ОГЛАВЛЕНИЕ

Участники издания	5
Список сокращений и условных обозначений.....	11
Предисловие	13
Глава 1. Общие принципы неонатального скрининга (<i>Володин Н.Н., Воронин С.В., Воронцова М.В., Гордукова М.А., Гребенщикова Е.Г., Захарова Е.Ю., Ижевская В.Л., Куцев С.И., Румянцев А.Г., Савостьянов К.В., Фисенко А.П., Цыганкова П.Г., Щагина О.А., Щербина А.Ю.</i>).....	15
1.1. История развития неонатального скрининга. Определение и виды скрининга. Принципы и критерии неонатального скрининга	15
1.2. Новые технологии массового скринирования новорожденных: возможности и ограничения.....	19
1.3. Международный опыт проведения неонатального скрининга.....	23
1.4. Этические проблемы неонатального скрининга	29
1.5. Принципы лечения наследственных болезней, выявляемых при проведении неонатального скрининга	36
1.6. Потенциал неонатального скрининга для системы здравоохранения. Роль медико-генетической службы в неонатальном скрининге. Нормативная правовая база проведения неонатального скрининга в Российской Федерации.....	45
Глава 2. Неонатальный скрининг: этапы тестирования и контроль качества (<i>Матулевиг С.А., Шестопалова Е.А., Назаренко Л.П., Байдакова Г.В., Поляков А.В., Щагина О.А., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Щербина А.Ю., Тузанкина И.А., Першин Д.Е., Цыганкова П.Г., Морозик Е.Г., Захарова Е.Ю., Никитина Н.В., Лязина Л.В., Мухина А.А., Голихина Т.А., Сумина М.Г., Беляева Т.И., Дерябина С.С., Куркина М.В.</i>)	53
Глава 3. Клиническая характеристика и подходы к лечению заболеваний, включенных в программы неонатального скрининга	107
3.1. Эндокринопатии	107
3.1.1. Врожденная дисфункция коры надпочечников (<i>Карева М.А., Петеркова В.А.</i>).....	107
3.1.2. Врожденный гипотиреоз (<i>Безлепкина О.Б., Вадина Т.А., Ширяева Т.Ю., Шрёдер Е.В., Шестопалова Е.А.</i>)	121
3.2. Муковисцидоз (<i>Кондратьева Е.И., Шерман В.Д.</i>)	128
3.3. Аминоацидопатии	149
3.3.1. Гиперфенилаланинемии: фенилкетонурия (классическая), дефицит реактивации биоптерина (тетрагидробиоптерина), дефицит синтеза биоптерина (тетрагидробиоптерина) (<i>Шестопалова Е.А., Бушуева Т.В., Куцев С.И., Назаренко Л.П.</i>).....	149
3.3.2. Аргиназная недостаточность (аргининемия) (<i>Дегтярева А.В., Михайлова С.В.</i>)	155
3.3.3. Аргининянтарная ацидурия (аргининсукцинатлиазная недостаточность) (<i>Дегтярева А.В., Михайлова С.В.</i>).....	159
3.3.4. Болезнь «кленового сиропа» (лейциноз) (<i>Бушуева Т.В., Дегтярева А.В., Зубков В.В.</i>)	163
3.3.5. Гомоцистинурия (<i>Семязкина А.Н., Николаева Е.А.</i>).....	169
3.3.6. Тирозинемия, тип I (<i>Строкова Т.В., Захарова Е.Ю.</i>)	180

