

С.В. Буйкин, В.П. Пузырев

## АЛЬФА1 АНТИТРИПСИНОВАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ. ПЕРСПЕКТИВЫ СКРИНИНГА. СООБЩЕНИЕ 2

НИИ Медицинской генетики ТНЦ СО РАМН

Сибирский государственный медицинский университет МЗ РФ, Томск

В данном обзоре представлены современные взгляды на этиологию, патогенез аутосомно-рецессивного заболевания альфа1 антитрипсиновой недостаточности (ААТН), часто проявляющейся клиникой хронической обструктивной болезни легких, эмфиземы, гепатита и цирроза. Освещены методы консервативного и хирургического лечения. Рассмотрены модели национальных скрининговых программ, их достоинства и недостатки применительно к организации данной программы в Томске. Анализ вышеизложенной информации позволил предложить модель скрининговой программы на ААТН в Томске.

**Ключевые слова:** альфа1 антитрипсин, альфа1 антитрипсиновая недостаточность, серпин, скрининг

### Эпидемиология ААТН

Предположительно 60000–100000 американцев имеют ААТН [24]. Установлено, что из 14 млн американцев с хроническими неспецифическими обструктивными заболеваниями легких 2 млн имеют эмфизему [11]. В группе из 965 пациентов с эмфиземой выявлено, что частота тяжелой ААТН обнаруживается у 2–3% [15]. Сопоставив эти цифры, можно прогнозировать, что примерно 63000 американцев страдают эмфиземой, обусловленной дефицитом ААТ. Многие исследования показывают, что в настоящее время диагностирован лишь небольшой процент от общего числа больных с ААТН – всего 4–4,5% [24].

В России проводился целый ряд эпизодических исследований, направленных на изучение распро-

страненности ААТН. В Москве, по данным А.В. Шурхала [4], частота редких аллелей ААТ составляет: Z – 0,57%; S – 0,42%. Сравнительный анализ распространения редких аллелей ААТ у поляков (г. Познань), русских (г. Егоровск) позволил N.V. Titenko-Holland, A. Kowalska [27] получить следующие данные, выраженные в долях: M1 – 0,746; M2 – 0,166; M3 – 0,057; S – 0,014; Z – 0,015. Подобные исследования проводились и в Томской области. При исследовании 200 человек частота редких аллелей составила 0,075 [3].

В табл. приведены частоты основных аллелей гена *Pi* в некоторых регионах мира.

### Скрининг

Скрининг – это проведение лабораторных тестов, физического обследования или радиологических тес-

Таблица

Частоты наиболее распространенных аллелей *Pi* (%) в разных регионах мира

| Раса       | Регион                           | M1        | M2       | M3      | S    | Z    |
|------------|----------------------------------|-----------|----------|---------|------|------|
| Европеоиды | Венесуэла <sup>[9]</sup>         | 80,5      | 7,0      | 6,2     | 5,0  | 0,9  |
|            | Польша <sup>[27]</sup>           | 72        | 16       | 9,6     | 0,94 | 0,67 |
|            | Дания <sup>[6]</sup>             | 72,8      | 13,6     | 8,2     | 2,2  | 2,3  |
|            | Нидерланды <sup>[6]</sup>        | 67,9      | 14,7     | 12,9    | 2,9  | 1,3  |
|            | Португалия <sup>[6]</sup>        | 51        | 26       | 5,3     | 15   | 0,9  |
|            | США (европ.) <sup>[6]</sup>      | 72,4      | 13,7     | 9,5     | 2,3  | 1,4  |
|            | Франция <sup>[6]</sup>           | –         | 90       | –       | 7,1  | 1,4  |
|            | Греция <sup>[6]</sup>            | –         | 96       | –       | 2,8  | 0,2  |
|            | Великобритания <sup>[6]</sup>    | –         | 93       | –       | 5,2  | 1,4  |
|            | Саудовская Аравия <sup>[6]</sup> | –         | 92,6     | –       | 5,2  | 2,2  |
|            | Индия <sup>[6]</sup>             | –         | 99,4     | –       | –    | 0,6  |
|            | Испания <sup>[6]</sup>           | –         | 87,6     | –       | 9,99 | 1,97 |
| Монголоиды | Россия <sup>[1, 2, 3]</sup>      | 74,3–84,5 | 8,6–22,4 | 3,5–8,2 | 1,5  | 0,4  |
|            | Китай <sup>[6]</sup>             | 70,9      | 20,9     | 7       | –    | –    |
|            | Япония <sup>[6]</sup>            | 78,6      | 15,3     | 6,2     | –    | –    |
| Негроиды   | США (негры) <sup>[6]</sup>       | 98,2      | –        | –       | 1,5  | 0,4  |

