



# НЕОНАТАЛЬНЫЙ СКРИНИНГ АДРЕНОГЕНИТАЛЬНОГО СИНДРОМА В МОСКВЕ — ПЕРВЫЙ АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ

Т.В. Семичева<sup>1</sup>, Е.В. Денисенко<sup>2</sup>, Н.Ю. Калининко<sup>1</sup>, С.А. Прокофьев<sup>1</sup>, А.Н. Тюльпаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГУ Эндокринологический научный центр Росмедтехнологий  
(дир. — академик РАН и РАМН И.И. Дедов)

<sup>2</sup> Московский центр неонатального скрининга

Неонатальный скрининг аденогенитального синдрома (АГС) начал проводиться в Москве с июня 2006 г. — в срок, рекомендованный приказом №185 МИНЗДРАВСОЦРАЗВИТИЯ о массовом обследовании новорожденных для выявления наследственных заболеваний. Первичный этап скрининга проходит в Московском центре неонатального скрининга (зав. — Е.В. Денисенко), где проводится обследование новорожденных для выявления и других наследственных заболеваний, утвержденных приказом (фенилкетонурия, врожденный гипотиреоз, галактоземия, муковисцидоз).

Москва — огромный мегаполис, в котором число родов достигает 100 тыс. в год. Число новорожденных в Москве сопоставимо с числом новорожденных во многих европейских странах, где первичный этап скрининга проводят 2—3 лаборатории. Кроме большой количественной нагрузки, условия мегаполиса значительно усложняют задачу повторного вызова новорожденных на обследование. Довольно часто официальный адрес, указанный в сопровождающих документах, не соответствует адресу реального проживания матери и ребенка, многие роженицы не являются коренными москвичками и имеют только временную регистрацию. Несмотря на приказ Департамента здравоохранения Москвы №240, в котором четко определены стационары, где должна проводиться уточняющая диагностика у детей с повышенным уровнем 17-ОП, в реальной жизни дети обследуются и лечатся в неспециализированных детских больницах и научных медицинских центрах города, что значительно затрудняет анализ результатов скрининга.

Несмотря на организационные трудности, масштаб проводимых исследований позволяет создать референсные интервалы уровней 17-ОП у новорожденных, родившихся на различных сроках гестации и с различной массой

тела, и после анализа первых результатов оптимизировать методологию неонатального скрининга.

Подведение первых итогов программы неонатального скрининга позволяет выяснить реальную эффективность ранее применявшихся методов диагностики АГС, так как до введения программы скрининга уже имеются данные по Москве о частоте выявления АГС. До введения программы неонатального скрининга в течение 3 лет Эндокринологический научный центр совместно с Московским эндокринологическим диспансером проводили анализ качества диагностики и лечения детей с АГС. По предварительным данным, ориентировочная частота заболевания составила 1 на 15 700 новорожденных. При анализе сроков диагностики различных форм АГС у девочек и мальчиков было выяснено, что средний возраст диагностики сольтеряющей формы заболевания у мальчиков составил 30 дней, и лечение детей начиналось уже на фоне сольтеряющего криза. Медиана возраста диагностики вирильной формы заболевания у мальчиков составила 5,7 года, т.е. обследование детей начиналось только при появлении симптомов преждевременного полового развития (костный возраст достигал 13—13,5 лет)! Результаты анализа доказали настоятельную необходимость внедрения программы скрининга среди новорожденных детей.

В период подготовки к введению скрининга нами были разработаны и опубликованы методические рекомендации по алгоритму проведения скрининга и интерпретации его результатов [1]. В основу этих рекомендаций были положены рекомендации рабочей группы Европейского общества педиатров-эндокринологов (ESPE) и опубликованные итоги национальных скрининговых программ европейских стран и США [2—4]. В рекомендациях определены пороговые

уровни (cut-off) 17-ОП для доношенных и недоношенных детей и указаны критические уровни 17-ОП, обуславливающие необходимость немедленного эндокринологического обследования или повторного тестирования.

