

Антитела к NALP5 и их значение в развитии гипопаратиреоза у пациентов с аутоиммунным полигландулярным синдромом 1-го типа

Л.С. СОЗАЕВА¹, к.м.н. Е.М. ОРЛОВА^{1,3}, Б.Е. ОФТЕДАЛ², к.м.н. М.А. КАРЕВА¹,
член-корр. РАН В.А. ПЕТЕРКОВА^{1,3}, акад. РАН И.И. ДЕДОВ¹, проф. Э.С. ХУСБИ²

¹ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия; ²Университет Бергена, г. Берген, Норвегия;
³ГБОУ ВПО «Первый Московский Государственный медицинский университет им. И.И. Сеченова», Москва, Россия

Гипопаратиреоз является одним из основных компонентов аутоиммунного полигландулярного синдрома 1-го типа (АПС1), который развивается у 73—83% пациентов с этим синдромом. Белок NALP5 был описан ранее как основной антиген околотитовидных желез.

Цель исследования — исследование уровня антител к NALP5 у пациентов с АПС1, определение их прогностической и диагностической ценности.

Материал и методы. У 79 пациентов с диагнозом АПС1 радиоиммунным методом определяли антитела к NALP5 в сыворотке крови.

Результаты. Наличие гипопаратиреоза коррелировало с обнаружением антител к NALP5 ($p < 0,001$). Чувствительность показателя составила 69,4%, специфичность — 83,3%, прогностическая ценность положительного результата — 93,5%, отрицательного результата — 44,1%. Корреляции с другими компонентами синдрома, в том числе с первичной яичниковой недостаточностью, не достигали статистической значимости.

Заключение. Показана важность определения антител к NALP5 для диагностики и прогнозирования развития гипопаратиреоза у пациентов с АПС1. Проанализирована связь между присутствием этих антител и наличием у пациента других компонентов АПС1.

Ключевые слова: АПС 1-го типа, гипопаратиреоз, аутоантитела, антитела к NALP5.

Antibodies against NALP5 and its role in hypoparathyroidism in autoimmune polyglandular syndrome type 1

L.S. SOZAEVA¹, E.M. ORLOVA^{1,3}, B.E. OFTEDAL², M.A. KAREVA¹, V.A. PETERKOVA^{1,3}, I.I. DEDOV¹, E.S. HUSEBYE²

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia; ²University of Bergen, N-5020 Bergen, Norway; ³I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Hypoparathyroidism is one of major components of autoimmune polyglandular syndrome type 1 (APS type 1) with a prevalence 73—83%. The protein NALP5 has been described previously as an antigen of parathyroid glands.

Aim — to investigate antibodies against NALP5 in patients with APS type 1.

Material and methods. Seventy nine patients with APS type 1 were included in the study. Radio-immune assay was used for detecting antibodies against NALP5.

Results. The correlation between hypoparathyroidism and high levels of antibodies against NALP5 was found ($p < 0,001$). Sensitivity of the method was 69,4%, specificity — 83,3%, positive predictive value — 93,5%, negative predictive value — 44,1%. Correlations between other components of the disease and high levels of the antibodies were not found.

Conclusions. We found a positive correlation between antibodies against NALP5 and hypoparathyroidism in APS type 1 patients. We did not find correlations between antibodies against NALP5 and other components of APS type 1.

Keywords: APS 1, hypoparathyroidism, antibodies against NALP5.

doi: 10.14341/probl201662225-30

Аутоиммунный полигландулярный синдром (АПС) — моногенное аутосомно-рецессивное заболевание, характеризующееся множественными аутоиммунными заболеваниями. Оно обусловлено мутациями в гене *AIRE* (AutoImmune REgulator), кодирующем белок того же названия [1]. Этот белок участвует в процессах развития центральной иммунологической толерантности, регулируя негативную селекцию аутореактивных Т-лимфоцитов. Однако патогенез АПС до конца не выяснен [2].

Для АПС 1-го типа (АПС1) характерно наличие трех основных компонентов: хронического кожного кандидоза, гипопаратиреоза и хронической первичной надпочечниковой недостаточности. Реже встречаются менее специфичные малые компоненты (алопеция, витилиго, сахарный диабет,

аутоиммунный гепатит, пернициозная анемия и др.) [3—5].