3.3.7. Цитруллинемия, тип I (Дегтярева А.В., Соколова Е.В., Пегатникова Н.Л.)	189
3.4. Органические ацидурии.....	194
3.4.1. Дефицит 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА-лиазы (Захарова Е.Ю.)....	194
3.4.2. Недостаточность синтетазы голокарбоксилаз (биотин-чувствительная множественная карбоксилазная недостаточность) (Михайлова С.В.)	197
3.4.3. Недостаточность 3-метилкротонил-КоА-карбоксилазы (3-метилкротонилглицинурия, метилкротонил-КоА-карбоксилазная недостаточность) (Михайлова С.В.)	200
3.4.4. Глутаровая ацидурия, тип I (недостаточность глутарил-КоА- дегидрогеназы, глутаровая ацидемия, тип I) (Михайлова С.В.).....	204
3.4.5. Изовалериановая ацидемия/ацидурия (Бушуева Т.В.)	210
3.4.6. Метилмалоновая ацидемия (Михайлова С.В., Бушуева Т.В., Николаева Е.А., Подклетнова Т.В.)	216
3.4.7. Пропионовая ацидемия (ацидурия) (Бушуева Т.В.).....	231
3.4.8. Недостаточность биотинидазы (множественная карбоксилазная недостаточность с поздним дебютом) (Михайлова С.В.)	236
3.5. Нарушения углеводного обмена	240
3.5.1. Галактоземия (Семенова Н.А., Бушуева Т.В., Дегтярева А.В., Дегтярев Д.Н.)	240
3.6. Нарушения окисления жирных кислот и обмена карнитина	246
3.6.1. Глутаровая ацидурия, тип II (множественная ацил-КоА- дегидрогеназная недостаточность, рибофлавин-чувствительная форма, этилмалоновая/адипиновая ацидурия) (Михайлова С.В.).....	246
3.6.2. Нарушения транспорта карнитина и жирных кислот (Николаева Е.А.).....	251
3.6.3. Недостаточность митохондриального трифункционального белка. Недостаточность длинноцепочечной 3-гидрокси-ацил-КоА- дегидрогеназы жирных кислот (Пегатникова Н.Л., Дегтярева А.В.)	265
3.6.4. Недостаточность ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот с очень длинной цепью (Дегтярева А.В., Николаева Е.А., Пегатникова Н.Л.)	270
3.6.5. Недостаточность среднецепочечной ацил-КоА-дегидрогеназы жирных кислот (Дегтярева А.В., Николаева Е.А., Пегатникова Н.Л.)	275
3.6.6. Недостаточность β -кетотиолазы (Захарова Е.Ю., Михайлова С.В.) ...	280
3.7. Характеристика первичных иммунодефицитов, наиболее часто выявляемых при неонатальном скрининге (Мухина А.А., Першин Д.Е., Родина Ю.А., Дерипана Е.В., Абрамова И.Н., Тузанкина И.А., Кузьменко Н.Б., Румянцев А.Г., Щербина А.Ю.)	286
3.7.1. Тяжелая комбинированная иммунная недостаточность	286
3.7.2. Синдром ДиДжорджи.....	289
3.7.3. Синдром Ниймеген.....	291
3.7.4. Агаммаглобулинемия с дефицитом В-клеток	293
3.8. Проксимальная спинальная мышечная атрофия 5q (Белуосова Е.Д., Кузенкова Л.М., Михайлова С.В., Поляков А.В., Артемьева С.Б., Владавец Д.В., Забненкова В.В., Вольский Г.В., Фисенко А.П.)	301
Глава 4. Универсальный аудиологический скрининг новорожденных (Таварткиладзе Г.А., Цыганкова Е.Р., Маркова Т.Г., Чибисова С.С.)	321
Глава 5. Медико-генетическое консультирование в программе неонатального скрининга (Гинтер Е.К., Козлова С.И., Демикова Н.С.)	335
Глава 6. Перспективы расширения программ неонатального скрининга (Захарова Е.Ю., Трофимов Д.Ю., Померанцева Е.А., Шубина Е., Куцев С.И.)	344

Глава 1

Общие принципы неонатального скрининга

1.1. ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ НЕОНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА. ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ВИДЫ СКРИНИНГА. ПРИНЦИПЫ И КРИТЕРИИ НЕОНАТАЛЬНОГО СКРИНИНГА

