

НЕОНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ И ГЕННАЯ ДИАГНОСТИКА МУКОВИСЦИДОЗА В ХАНТЫ-МАНСИЙСКОМ АВТОНОМНОМ ОКРУГЕ-ЮГРЕ

М. Ю. Донников¹, Л. Н. Колбасин¹, И. А. Урванцева^{1,2}, В. В. Мещеряков²

¹БУ ХМАО-Югры «Окружной кардиологический диспансер „Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии“» (г. Сургут)

²ГБОУ ВПО «Сургутский государственный университет Ханты-Мансийского автономного округа — Югры» (г. Сургут)

Целью работы явилась оценка эффективности неонатального скрининга и генной диагностики муковисцидоза (МВ) в ХМАО-Югре за период с 2006 по 2014 год. Среднемноголетний уровень охвата новорождённых скрининг-тестом составил 95,5 %, частота МВ — 1 случай на 9095 новорождённых. Чувствительность метода составила 100 %, специфичность — 99,7 %. Рост числа ложноположительных результатов теста коррелировал с уменьшением рекомендуемого порогового уровня иммунореактивного трипсина, что определяет необходимость разработки его региональных референсных величин. Результаты генной диагностики пациентов с МВ показали преобладание мутации delF508 в гомозиготном, гетерозиготном состоянии или в компаунде в 73,9 % случаях.

Ключевые слова: муковисцидоз, дети, диагностика.

Донников Максим Юрьевич — врач лабораторный генетик, и.о. заведующего лабораторным отделением Медико-генетической консультации БУ «Окружной кардиологический диспансер „Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии“», г. Сургут, рабочий телефон: 8 (3462) 52-85-24, e-mail: donnikov@gmail.com

Колбасин Лев Николаевич — кандидат медицинских наук, врач-генетик, заведующий Медико-генетической консультацией БУ «Окружной кардиологический диспансер „Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии“», г. Сургут, рабочий телефон: 8 (3462) 52-85-18, e-mail: kollev@yandex.ru

Урванцева Ирина Александровна — кандидат медицинских наук, заслуженный Врач Российской Федерации, главный врач БУ «Окружной кардиологический диспансер „Центр диагностики и сердечно-сосудистой хирургии“», заведующий кафедрой кардиологии медицинского института БУ ВО «Сургутский государственный университет

ХМАО-Югры», рабочий телефон: 8 (3462) 52-85-35, e-mail: info@okd.ru

Мещеряков Виталий Витальевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой детских болезней медицинского института ГБОУ ВПО «Сургутский государственный университет ХМАО-Югры», рабочий телефон: 8 (3462) 76-30-51, e-mail: maryvitaly@yandex.ru

Введение. Ханты-Мансийский автономный округ — Югра занимает центральную часть Западно-Сибирской равнины, в связи с бурно развивающимся нефтегазодобывающим комплексом характеризуется значительным ростом численности населения, положительным естественным приростом, высоким уровнем рождаемости и преобладанием лиц молодого и трудоспособного возраста в общей структуре населения. На 1 января 2015 года население округа составило 1 612 076 человек (1,1 % от общей численности населения РФ). Плотность населения — 3,01 чел./км², удельный вес городского населения — 92,14 %. Абсолютное большинство жителей округа проживает в малых и средних городах с хорошо развитой городской инфраструктурой, поэтому территорию Югры называют «урбанизированным» Севером. Пришлое население округа характеризуется этнической неоднородностью и высоким удельным весом тюрко-язычных и финно-угорских народов с преобладанием, тем не менее, славянского населения. Коренное население ХМАО-Югры (ханты и манси) составляет 27 000 человек (1,67 % от общей численности населения). Таким образом, за короткий промежуток времени в ХМАО-Югре сформировалась этнически, а значит и генетически, разнородная популяция пришлого населения. Это определяет необходимость популяционных генетических исследований региональных особенностей заболеваемости и распространённости различной наследственной патологии.

Среди всех генных болезней наиболее частым является муковисцидоз (МВ). Диагностика МВ начинается уже с периода новорождённости методом сплошного скрининг-обследования в первые дни после рождения [1]. В ХМАО-Югре, как во всей России, массовый скрининг новорождённых на МВ проводится с июня 2006 года в рамках Национального проекта «Здоровье» [2]. Важной составляющей является генная диагностика этого заболевания. Результаты многолетних сплошных исследований позволяют рассчитать и прогнозировать заболеваемость МВ, оценить диагностическую эффективность скрининга и генной диагностики этого заболевания.

