

Том 66 №5 2020
2020 VOL. 66 ISS. 5

ISSN 0375-9660 (PRINT)
ISSN 2308-1430 (ONLINE)

Problems of Endocrinology

ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

Научно-практический
рецензируемый журнал



Эндокринологический
научный центр



Российская
ассоциация эндокринологов



WWW.PROBL-ENDOJOURNALS.RU

УЧРЕДИТЕЛИ и ИЗДАТЕЛЬ:

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России
ОО «Российская ассоциация эндокринологов»

«ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ»

Научно-практический рецензируемый медицинский журнал
Выходит 6 раз в год
Основан в 1955 году

ИНДЕКСАЦИЯ:**РИНЦ**

(Российский индекс научного цитирования),
Web of Science
(Russian Science Citation Index – RSCI, BIOSIS Previews),

SCOPUS,

Chemical Abstracts,
EBSCOhost,
Ulrich's Periodicals Directory,
Google Scholar,
PubMed

Рекомендован ВАК

Импакт-фактор РИНЦ 2018

0,547*

*Второе место в России в разделе "Медицина и здравоохранение" по двухлетнему импакт-фактору РИНЦ

КОНТАКТЫ РЕДАКЦИИ:

Адрес: 117036, Россия, Москва ул. Дм. Ульянова, 11
ЭФГБУ НМИЦ Эндокринологии МЗ РФ
probl@endojournals.ru
E-mail:
WEB: <https://probl-endojournals.ru/>
Телефон: 8 (495) 668-2079, доб. 5308

Отпечатано в типографии:

ООО "Типография «Печатных Дел Мастер»
109518, г. Москва, 1-й Гривороновский пр-д, дом 4

Зав. редакцией Е.В. Шереметьева

Верстка А.И. Тюрина
Оформление А.И. Тюрина
Корректор Е.В. Селиверстова
Дизайн обложки А.Н. Чулин

Сдано в набор 09.10.2020 г.
Подписано в печать 21.12.2020 г.
Формат 60X90/8
Печать офсетная
Усл. печ. лист 8. Тираж 2500 экз.
Отпечатано с готовых диапозитивов

Зарегистрирован в Министерстве печати и информации РФ
Рег. № 018338 от 17.12.98 г.
Зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 04.09.2014 Свидетельство ПИ № ФС77-59254

ПОДПИСКА:

По каталогу «Роспечать»
в любом отделении Почты России
71462 – для индивидуальных подписчиков
71463 – для предприятий и организаций

ISSN 0375-9660 (Print)
ISSN 2308-1430 (Online)

Проблемы Эндокринологии

Том 66, №5

Сентябрь-Октябрь

2020

ДВУХМЕСЯЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

ДЕДОВ И.И., акад. РАН (Москва, РФ)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

МЕЛЬНИЧЕНКО Г.А., акад. РАН (Москва, РФ)

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ

РУМЯНЦЕВ П.О., д.м.н. (Москва, РФ)
ТРОШИНА Е.А., член-корр. РАН (Москва, РФ)
БЕЗЛЕПКИНА О.Б., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ГАЛСТЯН Г.Р., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ПИГАРОВА Е.А., д.м.н. (Москва, РФ)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

АМЕТОВ А.С., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
АНЦИФЕРОВ М.Б., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
АНДРЕЕВА Е.Н., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
БОНДАРЬ И.А., д.м.н., проф. (Новосибирск, РФ)
БАРКАН Ариэль, проф. (Мичиган, США)
БЕЛОВАЛОВА И.М., к.м.н. (Москва, РФ)
ВАКС В.В., проф. (Оксфорд, Великобритания)
ВАЛЕЕВА Ф.В., д.м.н., проф. (Казань, РФ)
ВАНУШКО В.Э., д.м.н. (Москва, РФ)
ВОЛЧКОВ П.Ю., к.б.н. (Москва, РФ)
ВОРОХОБИНА Н.В., д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, РФ)
ГЕРАСИМОВ Г.А., д.м.н., проф. (США)
ГРИНЕВА Е.Н., д.м.н., проф. (Санкт-Петербург, РФ)
ГУСЕВ О.А., к.б.н., доцент (Япония)
ДЕМИДОВА Т.Ю., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ДОГАДИН С.А., д.м.н., проф. (Красноярск, РФ)
ДРЕВАЛЬ А.В., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ДУБИНИНА И.И., д.м.н., проф. (Рязань, РФ)
КУЗНЕЦОВ Н.С., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
МАЙОРОВ А.Ю., д.м.н. (Москва, РФ)
МОКРЫШЕВА Н.Г., член-корр. РАН (Москва, РФ)
МКРТУМЯН А.М., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ПЕТЕРКОВА В.А., акад. РАН (Москва, РФ)
ПЕТУНИНА Н.А., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
САЕНКО В.А., к.б.н., проф. (Нагасаки, Япония)
САМСОНОВА Л.Н., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
СТРОНГИН Л.Г., д.м.н., проф. (Нижний Новгород, РФ)
СУПЛОТОВА Л.А., д.м.н., проф. (Тюмень, РФ)
СУРКОВА Е.В., д.м.н. (Москва, РФ)
ТЮЛЬПАКОВ А.Н., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ШЕСТАКОВА М.В., акад. РАН (Москва, РФ)
УГРЮМОВ М.В., акад. РАН (Москва, РФ)
ФАДЕЕВ В.В., д.м.н., проф. (Москва, РФ)
ХАДАРЦЕВА Е.Л. (Республика Северная Осетия-Алания, РФ)
ШЕПЕЛЬКЕВИЧ А.П., д.м.н., проф. (Минск, Республика Беларусь)
NEUMANN H.P.H., проф. (Германия)

Решением Высшей аттестационной комиссии (ВАК) Министерства образования и науки РФ журнал «Проблемы эндокринологии» включен в Перечень рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых рекомендована публикация основных результатов диссертационных исследований на соискание ученых степеней доктора и кандидата наук.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов. Точка зрения авторов может не совпадать с мнением редакции. К публикации принимаются только статьи, подготовленные в соответствии с правилами для авторов.

FOUNDERS & PUBLISHER

Endocrinology Research Centre
(Moscow, Russia)
Russian Association of Endocrinologists

INDEXATION

Journal indexed in:
RSCI (Russian Science Citation Index),
Web of Science
(Russian Science Citation Index – RSCI,
BIOSIS Previews),
SCOPUS,
Chemical Abstracts,
EBSCOhost,
Ulrich's Periodicals Directory,
Google Scholar,
PubMed

SCOPUS metrics	CiteScore 2019	0.50
	SJR 2019	0.125
	SNIP 2019	0.192

EDITORIAL CONTACT

Address: 11, Dmitriya Ul'yanova street, Moscow, Russia, 117036

E-mail: probl@endojournals.ru

WEB: <https://probl-endojournals.ru/>

Phone: +7 (495) 668 2079 ad. 5308

PRINTING HOUSE

LLC "Typography "Printing master"
Address: 4, 1st Grayvoronovskiy passage,
Moscow, Russia, 109518

SUBSCRIPTION

Online access via <https://probl-endojournals.ru/>
Print version should be subscribe via "Russian Post" service with index
71462 – for individuals
71463 – for organizations

PUBLICATION ETHICS

The journal is compliant with publication ethics standards by:

ICMJE – International Committee of Medical Journal Editors

WAME – World association of medical editors

COPE – Committee on publication ethics

ORI – The office of research integrity

CSE – Councill of science editors

EASE – European Association of Science Editors

See journal's code of conduct:

<https://probl-endojournals.ru/dia/about/editorialPolicies#custom-1>

ISSN 0375-9660 (Print)
ISSN 2308-1430 (Online)

Problems of Endocrinology

Vol. 66 Issue 5 September-October 2020

BIMONTHLY PEER-REVIEW MEDICAL JOURNAL

EDITOR-IN-CHIEF

Ivan I. Dedov, MD, PhD, Professor, Fellow of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF

Galina A. Melnichenko, MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)

SCIENCE EDITORS

Pavel O. Rumyantsev, MD, PhD (Moscow, Russian Federation)
Ekaterina A. Troshina, MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
Olga B. Bezlepina, MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
Gagik R. Galstyan, MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
Ekaterina A. Pigarova, MD, PhD (Moscow, Russian Federation)

RESPONSIBLE SECRETARY

Ekaterina V. Sheremetyeva, MD, PhD, Moscow, Russian Federation

EDITORIAL BOARD

AMETOV A.S., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
ANTSIFEROV M.B., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
ANDREEVA E.N., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
BARKAN A., prof. (Michigan, USA)
BELOVALOVA I.M., MD, PhD (Moscow, Russian Federation)
BONDAR I.A., MD, PhD, prof. (Novosibirsk, Russian Federation)
GERASIMOV G.A., MD, prof. (USA)
GRINEVA E.N., MD, PhD, prof. (Saint Petersburg, Russian Federation)
GUSEV O.A., MD, PhD, Associate Professor (Japan)
DEMIDIVA T.Y., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russian Federation)
DOGADIN S.A., MD, PhD, prof. (Krasnoyarsk, Russian Federation)
DREVAL A.V., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
DUBININA I.I., MD, PhD, prof. (Ryazan, Russian Federation)
FADEYEV V.V., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
KHADARTSEVA E.L., (Republic of North Ossetia-Alania, Russian Federation)
KUZNETSOV N.S., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
MAYOROV A.Yu., MD, PhD (Moscow, Russian Federation)
MOKRYSHEVA N.G., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
MKRTUMYAN A.M., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
NEUMANN H.P.H., prof. (Germany)
PETERKOVA V.A., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
PETUNINA N.A., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
SAENKO V.A., MD, PhD, prof. (Nagasaki, Japan)
SAMSONOVA L.N., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
STRONGIN L.G., MD, PhD, prof. (Nizhny Novgorod, Russian Federation)
SUPLOTOVA L.A., MD, PhD, prof. (Tyumen, Russian Federation)
SURKOVA E.V., MD, PhD (Moscow, Russian Federation)
TYULPAKOV A.N., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
SHESTAKOVA M.V., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
UGRYUMOV M.V., MD, PhD, prof. (Moscow, Russian Federation)
VAX V.V., prof. (Oxford, UK)
VALEEVA F.V., MD, PhD, prof. (Kazan, Russian Federation)
VANUSHKO V.E., MD, PhD (Moscow, Russian Federation)
VOLCHKOV P.Y., PhD (Moscow, Russian Federation)
VOROKHOBINA N.V., MD, PhD, prof. (Saint Petersburg, Russian Federation)
SHEPELKEVICH A.P., MD, PhD, prof. (Minsk, Republic of Belarus)

The Editorial Board is not responsible for the content of advertising materials. Editorial opinion does not always coincide with the opinion of the authors. Only the articles prepared in compliance with Authors' guidelines are accepted for publication. When submitting an article to the Editorial Board, the authors accept the terms and conditions of the public offer agreement. Authors' guidelines and the public offer agreement can be found on website <https://probl-endojournals.ru/>

С О Д Е Р Ж А Н И Е T A B L E O F C O N T E N T S

РЕДАКЦИОННАЯ СТАТЬЯ		EDITORIAL
О.Б. Безлепкина ДЕТСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ	4	Bezlepkina O.B. PEDIATRIC ENDOCRINOLOGICAL SERVICE IN THE RUSSIAN FEDERATION: CURRENT STATE AND DEVELOPMENT PROSPECTS
КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ		CLINICAL ENDOCRINOLOGY
Е.В. Ковалева, А.Р. Айнетдинова, А.К. Еремкина, Н.Г. Мокрышева РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА БАЗЫ ДАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ГИПОПАРАТИРЕОЗОМ ФГБУ «НИИЦ ЭНДОКРИНОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ	7	Kovaleva E.V., Ajnetdinova A.R., Eremkina A.K., Mokrysheva N.G. EVALUATION OF CHRONIC HYPOPARATHYROIDISM COURSE ACCORDING TO THE DATABASE OF ENDOCRINOLOGY RESEARCH CENTRE
Н.Ю. Свириденко, Е.Г. Бессмертная, И.М. Беловалова, А.А. Михеенков, М.С. Шеремета, Л.В. Никанкина, Н.М. Малышева АУТОАНТИТЕЛА, ИММУНОГЛОБУЛИНЫ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГРЕЙВСА И ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИЕЙ	15	Sviridenko N.Y., Bessmertnaya E.G., Belovalova I.M., Mikheenkova A.A., Sheremeta M.S., Nikankina L.V., Malysheva N.M. AUTOANTIBODIES, IMMUNOGLOBULINS AND CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH GRAVES' DISEASE AND GRAVES' ORBITOPATHY
Е.А. Панфилова, Л.П. Крук, М.П. Исаева, П.О. Османова, Ф.А. Бостанова, Е.А. Трошина РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНИ ГРЕЙВСА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНО СУЩЕСТВУЮЩЕГО ПЕРВИЧНОГО ГИПОТИРЕОЗА В ИСХОДЕ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА	24	Panfilova E.A., Kruk L.P., Isaeva M.P., Osmanova P.O., Bostanova F.A., Troshina E.A. THE DEVELOPMENT OF GRAVES' DISEASE AFTER LONG-TERM HYPOTHYROIDISM DUE TO HASHIMOTO'S DISEASE
БОЛЕЗНИ КОСТНОЙ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ		BONES & ADIPOSE TISSUES DISEASES
Н.В. Трусов, С.А. Апрытин, В.А. Шипелин, И.В. Гмошинский ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ В СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КВЕРЦЕТИНА НА ДВУХ МОДЕЛЯХ ОЖИРЕНИЯ	31	Trusov N.V., Apryatin S.A., Shipelin V.A., Gmoshinski I.V. FULL TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF GENE EXPRESSION IN LIVER OF MICE IN A COMPARATIVE STUDY OF QUERCETIN EFFICIENCY ON TWO OBESITY MODELS
А.В. Петрайкин, Ж.Е. Белая, А.Н. Киселева, З.Р. Артюкова, М.Г. Беляев, В.А. Кондратенко, М.Е. Писов, А.В. Соловьёв, А.К. Сморгчкова, Л.Р. Абуладзе, И.Н. Киева, В.А. Феданов, Л.Р. Яссин, Д.С. Семенов, Н.Д. Кудрявцев, С.П. Щелыкалина, В.В. Зинченко, Е.С. Ахмад, К.А. Сергунова, В.А. Гомболевский, Л.А. Низовцова, А.В. Владзимирский, С.П. Морозов ТЕХНОЛОГИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ КОМПРЕССИОННЫХ ПЕРЕЛОМОВ ПОЗВОНКОВ С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛИ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА, ОСНОВАННОЙ НА СВЕРТОЧНЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ	48	Petraikin A.V., Belaya Z.E., Kiseleva A.N., Artyukova Z.R., Belyaev M.G., Kondratenko V.A., PISOV M.E., Solov'ev A.V., Smorchkova A.K., Abuladze L.R., Kievskaya I.N., Fedanov V.A., Yassin L.R., Semenov D.S., Kudryavtsev N.D., Shchelykalina S.P., Zinchenko V.V., Akhmad E.S., Sergunova K.A., Gombolevskiy V.A., Nizovtsova L.A., Vladzimirskiy A.V., Morozov S.P. ARTIFICIAL INTELLIGENCE FOR DIAGNOSIS OF VERTEBRAL COMPRESSION FRACTURES USING A MORPHOMETRIC ANALYSIS MODEL, BASED ON CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORKS
Ю.А. Крупинова, А.А. Алмасханова, А.К. Еремкина, Е.Е. Бибиц, Е.В. Васильев, Н.Г. Мокрышева СЕРИЯ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ СИНДРОМА СЕМЕЙНОЙ ГИПОКАЛЬЦИУРИЧЕСКОЙ ГИПЕРКАЛЬЦЕМИИ	61	Krupinova J.A., Almaskhanova A.A., Eremkina A.K., Bibik E.E., Vasilyev E.V., Mokrysheva N.G. A SERIES OF CLINICAL CASES OF FAMILIAL HYPOCALCAEMIC HYPERCALCAEMIA SYNDROME
ДЕТСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ		PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY
Е.Э. Новокрещенных, Д.Н. Губаева, М.А. Меликян ПРИМЕНЕНИЕ АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ ВРОЖДЕННОМ ГИПЕРИНСУЛИНИЗМЕ	70	Novokreshhennykh E.E., Gubaeva D.N., Melikyan M.A. THE USE OF LONG-ACTING SOMATOSTATIN ANALOGS IN CONGENITAL HYPERINSULINISM
Р.А. Атанесян, М.В. Воронцова, Т.М. Вдовина, Л.Я. Климов, Е.И. Андреева, Г.А. Санеева, Р.И. Аракелян СЛУЧАЙ ДИАГНОСТИКИ РЕДКОЙ ФОРМЫ ГЛИКОГЕНОВОЙ БОЛЕЗНИ	79	Atanesyan R.A., Vorontsova M.V., Vdovina T.M., Klimov L.Y., Andreeva E.I., Saneeva G.A., Arakelyan R.I. CASE OF DIAGNOSTICS OF A RARE FORM OF GLYCOGEN DISEASE
НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА		CARBOHYDRATES METABOLISM DISTURBANCES
И.В. Мисникова, Ю.А. Ковалева, В.А. Губкина РАННЯЯ ИНТЕНСИФИКАЦИЯ САХАРОСНИЖАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ: УРОКИ VERIFY И РЕАЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА НА ПРИМЕРЕ ДАННЫХ РЕГИСТРА САХАРНОГО ДИАБЕТА МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ	86	Misnikova I.V., Kovaleva Y.A., Gubkina V.A. EARLY INTENSIFICATION OF GLUCOSE-LOWERING THERAPY: VERIFY LESSONS AND REAL CLINICAL PRACTICE ON THE EXAMPLE OF THE MOSCOW REGION DIABETES REGISTER DATA
РЕПРОДУКТИВНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ		REPRODUCTIVE ENDOCRINOLOGY
И.В. Горелова, П.В. Попова, М.В. Рулёв ВИТАМИН D И РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ	96	Gorelova I.V., Popova P.V., Rulev M.V. VITAMIN D AND REPRODUCTIVE HEALTH

ДЕТСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКАЯ СЛУЖБА В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ: СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ



© О.Б. Безлепкина

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

В статье представлены краткие данные о распространенности эндокринных заболеваний у детей в Российской Федерации, приводятся основные нормативные документы, регулирующие оказание медицинской помощи по профилю «детская эндокринология», данные о состоянии коечного фонда (детские эндокринологические койки), количестве специализированных детских отделений в РФ, числе детских эндокринологов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: детская эндокринология; детский эндокринолог; профессиональный стандарт; орфанные эндокринные заболевания; специализированная медицинская помощь.