На основе созданных нами рекомендаций была начата программа скрининга в Москве и в других регионах России. Мы понимали несовершенство предложенного алгоритма, особенно для недоношенных и маловесных детей. Действительно, наибольшие сложности в интерпретации результатов отмечены именно при обследовании этих категорий новорожденных, что закономерно вызвало огромное количество вопросов у врачей-генетиков и педиатров-эндокринологов. Отсутствие четкой информации о нормальных колебаниях уровня 17-ОП у новорожденных, родившихся на разных сроках гестации, приводит к большому количеству повторных исследований, не только повышающих стоимость скрининга, но и создающих психотравмирующую ситуацию в семьях детей из-за повторных вызовов на обследование. Настало время провести анализ скрининга и внести определенные коррективы в его методологию.

Цель исследования состояла в анализе результатов неонатального скрининга АГС в Москве для уточнения пороговых уровней 17-ОП в диагностическом алгоритме.

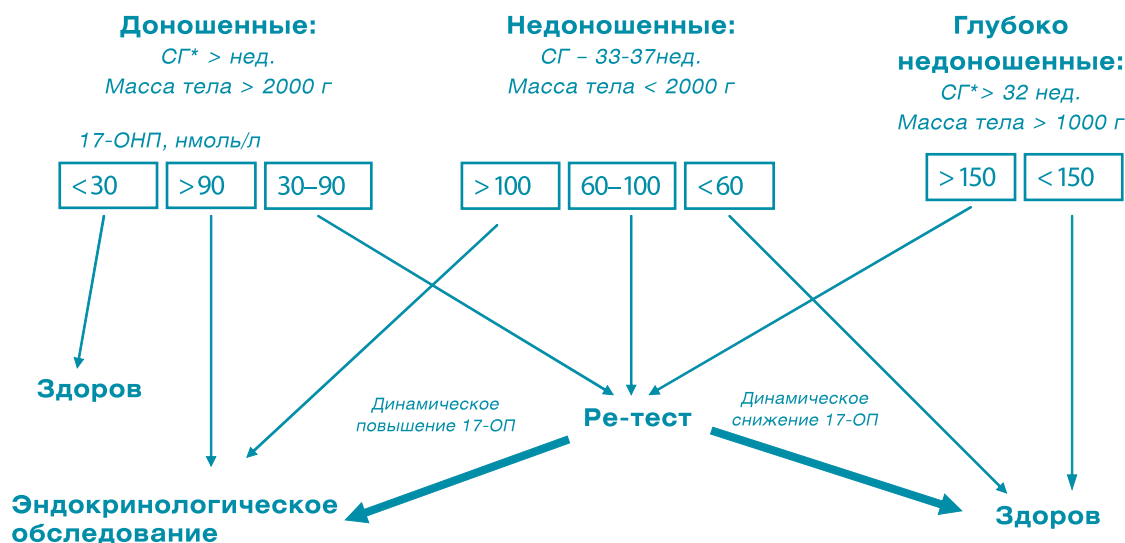
### Материалы и методы

С июня 2006 г. по октябрь 2007 г. по программе неонатального скрининга АГС обследованы 152 076 новорожденных, что составило 100% всех родивших детей в Москве за этот период. Первичный этап скрининга и повторное обследование новорожденных осуществляли в

Московском центре неонатального скрининга. Клиническое обследование детей с повышенными уровнями 17-ОП проводили в Тушинской, Морозовской больницах, в Педиатрическом научном центре и Эндокринологическом научном центре. Уточняющую молекулярную диагностику (выявление мутаций в гене *CYP21*) выполняли в лаборатории иммунологии и генетики (зав. — С.А. Прокофьев) и в отделении наследственных заболеваний у детей (зав. — А.Н. Тюльпак) ФГУ ЭНЦ Росмедтехнологий.