тов у бессимптомных пациентов с целью обнаружить субклинически протекающее заболевание [18]. Различают два вида скрининга:

- рутинный – относится к автоматическому или повторяющемуся тестированию, базирующемуся на возрасте или поле;

- массовый – подразумевает более универсальную методику скринирования без большого акцента на индивидуальность пациента и факторы риска, воздействующие на него.

Сама по себе идея определения заболевания на ранних или доклинических стадиях давно притягивала исследователей, результатом интереса к этому стала разработка и запуск скрининговых программ для обширного спектра нозологий за последние несколько лет. С учетом опыта многих исследований были предприняты некоторые попытки определить этические и рабочие требования для проведения скрининговых программ. Пионерами в этой области стали Wilson and Jungner (1968); их критерии дополнялись и модифицировались в течение времени, но именно они легли в основу рекомендаций United Kingdom National Screening Committee (UKNSC 1998) [6, 10].

#### **Критерии адекватной скрининговой программы**

- Заболевание или состояние должно представлять собой значимую проблему (смертность и заболеваемость). Оптимальное использование скрининговых программ достигается пониманием основ большинства причин смертности. Эти данные могут быть получены из официальных источников, где они накапливаются годами.

- Заболевание или состояние должно быть распространено. Проявление заболевания в основной популяции должно быть достаточным для оправдания затрат на проведение скрининга. Например, скрининг на рак простаты у мужчин моложе 30 лет не оправдан, так как частота встречаемости его в данном возрасте очень мала. Скрининг на редкие заболевания обычно не оправдан, т. к. стоимость их очень высока.

- Заболевание или состояние должно иметь готовое и апробированное лечение. Отсутствие эффективного лечения сводит на нет преимущества ранней диагностики и вместо пользы может принести только вред. При отсутствии эффективного лечения ставится вопрос целесообразности проведения скрининговых программ. Однако в настоящее время отмечается тенденция к пересмотру этого критерия в пользу скринирования заболеваний, не имеющих эффективного лечения, из соображений гуманности и охраны прав человека.

- Скрининговый тест должен быть корректным (чувствительный, специфичный и хорошо трактуемый). Хороший скрининговый тест должен иметь высокую чувствительность и высокую специфичность. Чувствительность и специфичность теста часто сравнивают с золотым стандартом.

- Процедура скрининга должна иметь адекватную стоимость. Выгоды от проведения скрининга должны оправдывать финансовые затраты.

- Процедура скрининга должна быть приемлемой для пациента и общества. Так как скринингу подвергаются здоровые люди, то процедура должна быть удобной, корректной и учитывать права человека.

Залогом успешного проведения программы является учет всех критериев до начала скрининга. Для систематизации знаний и изучения потенциального вклада изучаемого фактора рекомендуется составление полного литературного обзора по данной тематике. Следует отметить соответствие ААТН предлагаемым требованиям.

#### **Типы скринингов на ААТН**

К типам скринингов на ААТН относятся:

1. Популяционное скринирование взрослых;
2. Скринирование целевых групп с более высокой вероятностью нахождения патологических аллелей гена *Pi* (например, больные эмфиземой, хроническим бронхитом);
3. Скрининг новорожденных.