PEDIATRIC ENDOCRINOLOGICAL SERVICE IN THE RUSSIAN FEDERATION: CURRENT STATE AND DEVELOPMENT PROSPECTS

© Olga B. Bezlepina

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

The article provides brief data on the prevalence of endocrine diseases in children in the Russian Federation, provides the main normative documents regulating the provision of medical care in the field of «pediatric endocrinology», data on the state of the bed fund (children's endocrinological beds), the number of specialized children's departments in the Russian Federation, the number of children's endocrinologists.

KEYWORDS: pediatric endocrinology; children's endocrinologist; professional standard; orphan endocrine diseases; specialized medical assistance.

Сохранение здоровья детей в Российской Федерации относится к приоритетному направлению здравоохранения и включает эффективную профилактику неинфекционных заболеваний, среди которых эндокринная патология занимает одно из ведущих мест.

Большинство эндокринных заболеваний манифестирует в раннем детском возрасте и требует непрерывного, зачастую круглосуточного наблюдения детского эндокринолога и пожизненной заместительной терапии. Распространенность различных эндокринопатий у детей в Российской Федерации составляет 5–5,5 тыс. на 100 тыс. детского населения. Ежегодно более чем у 500 тыс. детей впервые диагностируются различные эндокринные заболевания.

Сахарный диабет у детей — огромная медико-социальная проблема, общая численность детей с сахарным диабетом в России сегодня превышает 47 тыс., при этом подавляющее большинство из них (97,5–98,0%) — дети с сахарным диабетом 1 типа, ежегодно заболевают 6,5–7,0 тыс. детей.

Заболевания щитовидной железы — самая распространенная патология в детской эндокринологии (28,0–30,0% всех эндокринопатий). Спектр тиреоидных патологий чрезвычайно широк — от врожденного гипотиреоза до узловых форм зоба и рака щитовидной железы. Первичная тиреоидная заболеваемость составляет 120–125 тыс. детей, подавляющее большинство из них — это дети с различными формами зоба.

Нарушения роста у детей имеют колоссальное психосоциальное значение, влияя на все стороны жизни ребенка. Все дети, имеющие отставание в росте, нуждаются в дифференциальной диагностике и персонализированном подходе к лечению и наблюдению. Особую когорту составляют пациенты с дефицитом гормона роста, их численность ежегодно мониторируется, в том числе и в связи с тем, что на протяжении последних 12 лет все дети в России с данной патологией получают лечение отечественным препаратом гормона роста за счет федерального бюджета.

Врожденный гипотиреоз и врожденная дисфункция коры надпочечников — эндокринные заболевания, включенные в программу неонатального скрининга в России. Ежегодно диагностируется около 500 новых случаев врожденного гипотиреоза и около 200 случаев врожденной дисфункции коры надпочечников (ВДКН). Детский эндокринолог является ключевой фигурой неонатального скрининга, а своевременная диагностика позволяет избежать развития кретинизма при гипотиреозе, ошибок в установлении пола и ранней неонатальной смертности — при ВДКН. Начиная с 2006 г. в штат медико-генетической консультации (центра) включена должность врача детского эндокринолога, что свидетельствует о его чрезвычайно важной роли в своевременной диагностике ВДКН и врожденного гипотиреоза.

Ожирение, являясь пандемией XXI в., корнями уходит в детство. Около 1,5–1,6% детей в России имеют избыточную массу тела или ожирение. Ожирение является

основой развития многих заболеваний, и профессионализм детского эндокринолога во многом определяет состояние здоровья не только конкретного ребенка, но и общества в целом.

Орфанные эндокринные заболевания — группа редких, сложных в диагностике и крайне тяжелых инвалидизирующих заболеваний (гиперкортицизм, синдром Мак-Кьюна–Олбрайта–Брайцева, врожденный гиперинсулинизм, гипопаратиреоз, нарушения формирования пола, синдром тестикулярной феминизации, синдромы множественных эндокринных неоплазий, аденолейкодистрофия и др.). Лечение и наблюдение этих заболеваний требуют совместной командной работы специалистов высокого уровня, среди которых детский эндокринолог играет ключевую роль.

Учитывая тяжесть, значительные отличия диагностики, течения и лечения эндокринной патологии у детей, в 1997 г. в номенклатуру врачебных специальностей была введена специальность «Детская эндокринология» (Приказ Минздрава России №363 от 10.12.1997 «О введении специальности “Детская эндокринология” в номенклатуру врачебных и провизорских специальностей»).

В настоящее время в Российской Федерации существует отдельная служба по детской эндокринологии, возглавляемая главным внештатным детским специалистом эндокринологом Минздрава России, академиком РАН Петерковой В.А., главными внештатными специалистами в Федеральных округах России; принят профессиональный стандарт «Врач — детский эндокринолог» (Приказ Минтруда России от 29.01.2019 №49н); работает профильная комиссия по детской эндокринологии (актуальный состав утвержден Минздравом России 4 сентября 2020 г.). Организация медицинской помощи детям с эндокринными заболеваниями в Российской Федерации осуществляется на основании Порядка оказания медицинской помощи по профилю «эндокринология» (Приказ Минздрава России от 12 ноября 2012 г. №908н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю “Детская эндокринология”»), данный документ в настоящее время актуализируется в соответствии с новыми задачами и требованиями.

Первое эндокринологическое отделение в стране было организовано в 1961 г. профессором М.А. Жуковским, которым он руководил до 1989 г. В 1990 г. детскую клинику возглавила В.А. Петеркова, а в 2002 г. был создан Институт детской эндокринологии. В настоящее время Институт детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России является научно-методологическим и клиническим центром международного уровня, в котором аккумулируются лучшие мировые практики по диагностике и лечению детей с эндокринной патологией.

Практически во всех субъектах Российской Федерации в детских медицинских учреждениях 3-го уровня существуют специализированные детские эндокринологические койки, в 51 субъекте — детские эндокринологические отделения, включая отделения в 8 учреждениях федерального уровня. В целом в Российской Федерации в последние 3 года среднегодовое количество детских эндокринологических коек составляло 1870–1910 коек (1 детская эндокринологическая койка на 15 500–16 000 детского населения). Ежегодно специализированная медицинская помощь в условиях круглосуточного стационара оказывается 55–59 тыс. детей с различными эндокринными патологиями.

Всего в настоящее время (по данным на 01.01.2020) в государственных медицинских учреждениях Российской Федерации работает 1071 детский эндокринолог, за последние 2 года число детских эндокринологов увеличилось на 81 специалиста. Подавляющее большинство детских эндокринологов (79,6%) работают в учреждениях, оказывающих первичную специализированную медико-санитарную помощь. Общее число амбулаторных обращений к детским эндокринологам по поводу заболеваний превышает 2 млн ежегодно. Кроме того, детские эндокринологи активно участвуют в профилактических осмотрах детей — 5 раз в течение детского и подросткового возраста на основании приказа Минздрава России от 10.08.2017 № 514н «О Порядке проведения профилактических медицинских осмотров несовершеннолетних».

В 2017 г. на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России организована кафедра детской эндокринологии и диабетологии, осуществляющая подготовку и переподготовку кадров по специальности «детская эндокринология». Безусловно, в стране существует определенный кадровый дефицит специалистов по детской эндокринологии, связанный в том числе и с разной плотностью детского населения в ряде регионов России. С целью минимизации дефицита кадров в последние годы активно проводится профессиональная переподготовка педиатров, врачей-эндокринологов с помощью различных ресурсов, в том числе дистанционных.

Таким образом, в настоящее время врач детский эндокринолог является очень востребованным специалистом в учреждениях, оказывающих специализированную помощь детям, в медико-генетических консультациях и, безусловно, — ключевой фигурой для диагностики, лечения и наблюдения за детьми с эндокринными заболеваниями. Современный детский эндокринолог, помимо своей специальности, должен хорошо знать не только общую педиатрию, но и клиническую генетику, биохимию, фармакологию, онкологию, неврологию, кроме того, — экономику, основы права и организацию здравоохранения, быть уверенным пользователем основных компьютерных программ.

Рукопись получена: 09.10.2020. Одобрена к публикации: 10.10.2020. Опубликовано online: 20.12.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

Безлепкина Ольга Борисовна, д.м.н., проф. [**Olga B. Bezlepkina**, MD, PhD, Professor]; адрес: 117036, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, к. 2 [address: Dmitry Ulyanova street 11k2, 117036 Moscow, Russia];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9621-5732>; eLibrary SPIN: 3884-0945; e-mail: Olgabezlepkina@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Безлепкина О.Б. Детская эндокринологическая служба в Российской Федерации: современное состояние и перспективы развития. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 4–6. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12689>

TO CITE THIS ARTICLE:

Bezlepkina OB. Children's endocrinological service in the Russian Federation: current state and development prospects. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):4–6. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12689>

РЕЗУЛЬТАТЫ АНАЛИЗА БАЗЫ ДАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С ГИПОПАРАТИРЕОЗОМ ФГБУ «НМИЦ ЭНДОКРИНОЛОГИИ» МИНЗДРАВА РОССИИ



© Е.В. Ковалева*, А.Р. Айнетдинова, А.К. Еремкина, Н.Г. Мокрышева

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Ввиду неуклонного роста заболеваемости патологиями щитовидной, околощитовидных желез и других органов шеи, радикальное лечение которых может привести к развитию гипопаратиреоза, прогнозируется значимое увеличение числа больных с данным заболеванием. Оценка эпидемиологических и клинических особенностей хронического гипопаратиреоза необходима для прогнозирования социально значимых осложнений и повышения качества оказания медицинской помощи.

ЦЕЛЬ. Оценить клинико-демографические характеристики и эффективность использования различных схем медикаментозной терапии у пациентов с хроническим послеоперационным и нехирургическим гипопаратиреозом с помощью базы данных НМИЦ эндокринологии.

МЕТОДЫ. Проведено одномоментное обсервационное сплошное исследование с использованием базы данных пациентов с хроническим послеоперационным и нехирургическим гипопаратиреозом, в которое включены 293 пациента из 61 региона РФ. Анализ данных проведен в июне 2020 г. Количественные признаки представлены медианами (Me) и квартилями (Q1; Q3); описательная статистика качественных признаков — абсолютными и относительными частотами.

РЕЗУЛЬТАТЫ. По результатам анализа базы данных, чаще всего гипопаратиреоз зафиксирован у женщин (85%) в возрасте 43 [32; 52] лет после перенесенного хирургического вмешательства по поводу патологии щитовидной железы. Менее половины обследованных пациентов имеют целевые показатели кальция и фосфора сыворотки крови (31 и 47% соответственно), несмотря на проводимое лечение. Полноценное инструментальное обследование, позволяющее составить полную картину наличия осложнений, проведено в 58% случаев (n=169). Нарушения со стороны почек выявлены у 38%, органов зрения — у 14%, кальцификация головного мозга — у 10%, изменения сердечного ритма — у 4% и психоневрологического статуса — у 6% пациентов. Стандартную терапию (комбинацию активных метаболитов/аналогов витамина D и препаратов кальция) принимали 75% пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Анализ крупных баз данных пациентов с хроническим гипопаратиреозом — необходимый инструмент для определения прогностических маркеров, в том числе с целью профилактики развития инвалидизирующих осложнений и формирования критериев компенсации заболевания.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: гипопаратиреоз; гипокальциемия; терапия; кальций; витамин D; тиреоидэктомия.

EVALUATION OF CHRONIC HYPOPARATHYROIDISM COURSE ACCORDING TO THE DATABASE OF ENDOCRINOLOGY RESEARCH CENTRE

© Elena V. Kovaleva*, Alina R. Ajnetdinova, Anna K. Eremkina, Natalia G. Mokrysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

BACKGROUND: Currently high frequency of thyroid or parathyroid surgery is associated with significant increased incidence of hypoparathyroidism. Evaluation of the epidemiological and clinical features of chronic hypoparathyroidism is necessary to predict social-significant complications and to improve the quality of medical care.

AIMS: To estimate clinical and demographic features, different regimens and efficacy of conventional therapy in patients with chronic postsurgical and nonsurgical hypoparathyroidism.

MATERIALS AND METHODS: The cross-sectional, observational, continuous study was carried out based on Database of patients with chronic postsurgical and nonsurgical hypoparathyroidism of Endocrinology Research Centre, Moscow. 293 patients from 61 regions of the Russian Federation were included in this study. Statistical analysis was done on June 2020. The descriptive statistics are presented by medians (Me) and the first and third quartiles (Q1; Q3) and by absolute and relative frequencies.

RESULTS: Hypoparathyroidism was most often recorded in women (85%) at the age of 43 [32; 52] years, after thyroid surgery. Less than a half of the study group had target indicators of serum calcium and phosphate levels (31% and 47%, respectively) despite ongoing treatment. A complex instrumental examination for the disease complications was performed in 58% of cases (n = 169). Among them, kidney disorders were detected in 38%, visual disturbance in 14%, brain calcification in 10%,

arrhythmias in 4% and neuropsychiatric symptoms in 6%. Conventional therapy with calcium supplements and activated vitamin D analogues was noted in 75% of patients.

CONCLUSIONS: The analysis of large databases of patients with chronic hypoparathyroidism is a necessary tool for determining of optimal clinical and therapeutic approaches, as well as prognostic markers of disease complications.

KEYWORDS: hypoparathyroidism; hypocalcaemia; therapy; calcium; vitamin D; thyroidectomy.

ОБОСНОВАНИЕ

Гипопаратиреоз — эндокринное заболевание, характеризующееся сниженной продукцией паратиреоидного гормона (ПТГ) околощитовидными железами (ОЩЖ), что сопровождается нарушениями фосфорно-кальциевого обмена. В последнее время изучению различных аспектов данной патологии уделяется много внимания. В литературе представлены результаты анализа крупных национальных баз данных США, Дании, Норвегии и Италии, в соответствии с которыми распространенность гипопаратиреоза составляет в среднем 23–46 случаев на 100 тыс. населения с преобладанием послеоперационного гипопаратиреоза (63–91%). Сведения по распространенности гипопаратиреоза на территории Российской Федерации отсутствуют.

Ввиду неуклонного роста заболеваемости раком щитовидной железы, первичным гиперпаратиреозом и другими патологиями органов шеи, радикальное лечение которых может привести к развитию гипопаратиреоза, прогнозируется неуклонный рост числа больных с этой патологией. Важно, что чаще раком щитовидной железы страдают лица трудоспособного возраста.

Развитие хронического гипопаратиреоза любой этиологии требует пожизненного применения многокомпонентной терапии, а также тщательного мониторинга и индивидуального подхода к выбору оптимальной тактики. В отсутствие адекватного динамического наблюдения значительно возрастают риски осложнений, в частности нефрокальциноза, нефролитиаза с развитием почечной недостаточности, кальцификации мягких тканей и головного мозга. «Неконтролируемый» гипопаратиреоз приводит к сердечно-сосудистым осложнениям, зрительным нарушениям, патологии костно-мышечной системы, развитию нейрокогнитивных расстройств и резкому снижению качества жизни пациентов.

ЦЕЛЬ

Целью настоящего исследования являлась оценка клинико-демографических характеристик, частоты развития осложнений и эффективности использования различных схем медикаментозной терапии у пациентов с хроническим послеоперационным и нехирургическим гипопаратиреозом с помощью базы данных НМИЦ эндокринологии.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено одномоментное обсервационное сплошное исследование с использованием базы данных

пациентов с хроническим послеоперационным и нехирургическим гипопаратиреозом отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Критерии соответствия

В исследование вошли пациенты с хроническим послеоперационным и нехирургическим гипопаратиреозом любой этиологии, исключая патологию, описанную в критериях исключения, без ограничений по возрасту и полу. Диагноз хронического гипопаратиреоза устанавливался на основании результатов лабораторного исследования: стойкая гипокальциемия (уровень кальция сыворотки крови ниже нижней границы референсного диапазона) в сочетании со снижением уровня паратиреоидного гормона (ПТГ) ниже референсного диапазона в течение более чем 6 месяцев наблюдения. К критериям исключения отнесены: функциональный гипопаратиреоз (в результате нарушения обмена магния); транзиторный гипопаратиреоз (длительность заболевания менее 6 мес). Диагноз идиопатического гипопаратиреоза устанавливался на основании наличия гипокальциемии в сочетании со снижением уровня ПТГ при невозможности подтверждения этиологии заболевания (отсутствие результатов генетического исследования).

Условия проведения

Объектом исследования являлась база данных НМИЦ эндокринологии (стационарные и амбулаторные эпизоды) за период 2016–2020 гг. Анализировались амбулаторные и стационарные истории болезни с кодами МКБ-10: E20.0, E20.8, E20.9, E89.2. Все клинические, лабораторные и инструментальные манипуляции, выполненные в рамках данной работы, были проведены на базе нескольких учреждений (в том числе по месту жительства пациента). Для всех лабораторных показателей использовался референсный интервал (РИ) местной лаборатории с обязательным указанием нижней и верхней границ. Наличие или отсутствие осложнений хронического гипопаратиреоза регистрировалось путем обработки результатов лабораторно-инструментального обследования. Каких-либо специфических факторов, способных повлиять на внешнюю обобщенность выводов исследования, не выявлено.

Согласно дизайну исследования, проведен анализ следующих показателей: пол, возраст на момент постановки диагноза, длительность заболевания и его этиология (в том числе патология органов шеи для послеоперационного гипопаратиреоза); результаты лабораторных методов обследования: биохимического исследования крови (уровень кальция общего ($\text{Ca}_{\text{общ}}$), альбумин скорректированного ($\text{Ca}_{\text{с.корр.}}$) и ионизированного (Ca^{++}), фосфора, креатинина с расчетом СКФ по EPI,

магния, креатинфосфокиназы (КФК)) и биохимического исследования мочи (суточная кальциурия). Анализировались также результаты инструментальных методов: ультразвуковое исследование (УЗИ) почек; компьютерная томография головного мозга; заключения специалистов (офтальмолога, психоневролога, кардиолога); используемые схемы лечения. На основании результатов лабораторно-инструментального обследования и заключения специалистов вносилась информация об осложнениях хронического гипопаратиреоза со стороны почек, сердечно-сосудистой, нервной систем, органов зрения.

Продолжительность исследования

Анализ данных проведен в июне 2020 г.

Описание медицинского вмешательства

Специалисты работали с имеющимися результатами лабораторно-инструментального обследования, выполненного пациентом амбулаторно или во время госпитализации в специализированном стационаре.