У больных выявляется широкий спектр органо-специфических аутоантител [6, 7], но их прогностическое и диагностическое значение не доказано. При АПС1 обнаруживаются и антитела к цитокинам, среди которых особое значение имеют антитела к интерферону- ω . Последние высокоспецифичны для АПС1 и рассматриваются как дополнительный диагностический маркер заболевания [8].

Гипопаратиреоз развивается у 73—83% пациентов с АПС1, причем манифестирует в раннем возрасте (к 5 годам этот компонент имеется у 30% пациентов) [5]; описаны и случаи поздней манифестации гипопаратиреоза (вплоть до 43-летнего возраста) [9]. Некоторые исследователи связывают разви-

тие гипопаратиреоза при АПС1 с появлением антител к белку NALP5. Этот белок был описан M. Alimohammadi как основной антиген околощитовидных желез, слабо экспрессирующийся в ряде других органов [6, 10]. Постулируется также ассоциация антител к NALP5 с синдромом преждевременного истощения яичников [11].

Ранее исследования антител к NALP5 при АПС1 выполнялись на небольших группах пациентов [6, 10]; в РФ такие исследования не проводились.

Материал и методы

В исследование, продолжавшееся 2,5 года, включались пациенты с АПС1. У всех в сыворотке крови, взятой из кубитальной вены, определяли антитела к NALP5 и анализировали соответствие высоким титров этих антител различным компонентам заболевания.

Диагностическими критериями АПС1 являлись: присутствие двух и более основных компонентов синдрома и/или выявление двух значимых мутаций в гене *AIRE*, наличие одного основного компонента у ближайших родственников пациента с подтвержденным АПС1, а также обнаружение антител к интерферону- ω . Этим критериям соответствовало 79 пациентов.

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ ЭНЦ (протокол заключения этического комитета №11 от 23.10.13).

Обработка данных проводилась с использованием пакета статистических программ SPSS Statistica 17.0. Для оценки значимости различия частот использовали критерий χ^2 Пирсона. Для сравнения средних в двух независимых выборках использовался U-критерий Манна—Уитни. Связь двух признаков анализировалась методом ранговой корреляции по Спирмену. Для всех критериев нулевая гипотеза отвергалась при $p < 0,05$.

Результаты

Средний возраст пациентов составил 18,5 года [медиана 19 лет (12; 25)]. Соотношение мужчины/женщины — 1:1,1. Количество компонентов синдрома у пациентов варьировало от 1 до 11 [медиана — 4 (3; 6)]. Все три основных компонента наблюдались у 49,4% пациентов, только два — у 36,7%, только один — у 13,9%.

Гипопаратиреоз был выявлен у 62 (78,5%) из 79 пациентов. Частота гипопаратиреоза среди женщин была выше, чем среди мужчин: 92,8 и 62,2% соответственно ($p < 0,001$). Средний возраст манифестации этого компонента составил 6,6 года, медиана — 5 лет (4; 9). Средний возраст пациентов, имеющих и

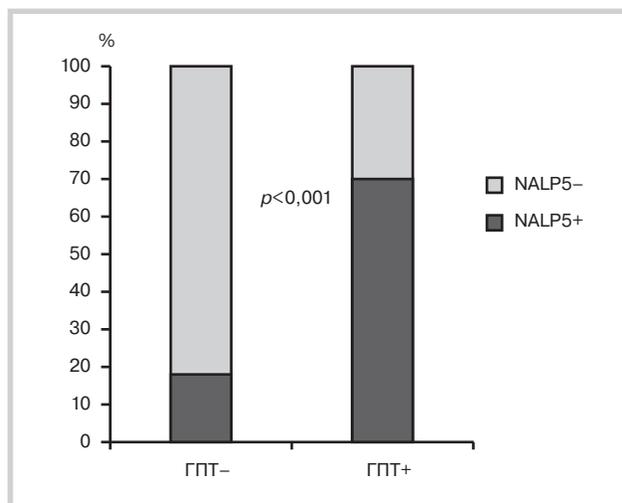


Рис. 1. Антитела к NALP5 у пациентов с АПС 1-го типа с гипопаратиреозом и без него.

не имеющих гипопаратиреоз, статистически не различался и составлял $18,2 \pm 8$ и $19,1 \pm 9,1$ года соответственно.