Первичный этап скрининга проводили по стандартной методике. Забор капиллярной крови и ее нанесение на фильтровальную бумагу осуществляли у доношенных детей на 3—4-е сутки жизни, у недоношенных — на 7—14-е сутки жизни. Образцы доставляли в Московский центр неонатального скрининга, где проводилось определение уровня неонатального 17-ОП методом флюорометрического анализа с использованием стандартных наборов Delfia Neonatal 17-ОП (Финляндия). Согласно рекомендованному алгоритму, верхней границей нормы для доношенных детей является уровень 17-ОП 30 нмоль/л, для недоношенных детей, родившихся на 33—36-й неделе гестации — 60 нмоль/л, для глубоко недоношенных — 150 нмоль/л. Доношенные дети с уровнем 17-ОП >90 нмоль/л должны быть направлены к эндокринологу для проведения уточняющей диагностики. Доношенным детям с уровнем 17-ОП от 30 до 90 нмоль/л и всем недоношенным детям с уровнем 17-ОП выше нормы должно быть проведено повторное определение 17-ОП и при повторном получении повышенных значений 17-ОП ребенок должен быть обследован эндокринологом (рис. 1).

Рисунок 1. Алгоритм неонатального скрининга АГС.



\* СГ – срок гестации



### Результаты и обсуждение

Повышенный уровень 17-ОП после первичного обследования выявлен у 1236 (0,8%) обследованных. Из общего числа этих детей 473 (38%) были недоношенными, причем 257 (21%) — глубоко недоношенными. Всем им было проведено повторное определение 17-ОП через 7—10 дней после первичного обследования. Число детей с повторным повышением уровня 17-ОП сократилось до 149, из них 45 (30%) были недоношенными. После уточняющей диагностики, проведенной 149 детям, диагноз АГС поставлен 14, причем все дети с АГС родились доношенными (рис. 2). Таким образом, лишь у 1% детей из числа новорожденных с первичным повышением уровня 17-ОП на скрининге имелось заболевание, у 99% результаты были ложноположительными. Столь низкая специфичность указывает на неоправданное занижение пороговых (cut-off) уровней 17-ОП для недоношенных детей.

С трудностями интерпретации результатов скрининга у недоношенных детей сталкиваются исполнители скрининговых программ во всех странах. В рекомендациях ESPE четко регламентирован алгоритм скрининга только для доношенных детей. Для недоношенных новорожденных рекомендовано создавать референсные значения с учетом сроков гестации на момент рождения и на основании полученных данных определять пороговые уровни 17-ОП. Все организаторы скрининговых программ находятся перед выбором референсных интервалов 17-ОП: высокое значение (cut-off) повышает специфичность, но снижает чувствительность скрининга, другими словами высокий порог позволит снизить количество ложноположительных результатов и количество повторных исследований, но повысит вероятность пропустить больного ребенка.

Создавая методические рекомендации по проведению скрининга, мы выбирали пороговые уровни 17-ОП для недоношенных детей на основе референсных значений, предложенных L. Gruneiro-Papedesh и соавт. [5]. Необходимо признать, что предложенные нормативы 17-ОП представляли 99-й перцентиль для каждой недели гестационного возраста, и были наиболее низкими из всех предложенных ранее. Существуют публикации, в которых предлагаются cut-off для новорожденных, рожденных на 35—36-й неделе, >150 нмоль/л, а для глубоко недоношенных — >300 нмоль/л [3, 4]. Наша осторожность была вполне оправдана, так как на том этапе мы не имели собственного опыта проведения скрининга и расчета нормативных значений для уровня 17-ОП у недоношенных детей, как и не предполагали получить такое

Рисунок 2. Результаты неонатального скрининга АГС в г. Москве.



количество детей, нуждающихся в повторном уточняющем определении уровня 17-ОП.

Первые результаты и подведение итогов работы прежде всего предполагает разработку собственных референсных уровней для детей с различным гестационным возрастом и массой тела к моменту рождения. Это станет возможным в ближайшем будущем, когда будет установлена компьютеризированная база данных, позволяющая быстро анализировать полученные результаты. Однако уже сегодня очевидна необходимость коррекции референсных уровней 17-ОП для недоношенных и глубоко недоношенных детей.