Этическая экспертиза

Локальным этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу №18 заседания Комитета от 11.10.2017 г., постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Пациенты подписывали информированное согласие на добровольное участие в исследовании и обработку личных данных.

Принципы расчета размера выборки: расчет размера выборки не требовался.

Статистический анализ проводился в программных пакетах Statistica 13.0 (StatSoft, США) и SPSS (IBM, США). Описательная статистика количественных признаков представлена медианами и квартилями (в формате Me [Q1; Q3]), описательная статистика доз лекарственных препаратов представлена в виде среднего, минимального и максимального значений, описательная статистика качественных признаков — абсолютными и относительными частотами. Для анализа соответствия распределений количественных признаков нормальному закону применялся критерий Шапиро–Уилка. Для сравнения двух независимых групп по количественным признакам использовали критерий Манна–Уитни (U-test). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. При множественных сравнениях применялась поправка Бонферрони путем коррекции критического уровня значимости. Доверительные интервалы (ДИ) для частот рассчитывались методом Клоппера–Пирсона.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В исследование включены 293 пациента с верифицированным хроническим гипопаратиреозом раз-

личной этиологии (250 женщин, 43 мужчины). Возраст больных на момент постановки диагноза составил 48 лет [36; 63], женщин — 49 лет [38; 64], мужчин — 34 года [17; 53].

С учетом поправки Бонферрони пациенты с послеоперационным гипопаратиреозом ($P_0=0,017$) имели более поздний возраст манифестации заболевания по сравнению с нехирургическим гипопаратиреозом (50 vs 23 года, $p<0,001$, U-test). Ме возраста на момент постановки диагноза для группы послеоперационного гипопаратиреоза составила 43 года [32; 52], в данной группе преобладали женщины — до 91%, 95% ДИ 88–95% (228). В группе нехирургического гипопаратиреоза Ме возраста на момент постановки диагноза была меньше — 17 лет [6; 31]. Различий по полу в данной группе не обнаружено 1:1 (22/23).

При оценке распределения манифестации заболевания по возрастам частота выявления гипопаратиреоза среди лиц моложе 18 лет составила 12,3% (95% ДИ 8,8–16,6%), от 18 до 34 лет — 25,6% (95% ДИ 20,7–31), от 35 до 44 лет — 23,2% (95% ДИ 18,5–28,5) и от 45 до 54 лет — 20,1% (95% ДИ 15,7–25,2), постепенное снижение отмечается после 54 лет — до 14% (95% ДИ 10,2–18,5) и до 4,1% (95% ДИ 2,1–7) у лиц старше 65 лет (рис. 1). У двух пациентов четкая информация о начале заболевания отсутствует. Среди пациентов с возрастом манифестации заболевания младше 18 лет было 13 больных с послеоперационным гипопаратиреозом и 16 — с нехирургическими формами заболевания.

Ме длительности заболевания для послеоперационного гипопаратиреоза — 6 лет [4; 11,8], для нехирургического гипопаратиреоза — 4 года [2; 8,5].

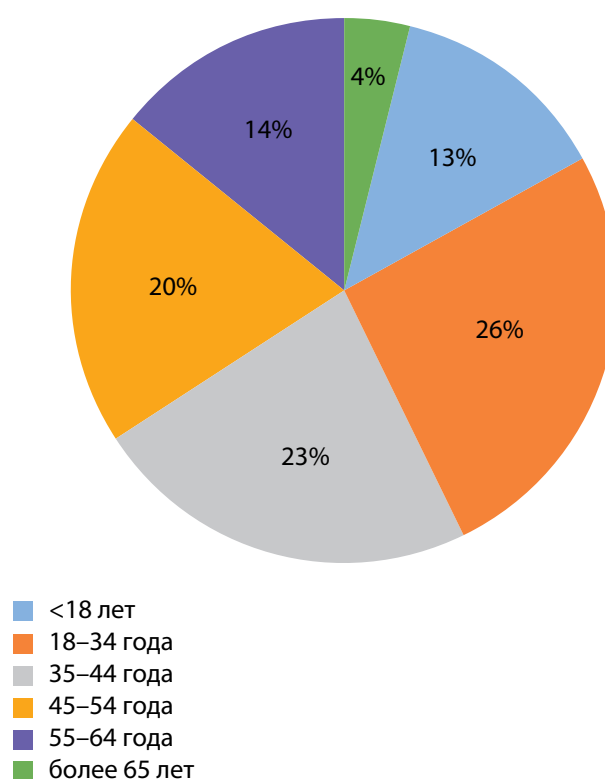


Рисунок 1. Распределение пациентов с гипопаратиреозом по возрастам.

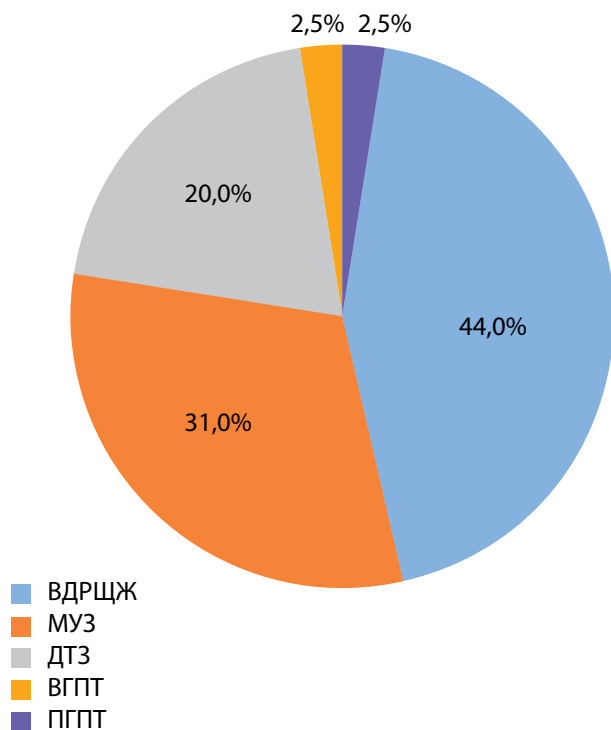


Рисунок 2. Спектр заболеваний, хирургическое лечение которых сопровождалось развитием хронического послеоперационного гипопаратиреоза.

Этиология

Самой частой причиной развития заболевания являлось повреждение и/или удаление ОЩЖ в ходе хирургического вмешательства на органах шеи с развитием послеоперационного гипопаратиреоза (85%, 95% ДИ 80–89). Среди других более редких причин — аутоиммунное повреждение ткани ОЩЖ в рамках аутоиммунного полигландулярного синдрома (АПС) 1 типа с подтвержденной мутацией в гене *AIRE* у 8 пациентов (3%, 95% ДИ 1,2–5,3), аутосомно-доминантная гипокальциемия у 5 (2%, 95% ДИ 80–89), гипопаратиреоз в составе многокомпонентных наследственных синдромов у 2 (1 пациент с синдромом Диджорджи и 1 пациент с синдромом Кенни–Каффи). У 30 пациентов (10%, 95% ДИ 7–14,3) гипопаратиреоз был расценен как идиопатический.

В нашем исследовании не было ни одного случая повреждения ткани ОЩЖ вследствие лучевой нагрузки, а также в результате инфильтративного или метастатического заболевания.

Причины развития послеоперационного хронического гипопаратиреоза

В большинстве случаев к послеоперационному гипопаратиреозу приводили хирургические вмешательства по поводу высокодифференцированного рака щитовидной железы (ВДРЩЖ) — 44% (95% ДИ 37–50), многоузлового зоба (МУЗ) — в 31% (95% ДИ 26–38), диффузного токсического зоба (ДТЗ) — в 20% случаев (95% ДИ 15–25). Операции проводились в объеме тиреоидэктомии (у 235 пациентов), в том числе с центральной и/или боковой лимфодиссекцией (у 45 пациентов). У 6 больных выполнена тотальная паратиреоидэктомия (ПТЭ) по поводу вторичного гиперпаратиреоза (ВГПТ) вследствие диализной стадии хронической болезни почек (ХБП5Д), среди них 1 пациенту проведена аутотрансплантация



Рисунок 3. Частота развития гипопаратиреоза в зависимости от объема хирургического лечения.

ткани ОЩЖ в мышцу предплечья без удовлетворительной функции трансплантата. У 6 пациентов гипопаратиреоз развился после сочетанных операций: у 4 после ПТЭ по поводу первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) совместно с гемитиреоидэктомией по поводу одноузлового зоба и у 2 пациентов — после ПТЭ по поводу ПГПТ совместно с тиреоидэктомией по поводу МУЗ (рис. 2, 3). В 12% (95% ДИ 8–17) послеоперационный гипопаратиреоз развился в результате повторного вмешательства на органах шеи.

Данные лабораторных методов исследования

У всех пациентов с гипопаратиреозом были доступны значения $Ca_{общ.}$ Ме 2,09 ммоль/л [1,87; 2,25], уровень $Ca_{с\text{корр.}}$ рассчитан у 44% больных, Ме 1,98 ммоль/л [1,79; 2,17]. Показатели уровней фосфора, магния и суточной кальциурии были доступны в 80, 48 и 48% соответственно. Уровни $Ca_{общ.}$ находились в пределах целевого диапазона (2,1–2,3 ммоль/л) лишь в 31% случаев (95% ДИ 25–37), тогда как у половины пациентов наблюдалась гипокальциемия. Гиперкальциемия зафиксирована в 19% (95% ДИ 14–24). Уровни фосфора сыворотки крови в пределах целевого диапазона определялись у 47% пациентов (95% ДИ 40–54), при этом значимая гиперфосфатемия (повышение уровня фосфора сыворотки крови свыше 2,0 ммоль/л) отмечена у 12% (95% ДИ 8–17). В большинстве случаев (75%, 95% ДИ 67–82) показатели магния сохранялись в референсном диапазоне. Повышение суточной экскреции кальция в обследованной группе >8 ммоль/сут выявлено в 26% наблюдений (95% ДИ 19–35), а гипокальциурия — в 24% (95% ДИ 17–32). Результаты анализа основных показателей фосфорно-кальциевого обмена у пациентов с хроническим гипопаратиреозом отражены в таблице 1.

Таблица 1. Лабораторные показатели у пациентов с гипопаратиреозом.

Лабораторные показатели	Me [Q1; Q3]	Целевой диапазон	Количество пациентов (частота, %)
Кальций общий, ммоль/л 293 (100%)	1,88 [1,77; 1,98]	<2,1	145 (49,7)
	2,2 [2,13; 2,25]	2,1–2,3	88(30,1)
	2,41 [2,36; 2,5]	>2,3	59 (20,2)
Фосфор, ммоль/л 234 (80%)	1,35 [1,25; 1,43]	0,74–1,52	110 (47)
	1,69 [1,61; 1,8]	>1,52	94 (40,2)
	2,22 [2,09; 2,62]	>2,0	29 (12,4)
Магний, ммоль/л 139 (48%)	0,65 [0,63; 0,67]	<0,7	35 (25,2)
	0,78 [0,74; 0,82]	0,7–1,05	104 (74,8)
Кальций в суточной моче, ммоль/сут 140 (48%)	1,4 [0,85; 1,92]	<2,5	34 (24,3)
	4,8 [3,86; 6,37]	2,5–8	69 (49,3)
	10,6 [9,2; 13,36]	>8	37 (26,4)

С учетом поправки Бонферрони ($P_0=0,017$) при сравнении уровня кальциемии в группах с послеоперационным и нехирургическим гипопаратиреозом по концентрациям $Ca_{\text{общ.}}$ и $Ca_{\text{скорр.}}$ различий не выявлено (Me 2,1 ммоль/л [1,89; 2,24] vs Me 2,015 ммоль/л [1,79; 2,27], $p=0,402$; Me 1,98 ммоль/л [1,8; 2,17] vs 1,95 ммоль/л [1,75; 2,16], $p=0,446$ соответственно, U-test).

Оценка фильтрационной функции почек проведена 179 пациентам (61%). Среди них снижение СКФ менее 60 мл/мин/м² выявлено у 38 пациентов (21%, 95% ДИ 15–28), ХБП 4 и 5 ст. со снижением СКФ менее 30 мл/мин/м² диагностирована у 5 больных (3%, 95% ДИ 1–6).

Данные об уровне 25(ОН)витамина D представлены у 42% больных. При этом целевые для общей популяции значения 25(ОН)витамина D (более 30 нг/мл) зафиксированы в более чем половине наблюдений (59%, 95% ДИ 50–68). У 2 больных на фоне регулярной терапии колекальциферолом уровни витамина D составили более 100 нг/мл.

Уровни КФК как неспецифического маркера миопатии были доступны у 51 пациента (17%), среди них в 35% случаев (95% ДИ 22–50) отмечено повышение показателя выше РИ (>168 ед/л). Сопоставление групп по кальциемии и уровню КФК показало достоверно более высокий уровень КФК среди пациентов с более выраженной гипокальциемией (Me $Ca_{\text{скорр.}}$ 1,78 [1,46; 2,06] vs 2,05 [1,82; 2,17] ммоль/л, $p=0,034$, U-test).

Осложнения заболевания

Инструментальное обследование с целью выявления осложнений заболевания проведено 58% пациентов ($n=169$), в связи с чем расчет частоты выявления тех или иных осложнений производился по отношению к обследованной группе пациентов (табл. 2).

Схемы и дозы лекарственной терапии

Стандартную схему лечения в виде комбинации активных метаболитов/аналогов витамина D и препаратов кальция принимали 75% пациентов (95% ДИ 70–80). Средние дозы альфакальцидола составили 1,74 мкг/сут (min 0,25; max 6), кальцитриола — 1,1 мкг/сут (min 0,25; max 2,5). Нативный витамин D в качестве дополнения к стандартной терапии назначался 69 больным (24%, 95% ДИ 19–29) в средней дозе 18 374 МЕ/нед (min 142; max 300 000). Использование схемы «колекальциферол + препараты кальция» в качестве лечения гипопаратиреоза отмечено у 12 больных, при этом средняя доза колекальциферола была 43 625 МЕ/нед (min 7000; max 300 000). «Дигидротрахистерол + препараты кальция» принимали 11 пациентов.

Препараты кальция назначались 87% больным (95% ДИ 83–91) в среднесуточной дозе 1837 мг/сут (min 250; max 7500), из них 19% (95% ДИ 17–27) больных получали свыше 3000 мг/сут. Среди различных солей наиболее часто назначался карбонат кальция (86%, 95% ДИ 81–89), 5 пациентов получали цитрат кальция в средней дозе 1300 мг/сут.

Таблица 2. Частота осложнений хронического гипопаратиреоза по результатам анализа базы данных НМИЦ эндокринологии.

Осложнение	Количество пациентов, n=169	Относительная частота, %
Нефрокальциноз	16	10
Нефролитиаз	47	28
ХБП 3–5 ст.	38	21
Катаракта	24	14
Кальцификация структур головного мозга	17	10
Нарушения сердечного ритма	6	4
Психоневрологические нарушения	10	6

Гидрохлоротиазид для коррекции гиперкальциурии применялся у 22 пациентов в средней дозе 30 мг/сут (min 6,25; max 75). С целью коррекции гипомагниемии препараты магния были назначены 38 больным (13%, 95% ДИ 9–17), в среднем по 440 мг/сут. Использование Севеламера для коррекции гиперфосфатемии отмечено только в двух наблюдениях. Терапию рекомбинантным человеческим ПТГ – ПТГ (1-34) получали 2 пациента в средней дозе 25 мг/сут подкожно.

Проведена оценка влияния различных доз лекарственных препаратов и рисков развития осложнений заболевания. С учетом поправки Бонферрони ($P_0=0,013$) установлено, что большие суточные дозы альфакальцидола умеренно коррелируют с увеличением суточной кальциурии ($p=0,004$; $r=0,260$; метод Спирмена), при этом взаимосвязи между дозами альфакальцидола с показателями $Ca_{\text{общ}}$ и Ca^{++} установлено не было ($p=0,844$ и $p=0,697$ соответственно, метод Спирмена). Было отмечено, что больные, принимающие гидрохлоротиазид, в отличие от пациентов, не принимающих диуретик, использовали большие дозы препаратов кальция (2900 [2000; 3000] vs 1500 [1000; 2000] мг/сут; $p<0,001$; U-test). Суточные дозы препаратов кальция не были ассоциированы с повышением суточной кальциурии ($p=0,395$; метод Спирмена).

Нежелательные явления

В исследовании не планировалось отслеживать нежелательные явления, в том числе оценивать безопасность медикаментозной терапии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме результатов исследования

По результатам проведенного исследования отмечено, что чаще всего гипопаратиреозом заболевают женщины (85%, 95% ДИ 81–89) в возрасте от 30 до 50 лет, после перенесенного хирургического вмешательства на области шеи. По данным биохимического исследования крови только 31% (95% ДИ 25–37) пациентов имеют целевые показатели кальция и 47% (95% ДИ 40–54) — фосфора сыворотки крови.

Обследование в необходимом объеме имеется лишь у 58% пациентов ($n=169$). Среди осложнений заболевания в обследуемой группе преобладали нарушения со стороны почек (38%), реже диагностировались патология органов зрения (14%), кальцификация головного мозга (10%), нарушения сердечного ритма (4%) и психоневрологические нарушения (6%).

При анализе терапии заболевания получено, что стандартную схему лечения в виде комбинации активных метаболитов/аналогов витамина D и препаратов кальция на момент включения в исследование принимали 75% (95% ДИ: 70–80%) пациентов. Большие суточные дозы альфакальцидола ассоциировались с увеличением показателей суточной кальциурии ($p=0,004$; $r=0,260$; метод Спирмена). Пациенты, принимающие гидрохлоротиазид, в отличие от больных, не принимающих диуретик, использовали большие дозы препаратов кальция ($p<0,001$; U-test).

Обсуждение результатов исследования

Полученные данные о превалировании послеоперационной этиологии заболевания, особенно среди жен-

щин молодого, трудоспособного возраста, согласуются с результатами зарубежных исследований [1]. Преобладание женщин в группе послеоперационного гипопаратиреоза (85%), скорее всего, связано как с большей распространенностью патологии щитовидной железы в данной популяции, так и с большей приверженностью к обследованию и, следовательно, большей частотой проведения хирургических вмешательств на органах шеи. Объем хирургического вмешательства является независимым фактором риска развития хронического гипопаратиреоза, поэтому в структуре предоперационной патологии преобладают ВДРЩЖ и МУЗ [2].