*Популяционные скрининги* взрослых предпринимались среди доноров крови в США в конце 80-х гг. [22]. Первоначально, для детекции нарушений секреции ААТ использовали полуколичественные биохимические тесты, которые позволяли определить только уровень ААТ в крови, причем с большим процентом ложноотрицательных результатов. Данный метод использовал S. Eriksson (1962), открывший наследственную ААТН. В связи с появлением метода изoeлектрического фокусирования (ИЭФ) [17] открылись новые возможности в определении гена *Pi*.

*Скрининг с использованием ИЭФ* выявил большое количество недиагностированных пациентов. С 1991 г. в Центре ААТН в Солт Лейк Сити (США) создана скрининговая программа для пациентов, страдающих хроническими бронхитами, эмфиземой и бронхиальной астмой, и людей, имеющих семейный анамнез по ААТН. В течение пяти лет Центр проанализировал 16748 образцов крови пациентов. Было выявлено 515 пациентов с концентрацией ААТ ниже 11 ммоль/л. Один из них был генотипирован как *PiSZ*, а остальные – как *PiZ* (т.е. имели генотип ZZ или ZNull). Таким образом, 3,1% прошедших тестирование оказались больными ААТН. На основании предварительных популяционных, пилотных скринингов новорожденных и взрослых показано, что за указанные годы своей работы Центр и предшествующие диагностические программы выявили примерно 15% всех больных в США [6].

*Неонатальные скрининги* проводятся sporadически в разных странах. Самые большие программы скринирования были осуществлены в 70-е гг. в Швеции и США (Орегон) (200000 и 107038 новорожденных соответственно) [5, 14]. Использовался метод ИЭФ и иммунный лидазный тест. Среди новорожденных в США частота аллеля Z встречается в одном случае на 5097 детей; в Швеции этот показатель значительно выше и составляет один случай на 1575 но-

ворожденных. Такие исследования наиболее достоверно показывают отягощенность по ААТН населения данных регионов. Эти программы позволили осуществить длительное наблюдение и изучение течения заболевания у детей и взрослых. В наши дни пилотные исследования новорожденных проводятся в США, Чехословакии, Бельгии и других странах [11, 13, 20, 23, 26].

Опыт скринирования 18-летних подростков в Европе показывает, что этот возраст слишком поздний для выявления ААТН, так как значительная часть больных уже начала курить и у них уже проявляются симптомы поражения легких. Во Франции скрининг на ААТН проводится наряду со скринингом на фенилкетонурию, врожденный гипотиреоз, муковисцидоз, адреногиперплазию и недостаточность биотинидазы. Считается, что выявление именно этих заболеваний, их раннее лечение и профилактика выгоднее, чем содержание больных или их лечение при выставлении диагноза в позднем возрасте. Справедливость этого положения подтверждают показатели смертности. В США смертность от ААТН за период с 1979 по 1991 гг. превысила 32 миллиона человек, среди которых 528115 новорожденных и 219557 детей до 14 лет [5, 7]. Аналогичных данных по России нет в связи с отсутствием программ диагностики ААТН.

#### Национальные скрининговые программы

Национальные ассоциации и общества больных с ААТН функционируют в США (с 1986 г.), Великобритании (с 90-х гг.), Испании (с 1993 г.), Канаде (с 1999 г.) и некоторых других странах. Целью подобных государственных и общественных организаций является помощь в идентификации, улучшении качества жизни, образовании, защите интересов больных и стимулировании исследовательской деятельности. Финансирование таких учреждений осуществляется посредством пожертвований частных и государственных фондов.

Несмотря на довольно широкую распространенность ААТН и несомненные преимущества ее ранней диагностики, лишь в около десятка стран (Франция, США, Испания и т. д.) осуществляются скрининговые программы на выявление этой патологии [17, 19]. Для этой цели в основном используют модель "Laurel" (1975) [16] с незначительными модификациями.

