
БИОЛОГИЯ

УДК 575.1

Мамедова Р.Ф.

Бакинский государственный университет

**ДИАГНОСТИКА НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
И ВРОЖДЕННЫХ ПОРОКОВ РАЗВИТИЯ У НОВОРОЖДЕННЫХ***

Аннотация. Генетический скрининг гемоглинопатий, недостаточности фермента Г6ФД, фенилкетонурии и гипотиреоза среди новорожденных осуществлялся с использованием современных диагностических методов. Были выявлены такие врожденные пороки развития, как гидроцефалия, анэнцефалия, Spina bifida, гипоспадия, криптархизм, скелетная аномалия. Определены генные и фенотипические частоты выявленных наследственных заболеваний.

Ключевые слова: наследственность, генетический паспорт, талассемия, Г6ФД, фенилкетонурия, гипотиреоз.

R. Mamedova

Baku State University

DIAGNOSTICS OF INHERITED DISEASES AND CONGENITAL DEVELOPMENT
LESIONS IN NEWBORNS

Abstract. Genetic screening of hemoglobinopathies, G6PD anzyme deficiency, phenylketonuria and hypothyreosis in newborns was carried out by means of modern techniques. Congenital development lesions as hydrocephalia, unencephalia, Spina bifida, hypospasia, cryptarchism, skeletal abnormalities were shown. Gen and phenotypic frequencies were calculated for the identified diseases.

Key words: heredity, gen passport, thalassemia, G6PD, phenylketonuria, hypothyreosis.

Введение

Частота наследственных заболеваний (НЗ) и врожденных пороков развития (ВПР) у детей в среднем составляет 5,7%, при этом на моногенные болезни приходится 1-1,2%, на хромосомные aberrации – 0,7-0,8%, на заболевания с наследственной предрасположенностью (полигенные – мультифакториальные болезни) – 3-3,3%, на генетическую несовместимость матери и плода по антигенам – 0,4%. В связи с невозможностью полного излечения и часто прогрессирующим характером НЗ и ВПР основным направлением в борьбе является их профилактика. Поэтому внимание медицинских генетиков все больше привлекает пренатальный и ранний неонатальный период. Основной организационной формой профилактики НЗ и ВПР, является ранняя постнатальная диагностика поддающихся лечению и медико-генетическое консультирование. Ранняя диагностика базируется на широком использовании современных биохимических и молекулярных методов обследования: массовый скрининг новорожденных. Скрининг новорожденных охватывает в настоящее время большинство государств и территорий. Следует отметить, что доказана клиническая эффективность скрининга фенилкетонурии, врожденного гипотиреоза, муковисцидоза, серповидноклеточной анемии и талассемий у новорожденных [7-16].

* © Мамедова Рена Фирудин кызы

За последние несколько десятилетий учеными Азербайджанской Республики было исследовано население на распространение некоторых наследственных заболеваний. К таким наследственным заболеваниям относится гемофилия, синдром Элерса Данлоса, гемоглинопатии, энзимопатии, аномалии скелета (врожденный вывих бедра), заболевания центральной нервной системы, зубо-челюстные аномалии, врожденные 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. Следует отметить, что существуют спорадические исследования гемоглинопатий и ферментопатий среди новорожденных Азербайджанской Республики, однако скрининг таких НЗ, как фенилкетонурия (ФКУ), гипотиреоз среди новорожденных не проведен [1-3; 5].

Учитывая вышеизложенное, целью наших исследований является изучение НЗ: ФКУ, гипотиреоза, дефицита фермента Г6ФД, гемоглинопатий и ВПР среди новорожденных г.Баку.

Материалы и методы исследований

Впервые нами разработан «Генетический паспорт новорожденного», включающий наиболее часто встречающиеся наследственные заболевания крови и метаболизма, ранее зарегистрированные среди населения Азербайджана. «Генетический паспорт новорожденных» представлен на рис. 1. Как видно из рисунка, внутренняя часть генетического паспорта составлена на двух языках: на первой странице представлен номер генетического паспорта, фамилия, имя и отчество матери (роженицы) новорожденного (ой), дата рождения, перечень анализов, примечание и фамилия и имя руководителя лаборатории ЦБН. Первая страница написана на русском языке. На второй странице представлено то же самое, только на английском языке.