В настоящее время большое внимание уделяется проблеме определения «неконтролируемого» гипопаратиреоза, при этом на первый план выходят не только отклонения в показателях фосфорно-кальциевого обмена, но и наличие ассоциированных осложнений и поиск их предикторов [3].

В проведенном исследовании менее половины пациентов имели целевые показатели кальция и фосфора сыворотки крови (31 и 47% соответственно). Полученные данные подтверждают отсутствие компенсации заболевания у большинства больных и требуют оптимизации медикаментозного лечения и наблюдения.

При анализе базы данных «НМИЦ эндокринологии» выявлена проблема недостаточного инструментального обследования пациентов — только в 58% случаев проводился необходимый комплекс диагностических мероприятий. В соответствии с зарубежным консенсусом экспертов по хроническому гипопаратиреозу ежегодное выполнение УЗИ почек, а также динамический осмотр офтальмолога являются необходимым минимумом для своевременной диагностики, профилактики и лечения осложнений [4, 5].

Как уже было отмечено в предыдущих исследованиях [6–8], наиболее частым осложнением гипопаратиреоза остается поражение почек. Частота нефрокальциноза и нефролитиаза, по данным различных исследований, варьирует от 12 до 57%, при этом риски их развития в 5 раз выше общепопуляционных показателей. Сходные результаты отмечены в отношении функции почек. Почечная недостаточность со снижением СКФ менее 60 мл/мин/1,73 м² регистрируется в 12–41% наблюдений [6, 9]. В настоящем исследовании установлено, что 13% пациентов имеют ХБП 3–5 ст., 38% — поражение структур почек (нефрокальциноз или нефролитиаз).

Поражение органов зрения с развитием катаракты чаще встречается при нехирургическом гипопаратиреозе (в 4,21 раза, чем в общей популяции), распространенность составляет до 27–55% [8, 10, 11]. В настоящем исследовании катаракта диагностирована у 14% больных.

Кальцификация структур головного мозга в популяции пациентов с гипопаратиреозом может наблюдаться более чем в половине случаев (52–74%) [12]. В настоящем исследовании кальцификация структур головного мозга была выявлена у 10% обследованных пациентов.

К нередким осложнениям гипопаратиреоза относятся нарушения сердечного ритма [13], которые чаще развиваются вследствие острой гипокальциемии и в основном обратимы при ее купировании. Риски развития психоневрологических нарушений в 2,01–2,45 раза выше, чем в популяции [8, 14]. По нашим результатам, частота данных осложнений составила 6% и 10% соответственно.

Стандартная терапия гипопаратиреоза включает в себя назначение активных метаболитов/аналогов витамина D в сочетании с препаратами кальция [4, 5]. По результатам крупных исследований, указанной терапии придерживаются до 88–93% пациентов с гипопаратиреозом, при этом среднесуточные дозы альфакальцидола составляют 1,0 мкг/сут (0,5; 2,0), кальцитриола — 0,5 мкг/сут (0,125–4,0), препаратов кальция — 1000–2048 мг/сут (800; 9450). Гидрохлоротиазид получают в среднем 19% больных в средней дозе 31 мг/сут (12,5; 50) [8, 15]. В данном исследовании стандартную терапию получали 75% пациентов. При анализе других схем медикаментозного лечения обращает на себя внимание наличие комбинаций «колекальциферол + препараты кальция», а также «дигидротахистерол + препараты кальция». Все пациенты, получающие данные комбинации, были переведены на терапию активными метаболитами/аналогами витамина D и препаратами кальция.

Нативный витамин D, колекальциферол, использовался в качестве монотерапии гипопаратиреоза в супрафизиологических дозах в период, когда препараты активных метаболитов/аналогов витамина D не были доступны. Недостатком данной схемы лечения является наличие продолжительного периода полувыведения с риском передозировки и интоксикации. Таким образом, назначение нативного витамина D в настоящее время рассматривается при терапии гипопаратиреоза в качестве дополнительного лечения и профилактики сопутствующего дефицита или недостаточности витамина D [4, 5].

По современным представлениям, дигидротахистерол не должен применяться для лечения хронического гипопаратиреоза [4, 5]. При использовании данного препарата значительно возрастает риск гиперкальциемических эпизодов (уровни общего кальция до 3,7–4,97 ммоль/л) затяжного течения в связи с длительным периодом полувыведения данного препарата, зачастую требующих активной инфузионной терапии. К побочным эффектам препарата относят развитие нефрокальциноза и почечной недостаточности [16, 17].

Выявленная взаимосвязь между применением больших доз альфакальцидола при отсутствии гиперкальциемии и увеличением суточной кальциурии согласуется с результатами предыдущих исследований [18]. В работе Luis García-Pascual и соавт. при изучении возможных факторов риска развития гиперкальциурии как неблагоприятного прогностического маркера патологии почек при гипопаратиреозе было отмечено, что высокий уровень $1,25(\text{OH})_2$ витамина D ассоциирован с более частым выявлением повышенной экскреции кальция с мочой. Повышение уровня $1,25(\text{OH})_2$ витамина D свидетельствовало, по-видимому, о передозировке активными метаболитами/аналогами витамина D.

Терапия рекомбинантным человеческим ПТГ (рчПТГ) используется в настоящее время у пациентов с тяжелым, не компенсированным на стандартной терапии гипопаратиреозом. ПТГ (1-34) не зарегистрирован для лечения гипопаратиреоза, однако имеется опыт его применения при этом заболевании в рамках научных исследований. Максимальный период терапии ПТГ (1-34) у детей с нехирургическими формами гипопаратиреоза в настоящее время составляет $6,9 \pm 3,1$ года (1,5; 10), в средней дозе $0,75 \pm 0,15$ мкг/кг/сут. На фоне лечения отмечалось значимое снижение потребности в кальции и препаратах витамина D, положительная

динамика маркеров костной резорбции [19]. ПТГ (1-84) на сегодняшний день — единственный препарат рчПТГ, одобренный для лечения гипопаратиреоза в странах Европы и США. В целом период наблюдения за пациентами на терапии ПТГ (1-84) составил около 5 лет, со среднесуточными дозами 50 мкг/сут у большинства пациентов (до 93,9%). Продemonстрировано, что терапия рчПТГ приводит к нормализации показателей фосфорно-кальциевого обмена при уменьшении потребности в приеме стандартной терапии, вплоть до полной ее отмены [20].

В обследуемой группе 2 пациента получали терапию рчПТГ (1-34). В обоих случаях терапия ПТГ (1-34) была назначена по решению врачебной комиссии пациентам с аутоиммунным гипопаратиреозом в рамках АПС 1 типа в связи с сохранением жизнеугрожающей гипокальциемии, несмотря на применение больших доз стандартной терапии. Сложности в достижении компенсации были вызваны развитием синдрома мальабсорбции. Отмечалась положительная динамика лабораторных показателей и общего самочувствия. На текущий момент в Российской Федерации ПТГ (1-84) не зарегистрирован.

Ограничения исследования

В данное исследование вошли пациенты с гипопаратиреозом, обратившиеся в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, таким образом, представленные результаты содержат информацию только по обращающимся в лечебное учреждение.

Результаты кардиологических, офтальмологических и психоневрологических исследований вносились в базу данных на основании консультаций соответствующих специалистов (кардиолога, офтальмолога и психиатра).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время известно, что пациенты с длительным течением гипопаратиреоза имеют повышенные риски развития осложнений со стороны различных органов и тканей. Анализ представленной базы данных свидетельствует о недостаточной диагностике пациентов с хроническим гипопаратиреозом, особенно в отношении долгосрочных осложнений.

Анализ течения заболевания и структуры выявляемых изменений может помочь в определении прогностических маркеров, в том числе с целью профилактики развития осложнений и формирования критериев компенсации хронического гипопаратиреоза.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Данное исследование выполнено в рамках государственного задания «Всероссийский реестр пациентов с хроническим гипопаратиреозом как основа оптимизации и внедрения персонализированного подхода для улучшения качества оказания медицинской помощи населению Российской Федерации», регистрационный номер НОКТРАААА-А20-120011790168-2.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Powers J, et al. Prevalence and incidence of hypoparathyroidism in the United States Using a large claims database. *J. Bone Miner. Res.* 2013;28(12):2570–2576. doi:10.1002/jbmr.2004.
2. Abate EG, Clarke BL. Review of Hypoparathyroidism. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*. 2016;7:172. doi:10.3389/fendo.2016.00172.
3. Iqbal K, et al. Defining the Characteristics of Chronic Hypoparathyroidism Not Adequately Controlled on Conventional Therapy: Consensus Findings of Three European Delphi Panels. *Adv. Ther.* 2019;36(11):3007–3016. doi:10.1007/s12325-019-01102-5.
4. Bollerslev J, et al. European Society of Endocrinology Clinical Guideline: Treatment of chronic hypoparathyroidism in adults. *Eur. J. Endocrinol.* 2015;173(2). doi:10.1530/EJE-15-0628.
5. Khan AA, et al. Standards of care for hypoparathyroidism in adults: A Canadian and international consensus. *Eur. J. Endocrinol.* 2019;180(3):1–P22. doi:10.1530/EJE-18-0609.
6. Mitchell DM, et al. Long-term follow-up of patients with hypoparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012;97(12):4507–4514. doi:10.1210/jc.2012-1808.
7. Shoback DM, et al. Presentation of hypoparathyroidism: Etiologies and clinical features. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016;101(6):2300–2312. doi:10.1210/jc.2015-3909.
8. Underbjerg L, et al. Postsurgical hypoparathyroidism-Risk of fractures, Psychiatric Diseases, Cancer, Cataract, and Infections. *J. Bone Miner. Res.* 2014;29(S1):2504–2510. doi:10.1002/jbmr.2273.
9. Levy I, et al. The impact of hypoparathyroidism treatment on the kidney in children: Long-term retrospective follow-up study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015;100(11):4106–4113. doi:10.1210/jc.2015-2257.
10. Daba KT, Weldemichael DK, Mulugeta GA. Bilateral hypocalcemic cataract after total thyroidectomy in a young woman: case report. *BMC Ophthalmol.* 2019;19(1):233. doi:10.1186/s12886-019-1224-9.
11. Saha S, et al. Long-term outcome of cataract surgery in patients with idiopathic hypoparathyroidism and its relationship with their calcemic status. *J. Bone Miner. Metab.* 2017;35(4):405–411. doi:10.1007/s00774-016-0767-6.
12. Goswami R, et al. Prevalence and progression of basal ganglia calcification and its pathogenic mechanism in patients with idiopathic hypoparathyroidism. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2012;77(2):200–206. doi:10.1111/j.1365-2265.2012.04353.x.
13. Newman DB, et al. Reversible cardiac dysfunction associated with hypocalcemia: A systematic review and meta-analysis of individual patient data. *Heart Fail. Rev.* 2014;19(2):199–205. doi:10.1007/s10741-013-9371-1.
14. Kim SH, et al. Prevalence and complications of nonsurgical hypoparathyroidism in Korea: A nationwide cohort study. *PLoS One*. 2020;15(5):e0232842. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232842>.
15. Underbjerg L, et al. Cardiovascular and renal complications to postsurgical hypoparathyroidism: A Danish nationwide controlled historic follow-up study. *J. Bone Miner. Res.* 2013;28(11):2277–2285. doi:10.1002/jbmr.1979.
16. Jensterle M, et al. Dihydroxycholesterol intoxication treated with pamidronate: a case report. *Cases J.* 2010;3(1):78. doi:10.1186/1757-1626-3-78.
17. Quack I, et al. Dihydroxycholesterol therapy for hypoparathyroidism: consequences of inadequate monitoring. Five cases and a review. *Exp. Clin. Endocrinol. diabetes Off. journal, Ger. Soc. Endocrinol. [and] Ger. Diabetes Assoc. Germany*, 2005;113(7):376–380. doi:10.1055/s-2005-865724.
18. García-Pascual L, et al. Serum 1,25-Dihydroxyvitamin D as a Biomarker of the Absence of Hypercalciuria in Postsurgical Hypoparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab. United States*, 2017;102(1):259–266. doi:10.1210/jc.2016-2987.
19. Winer K.K, et al. Long-Term Parathyroid Hormone 1-34 Replacement Therapy in Children with Hypoparathyroidism. *J. Pediatr.* 2018;203:391-399.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2018.08.010.
20. Mannstadt M, et al. Safety and Efficacy of 5 Years of Treatment With Recombinant Human Parathyroid Hormone in Adults With Hypoparathyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2019;104(11):5136–5147. doi:10.1210/jc.2019-01010.

Рукопись получена: 24.09.2020. Одобрена к публикации: 25.09.2020. Опубликовано online: 24.10.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Ковалева Елена Владимировна**, научный сотрудник отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России [Elena V. Kovaleva], 117036, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, <http://orcid.org/0000-0002-9258-2591>, SPIN-код: 7387-6791, e-mail: elen.v.kovaleva@gmail.com

Айнетдинова Алина Ринатовна, врач-статистик отделения патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России [Alina R. Ajnetdinova]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia], ORCID: 0000-0001-6935-3187, eLibrary SPIN: 9617-7460, e-mail: 9803005@mail.ru

Еремкина Анна Константиновна, к.м.н., старший научный сотрудник, и.о. заведующей отделением патологии околощитовидных желез ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России [Anna K. Eremkina]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6667-062X>; eLibrary SPIN: 8848-2660; e-mail: a.lipatenkova@gmail.com

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., член-корр., профессор РАН, директор ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: nm70@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Ковалева Е.В., Еремкина А.К., Айнетдинова А.Р., Мокрышева Н.Г. Результаты анализа базы данных пациентов с гипопаратиреозом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 7–14. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12675>

TO CITE THIS ARTICLE:

Kovaleva EV., Ajnetdinova AR., Eremkina AK., Mokrysheva NG. Evaluation of chronic hypoparathyroidism course according to the Database of Endocrinology Research Centre. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):7–14. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12675>

АУТОАНТИТЕЛА, ИММУНОГЛОБУЛИНЫ И ЦИТОКИНОВЫЙ ПРОФИЛЬ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГРЕЙВСА И ЭНДОКРИННОЙ ОФТАЛЬМОПАТИЕЙ



© Н.Ю. Свириденко*, Е.Г. Бессмертная, И.М. Беловалова, А.А. Михеенков, М.С. Шеремета, Л.В. Никанкина, Н.М. Малышева

Научный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. По современным представлениям, эндокринная офтальмопатия (ЭОП) — это аутоиммунное заболевание, тесно связанное с аутоиммунной патологией щитовидной железы (ЩЖ). Ключевую роль в иммунопатогенезе аутоиммунных заболеваний ЩЖ, в том числе и ЭОП, играют цитокиноопосредованные механизмы. Исследование цитокинового профиля, а также антител к тканевым антигенам имеет принципиальное значение для объяснения патогенеза ЭОП и будущих терапевтических стратегий.

ЦЕЛЬ. Исследование уровня цитокинов, аутоантител, иммуноглобулинов IgG и IgG4 как медиаторов аутоиммунного воспаления у пациентов с ЭОП и болезнью Грейвса (БГ).

МЕТОДЫ. В исследование были включены 52 пациента (104 орбиты) в активной фазе ЭОП и БГ, верифицированные по международным стандартам диагностики, не получавшие ранее лечения по поводу ЭОП. В контрольную группу были включены 14 человек (28 орбит), не имеющих аутоиммунной патологии. Определены концентрации иммуноглобулинов (IgG, IgG4), цитокинов (TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-13, TGF- β 1, TGF- β 3), растворимых рецепторов (sTNF α -R1 и TNF α -R2, sIL-6R, IL-2R, антител к рецептору тиреотропного гормона (pTTG), свободных фракций тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) — свТ4, свТ3, ТТГ) в сыворотке крови. Выполнено ультразвуковое исследование (УЗИ) ЩЖ, мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ)/магнитно-резонансная томография (МРТ) орбит.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Продолжительность ЭОП до поступления в отделение в среднем составила $8,8 \pm 1,5$ мес и варьировала от 1 до 48 мес. По степени компенсации тиреотоксикоза находились в состоянии эутиреоза 24 пациента: ТТГ $3,3 \pm 0,7$, свТ4 $11,9 \pm 0,59$, свТ3 $3,97 \pm 0,1$; в состоянии субклинического тиреотоксикоза 28 пациентов: ТТГ — $0,03 \pm 0,01$, свТ4 $14,2 \pm 1,0$, свТ3 $5,77 \pm 0,49$. Сывороточные уровни sTNF α -R2 ($p=0,041$; $p \leq 0,05$), sIL-2R ($p=0,020$; $p \leq 0,05$), TGF β 1 ($p=0,000$; $p \leq 0,001$) были значимо выше у лиц с ЭОП по сравнению с контрольной группой. С увеличением длительности течения ЭОП повышались концентрации sTNF α -R2 ($p=0,038$; $p \leq 0,05$) и TGF β 1 ($p=0,011$; $p \leq 0,05$), с увеличением тяжести — концентрация sIL-6R ($p=0,034$; $p \leq 0,05$), с увеличением активности — TNF α -R1 ($p=0,012$; $p \leq 0,05$). Выявлено повышенное содержание IgG4 в IgG (более 5%) у 54% пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Высокие уровни солюбилизованных рецепторов цитокинов: sTNF α -R2, sIL-2R и цитокина TGF β 1 у пациентов с длительно существующей нелеченой ЭОП и БГ в состоянии эутиреоза и субклинического тиреотоксикоза свидетельствуют об активации регуляторного звена иммунной системы, направленной на супрессию аутоиммунного процесса. Высокое содержание IgG4 в IgG и цитокина TGF β 1 может определять развитие фиброзных изменений в орбите. Снижение концентрации цитокина TGF β 1 может свидетельствовать о неблагоприятном течении ЭОП.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Грейвса; эндокринная офтальмопатия; цитокины; аутоантитела; иммуноглобулины.

AUTOANTIBODIES, IMMUNOGLOBULINS AND CYTOKINE PROFILE IN PATIENTS WITH GRAVES' DISEASE AND GRAVES' ORBITOPATHY

© Natalya Yu. Sviridenko*, Elena G. Bessmertnaya, Irina M. Belovalova, Alexander A. Mikheenkoy, Marina S. Sheremeta, Larisa V. Nikankina, Natalia M. Malysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

BACKGROUND: Graves' Orbitopathy (GO) — also known as Thyroid Eye Disease (TED) — is an autoimmune condition in the modern sense. It is closely associated with autoimmune thyroid diseases. Cytokine-mediated mechanisms play a critical part in immunopathogenesis of autoimmune thyroid diseases including GO. Investigating cytokine profiles as well as antibodies to tissue-specific antigens is essential for explaining GO pathogenesis and developing future therapeutic strategies.

