

Литература

1. Cortes JE, Talpas M, Kantarjian H. Chronic myelogenous leukaemia: a review. *Am J Med* 1996; 100:555-570.
2. Rowley J.D. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; 243:290-293.
3. Кочова М. Значењето на хромозомските аберации за дијагностиката, класификацијата, евалуацијата на терапискиот пристап и прогноза кај акутните леукемии. 1987; Докторска дисертација. Медицински факултет-Скопје.
4. Jaubert J, Martiat P, Dowding C et al. The position of the M-BCR breakpoint does not predict the duration of chronic phase or survival in chronic myeloid leukaemia. *British Journal of Haematology* 1990; 74:30-35.
5. Melo JV. BCR-ABL gene variants. *Bailliere's*

Clinical Hematology 1997; 10(2):203-222.

6. Kantarjian HM, Keating MJ, Smith TL et al. Proposal for a simple synthesis prognostic staging system in chronic myelogenous leukaemia. *The American Journal of Medicine* 1990; 88:1-8.
7. Dhingra K, Talpaz M, Kantarjian H et al. Appearance of acute leukaemia-associated P190BCR-ABL in chronic myelogenous leukaemia may correlate with disease progression. *Leukemia* 1991; 5:191-195.
8. Inokuchi K, Inoue T, Tojo A et al. A possible correlation between the type of bcr-abl hybrid messenger RNA and platelet count in Ph-chromosome-positive chronic myelogenous leukaemia. *Blood* 1991b; 78:3125-3127.
9. Пановска И. Молекуларна детекција на БЦР-АБЛ онкогенот во евалуацијата на хроничните миелолиферативни заболувања. 2002; Магистерски труд. Медицински факултет-Скопје.

КЛИНИКА ЗА ДЕТСКИ БОЛЕСТИ, МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ, УНИВЕРЗИТЕТ "СВ КИРИЛ И МЕТОДИЈ"-СКОПЈЕ, РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА,

ВОВЕДУВАЊЕ НА НЕОНАТАЛЕН СКРИНИНГ ЗА ХИПОТИРОИДИЗАМ ВО РЕПУБЛИКА МАКЕДОНИЈА

INTRODUCTION OF NEONATAL SCREENING FOR HYPOTHYROIDISM IN THE REPUBLIC OF MACEDONIA

М. КОЧОВА, В. АНАСТАСОВСКА, Е. ШУКАРОВА-АНГЕЛОВСКА, Е. ЃУРКОВА, Е. ЈОВЧЕВА

Конзенициалниот хипотироидизам е чест и ако не се открие и лекува во првите недели по раѓањето, остава тежки последици за менталниот и физичкиот развој на децата. Меѓутоа на неонатален скрининг, со земање кайка крв од петтацата на новороденчето во периодот од 2 до 4 ден по раѓањето и испитување на вредноста на тиреостимулативниот хормон (ТСХ) во неа со помош на флуороимуноесеј (ДЕЛФИА методот), е откриен начин за навремено откривање и лекување на конзенициалниот хипотироидизам.

Презентирана е пилот студија за воведување на скринингот во Република Македонија. Во период од 10 месеци анализирани се примероци од 8802 новороденчиња од шест породици во Македонија. Откриени се 4 деца со покачени вредности на ТСХ од кои, кај три се работи за клинички манифестиран, а кај едно за субклинички хипотироидизам. Кај сите е започната терапија

прег 15 ден по раѓањето, што гарантира минимални последици за физичкиот и менталниот развој на овие деца.

Клучни зборови: конзенициален хипотироидизам, DELFIA, неонатален тироиден скрининг

Summary

Congenital hypothyroidism is common disorder and if it is not detected and treated during first weeks after birth causes severe delay in the physical and mental development of affected children.

Neonatal screening in a blood spot from the heel of the new-born during the 2-4th day after birth and determination of thyroid stimulation hormone (TSH) level by fluoroimmunoassay (DELFIA method) is commonly used approach for timely detection and therapy of congenital hypothyroidism.

