями.

Клинико-генеалогическое исследование каждого из новорожденных позволило нам дополнительно к гипотиреозу, гемоглинопатиям и фенилкетонурии выявить хромосомные нарушения – Синдром Дауна, Спина бифида, гемоли-

тическую болезнь новорожденных, гидроцефалию, аненцефалию, аномалии скелета, в том числе полидактилию, криптархизм и гипоспадию у мальчиков.

Синдром Дауна установлен в трех случаях. Анализ кариотипа трех новорожденных с подозрением на Синдром Дауна в одном случае выявил классический тип Синдрома Дауна с кариотипом – 47,XX; в двух случаях с разнополыми детьми мозаичный тип Синдрома Дауна с кариотипом 46,XX(30%)\47XX(70%) и 46,XY(35-40%)\47XY(60-65%). Кровного родства между супругами больных детей не установлено.

У двух новорожденных наблюдали спинно-мозговую грыжу с различными фенотипическими проявлениями. В первом случае у новорожденного наблюдали сочетание спинно-мозговой грыжи с гидроцефалией. Кровного родства между супругами больных детей не установлено. Во втором случае у новорожденного наблюдали изолированную спинно-мозговую грыжу. В данном случае также между родителями больного ребенка кровного родства не было.

У 28 новорожденных был поставлен диагноз гемолитическая болезнь новорожденного. Из 28 новорожденных с данным диагнозом 22 были мальчиками, только 6 девочками. У всех 28 новорожденных наблюдали сильно выраженную желтуху с высокими значениями сывороточного билирубина, варьирующими в пределах – 3,9-10,5 мг/л и более, при норме 1,0 мг/л. Определение активности фермента Г6ФД у 24-х из 28 новорожденных у всех мальчиков (22 мальчика) и у одной девочки позволило диагностировать дефицит фермента Г6ФД. У 22 мальчиков идентифицировано гемизиготное состояние недостаточности фермента Г6ФД. Гемизиготное состояние недостаточности фермента Г6ФД приравнивается к гомозиготному состоянию недостаточности фермента Г6ФД у женщин. Только у одной новорожденной девочки было выявлено гетерозиготное состояние фермента. Дополнительные исследования, проведенные у родителей новорожденных учитывали генетику фермента Г6ФД. Гемизиготы мальчики дефицитный ген недостаточности фермента Г6ФД наследовали только от гетерозигот матерей. Повторные исследования крови матерей у всех без исключения выявили гетерозиготное состояние. Уровень активности фермента варьировал в пределах 60-80% от нормальной активности фермента Г6ФД. Опрос матерей позволил установить тот факт, что родители были выходцами из эндемических регионов республики, где наблюдаются высокие генные частоты недостаточности фермента Г6ФД. Это Шеки, Саатлы, Агдаш, Огуз, Масаллы, Лерик, Астара, Ленкорань, Сабирабад, Али-Байрамлы и т.д.

Более детальное исследование активности фермента Г6ФД у 22-х мальчиков с гемизиготным носительством, позволило нам идентифицировать два фенотипа; это Г6ФД (-) и Г6ФД (+). В первом случае - Г6ФД (-) (15 мальчиков) наблюдали полный дефицит фермента Г6ФД. Данный фенотип с полным отсутствием фермента называют Г6ФД «0»-фенотип. Во втором случае у семи мальчиков наблюдали остаточную активность фермента с варьированием активности от 10 до 30% от общей нормальной активности фермента. Этот фенотип обозначают как Г6ФД «+»-фенотип.

У четырех новорожденных наблюдали гидроцефалию (два мальчика и двое девочек) от некровнородственных родителей. По одному случаю аненцефалию (мальчик) и полидактилию (шестипалость) также у новорожденного маль-

чика. Родители новорожденных с анэнцефалией и полидактилией отрицали кровное родство между ними.

Аномалии скелета было выявлено у пяти новорожденных; косолапость (2 случая), укорочение верхних и нижних конечностей (2 случая) и один случай шестипалости. У пяти мальчиков наблюдали криптархизм; в трех случаях двухсторонний, в двух случаях правосторонний криптархизм. В одном случае у новорожденного мальчика была выявлена гипоспадия.