Целью работы явилась оценка эффективности неонатального скрининга и генной диагностики МВ в ХМАО-Югре.

Материалы и методы. Проведено сплошное ретроспективное исследование — анализ результатов неонатального скрининга и генной диагностики МВ по данным окружной медико-генетической консультации (ОМГК) за период с 2006 по 2014 год. Рассчитывали среднемноголетний показатель заболеваемости, чувствительность и специфичность скрининг-теста, анализ структуры типов мутаций в гене МВ среди больных этой патологией.

Результаты исследований. Массовый скрининг новорожденных на МВ в рамках Национального проекта «Здоровье» стартовал в ХМАО-Югре с 01.06.2006. За период с июня 2006 по декабрь 2014 года было обследовано 209 174 новорождённых. Неонатальный скрининг на МВ у новорождённых основан на определении уровня иммунореактивного трипсина (ИРТ), который выше у больных детей в 5–10 раз

в результате внутриутробного аутолиза ткани поджелудочной железы [3]. Основная цель неонатального скрининга — выявление новорожденных с МВ на самых ранних этапах жизни. В этом случае стандартная терапия назначается значительно раньше, чем пациенту, у которого диагноз поставлен уже после клинической манифестации заболевания. В настоящее время в Европе насчитывается до 30-ти вариантов программ скрининга на МВ, включающих от 2-х до 4-х последовательных этапов обследования [4]. В РФ протокол скрининга включает 3 основных этапа: 2-кратное определение ИРТ в крови новорождённых (количественный флуоресцентный иммунный анализ) в течение первого месяца жизни (вторая проба — ретест проводится через 3–4 недели при положительном результате первого обследования). При положительном результате ретеста ребёнку проводится потовый тест, и определяются показания для осуществления генной диагностики [5].

Уровень охвата неонатальным скринингом на МВ в ХМАО-Югре вырос с 84,5 % в 2006 году до 99,7 % в 2014 году (рис. 1). Более низкий показатель 2006 года связан с началом сплошного обследования новорожденных с июля указанного года. При этом среднемноголетний показатель составил 95,5 %.

Положительный первичный тест установлен в 4051-м случае (1,85 %), положительный ретест — в 590 случаях (0,27 % от всех обследованных), диагноз МВ установлен впервые у 19-ти детей, что составило 1 случай на 9095 новорожденных. Аналогичный показатель в РФ за период с 2007 по 2013 год составил 10 433, в Уральском федеральном округе в 2012 году — 9857.