Here we present a pilot study for introduction of thyroid screening in the Republic of Macedonia. During a period of 10 months 8802 newborns from 6 nurseries have

been screened. TSH values were elevated in 4 children, three with overt hypothyroidism, and one with sub-clinical form of the disease. Therapy with levothyroxine has been started before the 15th day of life in all detected children providing good prognosis with minimal consequences upon the physical and mental development.

Key words: congenital hypothyroidism, DELFIA method, thyroid neonatal screening

Вовед

Конгениталниот хипотироидизам најчесто се должи на развојни дефекти на тироидната жлезда (80-85%), или на ензимски дефекти во синцитот на синтезата на тироидните хормони (15-20%). Поретко, причини можат да бидат дефекти во хипофизата или хипоталамусот кои се должат на вродени аномалии во развојот на мозочните структури (1, 2, 3).

Од развојните дефекти што предизвикуваат примарен хипотироидизам, најчеста е агенезија на тироидната жлезда што води кон атиреоза, или аномалија во нормалното ембриолошко спуштање на жлездата по должината на Раткеовата вреќа и нејзино заостанување на тој пат, при што жлездата е ектопична. Најчеста ектопична локализација е сублингвалната. Конечно, можни се мутации во гените кои ги кодираат ензимите неопходни за хормоногенезата, па жлездата со нормална локализација може да биде дури и зголемена, но продукцијата на нормален тироксин е незадоволителна и доаѓа до клинички манифестна хипотиреоза. Таа се карактеризира со рана и тешка клиничка слика и ако не се лекува во првите недели по раѓањето, остава тешки последици во физичкиот и менталниот развој на детето се до степенот на кретенизам (1, 4).

Според различни автори, инциденцијата на конгениталниот хипотироидизам се движи од 1:2000 до 1:4000 живородени. Со тоа оваа болест претставува една од најчестите ендокринопатии во детството.

Тироидниот хормон е клучен не само за нормалното растење и развој на детето, туку е битен и за одвивањето на бројни метаболички процеси (5). Денес постојат бројни докази дека тироидните хормони учествуваат во развојот на мозокот непосредно по раѓањето. Кај експериментални животни (стаорци) отстранување на тироидната жлезда непосредно по раѓањето води кон редукција на тежината на мозокот, намалување на бројот на нервните влакна, појава на покуси дендрити со редуцирано разгранување. Се смета дека нај-

големото влијание тироидните хормони го имаат на клеточната диференцијација во кортексот на големиот мозок. Испитувањата кај човекот се малубројни. Сепак, има докази дека миелинизацијата на централниот нервен систем е забавена поради редуцираната количина на цереброзиди, а синтезата на ензимските и структурните протеини во мозокот значително е намалена. Произлегува дека тироидните хормони значително влијаат на клеточниот растеж, арборизацијата, формирањето на синапсите и миелинизацијата во централниот нервен систем. Овој процес е најизразен постнатално, кога престанува преодот на тироидните хормони низ плацентата (6). Оттаму произлегува и типичната клиничката слика на неонаталниот хипотироидизам. Новороденчето е со нормална тежина, постојано спие, тешко се храни поради волуминозниот јазик, но не губи тежина заради постојните едеми. Ретко плаче, а кога ќе се расплаче, гласот е груб и зарипнат. Постои генерализирана хипотонија. Новороденчката жолтица се јавува рано, интензивна е и трае долго. Кожата е сува и рапава, челото е набрано, а волуминозниот јазик и перiorбиталните едеми му даваат на лицето карактеристичен изглед. Честа е умбиликална хернија. Новороденчето е опстипирано, студено, кожата е често ливидна и мраморизирана. Клиничката слика се продлабочува и добива сè потипичен изглед. Во првата недела од животот клиничката слика е типична само кај 5% од новородените со хипотироидизам, па консултација во текот на првиот месец ретко се бара поради споменатите симптоми. Затоа се случува дијагнозата да се постави подоцна, што оневозможува нормален ментален развој и покрај аплицираната терапија. За да се избегнат овие последици во најголемиот број земји во Европа и Америка, а и во многу други земји во светот е воведен неонатален скрининг за хипотиреоза почнувајќи од седумдесеттите години на минатиот век. Денес доцна откриената примарна хипотиреоза би требала да претставува минато.