AIMS: The study examines serum levels of cytokines, autoantibodies and immunoglobulins IgG and IgG4 as mediators of autoimmune inflammation in patients with GO and Graves' Disease (GD).

MATERIALS AND METHODS: The study included 52 patients (104 orbits) aged 25–70 years (mean age $48,8 \pm 12,3$) in the active phase of GO and GD verified with the international diagnostic standards. These patients did not get any treatment for GO before. The control group consisted of 14 individuals (28 orbits) aged 30–68 years without known autoimmune disease.

Serum levels of IgG, IgG4, TNF α , IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-13, sIL-6R, sTNF α -RI и TNF α -R2 IL-2R, TGF β 1, TGF β 3, antibodies to TSH-receptor, free T4, free T3 and TSH were measured. A diagnostic ultrasound exam of thyroid gland, multislice computed tomography (MSCT) / magnetic resonance imaging (MRI) of orbits were performed.

RESULTS: Mean duration of GO prior to being admitted to the centre was $8,8 \pm 1,5$ months (range: 1 — 48 months). According to the degree of thyrotoxicosis compensation: 24 patients were clinically euthyroid, TSH $3,3 \pm 0,7$ mU/L, free T4 $11,9 \pm 0,59$ pmol/L, free T3 $3,97 \pm 0,1$ pmol/L; 28 patients were considered to have subclinical thyrotoxicosis: TSH $0,03 \pm 0,01$ mU/L, free T4 $14,2 \pm 1,0$ pmol/L, free T3 $5,77 \pm 0,49$ pmol/L. Serum levels of sTNF α -R2 ($p=0,041$, $p \leq 0,05$), sIL-2R ($p=0,020$, $p \leq 0,05$), TGF β 1 ($p=0,000$, $p \leq 0,001$) were significantly higher in patients with GO compared to the control group. Serum levels of sTNFR α 2 ($p=0,038$, $p \leq 0,05$) and TGF β 1 ($P=0,011$, $p \leq 0,05$) were positively correlated with the duration of GO. The positive correlations between the serum level of sIL-6R ($p=0,034$, $p \leq 0,05$) and the severity of GO as well as between the serum level of sTNF α -R1 ($P=0,012$, $p \leq 0,05$) and activity of GO were observed. 54% of patients had elevated concentration level of IgG4 in IgG (>5%).

CONCLUSION: High levels of soluble cytokine receptors sTNF α -R2 and sIL-2R and cytokine TGF β 1 in patients with long-standing untreated GO and GD being euthyroid or having subclinical thyrotoxicosis indicate activation of regulatory T cells aimed at suppressing autoimmune processes. High concentration level of IgG4 in IgG and cytokine TGF β 1 can determine the development of fibrotic changes in the orbital tissues. A decrease in the concentration of cytokine TGF β 1 can indicate an unfavorable course of the disease GO.

KEYWORDS: Graves' disease; Graves' orbitopathy; cytokines; autoantibodies; immunoglobulins.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Болезнь Грейвса (БГ) является органоспецифическим аутоиммунным заболеванием. Примерно у половины пациентов с БГ, а по данным визуализирующих методов исследования (мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ)), — в 80% [1, 2] развивается аутоиммунное поражение тканей орбиты — эндокринная офтальмопатия (ЭОП). По современным представлениям, главную роль в патогенезе БГ и ЭОП играют аутореактивные Т-лимфоциты, реагирующие с общими для щитовидной железы (ЩЖ) и тканей орбиты антигенами [3]. Т-лимфоциты вызывают каскад патологических реакций, приводящих к образованию антител к рецептору тиреотропного гормона (рТТГ) и рецептору инсулиноподобного ростового фактора (IGF-1), а также иммуноглобулинов IgG4, возможно, определяющих вовлечение различных анатомических структур глаза в аутоиммунный процесс [4, 5]. Существующие терапевтические подходы к лечению ЭОП основываются на неспецифической иммуносупрессии глюкокортикоидами (ГК) и лучевой терапии орбит [6, 7]. Среди других возможных терапевтических подходов рассматриваются: ингибиторы цитокинов и их рецепторов, ингибиторы клеточной пролиферации Т- и В-лимфоцитов [8–10]. Исследование цитокинового профиля, а также антител к тканевым антигенам имеет принципиальное значение для объяснения патогенеза ЭОП и будущих терапевтических стратегий.

Цель — исследование цитокинов, аутоантител, иммуноглобулинов IgG и IgG4 как медиаторов аутоиммунного воспаления у пациентов с ЭОП и БГ.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено обсервационное одноцентровое одномоментное выборочное контролируемое исследование.

Критерии соответствия

В исследование были включены пациенты с БГ и ЭОП, верифицированными по международным стандартам

диагностики [11]. Объектом исследования являлся пациент и его глаза. Учитывая то, что у одного и того же пациента глаза имеют разную степень выраженности клинических симптомов ЭОП, обработка результатов исследования проводилась отдельно для каждого глаза (шкала клинической активности — CAS) и каждой орбиты (МСКТ). Тяжесть и активность ЭОП оценивались по наиболее пораженному глазу. Критериями исключения были пациенты, получавшие ранее системную глюкокортикоидную или лучевую терапию орбит, имевшие сопутствующие аутоиммунные заболевания, сопутствующие хронические инфекционные заболевания, перенесенные вирусные заболевания в течение последних 3 мес, беременные и кормящие женщины. В контрольную группу были включены лица, не имеющие заболеваний ЩЖ, глаз и аутоиммунной патологии.

Условия проведения

Исследование проводилось в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ в отделе терапевтической эндокринологии.

Продолжительность исследования

Включение пациентов в исследование проведено в 2018–2019 гг.

Описание медицинского вмешательства

Всем пациентам проводились общеклиническое обследование со сбором анамнеза, физикальное обследование, определение уровня ТТГ, свободных фракций тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3), антител к рТТГ, ультразвуковое исследование (УЗИ) щитовидной железы (ЩЖ) с применением цветовой доплерографии. Всем пациентам и группе контроля было выполнено стандартное офтальмологическое исследование на базе отделения диабетической ретинопатии и офтальмохирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (ЭНЦ) (зав. отд. д.м.н. Липатов Д.В.): визометрия, определение уровня внутриглазного давления, биомикроскопия переднего отдела глаза, экзофтальмометрия, компьютерная периметрия, биомикроскопия

хрусталика и стекловидного тела с помощью щелевой лампы, обратная и прямая офтальмоскопия, визуализация орбит — МСКТ, МРТ. Диагноз ЭОП верифицировали соответственно рекомендациям EUGOGO [12]. Тяжесть ЭОП оценивалась по классификации NOSPECS [13]. Активность ЭОП оценивалась по шкале клинической активности CAS [14].

Основной исход исследования

Проводилось определение антител к рТТГ, иммуноглобулинов IgG и IgG4 (за исключением группы контроля), цитокинов и их растворимых рецепторов.

Анализ в подгруппах

Для проведения исследования были сформированы группы по активности, тяжести, длительности ЭОП, степени компенсации тиреотоксикоза

Методы регистрации исходов

Содержание IgG4, фактора некроза опухоли альфа (TNF α), интерлейкинов (IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-17A, IL-13), растворимых рецепторов (sIL-6R), трансформирующего ростового фактора бета 1 (TGF β 1) в образцах сыворотки определяли с помощью коммерческих наборов фирмы BenderMedSystems GmbH (Австрия), sTNF α -RI и TNF α -R2 — наборами R&Dsystems (США-Канада), IgG — набором Seramun Diagnostica GmbH (Германия), IL-2R — набором RayBiotech (США), TGF β 3 — набором Cloud-Clone Corp. (Китай). Все вышеуказанные исследования выполняли методом иммуноферментного анализа, измерение оптической плотности проводили на счетчике 1420 Multilabel Counter VICTOR2 (Perkin Elmer). Оценку функции ЩЖ — уровень ТТГ, свТ3, свТ4 — определяли методом усиленной хемилюминесценции на автоматическом анализаторе Architect (Abbott Diagnostics, США). Референсные значения для базального ТТГ 0,25–3,5 мМЕ/л, свТ4 — 9,0–20,0 пмоль/л, свТ3 — 2,5–5,5 пмоль/л. Антитела к рТТГ (референсные значения 0,00–1,75 МЕ/л) определяли методом электрохемилюминесцентного анализа на иммунохимическом автоматическом анализаторе Cobas 6000 (Roche Diagnostics, Германия). Забор крови проводился утром натощак, после сна в условиях стационара. Лабораторные исследования проводили на базе клинко-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ (зав. лаб. к.м.н. Никанкина Л.В.).

УЗИ ЩЖ выполнено на ультразвуковом сканере Toshiba Aplio 790 датчиком переменной частоты 7,5–10 МГц с применением цветовой доплерографии на базе отделения ультразвуковой диагностики ЭНЦ (зав. к.м.н. Солдатов Т.В.). МРТ, МСКТ орбит проводились в отделе лучевой диагностики НМИЦ (зав. д.м.н. Воронцов А.В.) на 320-срезовом аппарате Aquilion One (Toshiba, Япония) со сканированием в автоматическом режиме. Принимая во внимание возможность разной выраженности патологического процесса в обеих орбитах, каждую орбиту оценивали отдельно в 3 проекциях: аксиальной, коронарной, сагиттальной. Определение минимальных и максимальных значений плотности экстраокулярных мышц (ЭОМ) и ретробульбарной клетчатки (РБК) проводили в коронарной и аксиальной проекциях, отступив 1–2 мм от контуров мышцы [15].

Этическая экспертиза

Работа одобрена локальным Этическим комитетом при ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ. Протокол заседания локального этического комитета № 17 от 27.09.2017 г.

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнена на персональном компьютере с использованием пакета программ статистического анализа данных Statistica 6.13 (StatSoft Inc., США) и приложения Microsoft Excel for Windows. Для количественных признаков рассчитывались: средние, минимальные и максимальные значения, стандартные отклонения (полученные результаты представлены в виде $M \pm SD$, где M — среднее арифметическое значение, SD — стандартное отклонение) либо медиана и квартили — Me [25; 75]. Анализ межгрупповых различий при нормальном распределении признака проводился с использованием t -критерия Стьюдента. Для сравнения независимых выборок при распределении признака, отличавшегося от нормального, использовался критерий Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05 ($p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Участники исследования

В исследование были включены 52 пациента (104 орбиты) в активной фазе ЭОП. Средний возраст составил $48,8 \pm 12,3$ года в диапазоне от 25 до 70 лет, 38 женщин, 14 мужчин. В контрольную группу были включены 14 человек (28 орбит), в возрасте от 30 до 68 лет, не имеющих аутоиммунной патологии.

Хронологический анализ показал, что у 30,8% пациентов симптомы ЭОП и БГ развились одновременно, у 11,5% — ЭОП манифестировала первой, до появления симптомов тиреотоксикоза, у 57,7% — первой манифестировала БГ, промежуток до появления симптомов ЭОП варьировал от 2 до 72 мес. Продолжительность ЭОП до поступления в отделение в среднем составила $8,8 \pm 1,5$ мес и варьировала от 1 до 48 мес. До поступления в отделение пациенты уже принимали тиреостатики, но не лечились по поводу ЭОП. Длительность лечения тиреотоксикоза до госпитализации составила $16,1 \pm 2,3$ мес и варьировала от 1 до 60 мес.

Клинко-инструментальная характеристика пациентов с ЭОП представлена в табл. 1. Все пациенты были консультированы офтальмологом. Согласно шкале клинической активности CAS, пациенты имели активную фазу ЭОП, средний балл составил $4 \pm 0,18$. По степени активности пациенты были разделены на 2 группы: с низкой активностью CAS — 3–4 (73%) и высокой активностью CAS — 5–7 (27%).

По степени компенсации тиреотоксикоза пациенты были разделены на 2 группы: в состоянии эутиреоза находились 24 пациента — ТТГ $3,3 \pm 0,7$, свТ4 $11,9 \pm 0,59$, свТ3 $3,97 \pm 0,1$; в состоянии субклинического тиреотоксикоза — 28 пациентов, ТТГ $0,03 \pm 0,01$, свТ4 $14,2 \pm 1,0$, свТ3 $5,77 \pm 0,49$. Уровень антител к рТТГ был выше у пациентов с субклиническим тиреотоксикозом — $17,9 \pm 3,4$ по сравнению с эутиреоидными пациентами — $10,7 \pm 2,4$, $p < 0,1$, но не достигал статистической значимости.

Таблица 1. Клиническая характеристика пациентов с эндокринной офтальмопатией

	Шкала клинической активности		Различия между группами
	CAS 3–4	CAS 5–7	p
Всего глаз, n	60	34	
ТТГ, мМЕ/л (M±SD)	1,02±0,27	1,2±0,5	н/д
Субклинический тиреотоксикоз/эутиреоз	53,8%/46,2%	50%/50%	
свТ4, пмоль/л (M±SD)	13,1±0,9	13,9±0,9	н/д
свТ3, пмоль/л (M±SD)	4,8±0,5	5,1±0,3	н/д
Антитела к рТТГ, МЕ/л Медиана [25; 75]	7,5 [1,77; 17,47]	18,6 [8,99; 40]	p=0,020 p≤0,05
Диплопия	46,6%	71%	
Косоглазие	26,6%	29%	
Экзофтальм по Гертелю, мм (M±SD)	19,8±0,6	24,2±1,1	p=0,000, p≤0,001
Ширина глазной щели, мм (M±SD)	10,5±0,4	11,3±0,8	p=0,300, н/д
Лагофтальм (M±SD)	20% (1,6±0,4 мм)	50% (2,1±0,38 мм)	
Хемоз	70%	100%	
Внутриглазное давление, мм рт.ст. (M±SD)	18,9±0,9	24,0±1,8	p=0,007, p≤0,01
Оптическая нейропатия	13,3%	71,4%	
Тяжесть средняя/тяжелая	83%/17%	29%/71%	

Таблица 2. Цитокиновый профиль у пациентов с эндокринной офтальмопатией и контрольной группы.

	Пациенты ЭОП CAS 3–7	Контроль	Различия между группами
TGFβ1, пг/мл	20 049,9	14 320,7	p=0,0001
Медиана [25; 75]	[16 570,5; 30 734,9]	[11 058,7; 15 315,7]	p=0,000
M±m	24 450,4±1772,2	12 646,8±1335,9	p≤0,001
sTNFα-R1, пг/мл	1540,6	1713,5	p=0,096
Медиана [25; 75]	[1022,4; 1731,3]	[1416,9; 2092,5]	н/д
sTNFα-R2, пг/мл	2889,5	2346,7	p=0,041
Медиана [25; 75]	[2187,4; 3497,1]	[2065,1; 2730,9]	p≤0,05
sIL-2R, пг/мл	146,2	79,7	p=0,020
Медиана [25; 75]	[94,7; 246,5]	[52,1; 102,8]	p≤0,05
sIL-6R, пг/мл	127	104,1	p=0,138
Медиана [25; 75]	[99,5; 162,6]	[85,5; 148]	н/д
IL-8, пг/мл	12,1	10,9	p=0,061
Медиана [25; 75]	8,5; 17,6]	[7,7; 17,6]	p=0,568
M±m	16,8±6,4	12,9±2,1	н/д
Антитела к рТТГ (МЕ/л) (M±SD)	14,0±2,1	–	
Медиана [25; 75]	9,16 [2,7; 18,3]		

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование цитокинового профиля

Сывороточные уровни TNFα, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-13, за исключением IL-8, определялись в следовых количествах и у пациентов с ЭОП и в контрольной группе в дальнейшем не анализировались. В отличие от вышеуказанных цитокинов сывороточные уровни

растворимых рецепторов цитокинов sTNFα-R1, sTNFα-R2, sIL-R2, sIL-R6 и уровни IL-8 и TGFβ1 определялись в высоких концентрациях. Результаты представлены в таблице 2.

При сравнении пациентов в активной фазе ЭОП (CAS 3–7) с контрольной группой были выявлены более высокие, статистически значимые различия показателей цитокина TGFβ1 (p=0,0001), рецепторов цитокинов sTNFα-R2 (p=0,041, p≤0,05), sIL-2R (p=0,020, p≤0,05).

При сравнении пациентов с разным уровнем активности (CAS 3–4 и CAS 5–7) достоверные различия выявлены только для sTNF α -R1 ($P=0,012$, $p\leq 0,05$) и антител к рТТГ ($p=0,020$, $p\leq 0,05$) (табл. 3). Концентрации TGF β 1 и sIL-2R имели тенденцию к снижению у пациентов с более высокой активностью ЭОП, но не достигали статистической значимости.

При сравнении пациентов с разной степенью тяжести (средней и тяжелой) достоверные различия выявлены только для sIL-6R ($p=0,034$; $p\leq 0,05$).

У пациентов с субклиническим тиреотоксикозом и эутиреозом статистически значимых различий в уровне рецепторов цитокинов не выявлено (табл. 4), за исключением sIL-2R ($p=0,024$).

Таблица 3. Цитокиновый профиль у пациентов с разной степенью активности эндокринной офтальмопатии.

	Пациенты CAS 3–4	Пациенты CAS 5–7	Различия между группами
TGF β 1, пг/мл Медиана [25; 75]	25093,2 [17416,2; 34031,6]	19733,5 [14516,6; 23742,3]	$p=0,199$ н/д
sTNF α -R1, пг/мл Медиана [25; 75]	1233,3 [972,5; 1733,6]	1654,5 [1594,0; 2126,7]	$p=0,012$ $p\leq 0,05$
sTNF α -R2, пг/мл Медиана [25; 75]	2947,1 [2439,4; 3369,7]	2556,1 [2109,5; 3569,3]	$p=0,492$ н/д
sIL-2R, пг/мл Медиана [25; 75]	174,2 [102,9; 276,2]	99,8 [65,5; 192,9]	$p=0,056$ н/д
sIL-6R, пг/мл Медиана [25; 75]	127,0 [99,5; 162,6]	104,1 [85,5; 148]	$p=0,139$ н/д
IL-8, пг/мл Медиана [25; 75]	5,5 [3,2; 7,7]	10,9 [5,9; 13,2]	$p=0,089$ н/д
Антитела к рТТГ, МЕ/л Медиана [25; 75]	7,5 [1,77; 17,47]	18,6 [8,99; 40]	$p=0,020$ $p\leq 0,05$

Таблица 4. Цитокиновый профиль у пациентов с субклиническим тиреотоксикозом и эутиреозом.