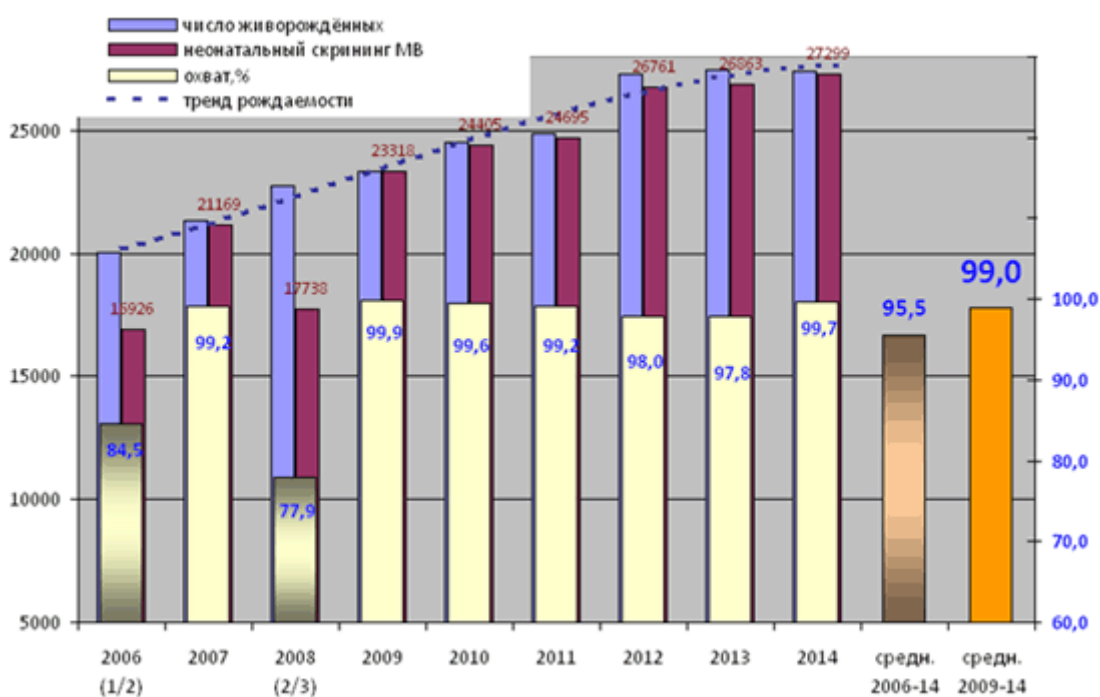


Рис. 1. Охват неонатальным скринингом на МВ в ХМАО-Югре в 2006–2014 годах

Отсутствие за этот период ложноотрицательных результатов скрининга обусловило максимально высокий уровень чувствительности метода ($Se = 100,0\%$), наличие 570-ти ложноположительных результатов (0,26 % обследованных) определило несколько более низкий показатель специфичности ($Sp = 99,7\%$ за весь период исследования), рис. 2. Всем детям с положительным результатом ретеста проводилось комплексное обследование в ОМГК: хлориды пота трижды и генная диагностика методом ПЦР на 10 мажорных мутаций, копроскопия. За изучаемый период отмечался рост числа детей

с положительным результатом теста на ИРТ (рис. 3) при отсутствии роста числа выявленных случаев МВ. Ложноположительный результат теста на МВ напрямую связан со снижением рекомендуемого фирмой-изготовителем реактива для скрининг-теста порогового уровня ИРТ: 2006 год — 75 нг/мл, 2007-2011 годы — 70 нг/мл, 2012 год — 65 нг/мл, 2013 год — 59 нг/мл, 2014 год — 57,8 нг/мл. Методом ранговой корреляции нами установлена сильная отрицательная связь между рекомендуемым пороговым значением ИРТ и числом ложноположительных результатов теста ($r = -0,78$; $p = 0,001$).