Внедрение в медицинскую практику скрининговых (просеивающих) программ является одним из выдающихся достижений мирового здравоохранения. Массовое обследование (скрининг) населения — комплекс мероприятий, включающий формирование группы риска по определенным нозологиям и осуществление профилактических мероприятий или превентивное лечение заболеваний. В случае генетического скрининга новорожденных на наследственные и врожденные заболевания речь идет об особом разделе медико-генетической помощи населению. Массовое обследование всех новорожденных на генетическую патологию порождает целый ряд медицинских, организационных, этических, экономических проблем. Поэтому внесение дополнений в программы неонатального скрининга — сложная и многогранная задача. С одной стороны, очевидно, что развитие технологий лабораторной диагностики, появление новых методов лечения позволяют увеличить число тестируемых болезней, что дает, несомненно, полезные результаты для выявленных при скрининге пациентов и их семей. С другой стороны, внедрение современных технологий массового тестирования нужно проводить с осторожностью, чтобы соблюдать баланс между пользой этих программ и их потенциальным риском как для отдельных индивидов, так и для общества.

В 1968 г. Уилсон и Джангнер опубликовали монографию «Принципы и практика скрининга на выявление заболеваний» по заказу Всемирной организации здравоохранения. Этот труд остается важнейшей работой, посвященной скринингу. В нем они дали определение понятию «скрининг» (англ. screening — просеивание), которое означает предположительное обнаружение ранее не диагностированной болезни или дефекта с помощью тестов, обследований или других процедур, дающих быстрый ответ. По определению Sackett (1975 г.), скрининг — тестирование внешне здоровых добровольцев с целью их подразделения на группы с высокой и низкой вероятностью заболевания. По одному из определений, «скрининг

включает клинические и лабораторные обследования индивидуумов, у которых на момент обследования нет проблем со здоровьем, с целью выявления заболевания, предрасположенности к болезни или факторов риска, которые повышают риск развития заболевания».

Термины «скрининг» и «программа скрининга» не синонимы. Скрининг — получение информации; программа скрининга — не только получение информации, но и ее обязательное использование в целях здравоохранения.

Основные свойства программы скрининга:

- слепой (безотборный) подход к обследованию;
- массовый характер обследования;
- профилактическая направленность;
- двухэтапный подход к диагностике.

Первый этап скрининга — определение людей с положительным результатом теста, формирующих группу риска по скринируемому заболеванию. Второй этап — подтверждающая диагностика и исключение людей с ложноположительными результатами. Структуры скрининговых программ варьируют в зависимости от их целей и возможностей организаторов: от программ на единичные заболевания до программ, оценивающих по нескольку десятков разнообразных параметров у тестируемых. Принципиальным считают их деление на массовые (объект обследования — видимо здоровая популяция) и селективные (объект обследования — определенные контингенты больных, среди которых ожидают накопления искомого заболевания). Одним из наиболее важных вопросов при внедрении в здравоохранение программ скрининга является определение перечня болезней, на которые проводится массовое обследование.

В 1968 г. Уилсоном и Джангнером были предложены критерии для организации программ скрининга, которые были впоследствии дополнены многими экспертами и организациями, в том числе Советом Европы, и в настоящее время формулируются следующим образом.

1. Заболевание, на которое нацелена программа скрининга, должно быть важной медико-социальной проблемой из-за повышенной смертности, страданий больного, экономических или социальных издержек.
2. Естественное течение болезни должно быть хорошо известно, у заболевания должен быть начальный скрытый период либо должны быть определены факторы риска, которые можно было бы выявить с использованием диагностических тестов. Тесты должны быть высокочувствительными и специфичными по отношению к данному заболеванию, а также приемлемыми для обследуемого индивидуума.
3. Обязательным условием скрининга является возможность адекватного лечения или иного вмешательства. Адекватность лечения определяется доказанной клинической эффективностью, этической и правовой приемлемостью.
4. Скрининг с последующим проведением медицинского вмешательства на ранней стадии болезни должен обеспечивать лучший прогноз для больного, чем его лечение при появлении симптомов болезни.