В Швеции проводили несколько пилотных скрининговых программ с исследованием населения разных возрастов (новорожденные и новобранцы), используя для определения ААТН качественный метод изоэлектрического иммунного фокусирования в агарозном геле с антителами к ААТ и трансферрину. Данный метод обладает недостаточной точностью: его чувствительность – 83,6%, а специфичность – 61,4% [14]. Необходимость исследования сыворотки требует забора от 5 мл крови, что довольно много для новорожденного. Эпизодичность исследований не позволяет рассматривать данную модель как основу для построения постоянно действующей модели скринирования населения. В настоящее время в

Швеции прошла апробацию и активно внедряется в практику американская модель скрининга.

В некоторых странах с целью диагностики используется иммуноферментный лидазный метод, который может давать ложноотрицательные результаты, т. к. система ААТ реагирует на функциональное состояние организма, а чувствительность данной методики не намного выше, чем у метода изоэлектрического иммунного фокусирования (87% и 68% соответственно).

В США используют практику пилотных исследований новорожденных с предоставлением всем желающим возможности прохождения платной процедуры исследования. Основной упор делается на платное обследование с предоставлением заинтересованным лицам самого широкого спектра информации по данной патологии и на высокую грамотность специалистов, направляющих на обследование. Для генотипирования наиболее часто используют рестрикционный анализ и секвенирование V экзона. Активно осуществляются программы по социальной адаптации больных и носителей патологических аллелей [5, 8, 12, 21, 25].

Используемая практика также не лишена недостатков, так как нерегулярное проведение исследования новорожденных снижает эффективность скрининга и увеличивает количество несвоевременно диагностированных случаев. Кроме того, упор на платные обследования, приводит к высокому вкладу социальных аспектов в достоверность и охват скрининга. Сюда же следует отнести проблемы со стороны пациентов, которые могут недооценить возможные последствия от несвоевременной диагностики патологического состояния.

В настоящее время ведутся активные разработки биочипов для детекции дефицитных аллелей гена *Pi* [28].

Анализ вышеизложенной информации позволяет предположить оптимальные, на наш взгляд, модели скрининговой программы на ААТН в Томске (рис.).

#### Скрининговая модель в Томске

Для начала необходимо выделить целевые группы, исходя из особенности нозологии и региона (Томской области): новорожденные, взрослые здоровые индивиды, пациенты с симптомами поражения органов-мишеней при данной патологии. В группе больных необходимо выделить подгруппы: а) больные с бронхолегочной патологией, б) больные с патологией печени. Ввиду обширности этих подгрупп нужно рассматривать нозологические единицы, вклад в патогенез которых гена *Pi* описан в литературе: для поражения бронхолегочной системы – эмфизема, бронхиальная астма, хронический бронхит; для поражения гепатобилиарной системы – ювенильный цирроз, гепатиты (в том числе вирусные), рак печени.

Алгоритмы скрининга для каждой группы представляются индивидуально.

Целесообразность исследования новорожденных на дефицитные варианты гена *Pi* определяется возможностью ранней диагностики и доклинического

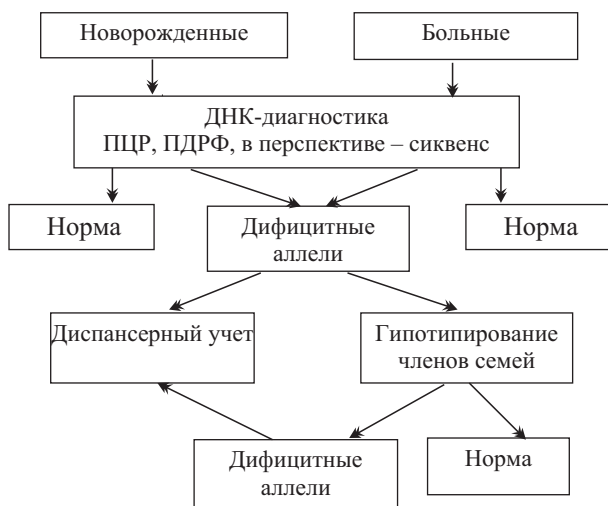


Рис. Скрининг дефицитных аллелей ААТ

ведения носителя, не допуская трансформации “патологического” генотипа в фенотип под воздействием факторов среды.