Во Македонија се правени повеќекратни обиди за воведување на овој скрининг со поднесување на програма и аплицирање на проекти, но без успех.

Во Проектот за транзиција на здравството (1998-2001), под проектот за перинатална заштита, хипотироидизмот е внесен како програма за подобрување на неонаталната заштита.

Под спонзорство на Меѓународната фондација за заштита на децата и Центарот за неонатален скрининг при Детската клиника во Цирих, диза-

јнирана е и ф
вање на не
Република М

Метод

Дизајнира
тички со сите
и новороден
филтер-харт
датоците на
мено повику
покачени вре
картичката
земање прим

Анализат
ка крв земен
вториот и че
по 48 часа.

Изготвен

За анализ

AR неонатал
флуороимун
сендвич тех
глувчешки
посебни ан
молекулот.
една страна,
антитела на
генско место
лот, и со B
антитела (на
места лоцира
лумно на α -
пуферот, од
ги елуира h
дамки од фи
иза се одвив
(Инкубација
инкубациони
миење, вишо
обележаните
молекулите
лизирани ост
врзани преку
Следниот че
Euporium од
тела во расте
раствор (enhan
јони на Европ
ни хелати. Ф
ќе ја емитир
DELFLA® Res

јнирана е и финансирана пилот-студија за воведување на неонаталниот тироиден скрининг во Република Македонија.

Метод

Дизајнирани се специјални компјутерски картички со сите потребни информации за родилката и новороденчето на кои е присоединет дел од филтер-хартија за прибирање на примерокот. Податоците на овие картички се клучни за навремено повикување на децата кај кои ќе се откријат покачени вредности на TSH. На задната страна од картичката е отпечатено прецизно упатство за земање примерок крв.

Анализата на TSH се изведува од исушена капка крв земена од петичето на новороденото меѓу вториот и четвртиот ден од раѓањето, но најрано по 48 часа.

Изготвена е информација за родителите.

За анализа е користен методот DELFIA. DELFIA-AR неонаталниот hTSH (human TSH) тест е двоен флуороимунометриски тест базиран на директна сендвич техника во која две моноклонални глувчешки антитела се насочени против две посебни антигенски детерминанти на hTSH молекулот. hTSH од примероците реагира, од една страна, со имобилизираните моноклонални антитела насочени против специфичното антигенско место на β -субединицата од hTSH молекулот, и со Еурогиум-обележани моноклонални антитела (насочени против различни антигенски места лоцирани делумно на β -субединицата и делумно на α -субединицата од hTSH молекулот) во пуферот, од друга страна. Пуферот за анализата ги елуира hTSH молекулите од сувите крвни дамки од филтер-хартијата. Комплетната анализа се одвива само во еден инкубационен чекор. (Инкубацијата трае околу 24 часа на +4°C). По инкубациониот период, со помош на раствор за миење, вишокот на пуфер, заедно со Еурогиум-обележаните антитела, кои не се врзале за молекулите на hTSH, се отстрануваат, а имобилизирани остануваат само Еурогиум молекулите врзани преку антителата за hTSH молекулите. Следниот чекор е дисоцијација на јоните на Еурогиум од врзаните за hTSH обележани антитела во растворот. За таа цел се користи посебен раствор (enhancement solution) со кој дисоцираните јони на Еурогиум формираат силно флуоресцентни хелати. Флуоресценцијата што секој примерок ќе ја емитува се мери на флуорометар (1234 DELFIA® Research Fluorometer). Флуоресценцијата

на секој примерок е пропорционална на концентрацијата на hTSH во примерокот.

Резултатот се чита следниот ден. Како критична вредност е сметана вредноста 15 $\mu\text{U/ml}$. Секоја вредност над оваа повторно е проверувана, а повторно високите вредности се проверувани од примерок на венска крв со методот на радиоимуносеј (RIA).