<p style="text-align: center;">ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СПРАВКА № _____</p> <p>Дана _____</p> <p style="text-align: center;">(Фамилия, имя и отчество новорожденного)</p> <p>Дата рождения _____</p> <p>В том что ему (ей), начиная с _____ (Дата)</p> <p>произведены следующие анализы :</p> <p>1. Генная гемоглинотерация :</p> <p>* α – талассемия (HbH) _____</p> <p>* β – талассемия _____</p> <p>* анемия (HbS) _____</p> <p>* аномальная HbC _____</p> <p>* аномальная HbD _____</p> <p>* аномальная HbE _____</p> <p>* метемоглинемия _____</p> <p>(MetHb) _____</p> <p>2. Гемоглибин A_k (HbA_k) _____</p> <p>3. G6FD _____</p> <p>4. Триотропный гормон (TSH) _____</p> <p>5. Фенилкетонурия (FKU) _____</p>	<p>Примечание _____</p> <p>Зав. Лаборатории Центральной Клинической Диагностики _____ Э. Расулов</p> <p style="text-align: center;">GENETIC DATA № _____</p> <p>Given to _____ (name, surname, & father's name of newborn's mother)</p> <p>Born on _____</p> <p>about carried out analysis on the date _____</p> <p>1. Inherited hemoglobinopathies:</p> <p>* α - thalassemia (HbH) _____</p> <p>* β - thalassemia _____</p> <p>* sickle-cell anemia (HbS) _____</p> <p>* abnormal HbC _____</p> <p>* abnormal HbD _____</p> <p>* abnormal HbE _____</p> <p>* methemoglobinemia (MetHb) _____</p> <p>2. Hemoglobin A_k (HbA_k) _____</p> <p>3. G6FD _____</p> <p>4. Thyroid Stimulating hormone (TSH) _____</p> <p>5. Phenylketonuria (FKU) _____</p> <p>Notice: _____</p> <p>Head of Central Clinical-Diagnostik Laboratory _____ E. Rasulov</p>
---	--

Рис. 1. «Генетический паспорт новорожденных»

В «Генетический паспорт новорожденных» включены две группы наследственных заболеваний: 1. Генетические нарушения, которые наиболее часто встречаются среди населения Азербайджанской Республики. Это наследственные гемоглобинопатии, включающие β - и β -талассемии, структурно-аномальные гемоглобины: HbS, HbD, HbC, HbE; метгемоглобинемии, недостаточность фермента Г6ФД. Все вышеперечисленные генетические нарушения довольно часто встречаются [4; 6]. II-ая группа заболеваний, включенных в «Генетический паспорт новорожденных» – заболевания, которые встречаются с одинаковой частотой среди населения Земного шара.

Проведен скрининг тиреотропного гормона (ТТГ), ФКУ, гемоглобинопатий (ГП), недостаточности фермента Г6ФД в сыворотке крови новорожденных г.Баку. Материал собран в родильном отделении Центральной больницы нефтяников с 2003 по 2005 гг. Общее количество обследованных новорожденных – 1287 мальчиков и 1390 девочек. Кровь для анализов в количестве 1-1,5 мл брали в микропробирки эппендорф, содержащие антикоагулянт ЭДТА.

Для диагностики наследственных гемоглобинопатий среди новорожденных мы использовали комплекс методов, включающий аналитический метод изоэлектрофокусирования на полиакриламидно-амфолиновых пластинках с рН 3,5-9,5 и 5,5-8,5, электрофорез гемолизата на ацетат-целлюлозных пленках, проба на серповидность, проба на растворимость гемоглобина, количественное определение фетального гемоглобина и определение осмотической резистентности эритроцитов. У 50-ти новорожденных из 1128 обследованных удалось идентифицировать носительство гена α -талассемии, β -талассемии, аномального гемоглобина S и D. Для диагностики ФКУ 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.

Результаты собственных исследований

Уровень ТТГ определяли в первые 3-5 дней жизни новорожденного. При уровне ТТГ от 30 мЕ/л до 50 мЕ/л тест повторяли. При уровне более 50 мЕ/л 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). Наибольшее количество новорожденных имели 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 тиреотропного гормона; 30-40 мЕ/л – 121 новорожденный (13,88%), 40-50 мЕ/л – 30 новорожденных (3,69%), 50-60 мЕ/л – 10 новорожденных (1,23%) и выше 60 мЕ/л – 11 новорожденных (1,35%). Установлены гипо- и гиперфункция щитовидной железы, что напрямую связано с дальнейшими нарушениями ЦНС у детей. Также установлена связь между повышенными значениями ТТГ и HbA_{1c}.

Скрининг ФКУ в моче среди 1827 новорожденных позволил у четверых обнаружить на пленке 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 показал 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. В семье М.А. супруги имели кровное родство второй степени, параллельный тип; матери которых являлись родными сестрами.