Согласно данным, представленным в табл. 1, 257 детей, рожденных на 23—32-й неделе, и 216 детей, рожденных на 33—36-й неделе гестации, нуждались в повторном исследовании, т.е. уровень 17-ОП у них превышал 150 и 60 нмоль/л соответственно. Ни у одного из этих детей не было выявлено АГС. Поэтому оправданным будет повышение пороговых значений для детей, рожденных на 33—36-й неделе гестации до 100 нмоль/л, а для глубоко недоношенных детей (23—32-я неделя) — до 200 нмоль/л. Получение новых данных и их последующий анализ обусловят необходимость дальнейшей коррекции нормативных значений 17-ОП для недоношенных новорожденных.

После повторного теста повышение уровня 17-ОП отмечено у 149 детей (0,08% всех обследуемых), 45 (30%) из них были недоношенными. Все выявленные дети были вызваны на эндокринологическое обследование, и, как указано выше, диагноз был подтвержден у 14 (9,3%) из них. Эти показатели заметно отличаются от отчетов европейских программ скрининга. В

частности, в Швейцарии на эндокринологическое обследование были вызваны 0,018% всех обследуемых детей, из них диагноз АГС был подтвержден у 50% [6]. Мы предполагаем, что повышение пороговых уровней 17-ОП для недоношенных детей значительно сократит число детей, вызванных не только для повторного исследования, но и для эндокринологического

обследования. Таким образом, для недоношенных новорожденных существует реальная возможность снизить число повторных вызовов. Уже в ближайшее время планируется введение в клиническую практику стероидного анализа методом тандемной масс-спектрометрии. Исследование может проводиться на сухом пятне крови ребенка, полученного при ретестирова-

Таблица 1. Распределение новорожденных с повышенным уровнем 17-ОП при первичном обследовании в зависимости от срока гестации на момент рождения

Гестационный возраст	Число новорожденных	
	абс.	%
Доношенные (более 36 нед)	763	62
Недоношенные (33—36 нед)	216	17
Глубоко недоношенные (23—32 нед)	257	21
Итого	1236	100

Таблица 2. Клинические и лабораторные показатели детей с АГС, выявленных при скрининге

№	Инициалы	Пол	Срок гестации, нед.	Форма заболевания	Уровень 17ОП (тест/ретест), нмоль/л
1	А. М.	Ж	> 36	Вирильная	47/57,7
2	Ш. Н.	М	> 36	Вирильная	56,6/68,1
3	А. М.	Ж	> 36	Вирильная	32/46,6
4	М. А.	Ж	> 36	С/т	157/284
5	Д. В.	Ж	> 36	С/т	838,8/838,8
6	С. А.	Ж	> 36	С/т	736/736
7/8	П.А. <sup>1</sup>	М	> 36	С/т	652/423
9	М. О.	М	> 36	С/т	36,6/387
10	А. Т.	Ж	> 36	С/т	1600/765
11	Д. А.	Ж	> 36	С/т	683/1980
12	П. Д.	М	> 36	С/т	484,3/502
13	Б. Н.	Ж	> 36	С/т	286,4/846
14	Т. Д.	М	> 36	С/т	846/839,7

Примечание: С/т — сольтеряющая

<sup>1</sup> ребенок из двойни, первый умер на 5-ые сутки — множественные пороки развития



нии, и позволит избежать повторного вызова на эндокринологическое обследование большинства детей.

Для доношенных детей алгоритм скрининга определен достаточно четко. Верхним пределом нормы рекомендовано считать уровень 17-ОП 30 нмоль/л. Детям, имеющим уровень 17-ОП в пределах от 30 до 90 нмоль/л, необходимо повторное тестирование. Дети с уровнем 17-ОП >90 нмоль/л нуждаются в немедленном обследовании эндокринолога. На табл. 2 представлены уровни 17-ОП у детей с подтвержденным диагнозом АГС.

