

година XXVI • број 101 • декември 2018

VOX *medici*



ГЛАСИЛО НА ЛЕКАРСКАТА КОМОРА НА МАКЕДОНИЈА

Неонатален скрининг во Република Македонија

Апстракт

Неонатален скрининг претставува популациона програма за општествена грижа за здравјето на секое новороденче, со цел намалување на морбидитетот и морталитетот од биохемиски и генетски заболувања. Капка крв од петицата на новороденото се зема 48 часа по раѓањето, на специјална филтер хартија (Whatman 903) и се испраќа до Лабораторијата за неонатален скрининг за натамошна анализа. Во Република Македонија се воведени три неонатални скрининг програми, финансирани од Министерството за здравство. Скринингот за конгенитален хипотироидизам се изведува од 2002 година, а се откриени 153 новородени со примарен хипотироидизам, метаболниот скрининг е воведен во 2014 година како селективен, а се откриени 8 новородени со вродени грешки во метаболизмот, додека скринингот за цистична фиброза е воведен во мај 2018 година како пилот студија, а се откриени 3 деца со цистична фиброза. Имплементирањето на неонаталните скрининг програми ја потврдува непобитната корист од раното откривање и навремената терапија на вродените болести, како и бенефитот од генетското советување на семејствата со засегнато дете.

Клучни зборови: неонатален скрининг, конгенитален хипотироидизам, метаболни болести, цистична фиброза

Вовед

Неонаталниот скрининг е една од програмите кои имаат најголем придонес во подобрувањето на детското здравје воопшто. Неговата вредност се споредува со револуцијата што се

бројни студии покажуваат дека раното откривање на ризикот за болести и нивното навремено дијагностицирање има силно влијание не само врз поединечните пациенти, туку и врз здравствениот систем во една земја воопшто. Со неонаталниот скрининг се открива ризикот кај новородените за болести кои не можат клинички да се дијагностицираат доволно рано, најчесто заради клиничката слика која е атенуирана веднаш по раѓањето, а нелекувана се пројавува подоцна со тешки последици

случи со воведувањето на асепсата и примената на антибиотиците во медицината. Бројни студии покажуваат дека раното откривање на ризикот за болести и нивното навремено дијагностицирање има силно влијание не само врз поединечните пациенти, туку и врз здравствениот систем во една земја воопшто^(1,2). Со неонаталниот скрининг се открива ризикот кај новородените за болести кои не можат клинички да се дијагностицираат доволно рано, најчесто заради клиничката слика која е атенуирана веднаш по раѓањето, а нелекувана се пројавува подоцна со тешки последици. Кога ќе се открие ризик со скрининг се пристапува кон дијагностичка постапка. Раното дијагностицирање, пред клиничката манифестација на болеста, е клучно за исходот од лекувањето. Кај дел од болестите кои подлежат на скрининг со навремено лекување се превенира менталната ретардација.

Почетоците на неонаталниот скрининг се поврзани за Robert Guthrie, кој во 1960 година развил скрининг за фенилкетонурија и систем за собирање и транспорт на примероци од исушени капки крв на филтер хартија. Историски гледано, само лимитиран број на болести можеле да се откријат со анализа на суви капки крв поради ограничените технички можности⁽¹⁾. Ефикасноста и корисноста на неонаталните скрининг програми се во

зависност од интергацијата на следните елементи: собирање на примероците за анализа, тестирање во централизирана лабораторија, поставување на дијагноза, навремен третман и следење на развојот на засегнатите деца. Оправданоста на неонаталните скрининг програми се темели на тестирање на корисноста, техничките можности, економските придобивки, од една страна, и придобивките за детектираните болни деца, нивните семејства и општеството, од другата страна. Корисноста на програмите за неонатален скрининг (cost-effectiveness) е дефинирана како ниска цена за постигнување на успех во лекувањето, но примарно не се однесува на штедење на материјални средства, туку пред сè се однесува на максимално подобрување на здравјето со рационални финансиски инвестиции. Основните препораки за една болест да биде опфатена со неонатална скрининг програма се: болеста да е доволно тешка (не се скринира за благи и здравствено небитни состојби); болеста да е доволно честа (за да се исплатува скринингот - cost бенефит); да постои лесено достапен, едноставен и сигурен тест за откривање на ризикот (со доволна специфичност и сензитивност, за да нема многу лажно позитивни и лажно негативни резултати); да постои докажан ефикасен третман; да постои исплатливост (скринингот за сите новородени да е