Клинико-генеалогическое исследование каждого из новорожденных позволило нам дополнительно к гипотиреозу, ГП и ФКУ выявить в трех случаях синдром Дауна с генотипами: в одном случае - 47,XX; и 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%), а также Spina bifida, гемолитическую болезнь новорожденных, гидроцефалию, анэнцефалию, аномалии скелета, в том числе полидактилию, крипторхизм и гипоспадию у мальчиков. У двух новорожденных наблюдали спинномозговую 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 супругами больного ребенка не имелось кровного родства.

У 28 новорожденных был поставлен диагноз «гемолитическая болезнь новорожденного» (ГБН). 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 удалось 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. У 22 мальчиков с гемизиготным носительством идентифицировано два фенотипа: Г6ФД (-) (15 мальчиков) и Г6ФД (+) (семь мальчиков).

У четырех новорожденных наблюдали гидроцефалию, по одному случаю анэнцефалию и полидактилию. Аномалии скелета была выявлена у пяти новорожденных: косолапость (2 случая), укорочение верхних и нижних конечностей (2 случая) и один случай – шестипалость. У пяти мальчиков наблюдали крипторхизм: в трех случаях – двухсторонний, в двух случаях правосторонний крипторхизм. В одном случае у новорожденного мальчика была выявлена гипоспадия.

Таким образом, генетический скрининг новорожденных позволил нам диагностировать недостаточность гипотиреоза, установить такие формы наследственных ГП как α - и β -талассемии, структурно-аномальные гемоглобины типа S и D, дефицит фермента Г6ФД, ФКУ, а также Синдром Дауна, Spina bifida, ГБН, гидроцефалию, анэнцефалию, аномалии скелета, крипторхизм и гипоспадию. Ретроспективное медико-генетическое консультирование семей с генетическим риском и проведение пренатальной диагностики у плода позволит снизить рождаемость детей с НЗ и ВПР.

Выводы

Впервые нами разработан «Генетический паспорт новорожденного», включающий наиболее часто встречающиеся заболевания крови и метаболизма, ранее зарегистрированные среди населения Азербайджана.

1. Выявлены такие формы наследственных ГП, как α - и β -талассемии, структурно-аномальные гемоглобины типа S и D.

2. Установлено изменение значения ТТГ у 2,58% обследованных новорожденных с наличием повышенных значений HbA_{1c} .

3. Идентифицировано два фенотипа для гемизиготной формы дефицита фермента Г6ФД: Г6ФД «+» и Г6ФД «-» фенотипа.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Гараев З.И., Алиева К.А., Расулов Э.М. Аномалии прикуса и инбридинг // Цитология и генетика, 1997. – Т. 1. – № 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 лечение 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 // Цитология и генетика, Украина, 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. – М., 2000. – С. 374-375.
6. Расулов Э.М. и др. Популяционно-генетические исследования наследственных заболеваний в Азербайджанской Республике: Сообщение II. Распространение недостатка Г6ФД и гена β -талассемии в Кахском районе / Материалы конференции, посвященной актуальным вопросам перинатологии и гинекологии. – Баку, 1998. – С. 85-87.
7. Farrell P.M, Kosorok M.R, Rock M.J. et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. // Pediatrics, 2001, v.107, p. 1-13.
8. U.S. Congress, Office of Technology Assessment. Healthy children: investing in the future. Washington, D.C.: Government Printing Office, 1988, p.345
9. Lees C.M., Davies S., Dezateux C. Neonatal screening for sickle cell disease. Cochrane Database Syst Rev., 2000 ; 2 : CD001913-CD001913.
10. Albers S. et al. Detection of neonatal carnitine palmitoyltransferase II deficiency by expanded newborn screening with tandem mass spectrometry // Pediatrics, 2001, – V. 107. – P. 1417-1417.
11. Ranieri E. et al. The introduction of tandem mass spectrometry into the South Australian Neonatal Screening Programme: benefits and costs // J. Inherit Metab. Dis., 2000. – V. 23, Suppl. 1. – P. 3.
12. 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. – V. 23, Suppl 1. – P. 4.
13. Wilcken B., Wiley V., Sim K.G., Carpenter K. Carnitine transporter defect diagnosed by newborn screening with electrospray tandem mass spectrometry // J. Pediatr., 2001. – V. 138. – P. 581-584.
14. Wiley V., Carpenter K., Wilcken B. Newborn screening with tandem mass spectrometry: 12 month's experience in NSW Australia // Acta Paediatr Suppl., 1999. – V. 88. – P. 45-51.
15. 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. – V. 47. – P. 1945-1955.
16. Wood J.C., Magera M.J., Rinaldo P., Seashore M.R., Strauss A.W., Friedman A. Diagnosis of very long chain acyl-dehydrogenase deficiency from an infant's newborn screening card // Pediatrics, 2001. – V. 108. – P. 173-174.