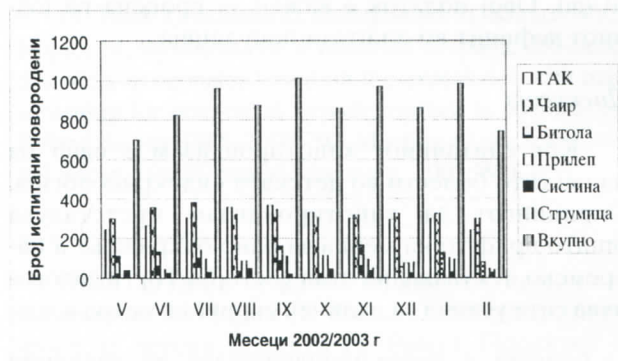
Посетени се сите породилишта кои учествуваа во скринингот и е направена едукација на персоналот за земање крв, подготвување на картичките за транспорт и самиот транспорт.

Организиран е транспортот на примероците од породилиштата до Клиниката за детски болести. Овој транспорт се одвива секојдневно, а најмалку секој втор ден.

Во пилот студијата се опфатени сите новородени од шест породилишта: породилиштето при Гинеколошко-акушерската клиника на Клиничкиот центар во Скопје, породилиштето во Специјалната болница за гинекологија и акушерство "Чаир", породилиштето во приватната болница "Систина" и породилиштето во Битола. Подоцна е вклучено породилиштето во Прилеп, а неодамна и породилиштето во Струмица.

Резултати

На графиконот 1 е прикажана динамиката на скринингот новородени по месеци и по породилишта. За 10 месеци (април 2002 до јануари 2003) се испитани 8802 новородени. Процентот на опфатеност на новороденчиња со скринингот се движи меѓу 90 и 100%. Бројот на испитани новородени по месеци е стабилен за секое породилиште, што укажува на сеопфатноста на скринингот.



Графикон 1. Приказ на испитаниите деца по породилишта по месеци

Високи вредности на TSH се откриени кај 4 новороденчиња. Наодите кај овие деца се прикажани во табелата 1.

Новородено	Вредност на TSH ($\mu\text{U/ml}$)	Вредност на T4 (nmol/l)	Ултразвучен преглед	Возраст при отпочнување на терапија (денови)
1	>48	<20	хипоплазија на лобус	8
2*	>48	<20	уреден наод	5
3	19	137	уреден наод	12
4	>48	<20	агенезија	5

Табела 1. Приказ на децата со хипотироидизам откриен со скрининг

* Тетка на детето е лекувана како дете заради ектопија на тироидната жлезда

Иако бројот на испитаните новородени и бројот на децата дијагностицирани со хипотироидизам е сè уште мал за да се одреди точната инциденција во Македонија, првите резултати покажуваат дека таа е 1:2200. Споредбата со други земји во светот е прикажана во табелата 2.

Земја	Инциденција	Терапија (ден)	Скрининг (воведен)
Германија	1:3 818	8-9	1975
САД (Midwest)	1:4 461	15	1978
Тајланд	1:2 484	28	?
Турција	1:2 736	?	?
Кина	1:2 068	28	?
Словенија	1:4 143	12.3	1981
Бугарија	1:2 600	28	1995
Македонија	1:2 200	15	2002

Табела 2. Инциденција на конгениталниот хипотироидизам во различни земји

Од вкупниот број прегледани примероци, кај 289 (3.3%) вредностите на TSH беа повисоки од $5 \mu\text{U/ml}$. Овој податок е важен за процена на јодниот дефицит во општата популација.