Таким образом, генетический скрининг новорожденных позволил нам выявить гипотиреоз, установить такие формы наследственных гемоглобинопатий как  $\alpha$ - и  $\beta$ -талассемии, структурно-аномальные гемоглобины С и Д, дефицит фермента ГбФД, фенилкетонурию, а также Синдром Дауна, Спина бифида, гемолитическую болезнь новорожденных, гидроцефалию, анэнцефалию, аномалии скелета, криптархизм и гипоспадию у мальчиков. Полученные нами результаты генетического скрининга новорожденных позволят врачам педиатрам своевременно проводить лечение больных детей до проявления клиники заболевания. Своевременное медико-генетическое консультирование семей с наличием патологических генов у супругов (семья с генетическим риском) необходимо для профилактики гомозиготного состояния у ребенка. Рекомендуется проведение инвазивной и не инвазивной пренатальной диагностики у плода в первом и во втором триместрах беременности. Для точности пренатальной диагностики предлагается использование ДНК диагностики.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гараев З.И., Алиева К.А., Расулов Э.М. Аномалии прикуса и инбридинг. Цитология и генетика, 1997, Т1, №3, с.76-80.
2. Гараев З.И., Расулов Э.М. Распространение и генетическая гетерогенность расщелины губы и неба в Ленкорань-Астаринской зоне Азербайджанской Республики. Цитология и генетика, 1996, Т.30, №5, с.86-90.
3. Ганбаров И.М. Ранняя диагностика и лечения врожденного вывиха бедра у детей в возрасте до одного года. Автореф. канд. дис., Баку: 1997.
4. Мухтаров З.Я., Алиева К.А., Расулов Э.М. Популяционно-генетические исследования в Лерикском районе Азербайджанской Республики. Мухтаров З.Я., Алиева К.А., Расулов Э.М. Популяционно-генетические исследования в Лерикском районе Азербайджанской Республики. Ж. Цитология и генетика, Киев: 2000, №5, с.22-29.
5. Насруллаева М.М. Клинические формы наследственных катаракт у детей в Азербайджане с анализом фактора риска. Тезисы докладов 7 съезда офтальмологов России, Москва: 2000, с.374-375.
6. Расулов Э.М., Мовсумзаде К.М., Расулова Р.И., Алиева Р.Т., Кичибекоев Б.Р., Алиева К.А. Популяционно-генетические исследования наследственных заболеваний в Азербайджанской Республике: Сообщение ИИ. Распространение недостатка ГбФД и гена бета- талассемии в Кахском районе. Мат.конф., посвящ. акт. вопр. перинатологии и гинекологии, Баку: 1998, с.85-87.
7. Рычков Ю.Г., Жукова О.В., Огрызко Е.В., Шнейдер Ю.В. Восточноевропейский генотип и болезни сельского населения Европейской части России. Генетика, 1998, т.34, №8, с. 1138-1150.
8. Farrell PM, Kosorok MR, Rock MJ, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. Pediatrics 2001; 107:1-13.

9. U.S. Congress, Office of Technology Assessment. Healthy children: investing in the future. Washington, D.C.: Government Printing Office, 1988, 345.
10. Lees CM, Davies S, Dezateux C. Neonatal screening for sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2000; 2:CD001913-CD001913.
11. Albers S., Marsden D., Quackenbush E., Stark AR, Levy HL, Irons M. Detection of neonatal carnitine palmitoyltransferase II deficiency by expanded newborn screening with tandem mass spectrometry. *Pediatrics* 2001; 107:1417-1417. abstract.
12. Ranieri E., Gerace R., Bartlett B., Barnard K., Fletcher J.M. The introduction of tandem mass spectrometry into the South Australian Neonatal Screening Programme: benefits and costs. *J Inherit Metab Dis* 2000; 23:Suppl 1:3-3. abstract.
13. Roscher A, Liebl B, Fingerhut R, Olgemöller B. Prospective study of MS-MS newborn screening in Bavaria, Germany: interim results. *J Inherit Metab Dis* 2000;23:Suppl 1:4-4. abstract.
14. Wilcken B, Wiley V, Carpenter K. Two years of routine newborn screening by tandem mass spectrometry (MSMS) in New South Wales, Australia. *J Inherit Metab Dis* 2000;23:Suppl 1:4-4. abstract.
15. Wilcken B, Wiley V, Sim KG, Carpenter K. Carnitine transporter defect diagnosed by newborn screening with electrospray tandem mass spectrometry. *J Pediatr* 2001;138:581-584.
16. Wiley V, Carpenter K, Wilcken B. Newborn screening with tandem mass spectrometry: 12 months' experience in NSW Australia. *Acta Paediatr Suppl* 1999;88:45-51. Zytovicz TH, Fitzgerald EF, Marsden D, et al. Tandem mass spectrometric analysis for amino, organic, and fatty acid disorders in newborn dried blood spots: a two-year summary from the New England Newborn Screening Program. *Clin Chem* 2001;47:1945-1955.
17. Wood JC, Magera MJ, Rinaldo P, Seashore MR, Strauss AW, Friedman A. Diagnosis of very long chain acyl-dehydrogenase deficiency from an infant's newborn screening card. *Pediatrics* 2001;108:173-174. abstract. 80

## **İRSİ XƏSTƏLİKLƏRİN NEONATAL SKRİNİNQİ**

**R.F.MƏMMƏDOVA, M.Ş.BABAYEV**

### **XÜLASƏ**

Bakı şəhərində yenidoğulmuşlar arasında irsi hemoqlobinopatiyaların, Q6FD fermentinin çatışmazlığının, fenilketonuriya və hipotireoz xəstəliklərinin müasir diaqnostik üsullar ilə genetik skriningi aparılmışdır. Aşkar edilmiş irsi xəstəliklərin gen və fenotipik tezlikləri hesablanmışdır.

## **NEONATAL SCREENING FOR HEREDITARY DISEASES**

**R.F.MAMEDOVA, M.S.BABAYEV**

### **SUMMARY**

The genetic skrining have been carried out for heritable hemoglobinopathies, G6FD enzyme deficiency, phenylketonuria and hipothireosis with modern diagnostic methods among newborn infants of Baku. The gene and fenotyp frequencies of the found out hereditary diseases have counted .