поевтин отколку терапевтските и рехабилитационите процедури за ненавремено откриените новородени); да постои организационен систем за собирање на капки од петицата на новородените и нивно испраќање во акредитирана лабораторија; да има ефикасен систем за известување и повикување на ризичното новородено за дефинитивна дијагностичка постапка; да постои финансиско покривање преку државна програма ^(1,2).

Иако овие препораки главно се почитуваат, некои од нив се менуваат зависно од можностите на земјата. Така, во поразвиените земји се скринира и за многу ретки болести, за кои не постои ефективна терапија, бидејќи се смета дека раното откривање и лекување, иако не доведува до излекување, може да ја ублажи клиничката слика, да овозможи генетско советување за семејството или да помогне во планирање средства од здравствениот систем за лекување (ретките болести се често наследни и имаат потреба од ексклузивна и скапа терапија) ⁽³⁾. Бројот на болести за кои се скринираат новородените во светот постојано расте. Сепак, тој број е различен во различни земји, почнувајќи од ниедна, неколку, па до над 50, зависно од нивната зачестеност, но и од финансиските можности на државите ⁽³⁾.

Првите болести опфатени со скрининг во светот се вродениот хипотироидизам и фенилкетонурија, за со развојот на новата технологија да се придружат многу други вродени и наследни болести. Во Република Македонија првите активности за национален неонатален скрининг датираат уште од крајот на минатиот век, но вистинските активности се почнати во април 2002 година со започнување на пилот студија за тироиден скрининг, за истиот да стане национален како дел од „Превентивната програма за заштита на мајки и деца“ во 2007 година. Кон крајот на 2013 година е почнат неонатален скрининг за повеќе од 40 вроде-

Табела 1. Инциденца на КХ во различни региони од Македонија, во период 2002-2017

Региони во Македонија	Број на скринирани новородени	Новородени со Примарен КХ	Инциденца на Примарен КХ
Источен	14 961	3	1/4987
Северноисточен	17 392	12	1/1449
Пелагонија	35 208	26	1/1354
Полог	34 161	22	1/1553
Скопје	143 377	62	1/2313
Југозападен	19 561	6	1/3260
Југоисточен	17 430	9	1/1937
Вардар	13 819	13	1/1063
Вкупно	295 009	153	1/1934

ни грешки во метаболизмот, а во мај 2018 година се воведува скринингот за цистична фиброза.

Неонаталниот скрининг се изведува во Лабораторијата за неонатален скрининг при Универзитетската клиника за детски болести во Скопје, единствена од ваков вид во државата ⁽⁴⁾.

Материјал и методи

Ретроспективна анализа на резултатите од неонаталните скрининг програми во Република Македонија во периодот април 2002 - септември 2018 година.

Резултати

Скрининг за конгенитален хипотироидизам

Тироидниот скрининг е опфатен во најголемиот број земји од Европа (исклучок се Албанија, Косово, БиХ). Во Република Македонија пилот програмата е почната во април 2002 година, за половина од неонаталната

популација во државата, со скринирање на новородените од поголемите породилишта, за во 2007 година да се опфати целата неонатална популација во државата ⁽⁴⁾. Се одредува концентрацијата на тиреостимулирачкиот хормон (ТСХ) во сува капка крв земена од петицата на новороденото и нанесена на специјална филтер хартија (Whatman 903), 48 часа по раѓањето, со имунофлуориметриска метода (DELFLIA). Резултатот се добива со отчитување на интензитетот на добиена флуоресценција, по инкубација 18 часа на температура од 40°C, на флуориметар VICTOR D2. Интензитетот на флуоресценцијата е пропорционален со концентрацијата на ТСХ во испитуваниот примерок, изразен во mIU/l. Референтна вредност за ТСХ кај новородените е под 10 mIU/l. Доколку се добијат повисоки вредности, се зема венска крв од новороденото и со одредување на концентрацијата на ТСХ во серум се