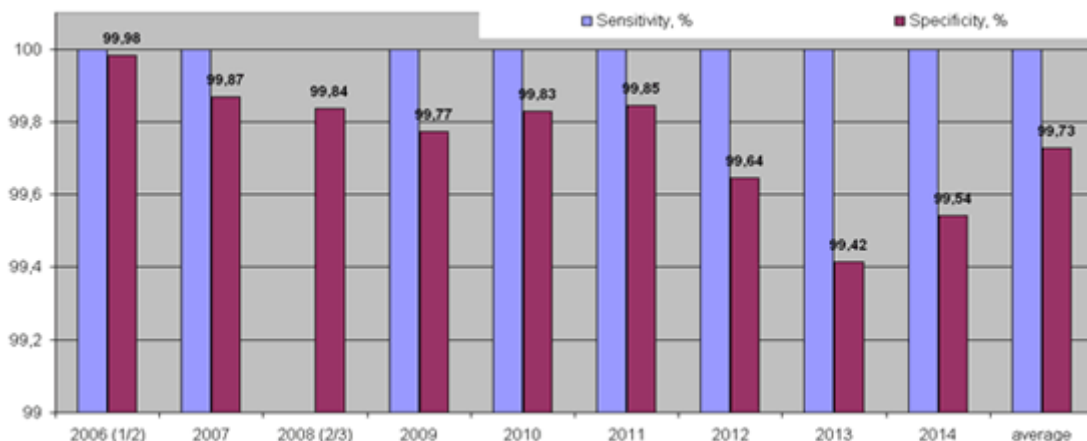


Рис. 2. Чувствительность и специфичность теста на ИРТ

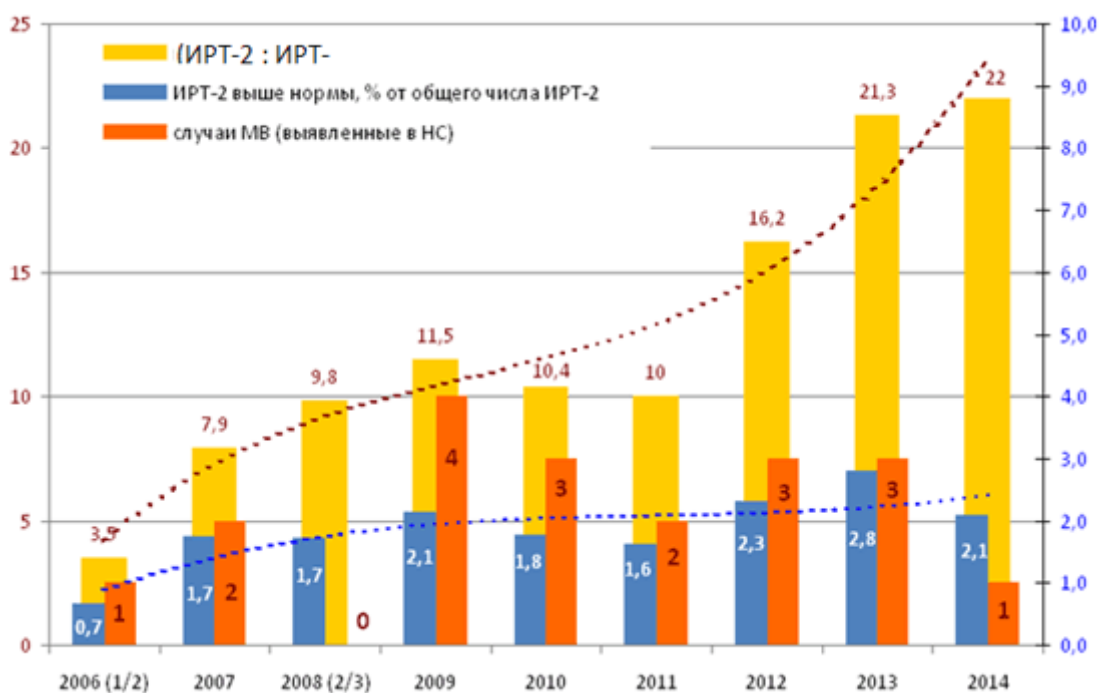


Рис. 3. Динамика частоты положительных результатов теста на ИРТ у новорождённых и числа выявленных случаев МВ за период с 2006 по 2014 год

Всем детям с положительным результатом ретеста проводилось комплексное обследование в ОМГК: потовый тест трижды и генетическая диагностика методом ПЦР с последующим фрагментным анализом на 10 мажорных мутаций. Анализ 10-ти мажорных мутаций проводили с помощью отечественного набора (ООО «ЦМГ», Россия) путем амплификации фрагментов ДНК методом ПЦР. В настоящее время регистр больных МВ в ХМАО-Югре включает 32 ребёнка и 9 взрослых, генная диагностика проведена всем пациентам. Диагностика более редких мутаций проводится за пределами

ХМАО-Югры в федеральных НИИ медицинской генетики. Методом секвенирования гена МВ обследованы 3 ребёнка. В ОМГК обследованы 23 человека. При этом полный генотип установлен в 4-х случаях, частичный — в 16-ти, не установлена мажорная мутация при наличии клиники МВ и высоком уровне хлоридов пота у 3-х пациентов (см. табл.). В целом мутация delF508 встречалась в гомо- и гетерозиготном положении или в компаунде в 73,9 % случаев установленного МВ.

Распределение обследованных пациентов с МВ (n = 23) по типу мажорных мутаций

Тип мутации	Число случаев
Полный генотип (n = 4)	
delF508 / delF508	2
delF508 / 621+1g>t	1
delF508 / L467F	1
Частичный генотип (n = 16)	
delF508 / ?	13
del121kb / ?	1
1677delTA / ?	2
Неизвестный генотип (n = 3)	
?? / ??	3

Выводы

1. Сплошное обследование новорожденных позволило осуществить раннюю диагностику МВ в ХМАО-Югре, установить и прогнозировать заболеваемость МВ с целью планирования ресурсов здравоохранения для оказания высокотехнологичной помощи этому контингенту больных.
2. С целью уменьшения ложноположительных результатов скрининга следует уточнить региональные референсные показатели ИРТ.
3. Для повышения качества молекулярной диагностики МВ следует увеличить спектр более редких мутаций для исследования методом ПЦР и внедрить метод секвенирования гена МВ.

