

# Опыт внедрения неонатального скрининга болезни Гоше с использованием искусственного флуорогенного субстрата

Орлов Д.С., Диденко Л.И., Назаренко Л.П.

ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук»  
Научно-исследовательский институт медицинской генетики  
634050, г. Томск, Набережная реки Ушайки, 10

Важность неонатального скрининга болезни Гоше во многом обусловлена созданием эффективной патогенетически обоснованной терапии. Постановка диагноза строится на обнаружении снижения активности фермента бета-глюкоцереброзидазы в лейкоцитах периферической крови.

**Ключевые слова:** болезнь Гоше, неонатальный скрининг, 4-метилумбеллиферон

**Для цитирования:** Орлов Д.С., Диденко Л.И., Назаренко Л.П. Опыт внедрения неонатального скрининга болезни Гоше с использованием искусственного флуорогенного субстрата. *Медицинская генетика* 2020; 19(7): 85-86.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.07.85-86

**Автор для корреспонденции.** Орлов Дмитрий Сергеевич; **e-mail:** dmitrii.orlov@medgenetics.ru

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Государственного задания Томского НИМЦ на выполнение поисковых научных исследований (Номер государственного учета НИОКТР АААА-А20-120041490003-6).

**Конфликт интересов.** Авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.

**Поступила:** 20.05.2020

## Gaucher disease neonatal screening experience with using artificial fluorogenic substrate

Orlov D.S., Didenko L.I., Nazarenko L.P.

Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences  
Nab. Ushaiki, 10, Tomsk, 634050, Russia

Newborn screening of Gaucher diseases is important because of the development of treatment options that improve clinical outcome. The diagnosis of Gaucher disease relies on demonstration of deficient glucocerebrosidase enzyme activity in peripheral blood leukocytes.

**Key words:** Gaucher disease, neonatal screening, 4-methylumbelliferone

**For citation:** Orlov D.S., Didenko L.I., Nazarenko L.P. Gaucher disease neonatal screening experience with using artificial fluorogenic substrate. *Medical genetics*. 2020; 19(7): 85-86. (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.07.85-86

**Corresponding author:** Orlov Dmitrii Sergeevich; **e-mail:** dmitrii.orlov@medgenetics.ru

**Funding.** The work was carried out within the State assignment (State registration number АААА-А20-120041490003-6).

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

**Accepted:** 20.05.2020

Наследственные болезни обмена веществ вносят существенный вклад в структуру заболеваемости, младенческой смертности и детской инвалидности. Среди этих заболеваний отдельного внимания заслуживают лизосомные болезни накопления. Болезнь Гоше является одной из наиболее распространенных наследственных ферментопатий, формирующих группу лизосомных болезней накопления. Тип наследования — аутосомно-рецессивный. Причина связана с дефектом гена *GBA*, кодирующем лизосомный фермент бета-глюкоцереброзидазу (ЕС 3.2.1.45). Основные клинические проявления болезни Гоше вклю-

чают спленомегалию, гепатомегалию, цитопению и поражение костей. В соответствии с наличием поражения ЦНС и его особенностями выделяют три типа болезни Гоше. Тип 1 является наиболее частым и называется не-нейронопатическим, типы 2 и 3 называются нейронопатическими, поскольку в патологический процесс вовлекается нервная система. Следует отметить, что в силу высокой частоты встречаемости (1:40000) и доступности патогенетически обоснованной (прежде всего фермент-заместительной) терапии актуальным остается вопрос расширения программы массового неонатального скрининга.

**Целью нашей работы** являлась разработка алгоритма и внедрение скрининга болезни Гоше с применением искусственного флуорогенного субстрата.

### Материал и методы

В качестве биологического материала использовалось пятно высушенной крови на бланке фильтровальной бумаги (стандартные фильтры № 903). Активность бета-глюкоцереброзидазы определялась при кислых значениях pH в реакциях с искусственным флуорогенным субстратом (дериватом 4-метилумбеллиферона) [1]. После инкубации реакция останавливалась основным буфером и измерялась флуоресценция свободного 4-метилумбеллиферона ( $\lambda_{ex}=366$  нм;  $\lambda_{em}=442$  нм) с использованием Wallac 1420 Multilaber Counter (Victor-2), PerkinElmer.

### Результаты и обсуждение

В настоящем исследовании за 2019 год в лаборатории Медико-генетического центра НИИ медицинской генетики Томского НИМЦ скрининг болезни Гоше прошли 758 новорожденных из родильных домов города Томска, включая отделение патологии новорожденных. Хранение образцов при +25, +4 и –20°C в течение трех недель не приводило к достоверному снижению активности фермента в высушенных пятнах крови. Значения коэффициентов вариации в условиях повторяемости и межсерийной прецизионности для активности бета-глюкоцереброзидазы состав-

ляли 11,4 и 24,8% соответственно. Показатель cut-off устанавливался как 30% от среднего значения активности бета-глюкоцереброзидазы в образцах сухих пятен крови. Образцы с активностью фермента ниже указанного порогового значения должны исследоваться повторно в дублях. Количество образцов, требующих повторного исследования, составляло 5% от общего количества. При условии нормальной активности фермента в ретесте повторная процедура забора биологического материала не требовалась. Активность бета-глюкоцереброзидазы у пациентов с болезнью Гоше первого типа ( $0,168 \pm 0,021$  мкмоль/л\*ч) была значительно ниже и не перекрывалась со значениями, наблюдаемыми в контрольной группе ( $1,526 \pm 0,294$  мкмоль/л\*ч).

Болезнь Гоше относится к моногенным заболеваниям, однако в силу большого разнообразия описанных мутаций, молекулярно-генетический анализ редко применяется на начальных этапах диагностики. Методом выбора при постановке диагноза является определение ферментативной активности в лейкоцитах или сухих пятнах крови. Описанная технология позволяет оптимизировать диагностику болезни Гоше у новорожденных до появления развернутой клинической картины и расширить программу массового неонатального скрининга.

### Литература/References

1. Chamoles N.A., Blanco M.B., Gaggioli D., Casentini C., Gaucher and Niemann–Pick diseases. Enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper: retrospective diagnoses in newborn-screening cards. Clin Chim Acta 2002;317:191– 97.