поставува дијагнозата. Неонаталниот тироиден скрининг станува национална популациона програма задолжителна за секое новородено во државата од почетокот на 2007 година (~23,000/годишно), како дел од „Превентивните програми за заштита на мајки и деца“ на Министерството за здравство на Република Македонија. Во периодот од април 2002 до 2017 година вкупно се скринирани 295. 909 новородени, со покриеност на породилиштата од 96,9%. Откриени се вкупно 153 новородени со примарен хипотироидизам, со инциденца од 1/1976 и женска преобладајќија (однос женски - машки 1,35:1). Забележана е регионална разлика во инциденцата на примарен хипотироидизам, таа е најниска во Источниот регион (1/4987), а највисока во Вардарскиот регион (1/1063) од Македонија (Табела 1),^(3,5).

Од сите дијагностицирани новородени, 116 (75,8%) имаат перманентен хипотироидизам и 37 (24,2%) имаат транзитoren хипотироидизам (Табела 2),⁽⁶⁾.

Не постои разлика во инциденцата на КХ помеѓу Македонците и Албанците, но затоа кај ромската популација инциденцата е статистички сигнификантно повисока^(3,7). Покрај веќе споменатите придобивки за здравјето на децата, тироидниот неонатален скрининг е еден од параметрите за проценка и следење на јодната суфициентност во државата⁽⁸⁾.

Метаболен скрининг

Голем број болести ги исполнуваат условите за скрининг и се вклучени во скрининг програмите на различни земји^(3,9). Фенилкетонуријата (PKU) со инциденца од околу 1/10,000 новородени се постави како пример на сцената за дефинирање на критериумите за вклучување на една болест во скрининг програма. Нелекувана во првите месеци по раѓањето PKU води кон длабока ментална ретардација и потреба од скапа долгорочна институционализација. Доколку се детектира

Табела 2. Новородени со детектиран КХ во период 2002-2017

	Новородени со КХ	Инциденца на КХ (2002 – 2017)
Примарен КХ	153	1/1934
Перманентен КХ	116	1/2550
Транзитoren КХ	37	1/7997

во неонаталниот период и рано се почне специфична исхрана (без фенилаланин), клиничкиот исход е значително подобрен и денес многу индивидуи со PKU водат нормален продуктивен живот. Тестирањето за PKU базирано врз мерењето на нивото на фенилаланинот во сува дамка крв е евтино и доволно сензитивно како скрининг алатка, а последовна анализа за потврда на дијагнозата од венска крв (second tier test) денес е достапна во многу сертифицирани лаборатории. Во некои земји скринингот опфаќа бројни вродени нарушувања на метаболизмот⁽³⁾.

Во Република Македонија неонаталниот скрининг за вродени грешки во метаболизмот се воведува кон крајот на 2013 година како селективен скрининг и е дел од „Превентивните програми за заштита на мајки и деца“ на Министерството за здравство. Раното откривање на вродените грешки во метаболизмот на аминокиселините, органските и масните киселини и навремената терапија може да доведе до елиминација или редуција на морталитетот и морбидитетот.

Во нашата држава метаболниот скрининг опфаќа анализа на две групи аналити, 12 аминокиселини и 13 ацилкарнитини, во примерок од исушена капка крв на филтер хартија со користење на тандем масена спектрометрија (Waters, Liquid chromatography - tandem mass spectrometry, LC-MS/MS).

Воведувањето на масената спектрометрија во неонаталните скрининг програми во многу земји го зголеми капацитетот за тестирање на вродените грешки во метаболизмот. Со комбинација на добиените резултати можен е скрининг за повеќе од 40 вродени грешки на метаболизмот истовремено, во само една капка крв, во само еден аналитички чекор, со цена на чинење како за една болест. Во периодот од 2014 до 2017 година скринирани се вкупно 16. 075 новородени од 7 породилишта во државата (СБГА „Мајка Тереза“ - Скопје, породилиштата во Битола, Прилеп, Штип, Охрид, Кавадарци и Гевгелија). Откриени се вкупно 8 новородени со вродена грешка во метаболизмот и тоа 4 новородени со нарушување во метаболизмот на масните киселини со средни синцири (MCAD - medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency), 2 новородени со фенилкетонурија (PKU), едно со хиперметонинемија (MET) и едно со тирозинемија тип 1 (TYR I). Сите се потврдени со дијагностички тест (second tier test). Започната е терапија и воведен е редовен мониторинг на истите.