Антитела к NALP5 выявлены у 46 (58,2%) из 79 пациентов. Среди пациентов с гипопаратиреозом антитела к NALP5 обнаружены у 43 (69,4%) из 62, а среди пациентов без гипопаратиреоза у 3 (17,6%) из 17 пациентов ($p < 0,001$) (рис. 1).

Чувствительность данного показателя составила 69,4%, специфичность — 83,3%, прогностическая ценность положительного результата — 93,5%, а отрицательного — 44,1%.

Сведения об авторах:

Орлова Елизавета Михайловна — к.м.н., вед.н.с. ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, 117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова 11, Россия. E-mail: elizaveta.orlova@mail.ru

Созаева Лейла Салиховна — аспирант ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, 117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова 11, Россия. E-mail: Leila.sozaeva@gmail.com

Офтедал Бергитта — PhD, постдокторант, Отдел клинической науки, университет Бергена, г. Берген, Норвегия. E-mail: Bergithe.Oftedal@k2.uib.no

Карева Мария Андреевна — к.м.н., зав. детским отделением опухолей эндокринной системы ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, 117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова 11, Россия. E-mail: i_magusya@mail.ru

Петеркова Валентина Александровна — д.м.н., член-корр. РАН, профессор, директор Института детской эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, 117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова 11, Россия. E-mail: peterkovava@mail.ru

Дедов Иван Иванович — д.м.н., академик РАН, профессор, директор ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, 117036 Москва, ул. Дмитрия Ульянова 11, Россия. E-mail: dedov@endocrincentr.ru

Хусби Эйстейн — PhD, MD, профессор, глава эндокринологической группы, Университет Бергена, г. Берген, Норвегия. E-mail: eysteinn.sverre.husebye@helse-bergen.no

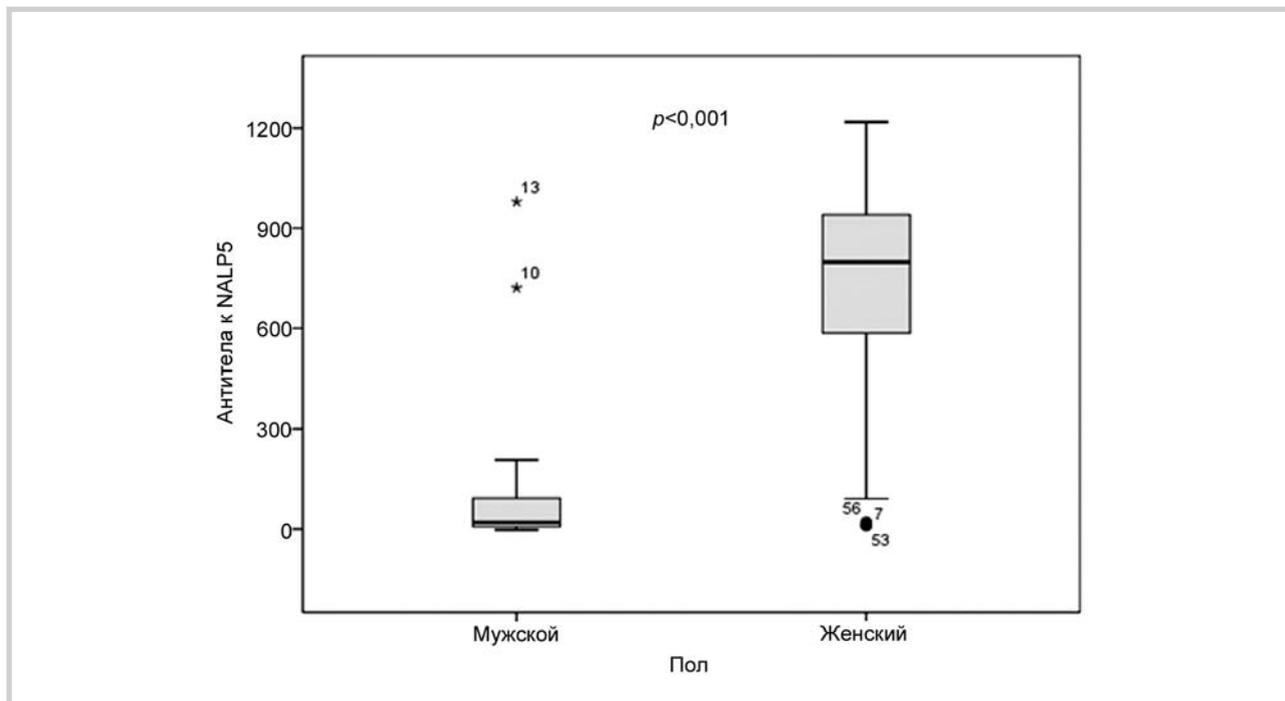


Рис. 2. Зависимость титра антител к NALP5 от пола пациентов АПС 1-го типа.