Исследование осуществляется методом ДНК-диагностики с использованием ПЦР и рестрикционного анализа, поскольку она обладает рядом неоспоримых преимуществ по сравнению с другими методиками – дешевизна, простота, чувствительность (100%) и информативность.

Выявленная группа носителей является потенциальной группой риска; для них осуществляется постановка на учет, консультации родителей, периодические осмотры, при необходимости адекватная терапия с учетом имеющейся нозологии.

В группе риска необходимо проведение генотипирования членов семей с последующим консультированием.

Данная модель является ориентировочной, но с учетом опыта многих исследований она позволяет избежать наиболее распространенных недостатков аналогичных существующих программ.

Здоровые индивиды, не имеющие признаков биохимического снижения ААТН или симптомов поражения органов дыхания и гепатобилиарной системы.

Необходимость тестирования данной группы нуждается в обосновании с точки зрения перспективы медико-генетического консультирования молодых семей в отношении прогноза рождения здорового ребенка.

Забор первичного материала облегчен (забор 5–10 мл венозной крови). По желанию исследуемого спектр полиморфных вариантов гена может быть расширен.

Данная группа не подходит под статьи финансирования обязательного медицинского страхования, и средства на проведение данных исследований планируются получить от добровольного медицинского страхования. В этой группе можно выделить отдельную подгруппу, состоящую из курильщиков, так как хорошо известен факт провоцирующего влияния

курения на развитие патологии бронхолегочной системы у гетерозигот, риск развития патологии для которых у не курящих значительно снижен.

Полученные данные о состоянии индивида по системе *Pi*-гена позволяют с определенной долей уверенности прогнозировать развитие патологии.

Наиболее интересна и неоднозначна в практическом значении группа больных с патологией бронхолегочной системы. С одной стороны, патология уже существует и данные о генетическом статусе пациента по системе *Pi* не окажут значительного влияния на течение и исход болезни. Однако, учитывая различия в этиологии и патогенезе сходных клинических состояний у больных с ААТН и не имеющих таковой, существует необходимость пересмотра схемы терапии. И в случае с ААТН такая тактика снижает патологические проявления и позволяет не только значительно улучшить качество жизни пациента, но и продлить ему жизнь. Алгоритм исследования схож с таковым для здоровых индивидов.

Особенно важно исследовать уровень сывороточного ААТ у больных с пограничными состояниями, не имеющих серьезных органических изменений и хорошо поддающихся коррекции заместительной терапией.

Обследование больных с поражением гепатобилиарной системы практически не отличается от такового у больных с бронхолегочной патологией. Алгоритм остается, практически, без изменения за исключением лечения непосредственно вирусного гепатита.

Возможность прогнозирования течения заболевания с привлечением информации о полиморфных вариантах гена у конкретного пациента позволит более грамотно подходить к лечению и ведению больных.

Следует учитывать некоторые особенности Томска и Томской области:

1. Исследование этнических групп и коренных народов Сибири представляет особый интерес в связи с тем, что в данных популяциях не проводилось изучение частот аллелей и подобные данные будут получены впервые.

2. Климатические особенности региона (низкая температура в зимний период и высокая влажность) могут оказывать влияние на частоту заболеваний органов дыхания среди индивидов с “мягкими” формами ААТН (MS, MZ), что указывает на необходимость тщательного исследования пациентов с патологией легких.

Полученные данные позволят разработать и апробировать тест-систему на ААТН и будут иметь как научное, так и практическое значения.