Неонатален скрининг за цистична фиброза

Неонаталниот скрининг, раната дијагноза и лекување на цистичната фиброза како хронична болест се важни за долготрајното преживување и добар квалитет на животот. Ова е

покажано во бројни студии, а зачестеноста од 1/2500 новородени го прави овој скрининг еден од најзастапените⁽¹⁰⁾. Подготовките за овој скрининг во Република Македонија се почнати при крајот на 2017 година. Воведен е во мај 2018 година како пилот студија за 12. 000 новородени (половина од неонаталната популација во државата). Се одредува концентрацијата на имунореактивен трипсиноген (ИРТ) во сува капка крв земена од петицата на новороденото 48 часа по раѓањето, со користење на имунофлуориметриска DELFIA метода. За период од четири месеца вкупно се скринирани 4.921 новородено од 16 породилишта во државата, опфатени со пилот студијата. Отркиени се 3 новородени со цистична фиброза, кои се дијагности-

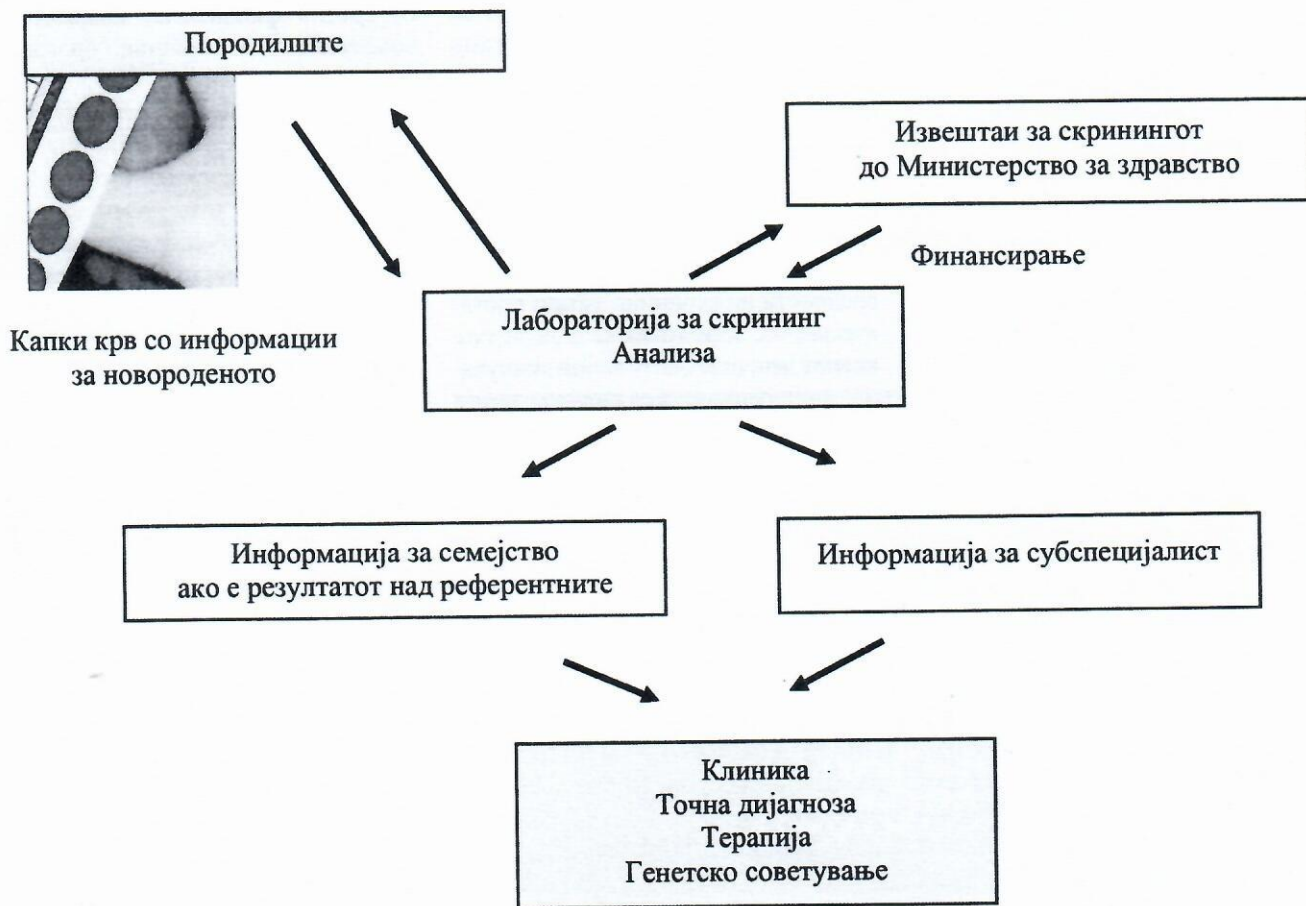
цирани со потен тест и потврдени со молекуларна анализа на CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) генот.