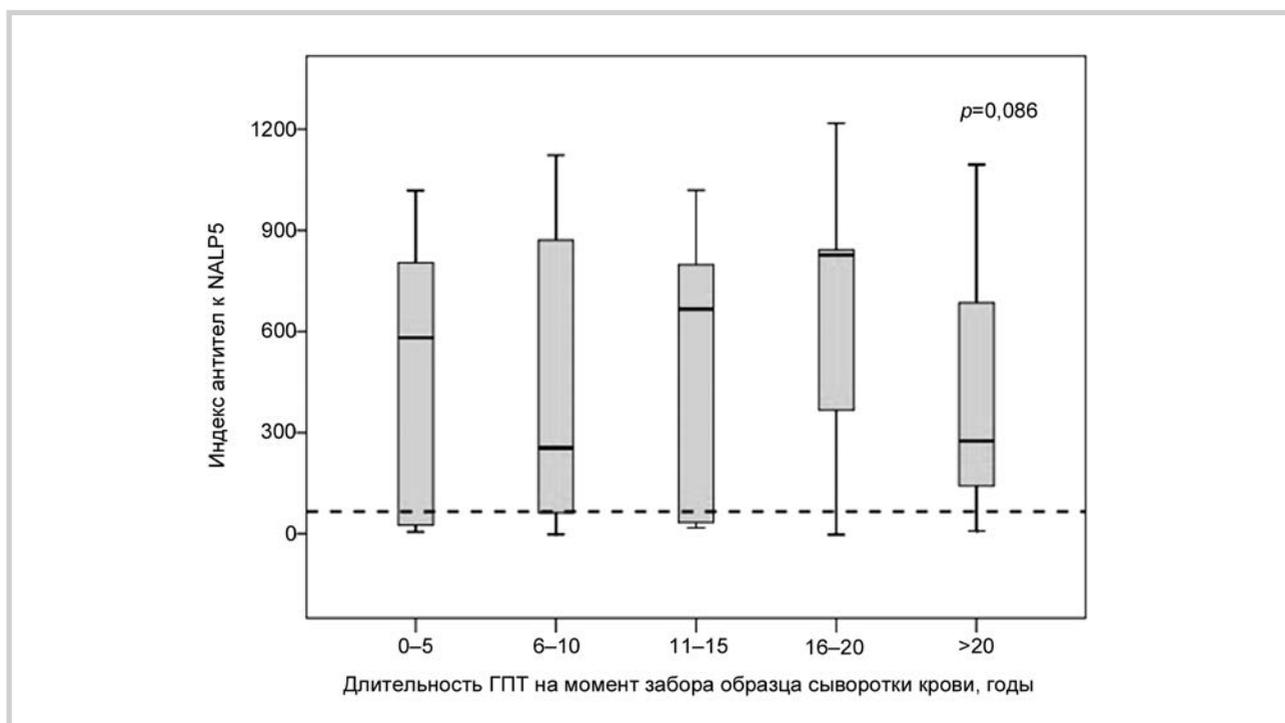


Рис. 3. Зависимость титра антител к NALP5 от длительности гипопаратиреоза у пациентов с гипопаратиреозом. Пороговое значение индекса антител к NALP5.

У женщин уровень антител был гораздо выше, чем у мужчин (сравнение проводилось в группе пациентов с гипопаратиреозом); коэффициент корреляции — 0,647 ($p < 0,001$) (рис. 2).

У пациентов с гипопаратиреозом зависимость уровня антител к NALP5 от длительности этой патологии не достигала статистической значимости (коэффициент корреляции — 0,514; $p = 0,086$) (рис. 3).