Сегодня идет бурная полемика относительно дополнений и изменений данных критериев. Новые технологии позволяют проводить в рамках одного теста обследование на множество болезней, в том числе выявлять заболевания, которые не поддаются лечению или встречаются с крайне низкой частотой, то есть не подходят под все критерии скрининга. Следует ли тестировать на заболевание, если для него нет лечения? Необходимо ли тестирование новорожденных на болезни, которые манифестируют в позднем возрасте? Чьи интересы являются приоритетными: семьи или ребенка? Если стоимость лечения заболевания высока, но оно

позволяет спасти жизнь ребенка, стоит ли включать его в программы скрининга? Это далеко не полный перечень вопросов, которые задают эксперты, представители общественных организаций и организаторы здравоохранения, но однозначных ответов на них пока нет.

Число наследственных заболеваний, для которых возможен массовый генетический скрининг, неуклонно возрастает. Доступность генетических тестов с низкой стоимостью может привести к неоправданному расширению программ скрининга без организации соответствующей базы, которая обеспечивает информационную поддержку до скрининга и медико-генетическое консультирование после него. В 1999 г. Комитетом общественной и профессиональной политики Европейского общества генетики человека разработана система правил, стандартов и мер безопасности для организации и проведения генетических скрининговых программ. Впоследствии Европейское общество генетики человека выпустило положения и рекомендации, которые были одобрены на ежегодной конференции Европейского общества генетики человека в 2000 г. Рекомендации Европейского общества генетики человека по организации программ генетического скрининга следующие:

- Программы должны внедрять правительственные или неправительственные организации, отвечающие за то, что организационные критерии, включая равенство в доступе к программам скрининга, контроль над выполнением программы и своевременное предоставление соответствующего лечения и профилактические меры, будут выполнены в соответствующей популяции.
- До начала скрининга необходимо составить руководства по применяемым методам обследования, представляемой информации, структуре управления и обеспечению контроля над программой.
- Каждая программа должна включать оценку качества лабораторных тестов, обеспечение медико-генетического консультирования и снабжение информацией.
- Необходимо контролировать выполнение программ с целью обеспечения их соответствия существующим руководствам.
- Информацию до и после проведения теста должны предоставлять подготовленные специалисты с соответствующей поддержкой. Должна быть предусмотрена возможность индивидуального собеседования. В случае положительных результатов скрининга необходимо провести медико-генетическое консультирование.
- Любая программа должна предусматривать возможность контакта с опытными специалистами для получения дополнительной информации (горячая линия).
- Лечение и профилактические меры (если такие существуют) для обнаруженного заболевания следует предлагать безотлагательно.
- Специалисты и общественность должны иметь свободный доступ к информации об утвержденных скрининговых тестах и руководствах по проводимому скринингу.

В современных условиях главным требованием к скрининговым программам становится обеспечение их экономической выгоды, когда затраты на программу не превышают стоимости содержания обществом больных с недиагностированным заболеванием и нелеченых больных. Многочисленные исследования, проведенные в разных странах, показали, что по экономическим затратам и экономической эффективности от применения (сохранение здоровья людей, получивших лечение) просеивающие программы приносят государству 5–10-кратную экономическую выгоду. Таким образом, стоимость просеивающих тестов, подтверждающей диагностики и лечения, а также медико-генетическое консульти-

рование отягощенных семей, включая пренатальную диагностику скринируемых заболеваний, в несколько раз меньше экономического бремени содержания недиагностированных больных с учетом существующей системы социального обеспечения и средней продолжительности жизни пациентов. Этот эффект возможен при 98% охвате просеивающим исследованием новорожденных и при начале лечения выявленных больных с первых дней жизни.

Одной из наиболее успешных в истории общественного здравоохранения скрининговых программ является программа скрининга новорожденных. Наследственные заболевания вносят весомый вклад в структуру заболеваемости, младенческой смертности и ранней инвалидизации детей и подростков. Генетические факторы отражают так называемый общий генетический груз популяции, который проявляется более чем у 5% населения планеты. Учитывая то, что около 40% ранней младенческой (перинатальной) смертности и ранней инвалидности обусловлены наследственными факторами и около 30% коек стационарных педиатрических центров заняты детьми с наследственной патологией, становится понятной безусловная необходимость правильной и рационально организованной ранней диагностики врожденных и наследственных болезней. Своевременное выявление таких состояний в настоящее время обеспечивает массовый скрининг новорожденных, считающийся одной из основных обязанностей государственной системы здравоохранения развитых стран, являясь самым действенным методом диагностики и профилактики наследственных заболеваний, позволяя выявить патологию и определить генетический риск наследственного заболевания для родственников диагностированных младенцев.