Системот за контрола на квалитет е една од есенцијалните компоненти за мониторирање на успешноста на секоја скрининг програма. Контролата на квалитетот вклучува партиципација на скрининг лабораториите во националните и европските програми за контрола. Неонаталниот скрининг за конгенитален хипотироидизам и неонаталниот скрининг за цистична фиброза во Република Македонија подлежат на надворешна контрола на квалитет која се изведува квартално, а се сертифицира годишно од страна на „Referenzinstitut für Bionalytik“, Bonn, Germany

(www.dgkl-frb.de), додека неонаталниот скрининг за метаболни болести вклучува контрола на квалитет двапати годишно од CDC (Centers for Disease Control and Prevention), Atlanta, USA (www.cdc.gov).

Дискусија

Имплементирањето и проширувањето на неонаталните скрининг програми во многу земји вклучувајќи ја и Република Македонија, во последните три децении ја потврдува непобитната корист од раното откривање на вродени и наследни болести, нивната навремена терапија и генетско советување на семејствата со засегнато дете. Земјите во кои се имплементирани неонаталните скрининг програми за одредени болести имаат етичка



Слика 1. Организација на неонаталниот скрининг во Република Македонија

и финансиска одговорност да обезбедат за децата со детектирана болест максимална корист од раното откривање и терапијата. Степенот на униформноста на скрининг програмите во Европа не ја олеснува само раната детекција и третманот на поедините пациенти, туку овозможува анализирање и натамошно проучување на економските, епидемиолошките, но и базичните аспекти на болестите откриени со скрининг^(4, 10, 11, 12, 13).

Развојот на тандем масена спектрометрија во раните 1990-ти овозможи голема експанзија на скрининг процедурите за вродените метаболички болести кај новородените. Голем број од овие болести се скринираат истовремено во само еден примерок од исушена капка крв нанесена на филтер хартија, во само еден аналитички процес. Тандем масената спектрометрија овозможува дијагноза на неколку вродени грешки во метаболизмот на аминокиселините и нарушувања на циклусот на уреа, вклучувајќи фенилкетонурија, поголемиот дел од нарушувањата на оксидацијата на масните киселини во митохондриите и бројни органски ацидемии во исто време. Вродените грешки на метаболизмот се ретки болести, но достигнуваат кумулативна инциденца од околу 1/1600 до 1/2000 новородени и затоа се внесени во многу скрининг програми^(14, 15, 16, 17). Оваа метода е револуција во неонаталните скрининг програми, нуди зголемена сензитивност и специфичност и е супериорна во однос на имуноесеите или конвенционалната HPLC и GC-MS кои се користеа претходно и се уште се користат во поголемиот дел од балканските земји^(3, 14).

Македонија го почна системот на неонатален скрининг систематски почнувајќи од 2002 година, воведувајќи пилот студија пред секоја поединечна скрининг програма, за да се откријат сите ризици кои би можеле во нашата средина да го компромитираат масовното скринирање и опфатот на неонаталната популација.