Дискусија

Конгениталниот хипотироидизам е една од најчестите болести во детската ендокринологија. Скринингот за хипотироидизам претставува општо прифатена мерка за рано откривање и навремено лекување на оваа состојба. Тој ги задоволува сите услови за одличен скрининг метод и тоа:

- болеста е честа-инциденцијата во различни популации се движи од 1:2600 до 1:4000 живородени деца. Нашите клинички истражувања покажаа дека пред воведување на скринингот, инциденцијата во Македонија во петгодишната анализа (1992-1996) изнесува 1:4000, при што половината од децата беа доцна дијагнос-

тицирани, на возраст над 2 месеци (сопствени необјавени истражувања);

- ако не се открие рано конгениталниот хипотироидизам остава тешки последици-физичка и ментална ретардација;
- методот за откривање на болеста е сигурен-покачениот TSH е сигурен знак за хипотиреоза;
- анализата е евтина - чини околу 90 денари за новороденче;
- Cost-benefit анализата покажува дека скринирањето на сите новородени чини помалку отколку здравственото згрижување на доцна откриените деца во текот на само една година

Тироидниот скрининг е заведен во рутинска употреба од седумдесеттите години на минатиот век. Прифатено е тестирање на сите новородени на 2-4 дена по раѓањето според прецизно дефинирани упатства (2, 3, 4, 5). Во нашите породилишта се зема крв на 48 часа по раѓањето, што често се совпаѓа со времето за испишување на новороденото од породилиште. Некои лаборатории одредуваат TSH, а некои и T4 и TSH. Повеќето лаборатории скринингот го базираат на TSH (7, 9, 10). Нашиот пристап е одредување на TSH. Откако ќе се открие високо ниво на TSH, се бара втор примерок, а ако и во него вредностите на TSH се високи, се изведува комплетна дијагностика на хипотироидизмот кај новороденото со анализа на TSH и T4 со радиоимуноесеј (RIA метод) како стандард, како и ултразвучен преглед на тироидната жлезда. Ултразвучниот преглед кај нашите пациенти покажа хемиплазија кај едно дете, агенезија кај едно, а нормално локализирана жлезда кај две деца. Интересен наод кај едно од децата со хипотироидизам е ектопија на тироидната жлезда кај сестра на мајката која е под трајна терапија од рана детска возраст. Не е исклучено постоење на генски дефекти во ова семејство кои останува да се испитаат во иднина.

Целта на тироидниот скрининг е што порано започнување на терапијата со левотироксин. Има доволно податоци дека навременото лекување води кон нормален ментален развој или кон минимални последици кај еден мал процент од децата (3, 4). Поголемите студии од литературата покажуваат дека времето на започнување на терапијата варира значително од 9. ден во Германија сè до крајот на првиот месец (некои држави во САД) (7,9,10,11,12). Кај нашите пациенти терапијата е започната пред 15. ден, што значи дека е воспоставен систем на навремено повикување на новородените со покачени вредности на TSH.

Покрај значајната, тироидна одредување на хипотироидизмот на испитаниот пилот-студија и на со другите е

Скринингот користи како дефицит во еден ($\mu\text{U/ml}$) кај популација укажуваат регионот (13)

нашата популација дека Македонија јоден дефицит ме со резерва поголем број

Институцијата нинг е од искривање Во сите земји во рамките на то земји е зад

Со нашата околу 30% од донија (според лишта опфатена

ца. Од неопходно итно во други скрининг, а други

Сепак, високото започнување на рутински комплетно опфатено ве месеци се

та е комплетно во Република

Во таа смисла за здравствена ција и пред

Литература
1. Delbert
nital Hypothy
2. Comm
diagnostics. New
83:449-464
3. Willi
results of sc

Покрај значењето за рано започнување на терапијата, тироидниот скрининг има значење и за точното одредување на инциденцијата на конгениталниот хипотироидизам во една земја. Иако според бројот на испитаните примероци е ограничена, нашата пилот-студија покажа инциденција на болеста слична со другите европски земји.

Скринингот за хипотироидизам се повеќе се користи како показател за постоење на јоден дефицит кај повеќе од 5% во неонаталната популација, а укажуваат на постоење на јоден дефицит во регионот (13). Инциденцијата на вакви мерења во нашата популација изнесува 3.3%, што покажува дека Македонија не спаѓа во земјите со значаен јоден дефицит. Сепак, овој податок треба да се земе со резерва додека не се добијат податоци на поголем број новороденчиња.