Неонатальный скрининг имеет фундаментальное значение для улучшения состояния здоровья больных детей, поскольку может выявить генетические заболевания на доклинических стадиях развития патологии, не допуская тяжелую инвалидизацию больных детей и сокращая количество госпитализаций и их продолжительность вплоть до перевода детей на амбулаторное лечение. Помимо ранней диагностики и своевременного начала лечения болезни, неонатальный скрининг позволяет определить гетерозиготное носительство мутантного гена и сформировать контингенты, требующие систематического медико-генетического консультирования. Массовые скринирующие обследования помогают получить наиболее достоверные данные о частоте возникновения наследственных заболеваний в отдельных популяциях, что дает возможность планировать объем медицинской помощи больным и, соответственно, общие затраты, необходимые для профилактики заболевания в регионе. Скрининг на наследственные болезни проводится с применением биохимических и молекулярно-генетических методов. Среди наследственных болезней, на которые проводится массовый скрининг, наиболее существенную долю составляют наследственные болезни обмена веществ (НБО), так как многие из них сопряжены с тяжелыми клиническими нарушениями и для ряда из них разработаны эффективные методы лечения.

Программа неонатального скрининга обязательно включает в себя следующие этапы: 1) взятие биологического материала для исследования у всех новорожденных и доставка материала в диагностическую лабораторию; 2) лабораторная просеивающая диагностика; 3) уточняющая диагностика всех случаев с положительными результатами при просеивании; 4) лечение больных и их диспансеризация с контролем за ходом лечения; 5) медико-генетическое консультирование семьи.

Началом неонатального скрининга можно считать 1963 г., когда в штате Массачусетс (США) было организовано обследование всех новорожденных на фенилкетонурию (ФКУ). Важно, что именно при разработке методических форм массового просеивания на ФКУ был впервые применен такой биологический материал, как пятна капиллярной крови новорожденных, высушенные на хрома-

тографической бумаге и пересылаемые по почте для лабораторного исследования в централизованной лаборатории. Этот метод получил широкое распространение; его используют во всех программах массового просеивания на НБО. В конце 60-х годов XX в. рутинное тестирование новорожденных на ФКУ было распространено почти во всех штатах США и некоторых странах Европы. Среди наследственных болезней, на которые проводится массовый скрининг, наиболее существенную долю составляют наследственные болезни обмена веществ (НБО), так как многие из них сопряжены с тяжелыми клиническими нарушениями и для ряда из них разработаны эффективные методы лечения.

В рамках многих программ было начато тестирование и на другие наследственные дефекты [например, на галактоземию, болезнь с запахом кленового сиропа мочи, гомоцистинурию, врожденный гипотиреоз (ВГ), серповидноклеточную анемию и др.]. Новая эра в неонатальном скрининге была открыта с созданием тандемной масс-спектрометрии — технологии, существенно улучшающей скрининг и расширяющей список скринируемых нарушений, поддающихся лечению и ранее не диагностируемых скрининг-программами. Скрининг широко распространился в мире. В настоящее время программы неонатального скрининга существуют во всех 50 штатах США, в Японии и большинстве стран Европы. В России массовое обследование новорожденных на ФКУ проводят с 1985 г., с 1993 г. стали внедрять скрининг на ВГ. Началу проведения скрининга в Российской Федерации в 1993 г. на федеральном уровне (ФКУ и врожденный гипотиреоз) послужила программа «Дети России». Новый этап развития диагностических обследований новорожденных в нашей стране начался в 2006 г., когда в рамках приоритетного национального проекта «Здоровье» программа неонатального скрининга была расширена до пяти заболеваний (галактоземия, муковисцидоз, адреногенитальный синдром, фенилкетонурия и врожденный гипотиреоз).