Овие програми не само што овозможуваат рано дијагностицирање на децата чиј ризик е откриен со скрининг, но и рана терапија. Примерот со хипотироидизмот е најеклатантен бидејќи се однесува на стотици деца кои се со нормален интелектуален капацитет, редовно посетуваат училиште, а ненавремено дијагностицирани би биле засегнати од тежок хипотироидизам (кретенизам). За другите две скрининг програми се уште траат напорите за целосно покривање на популацијата, за да можат да се евалуираат бенефитите иако се тие интернационално докажани^(3, 10, 15, 16, 17).

Нашата земја има компаративна предност за добар неонатален скрининг заради следново:

1. Материјалот од породилиштата во најголем дел се транспортира со курир до Лабораторијата, а само делумно се испраќа по пошта, па ризикот за губење на примероците е помал во споредба со земјите каде што исклучиво се користи испраќање по пошта⁽¹⁸⁾. 2. Контактот со породилиштата е секојдневен, па повикувањето на новородените со повисоки вредности на скрининг заради поставување на дефинитивна дијагноза е истиот ден, што овозможува почнување на терапијата веднаш по првата недела од раѓањето. 3. Скринингот се одвива во лабораторија што е во состав на терцијарна педијатриска установа каде што се локализирани сите супспецијалисти кои учествуваат во прифаќање, дијагностицирање и лекување на децата со ризични наоди (неонатолози, метаболози, ендокринолози, невролози, пулмолози), па упатувањето на децата со зголемен ризик е директно и брзо без потреба од специјална процедура во која би се губело време.

Досегашното искуство во Република Македонија, како и континуираната акредитација се доволни за суцесивно и систематично воведување на нови скрининг програми. Редовните извештаи до Секторот за

превентивните програми за заштита на мајки и деца и успешно откриените пациенти без пропусти обезбедуваат поддршка за континуирано финансирање и проширување на програмите. Сепак, бројот на болести за кои постојат скрининг програми е многу скромно. Други генетски болести кои се скринираат во многу развиени држави ги вклучуваат и конгениталната адренална хиперплазија последица од дефицит на 21-хидроксилаза (инциденца од 1/10,000 до 1/18,000), галактоземијата (инциденца од 1/44,000 до 1/80,000), дефицитот на биотинидаза (инциденца, 1/60,000). Српестата анемија (инциденца 1/40,000) како една хемоглобинопатија е исто така вклучена во многу скрининг програми ширум светот. Сепак, главната препорака за земјите со средни финансиски можности е воведување на скрининг програми според локалната патологија⁽³⁾. Заради финансиските ограничувања, пред здравствениот систем на Република Македонија стојат уште важни задачи и тоа: зголемување на опфатот со метаболичкиот скрининг и скринингот за цистична фиброза на сите новородени во земјата, како и воведување на скрининг за други болести за кои голем број земји систематски скринираат. Тука е примерот со конгениталната адренална хиперплазија за која Македонија се уште нема скрининг иако е една од ретките земји на Балканот која има редовна генетска дијагностика за децата со оваа болест^(19, 20). Неонаталниот скрининг за исклучително ретките болести не може да биде приоритет во Република Македонија во догледно време заради ниската инциденца, бидејќи тешко може да се оправда ангажирање на персонал, реагенси и материјални средства за скринирање.

Најновите трендови во скринингот одат уште понатаму предлагајќи ги најновите молекуларни технологии со кои можат да се откриваат болестите на генско ниво детектирајќи ги мутациите што едно новородено ги

носи ⁽²¹⁾, но масовната примена на оваа технологија сигурно ќе го почека разрешувањето на етичките прашања од кои најважното е што со откривање на мутации за кои не се знае исходот, откривање на полиморфизми со непознато значење, како и оптоварување на семејството со сознанија без дефинитивна медицинска разрешница ⁽²²⁾.