Показатели	Пациенты, субклинический тиреотоксикоз	Пациенты, эутиреоз	Различия между группами
	M $\pm$ m	M $\pm$ m	p
ТТГ, мМЕ/л (M $\pm$ SD)	0,03 $\pm$ 0,01	3,3 $\pm$ 0,7	$p=0,000$ $p\leq 0,01$
свТ4, пмоль/л (M $\pm$ SD)	14,2 $\pm$ 1,0	11,9 $\pm$ 0,59	$p=0,060$ $p\leq 0,01$
свТ3, пмоль/л (M $\pm$ SD)	5,77 $\pm$ 0,49	3,97 $\pm$ 0,1	$p=0,003$ $p\leq 0,01$
Антитела к рТТГ, МЕ/л (M $\pm$ SD)	17,9 $\pm$ 3,4	10,7 $\pm$ 2,4	$p=0,085$ $p\leq 0,1$
TGF β 1, пг/мл Медиана [25; 75]	22660,1 [17 416,2; 35592,7]	19442,0 [14 983,8; 25465,7]	$p=0,166$ н/д
sTNF α -R1, пг/мл Медиана [25; 75]	1593,2 [1172,9; 1946,2]	1558,2 [884,9; 1816,5]	$p=0,270$ н/д
sTNF α -R2, пг/мл Медиана [25; 75]	3069,9 [2646,3; 3654,5]	2581,0 [2019,7; 3359,8]	$p=0,177$ н/д
sIL-2R, пг/мл Медиана [25; 75]	225,1 [113,4; 290,6]	107,0 [75,1; 182,7]	$p=0,024$ $p\leq 0,05$
sIL-6R, пг/мл Медиана [25; 75]	128,8 [107,4; 172,1]	126,5 [93,8; 153,0]	$p=0,294$ н/д
IL-8, пг/мл Медиана [25; 75]	5,0 [4,1; 10,9]	8,5 [5,9; 13,2]	$p=0,260$ н/д

Таблица 5. Цитокиновый профиль у пациентов с разной длительностью эндокринной офтальмопатии до начала ее лечения.

	Длительность ЭОП до начала ее лечения, мес			Различия между группами	
	1–4 мес 1 Me [25; 75]	5–9 мес 2 Me [25; 75]	≥10 мес 3 Me [25; 75]	p≤1, 2	p≤1, 3
TGFβ1, пг/мл Медиана [25; 75]	19 134,9 [12 320; 19 975]	25 685,0 [17 708; 31 750]	27 171,0 [16 997; 42 759]	p=0,048 p≤0,05	p=0,041 p≤0,05
sTNFα-R1, пг/мл Медиана [25; 75]	16 343 [1040,5; 1816,5]	1566,2 [1019,2; 1720]	1522 [1051,5; 1841]	p=0,510 н/д	p=0,746 н/д
sTNFα-R2, пг/мл Медиана [25; 75]	2462,3 [1979; 3369,7]	2696,9 [2060; 2962]	3150,3 [2722,6; 4026]	p=0,984 н/д	p=0,038 p≤0,05
sIL-2R, пг/мл Медиана [25; 75]	142,9 [98,8; 239,5]	165,6 [90,5; 300,2]	102,9 [73,4; 210,8]	p=0,765 н/д	p=0,516 н/д
sIL-6R, пг/мл Медиана [25; 75]	121,9 [100; 152,9]	110,8 [99,5; 145,3]	150,1 [126,8; 184]	p=0,789 н/д	p=0,108 н/д
IL-8, пг/мл Медиана [25; 75]	7,7 [4,6; 12,1]		7,9 [4,1; 17,6]		p=0,857 н/д
CAS, баллы (M±SD)	4,0±0,3	3,8±0,3	4,1±0,1		
Диплопия	33,3%	68,8%	77,8%		
Косоглазие	5,5%	43,8%	44,4%		

Таблица 6. Концентрации IgG и IgG4 у пациентов с эндокринной офтальмопатией.

Показатели	M±m	% отношение
IgG4, мкг/мл	754,3±146,6	15% выше нормы >1350 мкг/мл
IgG, мкг/мл	8849,6±382,6	
Отношение IgG4/IgG, %		54% >5% (от 6,7 до 20,7%)

Мы проанализировали цитокиновый профиль в зависимости от длительности ЭОП до начала ее лечения (табл. 5). Уровни TGFβ1 и TNFα-R2 статистически значимо повышались с увеличением длительности ЭОП до поступления в стационар и начала ее лечения (p=0,048; p=0,041 и p=0,038 соответственно). TNFα-R1 и IL-2R имели тенденцию к снижению, но статистически незначимую. Уровень IL-6R оставался без изменений. С увеличением длительности течения офтальмопатии нарастала частота диплопии и косоглазия.

Концентрация IgG4 превышала норму более 1350 мкг/мл у 15% пациентов. Концентрация IgG4 превышала норму (более 5% от общего IgG сыворотки крови) у 54% пациентов и варьировала от 6,7 до 20,7% (табл. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние десятилетия в связи с признанием аутоиммунной природы БГ достаточно подробно были изучены показатели В-клеточного иммунитета. Было доказано,

что антитела к рТТГ играют ведущую роль не только в патогенезе БГ [16], но и являются прогностическими маркерами активности и тяжести ЭОП [17]. Реакции Т-клеточного иммунитета изучены в меньшей степени. Ключевую роль в иммунопатогенезе аутоиммунных заболеваний ЦЖ, в том числе и ЭОП, играют цитокиноопосредованные механизмы [18]. Цитокины вырабатываются в основном Т-клетками иммунной системы, но могут секретироваться макрофагами, эндотелиальными клетками, орбитальными фибробластами и т.д. [19]. Цитокины — антиген-неспецифические факторы. Поэтому специфическая диагностика аутоиммунных заболеваний с помощью определения уровня цитокинов невозможна. Но определение их концентрации в крови дает информацию о тяжести воспалительного процесса и о прогнозе заболевания [20]. Поскольку цитокины при ЭОП образуются локально в пораженном органе, сывороточная концентрация может не отражать их уровень в соответствующих тканях. В нашем исследовании уровни TNFα, IL-1α, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17A, IL-13 в сыворотке крови определялись в следовых количествах и у пациентов с ЭОП и в контрольной группе и в дальнейшем не анализировались.

Для проявления биологической активности цитокина необходимо присутствие на поверхности клеток специфических рецепторов [21]. Цитокин взаимодействует с внешней, экстрацеллюлярной, частью рецептора. Внеклеточный домен мембранного рецептора отщепляется и поступает в кровь — растворимый (солюбилизованный) рецептор. Главное биологическое значение солюбилизованных рецепторов состоит в блокировке эффектов соответствующих цитокинов. В нашем исследовании

мы проанализировали концентрацию рецепторов цитокинов, которая значительно превышала концентрацию соответствующего цитокина.

TNF α — провоспалительный цитокин. Ранее было показано, что TNF α играет важную роль в аутоиммунном воспалительном процессе при ЭОП [22], в тканях орбиты рецепторы к TNF α определяются в большом количестве [23]. Его sTNF α -R1 экспрессируется клетками большинства тканей, а sTNF α -R2 экспрессируется более ограниченным образом в определенных популяциях лимфоцитов, включая Т-регуляторные клетки (Tregs) [24]. В нашем исследовании сывороточные уровни sTNF α -R2 были значимо выше у лиц с ЭОП по сравнению с контрольной группой ($p=0,041$; $p\leq 0,05$). sTNF α -R2 стабилизирует циркулирующий TNF α и увеличивает период полураспада данного цитокина в сыворотке крови, являясь его «ловушкой». Его повышенная концентрация свидетельствует об активности иммунной системы, преимущественно Tregs, направленной на подавление аутоиммунного процесса. В нашем исследовании концентрация sTNFR α 2 повышалась с увеличением длительности течения ЭОП ($p=0,0387$; $p\leq 0,05$), что свидетельствует об активации регуляторного звена иммунной системы с увеличением длительности ЭОП. sTNF α -R1 также стабилизирует циркулирующий TNF α и увеличивает период полураспада данного цитокина в сыворотке крови. Его основная функция — запустить апоптоз, т.е. гибель клетки [25]. В нашем исследовании уровни sTNF α -R1 не отличались от контроля, но значимо повышались у пациентов с более высокой активностью ($p=0,012$; $p\leq 0,05$).

Орбитальные фибробласты продуцируют трансформирующий фактор роста бета (TGF β 1), который стимулирует выработку гликозаминогликанов, а также дифференцировку орбитальных фибробластов в миофибробласты [26], что определяет развитие фиброза, особенно на поздних стадиях заболевания. В нашем исследовании уровень TGF β 1 был значимо выше у пациентов с ЭОП по сравнению со здоровыми пациентами ($p=0,0001$) и повышался с увеличением длительности течения ЭОП ($p=0,041$, $p\leq 0,05$), что косвенно может свидетельствовать о прогрессировании фиброза в орбите. О прогрессировании фиброза также свидетельствует более высокая частота диплопии и косоглазия в отдаленные сроки течения ЭОП (табл. 5). Кроме того, TGF β 1 подавляет экспрессию pTTT на фибробластах и супрессирует иммунный ответ [27].

Интерлейкин IL-2 продуцируется активированными Т-хелперами (Th1). IL-2 оказывает пролиферирующее и активирующее воздействие на Т-лимфоциты (киллеры) и В-клетки, а также на натуральные киллеры и определяет длительность иммунного ответа [28]. IL-2 способствует генерации, выживаемости и функциональной активности Tregs Foxp3⁺ (Treg или Т-супрессоры; Foxp3 — транскрипционный фактор, регулирующий транскрипцию генов, ответственных за дифференцировку Т-клеток и экспрессию цитокинов) [29]. В его отсутствие наблюдается глубокий дефицит Т-супрессоров, приводящий к развитию аутоиммунных заболеваний. Свою активность IL-2 проявляет после связывания со специфическим клеточным рецептором IL-2R. Определение уровня sIL-2R позволяет выявлять и контролировать активацию Treg как супрессоров аутоиммунного процесса. В нашем исследовании

сывороточный уровень sIL-2R у пациентов с ЭОП был значимо выше контроля ($p=0,020$; $p\leq 0,05$). Уровень sIL-2R снижался с длительностью ЭОП, но не имел достоверной значимости.

IL-6 является провоспалительным цитокином и повышается в острую воспалительную фазу инфекционных заболеваний. Он стимулирует дифференцировку В-лимфоцитов и активирует Т-лимфоциты с последующим снижением Treg [30, 31], приводя к потере аутоотолерантности при аутоиммунных заболеваниях. По нашим данным, комплекс IL-6/sIL-6R не имел отличий от контрольной группы, что, скорее всего, связано с длительным течением ЭОП до начала ее лечения и ограничением острой воспалительной фазы заболевания.

IL-8 — самый ранний провоспалительный цитокин, он, так же как и IL-6, повышается в острую воспалительную фазу инфекционных заболеваний, аутоиммунных и иммуновоспалительных заболеваний [32]. IL-8 обладает ангиогенной активностью и играет ключевую роль в образовании новых сосудов. По нашим данным, только у двоих пациентов IL-8 значительно превышал норму — 10,9 пг/мл (131 и 150 пг/мл).

Имуноглобулин IgG является самым распространенным и основным иммуноглобулином сыворотки крови человека, он может составлять до 75% фракции всех иммуноглобулинов. Концентрация иммуноглобулина подкласса IgG4 в норме ниже, чем других подклассов IgG, и составляет менее 5% от общего IgG сыворотки крови. Повышение концентрации иммуноглобулинов подкласса IgG4 в сыворотке выявляют при ряде заболеваний, обусловленных инфильтрацией органов плазматическими клетками, секретирующими IgG4 [33, 34]. Последствиями тканевого воспаления являются выраженный фиброз и рубцевание пораженной ткани. В нашем исследовании у 15% пациентов наблюдалась повышенная концентрация IgG4 (более 1350 мкг/мл) в сыворотке крови, и повышенное содержание IgG4 в IgG (более 5%) выявлено у 54% пациентов, что косвенно может свидетельствовать о развитии фиброзных изменений в орбите.

Следует отметить, что у пациентов с некомпенсированным, впервые выявленным тиреотоксикозом при БГ уровни цитокинов и их растворимых рецепторов выявляются в высоких концентрациях [35]. По данным Здор В.В. [36], уровень IL-8 у пациентов с нелеченым тиреотоксикозом при БГ составил $142,7\pm 18,4$ пг/мл (в нашем исследовании $16,8\pm 6,4$ пг/мл). В то же время концентрация TGF β 1 была значительно ниже — $18\ 150\pm 1590$ пг/мл по сравнению с нашими результатами $24\ 450,4\pm 1772,2$ пг/мл, что свидетельствует о выраженной супрессии регуляторного звена (Treg) у пациентов с некомпенсированным тиреотоксикозом. Впервые гипотеза о дефиците Т-супрессоров была высказана канадским ученым R. Volpe [37], и предположено, что на фоне устранения тиреотоксикоза уровень Т-супрессоров повышается. В нашем исследовании пациенты принимали тиреостатики и поступали в состоянии эутиреоза и субклинического тиреотоксикоза, что отражалось на результатах исследования и снижало влияние тиреотоксикоза на определение цитокинов/рецепторов. Также на результаты исследования могла повлиять продолжительность течения ЭОП до начала ее лечения. В нашем исследовании она составила в среднем $8,8\pm 1,5$ мес и варьировала от 1 до 48 мес.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследованию цитокинов при БГ и ЭОП посвящено много работ. Ограничением многих исследований является то, что высокая концентрация цитокинов была обусловлена некомпенсированным тиреотоксикозом при БГ и в меньшей степени — ЭОП. В нашем исследовании пациенты с БГ получали лечение тиреостатиками и находились в состоянии эутиреоза или субклинического тиреотоксикоза. С другой стороны, пациенты были обследованы не в дебюте ЭОП, а в разные сроки от начала ее манифестации, что могло также повлиять на результаты исследования. У пациентов значимо были повышены солибилизованные рецепторы «ловушки» цитокинов: sTNF α -R2, sIL-2R и цитокин TGF β 1, оказывающие супрессивное действие на аутоиммунный процесс за счет активации Т-регуляторных клеток (Т-супрессоров), что косвенно подтверждает гипотезу R. Volpe о повышении регуляторного звена иммунной системы на фоне устранения тиреотоксикоза. sTNF α -R1 как маркер апоптоза коррелировал с активностью ЭОП. С увеличением продолжительности ЭОП концентрация TGF β 1 как фактора развития фиброза повышалась. О возможном прогрессировании фиброза также могут свидетельствовать высокие концентрации IgG4 в составе IgG.

Таким образом, цитокиновый профиль у пациентов с длительно существующей, нелеченой ЭОП у пациентов с БГ свидетельствует об активации иммунной системы, направленной на супрессию аутоиммунного процесса. Снижение концентрации цитокина TGF β 1 может свидетельствовать о неблагоприятном течении ЭОП.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Данная работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РНФ №17-75-30035).

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи

Участие авторов. Свириденко Н.Ю. — эндокринолог: набор материала, проведение исследований, статистический анализ, написание статьи; Бессмертная Е.Г. — офтальмолог: проведение исследований; Беловалова И.М. — эндокринолог: набор материала, рецензия статьи; Михеенков А.А. — эндокринолог: набор материала, проведение исследований; Шеремета М.С. — эндокринолог: набор материала, проведение исследований; Никанкина Л.В. — проведение лабораторных исследований; Малышева Н.М. — проведение лабораторных исследований. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Wiersinga W, Bartalena L. Epidemiology and prevention of Graves' ophthalmopathy. *Thyroid*. 2002;12(10):855–860.
- Пантелеева О.Г. Современная концепция механизма развития нарушений зрительных функций при эндокринной офтальмопатии // Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 2007. 47 с. [Panteleeva OG. The modern concept of the mechanism for development of visual functions disturbances in endocrine ophthalmopathy. [Dissertation] Moscow; 2007. 47p.
- Lee HJ, Li CW, Hammerstad S.S. et al. Immunogenetics of autoimmune thyroid diseases: a comprehensive review. *J. Autoimmun.* 2015;64:82–90. doi: 10.1016/j.jaut.2015.07.009
- Krigger CC, Place RF, Bevilacqua C, et al. TSH/IGF-1 receptor cross talk in Graves' ophthalmopathy pathogenesis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:2340–2347. doi: 10.1089/thy.2017.0105
- Rotondi M, Carbone A, Coperchini F, et al. Diagnosis of endocrine disease: IgG4-related Thyroid Autoimmune Disease. *Eur J Endocrinol*. 2019;180(5):175–183. doi: 10.1530/EJE-18-1024
- Salvi M, Campi I. Medical Treatment of Graves' Orbitopathy. *Horm Metab Res*. 2015;47:1–10. doi: 10.1055/s-0035-1554721
- Gorman C, Garrity J, Fatourech V, Bahn R. A prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled study of orbital radiotherapy for Graves' ophthalmopathy. *Ophthalmology*. 2020;127(4):160–171. doi: 10.1016/S0161-6420(01)00632-7
- Paridaens D, van den Bosch WA, Krenning E. The effect of etanercept on Graves' ophthalmopathy: a pilot study. *Eye*. 2005;19:1286–1289.
- Durrani OM, Reuser TQ, Murray PI. Infliximab: a novel treatment for sight-threatening thyroid associated ophthalmopathy. *Orbit*. 2005;24:117–119.
- Douglas R, Kahaly G, Patel A. et al. Teprotumumab for the Treatment of Active Thyroid Eye Disease. *N Engl J Med*. 2020;382(4):341–352.
- Kahaly G, Bartalena L, Hegedüs L, et al. 2018 European Thyroid Association Guideline for the Management of Graves' Hyperthyroidism. *Eur Thyroid J*. 2018;7:167–186. doi: 10.1159/000490384
- Bartalena L, Baldeschi L, Boboridis K, et al. European Thyroid Association/European Group on Graves' Orbitopathy Guidelines for the Management of Graves' Orbitopathy. *Eur Thyroid J*. 2016;5:9–26. doi: 10.1159/000443828
- Wiersinga WM, Perros P, Kahaly GJ, et al. Clinical assessment of patients with Graves' Orbitopathy: The European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) recommendations to generalists, specialists and clinical researchers. *Eur J Endocrinol*. 2006;155:387–389.
- Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Свириденко Н.Ю., и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению эндокринной офтальмопатии при аутоиммунной патологии щитовидной железы // Проблемы эндокринологии. — 2015. — Т. 61. — №1. — С. 61–74. [Dedov I, Melnichenko GA, Sviridenko NY, et al. Federal clinical recommendations on diagnostics and treatment of endocrine ophthalmopathy associated with autoimmune thyroid pathology. *Problems of endocrinology*. 2015;61(1):61–74. (In Russ.)). doi: https://doi.org/10.14341/probl201561161-74.
- Чепурина А.А., Свириденко Н.Ю., Ремизов О.В., Беловалова И.М. Визуализирующие методы исследования в диагностике эндокринной офтальмопатии // Медицинская визуализация. — 2012. — №1. — С. 36–44. [Chepurina AA, Sviridenko NY, Remizov OV, Belovalova IM. Imaging Methods in the Diagnosis of Thyroid-Associated Orbitopathy. *Medical Visualization*. 2012;1: 36–44. (In Russ.)).
- Smith TJ, Hegedus L. Graves' disease. *N Engl J Med*. 2016;375:1552–1565. doi: 10.1056/NEJMr1510030
- Свириденко Н.Ю., Лихванцева В.Г., Беловалова И.М., Шеремета М.С., Табеева К.И. Антитела к рецептору ТТГ как предикторы тяжести и исходов эндокринной офтальмопатии у пациентов с болезнью Грейвса // Проблемы эндокринологии. — 2011. — №2. — С. 23–26. [Sviridenko NY, Likhantseva VG, Belovalova IM, et al. Anti-TSH receptor antibodies as predictors of the severity and outcome of endocrine ophthalmopathy in the patients presenting with Graves' disease. *Problems of endocrinology*. 2011;57(2):23–26. (In Russ.)). doi: https://doi.org/10.14341/probl201157223-26.
- Bahn R. Graves' Ophthalmopathy. *N Engl J Med*. 2010;362:726–738. doi: 10.1056/NEJMr0905750
- Ярилин А.А. Иммунология. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. — С. 190–226. [Yarilin AA. Immunologia. M.: GEOTAR-Media, 2010. P. 190–226. (In Russ.)).
- Стагниева И.В., Бойко Н.В., Гукасян Е.Л., Бачурина А.С. Цитокины в диагностике воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей // Российская ринология. — 2017. — Т. 25. — №4. — С. 43–47. [Stagnieva IV, Boiko NV, Gukasyan EL, Bachurina AS. The role of cytokines in the diagnostics of inflammatory diseases of the upper respiratory tract. *Russian Rhinology = Rossiyskaya Rinologiya*. 2017;25(4):43–47 (In Russ.)). doi:10.17116/ROSRINO201725443-47

21. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе и лечении заболеваний человека. — СПб: Фолиант, 2018. — С. 10–55 [Simbirtsev AS. Cytokines in the pathogenesis and treatment of human diseases. SPb: Foliant, 2018. P. 10–55 (In Russ.)].
22. Rajaii F, McCoy AN, Smith TJ. Cytokines are both villains and potential therapeutic targets in thyroid-associated ophthalmopathy: From bench to bedside. *Expert Rev Ophthalmol.* 2014;9(3):227–34.
23. Myśliwiec J, Kretowski A, Stepień A, Kinalska I. Serum Levels of Soluble TNFα Receptors (sTNFR1 and sTNFR2) during Corticosteroid Treatment in Patients with Graves' Ophthalmopathy. *Immunological investigations.* 2004;33(1):61–68. doi: 10.1081/IMM-120027685
24. Симбирцев А.С. Цитокины в патогенезе инфекционных и неинфекционных заболеваний человека // Медицинский академический журнал. — 2013. — Т. 1. — №3. — С. 18–41. [Simbirtsev AS. Cytokines in the pathogenesis of infectious and noninfectious human diseases. *Medical academic journal.* 2013; 1 (3):18–41 (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.17816/MAJ13318-41>
25. Faustman D, Davis M. TNF Receptor 2 and Disease: Autoimmunity and Regenerative Medicine. *Frontiers in Immunology.* 2013;4:478. doi: 10.3389/fimmu.2013.00478
26. Таскина Е.С., Харинцева С.В. Морфофункциональная характеристика и иммунологическая регуляция функции орбитальных фибробластов при эндокринной офтальмопатии // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2018. — Т. 14. — №4. — С. 183–191. [Taskina ES, Kharintseva SV. Morphofunctional characteristics and immunological regulation of the orbital fibroblasts function in endocrine ophthalmopathy. *Clinical and experimental thyroidology.* 2018;14(4):183–191. doi: <https://DOI.org/10.14341/ket10147>
27. Kajdaniuk D, Marek B, Niedziółka-Zielonka D, Foltyn W, Nowak M, Siemińska L, Borgiel-Marek H, Głogowska-Szeląg J, Ostrowska Z, Drożdż L, Kos-Kudła B. Transforming growth factor β1 (TGFβ1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the blood of healthy people and patients with Graves' orbitopathy — a new mechanism of glucocorticoids action? *Endocrinol Pol.* 2014;65(5):348–56. doi: 10.5603/EP.2014.0048.
28. Khalilzadeh O, Noshad S, Rashidi A, Amirzargar A. Graves' Ophthalmopathy: A Review of Immunogenetics. *Current Genomics.* 2011;12:564–575.
29. Pandiyan P, Zhu J. Origin and functions of pro-inflammatory cytokine producing Foxp3+ regulatory T cells. *Cytokine.* 2015;76 (1):13–24. doi: 10.1016/j.cyt.2015.07.005.
30. Slowik M, Urbaniak-Kujda D, Bohdanowicz-Pawlak A, Kapelko-Slowik K, Dybko J, Wolowiec D, Jazwiec B, Daroszewski J. CD8+CD28-lymphocytes in peripheral blood and serum concentrations of soluble interleukin 6 receptor are increased in patients with Graves' orbitopathy and correlate with disease activity. *Endocr Res.* 2012;37(2):89–95. doi:10.3109/07435800.2011.635622.
31. Ruggeri RM, Barresi G, Sciacchitano S, et al. Immunoexpression of the CD30 ligand/CD30 and IL-6/IL-6R signals in thyroid autoimmune diseases. *Histol Histopathol.* 2006;21(3):249–256. doi: 10.14670/HH-21.249
32. Arican O, Aral M, Sasmaz S, Ciragi P. Serum levels of TNF-α, IFN-γ, IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity. *Mediators of Inflammation.* 2005;5:273–279.
33. Yu SH, Kang JG, Kim CS et al. Clinical Implications of Immunoglobulin G4 to Graves' Ophthalmopathy. *Thyroid.* 2017; 27(9):1185–1193. doi: 10.1089/THY.2017.0126
34. Bozkirli E, Bakiner OS, Ersozlu Bozkirli ED, et al. Serum Immunoglobulin G4 levels are elevated in patients with Graves' ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;83(6):962–967. doi: 10.1111/CEN.12671
35. Ganesh BB, Bhattacharya P, Gopisetty A, Prabhakar BS. Role of Cytokines in the Pathogenesis and Suppression of Thyroid Autoimmunity. *J. Interferon Cytokine Res.* 2011;31:721–731. doi: 10.1089/jir.2011.0049
36. Здор В.В., Маркелова Е.В. Патогенетическая роль системы цитокинов при аутоиммунном тиреотоксикозе // Клиническая и экспериментальная тиреоидология. — 2013. — Т. 9. — №4. — С. 27–30. [Zdor VV, Markelova EV. The State and Interactions of the System of Cytokines in Autoimmune Thyrotoxicosis. *Clinical and experimental thyroidology.* 2013;9(4):27–30 (In Russ.)].
37. Volpé R. Immunological aspects of thyroid disease. *Triangle.* 1984;23:95–109.

Рукопись получена: 15.08.2020. Одобрена к публикации: 01.10.2020. Опубликовано online: 14.12.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Свириденко Наталья Юрьевна**, д.м.н., профессор [Natalya Yu. Sviridenko, MD, PhD, Professor];
адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8538-5354>; eLibrary SPIN: 5889-6484; e-mail: natsvir@inbox.ru

Бессмертная Елена Григорьевна, к.м.н. [Elena G. Bessmertnaya, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5910-6502>;
eLibrary SPIN: 1273-3426; e-mail: bessmertnaya.eg@gmail.com

Беловалова Ирина Михайловна, к.м.н. [Irina M. Belovalova, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9954-7641>;
eLibrary SPIN: 7158-0658; e-mail: belovalova.irina@endocrincentr.ru

Михеенков Александр Александрович [Alexander A. Mikheenkoy]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9981-1767>;
eLibrary SPIN: 6824-5971; e-mail: Mikheenkoy_Alexander@mail.ru

Шеремета Марина Сергеевна, к.м.н. [Marina S. Sheremeta, MD, PhD]; ORCID:
<http://ORCID.org/0000-0003-3785-0335>; eLibrary SPIN: 7845-2194

Никанкина Лариса Вячеславовна, к.м.н. [Nikankina Larisa V. PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8380-3825>;
eLibrary SPIN: 2794-0008

Малышева Наталья Михайловна, к.б.н. [Natalia M. Malysheva, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7321-9052>;
eLibrary SPIN: 5793-2550

ЦИТИРОВАТЬ:

Свириденко Н.Ю., Бессмертная Е.Г., Беловалова И.М., Михеенков А.А., Шеремета М.С., Никанкина Л.В., Малышева Н.М. Аутоантитела, иммуноглобулины и цитокиновый профиль у пациентов с болезнью Грейвса и эндокринной офтальмопатией // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 15–23. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12544>

TO CITE THIS ARTICLE:

Sviridenko NY, Bessmertnaya EG, Belovalova IM, Mikheenkoy AA, Sheremeta MS, Nikankina LV, Malysheva NM. Autoantibodies, immunoglobulins and cytokine profile in patients with graves' disease and graves' orbitopathy. *Problems of Endocrinology.* 2020;66(5):15–23. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12544>

РАЗВИТИЕ БОЛЕЗНИ ГРЕЙВСА НА ФОНЕ ДЛИТЕЛЬНО СУЩЕСТВУЮЩЕГО ПЕРВИЧНОГО ГИПОТИРЕОЗА В ИСХОДЕ АУТОИММУННОГО ТИРЕОИДИТА



© Е.А. Панфилова^{1*}, Л.П. Крук¹, М.П. Исаева¹, П.О. Османова¹, Ф.А. Бостанова², Е.А. Трошина¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва, Россия

Основными аутоиммунными тиреопатиями являются аутоиммунный тиреодит (АИТ, или тиреодит Хашимото — термин чаще используется в зарубежной литературе) и диффузный токсический зоб (ДТЗ, или болезнь Грейвса). Несмотря на существенные различия в патогенезе и клинической картине между АИТ и болезнью Грейвса, в литературе описаны случаи перехода — конверсии — одного аутоиммунного заболевания в другое, что, по одной из версий, связано с изменением баланса между титром стимулирующих и блокирующих антител к рецептору тиреотропного гормона (ТТГ). При этом чаще встречаются наблюдения перехода болезни Грейвса в АИТ, и значительно реже описывают, наоборот, развитие болезни Грейвса на фоне АИТ. В статье представлен клинический случай конверсии АИТ в болезнь Грейвса. Описан подробный алгоритм консервативного ведения по схеме «блокируй-замещай», с указанием результатов лабораторно-инструментального обследования. На момент описания клинического случая результат лечения можно считать успешным. Предикторы, такие как низкий титр антител к рецептору ТТГ (АТ-рТТГ) и объем щитовидной железы (ЩЖ) перед отменой тиреостатической терапии, позволяют рассчитывать на низкий риск рецидива болезни Грейвса.

По мнению авторов, явление конверсии одной аутоиммунной тиреопатии в другую, помимо научного интереса, имеет важное значение для практикующих врачей, так как своевременное изменение диагностической парадигмы может существенно изменить тактику лечения и благоприятно повлиять на прогноз заболевания, предотвратив развитие осложнений.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Грейвса; аутоиммунный тиреодит; антитела к рецептору тиреотропного гормона; клинический случай.

THE DEVELOPMENT OF GRAVES' DISEASE AFTER LONG-TERM HYPOTHYROIDISM DUE TO HASHIMOTO'S DISEASE

© Elena A. Panfilova^{1*}, Lidiya P. Kruk¹, Mariya P. Isaeva¹, Patimat O. Osmanova¹, Fatima A. Bostanova², Ekaterina A. Troshina¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

The main autoimmune thyroid diseases are Hashimoto's thyroiditis (HT) and Graves' disease (GD). Despite the significant differences in a pathogenesis and a clinical picture between HT and GD, the literature describes the cases of the conversion of one autoimmune disease to another, which, according to one version, is associated with a change in the balance between the levels of a stimulating and blocking antibodies to the thyroid-stimulating hormone receptor. At the same time, there are more frequent observations of the transition of GD to HT, and much less often describe, on the contrary, the development of GD against the background of HT. The article presents a clinical case of the conversion of HT to GD. A detailed algorithm of the conservative management according to the «block-replace» scheme is described, indicating the results of laboratory and instrumental examination. At the time of describing the clinical case, the result of the treatment can be considered successful. The predictors such as a low level of the thyroid-stimulating hormone receptor and thyroid volume before discontinuation of the thyrostatic therapy suggest a low risk of the recrudescence of GD.

According to the authors, the phenomenon of the conversion of one autoimmune thyroid disease to another, in addition to the scientific interest, is important for the practitioners, since a timely change in the diagnostic paradigm can significantly change the treatment strategy and the favorably affect the prognosis of disease, preventing the development of complications.

KEYWORDS: Graves' disease; autoimmune thyroiditis; TSH-receptor antibody; case report.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Эпидемиологические исследования последних лет свидетельствуют об устойчивом росте распространенности аутоиммунной эндокринной патологии, в частности, аутоиммунных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). Основными аутоиммунными тиреопатиями являются аутоиммунный тиреоидит (АИТ, или тиреоидит Хашимото — термин чаще используется в зарубежной литературе) и диффузный токсический зоб (ДТЗ, или болезнь Грейвса). Этиология аутоиммунных заболеваний ЩЖ многофакторна, при этом важная роль отводится антителам к тиреопероксидазе (АТ-ТПО), к тиреоглобулину (АТ-ТГ) и к рецептору тиреотропного гормона (ТТГ) [1].

Рассмотрим антитела к рецептору тиреотропного гормона (АТ-рТТГ) подробнее.

Аутоантитела к рТТГ были впервые открыты Адамсом и Пурвесом в 1956 г. Авторы идентифицировали молекулу с действием, сходным с ТТГ, и назвали ее стимулятором ЩЖ длительного действия (LATS). Позднее было выявлено, что эта молекула относится к классу иммуноглобулинов G, а затем она была идентифицирована как АТ-рТТГ [2].

АТ-рТТГ в настоящее время подразделяются на стимулирующие, блокирующие и нейтральные на основании их способности связываться с различными типами эпитопов, а также различий в их биологическом действии [1]. Активирующие и блокирующие антитела в основном связываются с конформационными эпитопами, тогда как нейтральные антитела связываются с линейными эпитопами. Связывание антитела с аминокислотным концом рецептора ТТГ вызывает стимулирующую активность, тогда как связывание с остатками 261-370 или 388-403 блокирует активность [3]. На рис. 1 представлены типы АТ-рТТГ.

Несмотря на существенные различия в патогенезе и клинической картине между АИТ и болезнью Грейвса, в литературе описаны случаи перехода — конверсии — одного аутоиммунного заболевания в другое. Все чаще встречаются клинические ситуации, когда у одних и тех же людей происходит последовательное фенотипическое превращение болезни Грейвса в АИТ, или наоборот [4]. При этом чаще встречаются наблюдения перехода болезни Грейвса в хронический АИТ, и значительно реже описывают, наоборот, развитие болезни Грейвса на фоне АИТ. По одной из версий, это связано с отсутствием у лиц с длительным течением АИТ критической массы функционирующей ткани ЩЖ, способной реагировать на АТ-рТТГ [5].

На 2014 г. в мире было описано порядка 37 случаев развития гипертиреоза на фоне гипотиреоза, вызванного АИТ [6].

Впервые случай конверсии гипотиреоза в гипертиреоз был опубликован в 1959 г. Joplin и Fraser [7]. В 1960 г. Doniach и соавт. [8] также описали схожий клинический случай. Gavras и Thomson [9] в 1972 г. зарегистрировали два случая развития болезни Грейвса у пациентов, принимавших тироксин для лечения гипотиреоза. Takasu и соавт. [10] в 1990 г. опубликовали данные о 8 пациентах, у которых развилась болезнь Грейвса на фоне тиреоидита Хашимото, при этом авторы выделили 3 группы случаев — развитие транзиторной болезни Грейвса на фоне АИТ, возникновение персистирующего течения болезни Грейвса вслед за АИТ и персистирующего гипотиреоза с присутствием антител, стимулирующих ЩЖ [11]. Moriarty и соавт. описали случай перехода аутоиммунного гипотиреоза в гипертиреоз с тиреоидной офтальмопатией [12].