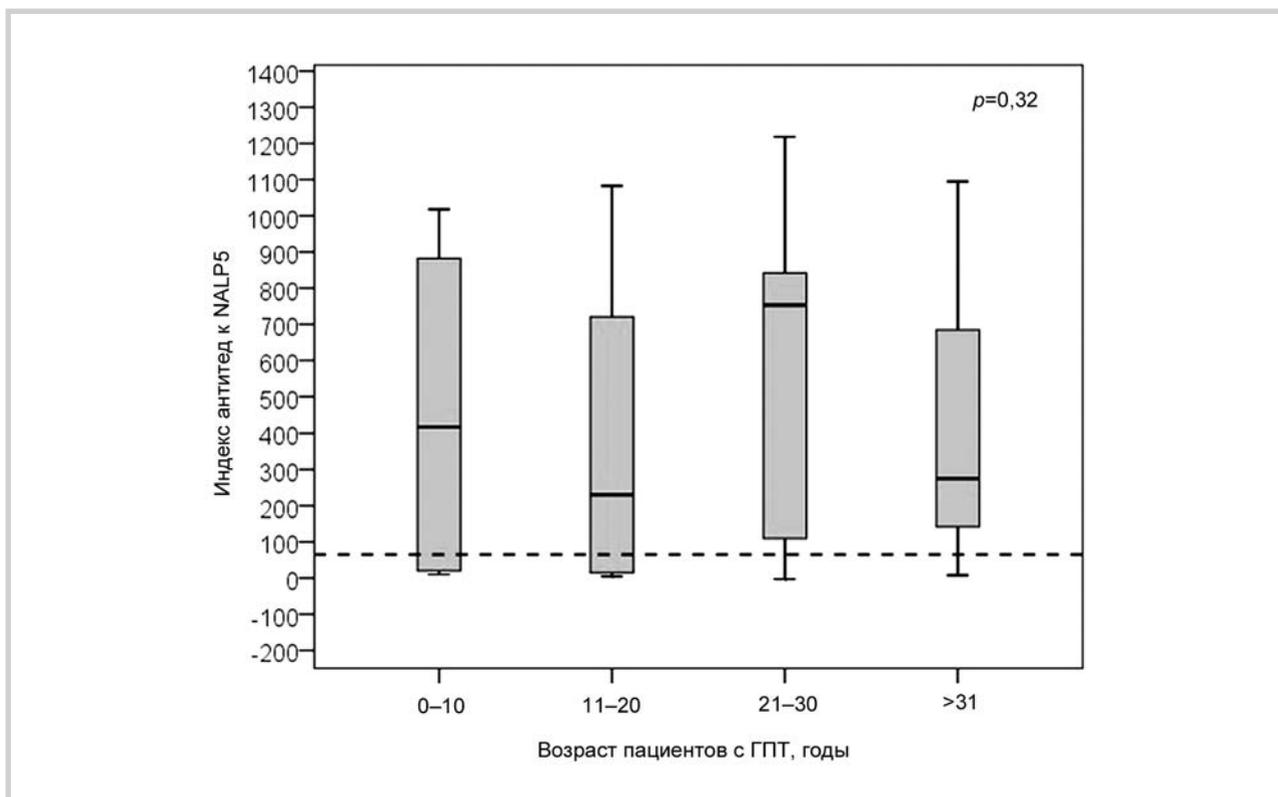


Рис. 4. Зависимость индекса антител к NALP5 от возраста у пациентов с гиперпаратиреозом.

Пороговое значение индекса антител к NALP5.

Не было выявлено и корреляции между уровнем антител к NALP5 и возрастом пациентов (коэффициент корреляции 0,131; $p=0,32$) (рис. 4).

В 2 случаях высокие уровни антител к NALP5 были обнаружены до манифестации гиперпаратиреоза. В 1 случае гиперпаратиреоз развился через 1 год после выявления высокого уровня антител к NALP5, а в другом — через 7 лет. Интересно, что во 2-м случае индекс антител был гораздо ниже, чем в 1-м случае. Возможно, к моменту исследования аутоиммунный процесс против околощитовидных желез у этого пациента только начинался.

Всего гиперпаратиреоз на момент исследования отсутствовал у 3 пациентов с высокими уровнями антител к NALP5.