**Мирјана Кочова¹,
Виолета Анастасовска¹**

**¹Лабораторија за неонатален скрининг,
Оддел за Ендокринологија и генетика,
Универзитетска клиника
за детски болести,
Медицински факултет, Скопје**

Литература

- Wilson JMG, Jungner G. Principles of screening for disease. Geneva: World Health Organization, 1968.
- Hennekens C, Buring J. Screening for early detection of disease, In: "Epidemiology in Medicine" Boston, Little Brown, 1987; 231-40.
- Therrel BL, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo JCG, Adams J. Current status of newborn screening worldwide. Seminars in perinatology 2015; 39: 171-87.
- Kocova M, Anastasovska V, Sukarova-Angelovska E, Tanaskoska M, Taseva E. Clinical practice: experience with newborn screening for congenital hypothyroidism in the Republic of Macedonia-a multiethnic country. Eur J Pediatr. 2015; 174(4): 443-8.
- Anastasovska V, Koviloska R, Kocova M. High incidence of congenital hypothyroidism in one region of the Republic of Macedonia. BJMG. 2014; 17(1): 131-36.
- Zdraveska N, Zdravkovska M, Anastasovska V, Sukarova-Angelovska E, Kocova M. Diagnostic re-evaluation of congenital hypothyroidism in Macedonia: predictors for transient or permanent hypothyroidism. Endocrine connections 2018; 7(2): 278-85.
- Anastasovska V, Kocova M. Ethnicity and incidence of congenital hypothyroidism in the capital of Macedonia. J Pediatr Endocrinol Metab. 2017; 30(4): 405-9.
- Anastasovska V, Kocova M. Newborn screening for thyroid-stimulating hormone as an indicator for assessment of iodine status in the Republic of Macedonia. J Med Biochem 2016; 35: 1-5.
- National Institutes of Health. Phenylketonuria (PKU): screening and management. NIH consensus statement 2000; 17(3): 1-33.
- Dankert-Roelse JE, Vernooij-van Langen A. Newborn screening for cystic fibrosis: pros and cons. Breathe 2011; 8: 24-30.
- Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. Horm Res 1997; 48: 51.
- LaFranchi SH. Newborn screening strategies for congenital hypothyroidism: An update. J Inher Metab Dis 2010; 33 Suppl 2:S225-33.
- Agrawal P, Philip R, Saran S, Gutch M, Razi MS, Agroiya P, Gupta K. Congenital hypothyroidism. Indian J Endocr Metab, 2015; 19(2): 221-7.
- Kocova M, Anastasovska V. Phenylketonuria screening in the Republic of Macedonia. Orphanet J Rare Dis. 2016; 11(1): 112.
- Chace DH, Kalas TA, Naylor EW. Use of tandem mass spectrometry for multianalyte screening of dried blood specimens from newborns. Clin Chem 2003; 49: 1797-817.
- Bennett MJ. Laboratory medicine practice guidelines. Follow-up testing for metabolic diseases identified by expanded newborn screening using tandem mass spectrometry. The National Academy of Clinical Biochemistry, 2009.
- Arilin M, Beblo C. Newborn screening of metabolic disorders. J Pediatr Endocrinol Metab 2016; 29(1).
- Vestal AJ, Fauber J, Johnson M. Deadly Delays, Report for the Milwaukee Journal Sentinel 2013; Nov 17:1A
- Anastasovska V, Kocova M. Genotype-Phenotype correlation in CAH patients with severe CYP21A2 point mutations in the Republic of Macedonia. J Pediatr Endocrinol Metab. 2010, 23: 921-6.
- Anastasovska V, Milenković T, Kocova M. Direct molecular diagnosis of CYP21A2 point mutations in Macedonian and Serbian patients with 21-hydroxylase deficiency. J Med Biochem. 2015; 34(1): 52-57.
- Boemer F, Fasquelle C, D'Otreppe S, Josse C, Didbereg V, Segers KA, Guissard V, Capraro V, Debray FG, Bours V. A next-generation newborn screening pilot study: NGS on dried blood spots detects causal mutations in patients with inherited metabolic diseases. Sci Rep. 2017; 7: 17641.
- Reinstein E. Challenges of using next generation sequencing in newborn screening. Genet Res (Camb). 2015 Nov 2; 97: e21.



**ЛЕКАРСКА
КОМОРА**
на Македонија

lkm.org.mk