Список литературы

1. Муковисцидоз / Под ред. Н. И. Капранова, Н. Ю. Каширской. — М. : «МЕДПРАКТИКА-М», 2014. — 672 с.
2. О массовом обследовании новорожденных детей на наследственные заболевания : Приказ МЗ РФ № 185 от 22.03.2006.
3. Potential impact of newborn screening for cystic fibrosis on child survival a systematic review and analysis / S. D. Grosse [et al.] // J. Pediatr. — 2006. — Vol. 149 (3). — P. 362-366.
4. Southem K. W. Determining the optimal newborn screening protocol for cystic fibrosis / K. W. Southem // Thorax. — 2012. — Apr. — 67 (4). — P. 281-282.
5. Толстова В. Д. Массовый скрининг новорождённых на муковисцидоз в России / В. Д. Толстова, Н. Ю. Каширская, Н. И. Капранов // Фарматека. — 2008. — № 1. — С. 1-5.

NEONATAL SCREENING AND GENETIC DIAGNOSTICS OF MUCOVISCIDOSIS IN KMAD-UGRA

M. Y. Donnikov¹, L. N. Kolbasin¹, I. A. Urvantseva^{1,2}, V. V. Meshcheryakov²

¹SE KMAD — Yugra «Regional cardiologic dispensary „Center of diagnostics and cardiovascular surgery“» (Surgut)

²SBEI HPE «Surgut State University of KMAD — Yugra» (Surgut)

The research objective was the assessment of efficiency of neonatal screening and gene diagnostics of mucoviscidosis (MV) in Khanty-Mansi Autonomous District-Yugra from 2006 for 2014. Average annual level newborns who had performed screening-test made 95,5%, the frequency of MV — 1 case on 9095 newborns. Sensitivity of method made 100%, specificity — 99,7%. Increase of number of false positive results of test correlated with decrease of the recommended threshold level of immunoreactive Trypsinum that defines the need of development of its regional reference sizes. Results of gene diagnostics of patients with MV showed prevalence of delF508 mutation in homozygous, heterozygotic state or in a compound in 73,9% cases.

Keywords: mucoviscidosis, children, diagnostics.

About authors:

Donnikov Maxim Yuryevich — laboratory geneticist, acting manager of laboratory unit of Medicogenetic consultation at SE KMAD — Yugra «Regional cardiologic dispensary „Center of diagnostics and cardiovascular surgery“», office phone: 8 (3462) 52-85-24, e-mail: donnikov@gmail.com

Kolbasin Lev Nikolaevich — candidate of medical science, geneticist, manager of Medicogenetic consultation at SE KMAD — Yugra «Regional cardiologic dispensary „Center of diagnostics and cardiovascular surgery“», office phone: 8 (3462) 52-85-18, e-mail: kollev@yandex.ru

Urvantseva Irina Aleksandrovna — candidate of medical science, honored Doctor of the Russian Federation, chief physician at SE KMAD — Yugra «Regional cardiologic dispensary „Center of diagnostics and cardiovascular surgery“», head of cardiological chair of medical institute at HEBE «Surgut State University of KMAD — Yugra», office phone: 8 (3462) 52-85-35, e-mail: info@okd.ru

Meshcheryakov Vitaly Vitalyevich — doctor of medical science, professor, head of pediatric illnesses chair at SBEI HPE «Surgut State University of KMAD — Yugra», office phone: 8 (3462) 76-30-51, e-mail: maryvitaly@yandex.ru

List of the Literature:

1. Mucoviscidosis / Under the editorship of N. I. Kapranov, N. Y. Kashirskaya. — M.: «MEDPRACTICE-M», 2014. — 672 P.

2. About mass inspection of newborn children on hereditary diseases: Order of MH of the Russian Federation N 185 of 22.03.2006.
3. Potential impact of newborn screening for cystic fibrosis on child survival a systematic review and analysis/S. D. Grosse [et al.]/J. Pediatr. — 2006. — Vol. 149 (3). — P. 362-366.
4. Southem K. W. Determining the optimal newborn screening protocol for cystic fibrosis/K. W. Southem//Thorax. — 2012. — Apr. — 67 (4). — P. 281-282.
5. Tolstova V. D. Mass screening of newborns on mucoviscidosis in Russia / V. D. Tolstova, N. Y. Kashirskaya, N. I. Kapranov // Farmateka. — 2008. — N 1. — P. 1-5.