У большинства детей с сольтерьющей формой заболевания уровень 17-ОП многократно превышал пороговый, только у одного больного при первичном обследовании соответствовал 36,6 нмоль/л, и только при повторном тестировании достиг 387 нмоль/л. Трудно найти объяснение этому факту, возможно — техническая лабораторная ошибка или же ребенок получал глюкокортикоидные препараты. Небольшие повышения уровня 17-ОП выявлены также у детей с диагностированной вирильной формой заболевания. Хотя у этих пациентов диагноз не был подтвержден методом молекулярного анализа, у них нельзя исключить наличие неклассической формы АГС. Двое из них — девочки без вирилизации наружных половых органов при рождении, лечение им пока не назначено. В любом случае пока нет оснований снижать cut-off для доношенных детей.

Следует отметить реальную высокую информативность скрининга для доношенных детей с сольтерьющей формой заболевания. Уровни 17-ОП у детей с сольтерьющей формой АГС при первичном обследовании были в пределах 157—1600 нмоль/л, на этапе обследования эндокринологом у всех детей уже имелись нарушения электролитного баланса. Ранняя диагностика при проведении скрининга позволила начать лечение глюко- и минералокор-

тикоидами уже на 10—20-е сутки, до тяжелых клинических проявлений сольтерьющего криза. У двух новорожденных девочек с высокой степенью вирилизации (Прадер 5), скрининг позволил избежать ошибок в выборе половой принадлежности. Для обсуждения диагностики простой вирильной формы заболевания пока не получено достаточного количества данных: необходимы накопление информации и ее постепенное осмысление.

### Выводы

1. Внедрение неонатального скрининга АГС в Москве позволило определить реальную распространенность заболевания, составившую 1: 10 863 новорожденных.
2. Высокий процент новорожденных, вызванных на ретестирование, снижает специфичность скрининга и обуславливает необходимость создания нормативных показателей для уровня 17ОП у детей в зависимости от гестационного возраста и массы тела к моменту рождения.
3. Рекомендовано повысить порог уровня 17-ОП, требующий ретестирования, для детей, рожденных на 33—36-й неделе, до 100 нмоль/л, а для глубоко недоношенных детей (23—32 неделе) — до 200 нмоль/л.
4. Принятие новых, более высоких нормативов сократит число неоправданных вызовов детей на ретестирование, создающих травмирующую ситуацию в семье и повышающую стоимость скрининга.
5. Показана высокая эффективность скрининга для доношенных детей с сольтерьющей формой заболевания. Лечение этих детей начато на 10—20-е сутки жизни, до развития тяжелых клинических проявлений сольтерьющего криза.

### Литература

1. Петеркова В.А., Семичева Т.В., Тюльпаков А.Н. и др. Программа по организации диагностики и лечения адреногенитального синдрома при массовом обследовании новорожденных (неонатальный скрининг), методические рекомендации, утвержденные Минздравсоцразвития. М 2006; 22.
2. Honour J.W. et al. Procedure for Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia due to 21-Hydroxylase Deficiency. Hormone Res 2001; 55: 201—205.
3. Nordenstrom A., Wedell A., Hagenfeldt L. et al. Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia: 17-Hydroxyprogesterone Levers and CYP 21 Genotypes in Preterm Infants. Pediatrics 2001; 108: 68—75.

4. Van der Kamp H.J., Noordam K., Elvers B. et al. Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in the Netherlands. Pediatrics 2001; 108: 1320—1324.
5. Gruneiro-Papendieck L., Prieto L., Chiesa A. et al. Neonatal Screening Program for Congenital Adrenal Hyperplasia: Adjustments to the Recall Pro-tocol. Hormone Research 2001; 55: 271—277.
6. Steigert M., Schoenle E.J., Biason-Lauber A., Torresani T. High Reliability of Neonatal Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in Switzerland. The J of Clin Endocrinol Metabol 2002; 87: 9: 4106—4110.

Поступила 27.02.2008