Институционализацијата на тироидниот скрининг е од исклучителна важност за Македонија. Во сите земји тироидниот скрининг се спроведува во рамките на здравствениот систем, а во повеќето земји е задолжителен.

Со нашата пилот-студија досега се опфатени во волу 30% од сите новородени во Република Македонија (според претходните движења на бројот на новородени по години), но во одделните породилишта опфатот изнесува 90-100% од сите родени деца. Од неопфатените, некои се транспортирани преку во други институции, без да се изврши скрининг, а други се пропуштени од технички причини. Иако, високата опфатеност во првите месеци по започнувањето укажува дека скринингот може да стане рутински метод во породилиштата со комплетно опфаќање на сите новородени. Во последните месеци се приклучуваат нови породилишта. Целно опфаќање на сите новородени деца во Република Македонија.

Во таа смисла е поднесена до Министерството за здравство cost-benefit анализа за нашата популација и предлог за институционализација.

Литература

1. Delbert A, Fisher MD, SanJuan Capiistrano. Congenital Hypothyroidism, Thyroid International, 2002; 3:3-10
2. Committee on Genetics, American Academy of Pediatrics. Newborn screening fact sheets. Pediatrics, 1989; 84:449-464
3. Willi SM, Moshgang T Jr. Diagnostic dilemmas: results of screening tests for congenital hypothyroidism.

Pediatr Clin North Am, 1991; 38:555-566

4. Heyerdahl S, Kase BF, Lie SO. Intellectual development in children with congenital hypothyroidism in relation to recommended thyroxine treatment. J Pediatr., 1991; 118:850-857

5. Симова Н, Серафимов Н. Тироидологија, Магор, 1999, Скопје

6. Prensky AL. vo Fetal and Neonatal Physiology, ed. Polin RA, Fox WW, WB Saunders Co, pp 1624-1627, 1992

7. Newborn Screening Committee. The Council of Regional Networks for Genetic Services (CORN). National newborn screening report:1991; 38:555-566

8. American Academy of Pediatrics and American Thyroid Association. Newborn screening for congenital hypothyroidism: recommended guidelines-Policy Statement. Pediatrics, 1993;91:1203-1209

9. Gruters A, Delange F, Giovanelli G. Guidelines fore neonatal screening programs for congenital hypothyroidism. European Society for Pediatric Endocrinology Working Group on Congenital Hypothyroidism. Horm Res, 1994;41:1-2

10. Fisher DA, Dussault JH, Foley TP. Screening for congenital hypothyroidism:results of screening one million North American infants. J Pediatr, 1979; 94:700-705

11. Krzysnik C, Battelino T, Bratanic N, Hojker S, Pavlin K, Zerjav-Tansek M, Bratina-Ursic N, Frelib J, Zemva B, Bratanic B, Vatovec J, Kolar G. Results of screening for congenital hypothyroidism during the ten-year period (1981-1991) in Slovenia, Zdrav Vestn 1994, 63:suppl I: 1-29-31

12. Stoeva I, Iotova V, Peneva L, Koleva S, Yotov Y, Kazakova K, Stefanova E, Vasileva B, Koleva R. Congenital hypothyroidism in Bulgaria-ethnic and/or regional clustering of cases, Abstracts, 5th Balkan meeting on human genetics, PO001, 25, 2002

13. Tylek-Lemanska D, Dziaokowiak H, Kumorowicz-Kopiec M, Rybakowa M. Evaluation of iodine deficiency disorders in neonates based on the experience with mass screening for congenital hypothyroidism in southeastern Poland during 1985-2000, 5th Meeting of the International Society for Neonatal Screening, 2002:W 1.4;51

Оваа студија е реализирана со помош на Kinderspital во Цирих (Т. Toresani), Меѓународниот фонд за детска заштита (Т. Foley), Проектот за перинатална заштита од Светската банка.

Им изразуваме благодарност на Т. Toresani, Т. Foley и сите неонатални тимови во породилиштата на ГАК, болницата во Чаир, болницата "Систина", Битола, Прилеп и Струмица.