#### ALPHA1 ANTITRYPSIN DEFICIENCY. PROSPECT SCREENING. THE SECOND REPORT

S.V. Buikin, V.P. Puzyrev

Pathology of autosomal – recessive disease alpha1-antitrypsin deficiency (AATD) is presented in the review. This pathology often manifests as chronic obstructive pulmonary disease, emphysema, hepatitis and cirrhosis. Methods conservative and



surgery treatment are presented. The models of national screening programs, their merits and demerits were considered in order to organize such program in Tomsk. Analysis this information allows to suggest the model screening programs for AATD in Tomsk.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Близнюк-Ходоровская О.И., Черненко В.Ю., Демидова Г.П. и др. // 1-й Съезд медицинских генетиков УССР: Тез. докл. Львов, 1988. С. 108.
2. Кравчук О.И., Балановский О.П., Нурбаев С.Д. и др. // Генетика. 1998. Т. 34. С. 1542–1554.
3. Кучер А.Н., Пузырев В.П., Иванова О.Ф. и др. // Генетика. 1993. Т. 29. С. 845–852.
4. Шурхал А.В., Подогаз А.В., Дементьева Г.М. и др. // Генетика. 1987. Т. 23. С. 1692–1697.
5. Brovne R.J., Mannino D.M., Khoury M.J. // Chest. 1996. Vol. 110. P. 78–83.
6. Bulletin of the World Health Organization. 1997. Vol. 75(5). P. 397–415.
7. Dahl M., Tibjaerg-Hansen A., Lange P. et al. // Ann. Inter. Med. 2002. Vol. 136(4). P. 270–279.
8. Dry P.J. // Hum. Genet. 1991. Vol. 87. P. 742–744.
9. Fonseca-Perez T., Gonzales-Coira M., Arias S. // Gene Geogr. 1996. Vol. 10. P. 65–74.
10. Green I., Pollitter R.J. // J. Inherit. Metab. Dis. 1999. Vol. 22(4). P. 572–579.
11. Higgins M.W. Incidence, prevalence, and mortality: intra- and intercountry differences. In clinical epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease. New York: Marcel Dekker, 1989.
12. Kimpen J., Bosmans E., Raus J. // Eur. J. Pediatr. 1988. Vol. 148. P. 86–88.
13. Kowalska A., Rujner J., Titenko-Holland N.V., Puacik B. // Hum. Hered. 1995. Vol. 45. P. 351–354.
14. Laurel C.B., Sveger T. // Am. J. Hum. Genet. 1975. Vol. 27. P. 213–217.
15. Lieberman J., Winter B., Sastre A. // Chest. 1986. Vol. 89. P. 370–373.
16. Mahadeva R., Stewart S., Bilton D., Lomas D.A. // Thorax. 1998. Vol. 53. P. 1022–1024.
17. Mittman C., Lieberman D. // Isr. J. Med. Sci. 1973. Vol. 9(9). P. 1311–1318.
18. Nielson C., Lang R.S. // Med. Clin. Noth. Am. 1999. Vol. 83(6). P. 1323–1337.
19. O'Brien M.L., Buis R., Murphey W.H. // J. Pediatr. 1978. Vol. 92. P. 1006–1010.
20. Piitulainen E., Tornling G., Eriksson S. // Thorax. 1998. Vol. 53. P. 939–943.
21. Seersholm N., Kok-Jensen A., Dirksen A. // Thorax. 1994. Vol. 49. P. 695–698.
22. Silverman E.K., Miletich J.P., Pierce J.A. et al. // Am. Rev. Respir. Dis. 1989. Vol. 140. P. 961–966.
23. Spence W.C., Morris J.E., Pass K., Murphy P.D. // Biochem. Med. Metab. Biol. 1993. Vol. 50. P. 233–240.
24. Stoller J. K., Smith P., Yang P., Spray J. // Cleve Clin. J. Med. 1994. Vol. 61. P. 461–467.
25. Stoller J. K. // Chest. 1997. Vol. 111. P. 123S–128S.
26. Sveger T. // N. Engl. J. Med. 1976. Vol. 294. P. 1316–1321.
27. Titenko-Holland N.V., Kowalska A. // Hum. Hered. 1992. Vol. 42. P. 384–386.
28. Zorzetto M., Tamburnotti C., Mashietto B. et al. // Respiration. 2002. Vol. 69(1). P. 81–85.