Связь между антителами к NALP5 и мальабсорбцией оказалась недостаточно значимой ($r=0,293$; $p=0,08$). Признаки мальабсорбции имелись у 34,2% пациентов. Медиана возраста манифестации этого компонента составила 6 лет (4,8; 9,5). Поскольку NALP5 в кишечнике не экспрессируется, а его экспрессия в поджелудочной железе очень мала, связь между титром антител к NALP5 и мальабсорбцией маловероятна [10]. Гиперпаратиреоз имел место у 24 из 27 пациентов с признаками мальабсорбции, причем у 3 пациентов этой группы, не

имевших гиперпаратиреоза, антитела к NALP5 отсутствовали. Поэтому антитела к NALP5 могут быть связаны с наличием именно гиперпаратиреоза, а не мальабсорбции. Кроме того, эпизоды мальабсорбции (диарея, обстипация) могут зависеть от колебаний уровня кальция в крови.

Один из типичных компонентов АПС1 — аспления. Механизм постепенного «рассасывания» селезенки остается неясным, хотя также может быть связан с образованием аутоантител к NALP5, который экспрессируется в этом органе [10]. Мы обнаружили высокий титр антител к NALP5 у 2 пациентов с асплениями (однако у этих пациентов имелся и гиперпаратиреоз).

В ряде публикаций [10, 11] отмечалась связь между присутствием антител к NALP5 и синдромом преждевременного истощения яичников. Для соответствующего анализа мы отобрали 28 пациенток старше 16 лет. Первичный гипогонадизм наблюдался у 39,3% из них. В этой группе средний возраст пациенток с синдромом преждевременного истощения яичников ($24,4 \pm 4,2$ года) значительно не отличался от среднего возраста пациенток без этого компонента ($23,7 \pm 4,3$ года; $p=0,5$) (рис. 5). Высокие уровни антител к NALP5 были выявлены у 100% (11/11) пациенток с синдромом преждевременного истоще-

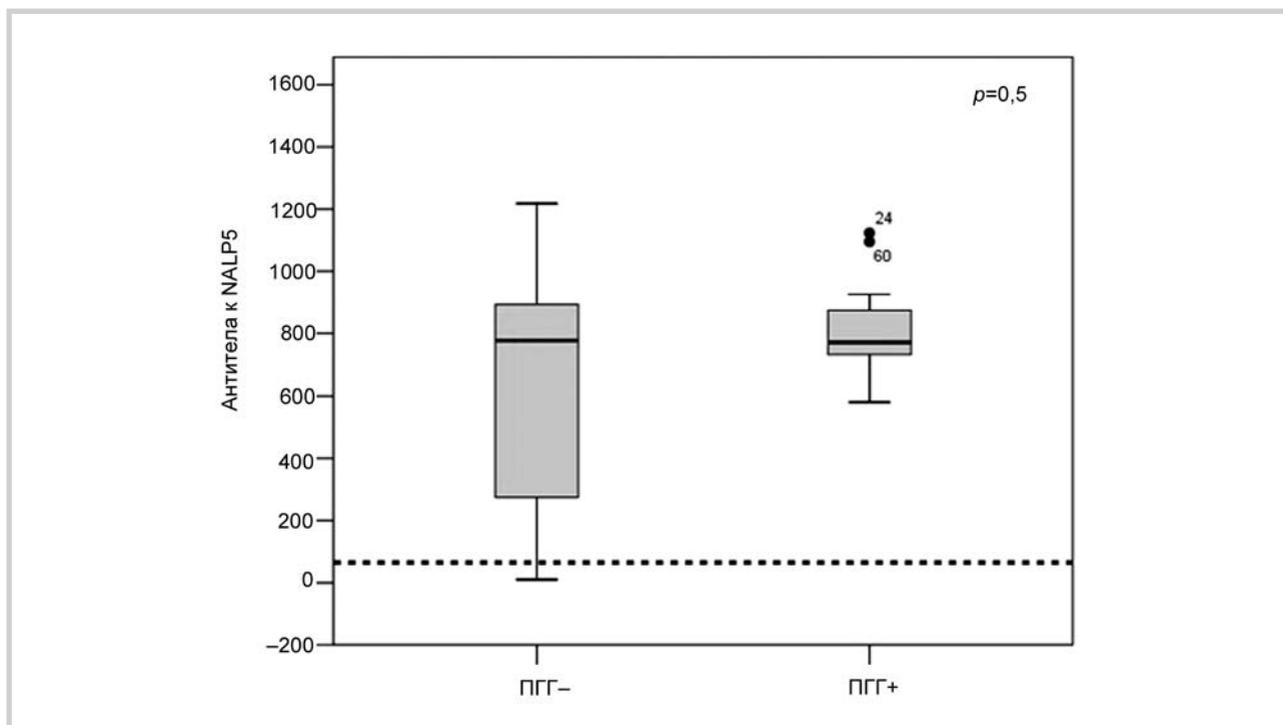


Рис. 5. Индекс АТ к NALP5 у пациентов с АПС 1-го типа с ПГГ и без ПГГ.