Неонатальный скрининг — многогранный комплекс мероприятий, требующий постоянного участия и внимания целого ряда медицинских служб. С момента рождения ребенка заботу о его здоровье берет на себя родильный дом. Качественный забор крови и своевременная доставка бланков с кровью в лабораторию массового скрининга обеспечивают успешный старт скрининга. Своевременное повторное обследование новорожденных с положительными результатами теста, за которое отвечает педиатрическая служба, позволяет вовремя установить диагноз и предупредить развитие тяжелых необратимых осложнений обнаруживаемых заболеваний. Ключевая роль в диагностике принадлежит лабораторной службе.

1.2. НОВЫЕ ТЕХНОЛОГИИ МАССОВОГО СКРИНИРОВАНИЯ НОВОРОЖДЕННЫХ: ВОЗМОЖНОСТИ И ОГРАНИЧЕНИЯ

В последние десятилетия появились высокопроизводительные мультиплексные технологии, позволяющие в одном анализе определять маркеры множества заболеваний. Одна из них — тандемная масс-спектрометрия (МС/МС), которая позволяет измерять концентрации метаболитов и активность ферментов. Вторая технология — высокопроизводительное параллельное секвенирование (NGS), позволяющее исследовать последовательность множества генов одновременно.

Тандемная масс-спектрометрия

Новая веха в массовом обследовании новорожденных началась с применения технологии МС/МС. Этот метод, позволяющий с большой точностью в микроколичествах биоматериала определять концентрации сотен различных соединений,

завоевал лидирующие позиции в диагностике многих НБО. Определяя уникальные для каждого соединения соотношения массы к заряду и сравнивая концентрации веществ с внутренними стандартами, технология дает точную количественную и качественную оценку соединений. Применение МС/МС в программах обследования новорожденных позволяет проводить скрининг более чем 40 форм НБО, относящихся к 3 группам (аминоацидопатии, органические ацидурии и дефекты митохондриального β -окисления). В среднем суммарная частота НБО, выявляемых МС/МС, составляет 1:2000–1:5000 новорожденных (включая фенилкетонурию), но в зависимости от генетических особенностей популяций она может различаться (табл. 1.1).

Таблица 1.1. Суммарная частота наследственных болезней обмена веществ, выявляемых методом тандемной масс-спектрометрии

Страна	Суммарная частота НБО
Китай	1:5800
Тайвань	1:5882
Корея	1:2000
Япония	1:9330
Германия	1:2517
Северная Америка	1:4000
Гонконг	1:4122
Катар	1:1327

Чувствительность и специфичность МС/МС неодинакова для разных заболеваний. В частности, сложности возникают при диагностике некоторых нарушений обмена аминокислот (недостаточности орнитинтранскарбамилазы, гомоцистинурии) и органических ацидурий (недостаточности биотинидазы, метилмалоновой ацидурии), поскольку при этих болезнях не у всех пациентов в неонатальный период выявляются значимые изменения концентрации маркерных метаболитов или маркер не является высокоспецифичным и требуются тесты второй линии для повышения специфичности скрининга.

С ростом числа метаболических заболеваний, выявляемых МС/МС, повышается и сложность подтверждающей диагностики, которая может включать дополнительное измерение метаболитов, ферментный анализ и молекулярное тестирование.

С 2000-х гг. появилась еще одна область применения метода МС/МС — определение активности ферментов в пятнах высушенной крови путем измерения концентрации продуктов реакции после инкубации образца со специфическим для ферментов субстратом. Это дало возможность проводить селективный и массовый скрининг на лизосомные болезни накопления (ЛБН), для которых существуют методы патогенетического лечения. Активность ферментов в пятнах высушенной крови при массовом скрининге можно измерять как методом МС/МС, так и флюориметрическим методом. Массовый скрининг, проведенный в разных странах, позволил уточнить частоты этих болезней (табл. 1.2). Например, расчетная частота болезни Фабри по результатам скрининга в Италии составила 1:3100, что в 15–20 раз выше, чем предполагалось ранее по данным литературы. В штате Нью-Йорк в течение 3 лет проводили массовый скрининг на болезнь Краббе. До проведения скрининга расчетная частота болезни составляла 1:100 000 новорожденных. По результатам скрининга — 5:100 000.