Пороговое значение индекса антител к NALP5; ПГГ — первичный гипогонадизм.

ния яичников, но и среди пациенток без гипогонадизма эти антитела определялись у 15 (88,2%) из 17 ($p=0,5$).

Обсуждение

Белок NALP5 является основным антигеном окоштитовидных желез [10]. Функция его до конца не изучена. Максимальная экспрессия гена, кодирующего NALP5, происходит в окоштитовидных железах, однако он слабее экспрессируется и в ряде других тканей — яичниках, плаценте, головном мозге, селезенке, поджелудочной железе [10].

Среди пациентов с АПС1 мы выявили ассоциацию между присутствием антител к NALP5 и наличием гипопаратиреоза. Положительный результат анализа имел высокую прогностическую ценность (93,5%), а отрицательный — низкую (44,1%). Иными словами, отсутствие у пациента антител к NALP5 не исключает возможности развития гипопаратиреоза, но при выявлении таких антител вероятность развития этого компонента АПС1 очень велика. На это указывают также случаи обнаружения высоких титров антител к NALP5 у пациентов, у которых гипопаратиреоз развился позднее.

Указания на связь между высокими титрами антител к NALP5 и развитием гипопаратиреоза содержатся в ряде публикаций. Среди 87 пациентов с АПС1, обследованных М. Alimohammadi [10], гипопаратиреоз имел место у 73. Среди них антитела

были обнаружены в 49% случаев, тогда как у пациентов без гипопаратиреоза эти антитела отсутствовали. А. Meloni [12] обнаружил антитела к NALP5 у 64,3% пациентов с гипопаратиреозом и ни у одного из пациентов без этого компонента АПС1.

Среди пациентов с АПС1 уровень антител к NALP5 у женщин значимо превышал таковой у мужчин. У женщин и частота гипопаратиреоза была выше. Сходные данные получены М. Gylling и соавт. [9]. Исследование включало 90 пациентов с АПС1, среди которых у 14 не было гипопаратиреоза, причем 13 из этих 14 были мужчинами. Механизм влияния пола на развитие гипопаратиреоза остается неясным.

А. Brozzetti и соавт. [11] постулировали связь антител к NALP5 при АПС1 с синдромом преждевременного истощения яичников, подчеркивая экспрессию NALP5 в этих органах. Однако у всех девушек с гипогонадизмом, у которых выявлялись антитела к NALP5, имелся и гипопаратиреоз. В нашем исследовании связь между присутствием антител к NALP5 и гипогонадизмом у женщин обнаружить не удалось. В развитии синдрома преждевременного истощения яичников более важную роль играют, по-видимому, антитела к SCC (фермент, отщепляющий боковую цепь холестерина) [13].

Учитывая экспрессию NALP5 в селезенке, возможная зависимость ее аплазии от появления антител к NALP5 представляет особый интерес. Среди наших пациентов аплазия селезенки имела место у 2

женщин и у них выявлялись высокие титры антител к NALP5. Однако в обоих случаях был диагностирован и гипопаратиреоз. Для доказательства роли антител к NALP5 в патогенезе аплазии селезенки необходимы исследования на гораздо большей когорте пациентов, так как аплазия этого органа — редкий компонент АПС1.

Некоторые авторы связывают развитие гипопаратиреоза при АПС1 с активирующими антителами к кальций-чувствительному рецептору. Однако в исследовании Е. Kemp [14] такой связи обнаружено не было.

Заключение

У пациентов с АПС1 антитела к NALP5 ассоциируются с развитием гипопаратиреоза, и присутствие этих антител имеет высокую прогностическую ценность. Однако их отсутствие не исключает развития гипопаратиреоза. Нам не удалось подтвердить корреляцию между высокими титрами антител к NALP5 и развитием синдрома преждевременного истощения яичников. Мы обнаружили, что у жен-

щин с АПС1 частота гипопаратиреоза и индекс антител к NALP5 выше, чем у мужчин с тем же синдромом.

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Научно-исследовательского совета Норвегии и региональных органов здравоохранения Западной Норвегии, а также в рамках программы помощи детям с эндокринной патологией «Альфа-Эндо» при поддержке «Альфа-групп» и фонда «The «CAF» Foundation for Philanthropy Support and Development».

Конфликт интересов

Авторы подтверждают отсутствие конфликта интересов.

Благодарности

Мы благодарим всех врачей за активное участие и помощь в обследовании пациентов, в частности, коллектив эндокринологического отделения ФГБУ «Российская детская клиническая больница» (Л.В. Арзамасцева, Н.В. Полякова, Е.В. Кувалдина, М.Е. Карманов).

Особую благодарность за участие в исследовании выражаем пациентам и их родственникам.

ЛИТЕРАТУРА

1. Finnish-German AC. An autoimmune disease, apaced, caused by mutations in a novel gene featuring two PHD-type zinc-finger domains. *Nat Genet.* 1997;17(4):399-403. doi: 10.1038/Ng1297-399.
2. Anderson MS, Venanzi ES, Chen Z, et al. The cellular mechanism of Aire control of T-cell tolerance. *Immunity.* 2005;23(2):227-239. doi: 10.1016/J.Immuni.2005.07.005.
3. Orlova EM, Bukina AM, Kuznetsova ES, et al. Autoimmune polyglandular syndrome type 1 in Russian patients: clinical variants and autoimmune regulator mutations. *Horm Res Paediatr.* 2010;73(6):449-457. doi: 10.1159/000313585.
4. Ahonen P, Myllarniemi S, Sipila I, Perheentupa J. Clinical variation of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED) in a series of 68 patients. *N Engl J Med.* 1990;322(26):1829-1836. doi: 10.1056/Nejm199006283222601.
5. Perheentupa J. Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy (APECED). *Horm Metab Res.* 1996;28(7):353-356. doi: 10.1055/S-2007-979814.
6. Wolff AS, Erichsen MM, Meager A, et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 in Norway: phenotypic variation, autoantibodies, and novel mutations in the autoimmune regulator gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(2):595-603. doi: 10.1210/Jc.2006-1873.
7. Soderbergh A, Myhre AG, Ekwall O, et al. Prevalence and clinical associations of 10 defined autoantibodies in autoimmune polyendocrine syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(2):557-562. doi: 10.1210/Jc.2003-030279.
8. Meloni A, Furcas M, Cetani F, et al. Autoantibodies against type 1 interferons as an additional diagnostic criterion for autoimmune polyendocrine syndrome type 1. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(11):4389-4397. doi: 10.1210/jc.2008-0935.
9. Gylling M, Kaariainen E, Vaisanen R, et al. The hypoparathyroidism of autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy protective effect of male sex. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(10):4602-4608. doi: 10.1210/jc.2003-030700.
10. Alimohammadi M, Bjorklund P, Hallgren A, et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1 and NALP5, a parathyroid autoantigen. *N Engl J Med.* 2008;358(10):1018-1028. doi: 10.1056/NEJMoa0706487.
11. Brozzetti A, Alimohammadi M, Morelli S, et al. Autoantibody response against NALP5/MATER in primary ovarian insufficiency and in autoimmune addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(5):1941-1948. doi: 10.1210/jc.2014-3571.
12. Meloni A, Willcox N, Meager A, et al. Autoimmune polyendocrine syndrome type 1: an extensive longitudinal study in sardinian patients. *J clin endocrinol metab.* 2012;97(4):1114-1124. doi: 10.1210/jc.2011-2461.
13. Reato G, Morlin L, Chen S, et al. Premature ovarian failure in patients with autoimmune addison's disease: clinical, genetic, and immunological evaluation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(8):e1255-1261. doi: 10.1210/jc.2011-0414.
14. Kemp EH, Habibullah M, Kluger N, et al. Prevalence and clinical associations of calcium-sensing receptor and NALP5 autoantibodies in finnish apaced patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(3):1064-1071. doi: 10.1210/jc.2013-3723.