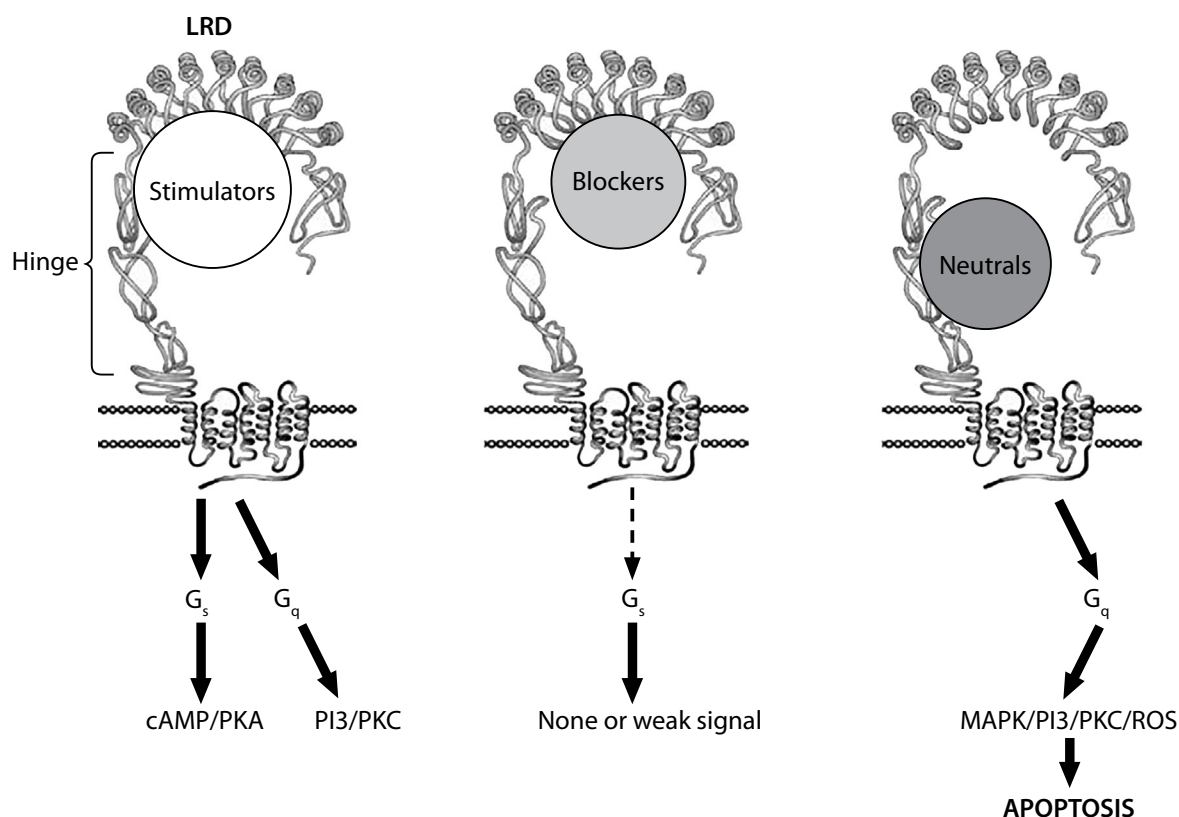


Рисунок 1. Типы антител к рецептору тиреотропного гормона и последствия их связывания с рецептором [19].

Таблица 1. Данные анамнеза.

Даты	ТТГ	Св. Т4	Св. Т3
Прием левотироксина натрия 50 мкг/сут			
20.06.2018	<0,01 мкМЕ/мл (0,4–4,0)		
Отмена левотироксина натрия			
27.08.2018	0,0 мкМЕ/мл (0,45–5,33)	1,20 нг/дл (0,61–1,37)	
Прием тиамазола 30 мг/сут			
С 08.09.2018	Прием тиамазола 20 мг/сут		
20.10.2018	68,5 мкМЕ/мл (0,4–4,0)	13,8 пмоль/л	3,5 пмоль/л
Тиамазол 25 мг/сутки+левотироксин натрия 25 мкг/сут			

Одно из крупнейших недавних исследований было проведено Takasu и Matsushita [13]. Для последующего наблюдения в течение 10 лет были отобраны 34 пациента с гипотиреозом и наличием блокирующих АТ-рТТГ и 98 пациентов с болезнью Грейвса, имевших стимулирующие АТ-рТТГ. Результаты показали, что при стойком наличии блокирующих АТ-рТТГ выздоровление пациентов с гипотиреозом не наблюдалось, равно как и при сохраняющемся наличии стимулирующих АТ-рТТГ случаев ремиссии гипертиреоза при болезни Грейвса не возникало. При исчезновении в течение заболевания титра блокирующих/стимулирующих антител отмечались случаи ремиссии у пациентов с обоими заболеваниями. У двух из 34 пациентов с гипотиреозом и присутствием блокирующих антител впоследствии развилась болезнь Грейвса с обнаружением стимулирующих АТ-рТТГ. У двух из 98 пациентов с болезнью Грейвса и стимулирующими антителами с гипертиреозом развился гипотиреоз и определялись блокирующие АТ-рТТГ. Так, авторы пришли к выводу, что гипотиреоз с блокирующими антителами и гипертиреоз со стимулирующими антителами могут быть двумя аспектами одного и того же состояния или заболевания [13].

В своей клинической практике авторы неоднократно сталкивались с феноменом конверсии одной аутоиммунной тиреопатии в другую, некоторые из авторов имеют научные публикации, в которых упоминается подобный феномен у другого пациента [14]. При анализе данных отечественной и мировой литературы выяснилось, что представленная проблема встречается достаточно редко относительно общей широкой распространенности аутоиммунных тиреопатий, в связи с чем авторы считают ценным описание каждого подобного клинического случая, что потенциально позволит привлечь внимание к этому вопросу, создать теоретическую базу для дальнейших исследований в этом направлении, подчеркнет целесообразность дальнейшего изучения патогенеза процесса и в перспективе, вероятно, приведет к необходимости пересмотра классификации аутоиммунных тиреопатий.

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Пациентка М, 85 лет.

Обратилась в ноябре 2018 г. с жалобами на утомляемость, озноб, частые эпизоды перебоев в работе сердца, сопровождающиеся выраженной общей слабостью.

В течение 25 лет амбулаторно наблюдалась по месту жительства с диагнозом «первичный субклинический гипотиреоз в исходе хронического аутоиммунного тиреоидита» (диагноз был подтвержден на основании сочетания гипотиреоза, наличия положительного титра АТ-ТПО, данных УЗИ ЩЖ), принимала заместительную терапию: 50 мкг левотироксина натрия. Доза была адекватна: при ежегодном (1–2 раза/год) обследовании ТТГ оставался в пределах индивидуальных целевых значений до 2016 г. включительно. В 2017 г. исследование функции ЩЖ не проводилось.

Кроме того, более 20 лет пациентка также наблюдается у кардиолога с диагнозом «нарушение ритма сердца: пароксизмальная форма фибрилляции предсердий (ФП)», получает постоянную соответствующую терапию (сотагексал по 160 мг 2 р/сут). В 2016 г., 2017 г. зафиксировано по одному эпизоду пароксизма.

С мая 2018 г. до момента обращения зафиксировано более 25 пароксизмов ФП. Стоит также отметить, что в июне 2018 г. в анамнезе у пациентки — однократное применение кордарона с целью купирования эпизода пароксизма, в остальных случаях применялся новокаи-намид.

В таблице 1 наглядно представлены анамнестические данные лабораторных методов обследования и лечения, описанные далее в тексте.

В июне 2018 г. в связи с очередным эпизодом бо- льяя госпитализирована в отделение неотложной кардиологии, где 20.06.18 выполнено лабораторное обследование, по данным которого ТТГ<0,01 мкМЕ/мл (0,4–4,0). По данным УЗИ ЩЖ от 26.06.18: эхо-признаки диффузно-очаговых изменений ЩЖ, общий объем ЩЖ 11,5 мл (норма у женщин до 18 мл), ЩЖ пониженной эхогенности, неоднородной структуры, с диффузным усилением кровотока, в левой доле округлое гиперэхогенное образование с гипозоногенным контуром, диаметром 0,7 см (фокальное образование). Регионарные лимфоузлы без особенностей.

С 30.06.18 левотироксин натрия отменен. Пациентка выписана под наблюдение эндокринолога по месту жительства.

От 27.08.18: ТТГ — 0,0 мкМЕ/мл (0,45–5,33), свободный тироксин (св. Т4) — 1,20 нг/дл (0,61–1,37), анализ на свободный трийодтиронин (св. Т3), АТ-рТТГ не проводился. АСТ, АЛТ крови в пределах референсных значений, клинический анализ крови без значимых отклонений. Иницирован прием тиамазола в дозе 30 мг/сут,

с 08.09.2018 (через 10 дней) доза тиамазола снижена до 20 мг/сут — принимала в указанной дозе до 19.10.18, пароксизмы ФП сохранялись, вновь госпитализирована в отделение неотложной кардиологии, где пациентке выполнено УЗИ ЩЖ (объем ЩЖ в пределах нормальных значений, фокальные изменения не описаны), консультирована эндокринологом: доза тиамазола увеличена до 30 мг/сут (по 10 мг 3 раза/день), по данным лабораторного обследования от 22.10.18: ТТГ — 68,5 мкМЕ/мл (0,4–4,0), АТ-ТПО — 179 МЕ/мл (0–5,6), данные тиреоидных гормонов: св. Т3 — 3,5 пмоль/л, св. Т4 — 13,8 пмоль/л (референсные диапазоны в выписном эпикризе не указаны), доза тиамазола снижена до 25 мг/сут, добавлен левотироксин натрия 25 мкг/сут.

Наследственность по эндокринопатиям не отягощена.

Результаты физикального, лабораторного и инструментального исследования, лечение

В ноябре 2018 г. пациентка впервые консультирована эндокринологом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России: общее состояние удовлетворительное, сознание ясное, кожные покровы обычной окраски, телосложение нормостеническое, рост 157 см, вес 76 кг, ИМТ 30,8 кг/м², ЩЖ не увеличена, подвижная при глотании, безболезненна при пальпации, консистенция несколько неоднородна, регионарные шейные лимфоузлы без особенностей. АД 130/65 мм рт.ст., ЧСС 78 в минуту.

Пациентке рекомендовано дообследование, по данным которого на фоне приема тиамазола 25 мг/сут и левотироксина натрия 25 мкг/сут в течение 20 дней от 13.11.18: ТТГ (ARCHITECT) — 62,75 мМЕ/л (0,4–4,0), св. Т4 (ARCHITECT) — менее 5,10 пмоль/л (9–19), впервые исследован титр АТ-рТТГ (Cobas) — 47,1 МЕ/л (<1,0). С 14.11.18 рекомендовано постепенное снижение дозы тиамазола, затем — постепенное (по причине очень высокого сердечно-сосудистого риска) увеличение дозы левотироксина натрия. Данные лабораторного обследования и тактика ведения представлены в таблице 2.

В дальнейшем на фоне указанной терапии (10 мг/сут тиамазола, 31,25 мкг/сут левотироксина натрия) уровень ТТГ составлял 5,5–7 мМЕ/л, что приближено к индивидуальным целевым значениям (4–6 мМЕ/л; [15]), уровни свободных фракций тиреоидных гормонов при ежемесячном контроле оставались в пределах референсного диапазона. Данную терапию пациентка получала в течение 16 мес, после чего подтверждена стойкая компенсация заболевания (уровни св. Т3, св. Т4 крови — в пределах референсных значений, ТТГ преимущественно в пределах индивидуальных целевых значений), исследован уровень АТ-рТТГ — 0,9 (0–1), проведено УЗИ ЩЖ: объем ЩЖ 14,6 мл, структура: диффузно неоднородная, определяются «слоистость и дольчатость» ткани, экзогенность преимущественно понижена с гипоехогенными участками без четких контуров с обеих сторон, при цветном доплеровском картировании васкуляризация умеренно усилена, объемные образования не определяются, в обеих долях щитовидной железы определяются мелкие аваскулярные, анэхогенные зоны гомогенной структуры, овальной и округлой формы с четкими, ровными контурами, справа диаметром до 0,35 см, слева — до 0,38 см. Рекомендовано постепенное снижение дозы тиамазола вплоть до полной отмены препарата, параллельно с постепенной отменой левотироксина натрия.

Дифференциальная диагностика

В рамках дифференциальной диагностики развившийся у пациентки тиреотоксикоз необходимо было дифференцировать в первую очередь с амиодарон-индуцированным тиреотоксикозом 1 типа, а также с тиреотоксической фазой АИТ. Наличие высокого положительного титра АТ-рТТГ в типичном случае свидетельствует в пользу болезни Грейвса, однако также может наблюдаться и при амиодарон-индуцированном тиреотоксикозе 1 типа. Достижение компенсации на фоне приема терапии по схеме «блокируй-замещай», включающей малые дозы левотироксина натрия (меньше, чем требовалось ранее в составе заместительной терапии первичного гипотиреоза), усиление кровотока в качестве дополнительного фактора по данным УЗИ ЩЖ позволяет с большой вероятностью исключить тиреотоксическую фазу АИТ. Сцинтиграфия

Таблица 2. Результаты лабораторного обследования, лечение.

	ТТГ, мМЕ/л (0,4–4,0)	Св. Т4, пмоль/л (9–19)	Св. Т3, пмоль/л (2,63–5,70)	Антитела
13.11.2018	62,75	менее 5,10		АТ-рТТГ (Cobas) — 47,1 МЕ/л (<1,0)
Тиамазол 20 мг/сут + левотироксин натрия 25 мкг/сут				
20.11.2018		7,7	2,40	
Тиамазол 15 мг/сут + левотироксин натрия 25 мкг/сут С 28.11.2018 тиамазол 10 мг/сут + левотироксин натрия 25 мкг/сут				
05.12.2018		8	3,50	
Тиамазол 10 мг/сут + левотироксин натрия 31,25 мкг/сут				
09.02.2019	17,88	11,1	3,50	

ЩЖ не проводилась по причине невозможности отмены препаратов, оказывающих влияние на функцию ЩЖ (очень высокий риск развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий), положительного высокого титра АТ-рТТГ, пожилого возраста пациентки и приверженности к консервативному ведению. Кроме того, сцинтиграфия не позволила бы дифференцировать болезнь Грейвса от амиодарон-индуцированного тиреотоксикоза 1 типа (в обоих случаях возможно увеличение захвата радиофармпрепарата). В пользу болезни Грейвса свидетельствуют данные анамнеза: всего лишь однократное применение кордарона, однако авторы признают, что даже однократное применение данного препарата несет потенциальный риск развития амиодарон-индуцированной тиреопатии. Кроме того, для лечения амиодарон-индуцированного тиреотоксикоза 1 типа часто рекомендуется назначение более высоких доз тиамазола, в данном же случае максимальная суточная доза тиамазола составила 30 мг/сут: типичная схема лечения болезни Грейвса. Таким образом, авторы признают, что представленный клинический случай является не в полной мере классическим примером конверсии АИТ в болезнь Грейвса, но, с точки зрения авторов, несомненным следует считать конверсию АТ-ТПО в АТ-рТТГ, а аутоантитела, в свою очередь, являются ключевыми звеньями патогенеза двух представленных аутоиммунных тиреопатий.

В связи с небольшим размером фокальных зубных образований наличие функциональной автономии изначально было признано крайне маловероятным и впоследствии подтвердилось возможностью полной отмены тиреостатической терапии. Амиодарон-индуцированный тиреотоксикоз 2 типа исключен по нескольким признакам, основной из которых — отсутствие необходимости в назначении глюкокортикостероидов.

Лечение

В данном случае лечение тесно сопряжено с результатами лабораторного и инструментального исследования, в связи с чем описано в вышеупомянутом разделе.

Исход и результаты последующего наблюдения

На момент публикации у данной пациентки удалось добиться полной отмены тиамазола и левотироксина натрия, при этом показатели ТТГ, св.Т3 и св.Т4 сохраняются в пределах референсных значений. Предварительно перед отменой тиамазола был определен титр АТ-рТТГ в крови и выполнено УЗИ ЩЖ. Низкий титр АТ-рТТГ и нормальный объем ЩЖ по данным УЗИ подтвердили возможность отмены тиреостатической терапии и являются благоприятными предикторами в отношении прогноза заболевания.

В случае рецидива пациентке будет предложено проведение радикального лечения (оперативное лечение или радиоiodтерапия), в случае отказа (вероятно) возможно ведение с использованием минимальных для достижения целевых показателей тиреоидного статуса доз тиамазола.

ОБСУЖДЕНИЕ

Чем обусловлено подобное кардинальное переключение функции ЩЖ? Причины подобных изменений в настоящий момент до конца не ясны, однако очевидно, что существует несколько факторов, которые как

по отдельности, так и в совокупности могут влиять на переход из гипотиреоза в гипертиреоз, и наоборот [6].

В первую очередь, как было показано выше в исследовании Takasu и Matsushita, изменение функции ЩЖ, вероятно, связано с переключением между блокирующими и стимулирующими АТ-рТТГ [13].

Традиционно считалось, что у пациентов с болезнью Грейвса присутствуют стимулирующие АТ-рТТГ, но нет блокирующих антител, а у пациентов с гипотиреозом имеются блокирующие антитела в отсутствие стимулирующих. Однако у одного и того же пациента могут циркулировать как ингибирующие, так и стимулирующие АТ-рТТГ [16]. Функция ЩЖ может колебаться между гипотиреозом и гипертиреозом, в зависимости от того, какие антитела преобладают — стимулирующие или блокирующие [13]. То есть вид доминирующих антител — стимулирующих или блокирующих — со временем может поменяться у одного и того же пациента, что клинически проявляется переходом из одного аутоиммунного заболевания ЩЖ в другое [16]. В случае если ранее не существовавшие стимулирующие АТ-рТТГ появляются у пациента с хроническим тиреоидитом, под действием этих антител происходят пролиферация и гиперфункция оставшихся фолликулярных эпителиальных клеток ЩЖ, что приводит к развитию гипертиреоза [17].

Что именно способствует переключению с одних видов АТ-рТТГ на другие, в настоящий момент достоверно неизвестно. Имеются наблюдения о том, что изменение типа антител с блокирующих на стимулирующие (или наоборот) иногда происходит у пациентов, лечившихся левотироксином при гипотиреозе, или у пациентов с болезнью Грейвса, получавших антигипертиреоидные препараты. Под действием препаратов меняются концентрация, сродство и эффективность антител [4]. Предполагается, что повышение уровня тиреоидных гормонов вследствие заместительной терапии тироксином оказывает влияние на иммунную систему, ингибируя Т-регуляторные клетки и усиливая экспрессию ко-стимулирующих молекул дендритных клеток, которые играют роль в выработке антител, в том числе стимулирующих АТ-рТТГ [18]. Таким образом, увеличение титра стимулирующих антител после лечения левотироксином может быть вполне достаточным для того, чтобы противодействовать блокирующим антителам и приводить к гипертиреозу [4]. Однако при исследовании когорты пациентов с синдромом Дауна были получены результаты, согласно которым конверсия АИТ в болезнь Грейвса происходила как у пациентов, получавших левотироксин, так и у пациентов, не получавших терапию. Кроме того, в данном исследовании у всех пациентов с АИТ отсутствовали АТ-рТТГ, что в целом не вписывается в теорию переключения между типами АТ-рТТГ и пока не имеет объяснения [5].

Лечение антигипертиреоидными препаратами, такими как карбимазол, подавляет аутоиммунные процессы в ЩЖ и секрецию стимулирующих антител, и после лечения баланс может сместиться в сторону блокирующих антител, приводя к гипотиреозу [18].

Другое возможное объяснение перехода от гипотиреоза к гипертиреозу состоит в том, что ткань ЩЖ, подвергаясь первоначально весьма серьезному аутоиммунному повреждению, приведшему к гипофункции железы, со временем восстановилась в достаточной степени для того, чтобы среагировать на последующее

воздействие на нее стимулирующими АТ-рТТГ [6]. Однако описанные случаи быстрой конверсии из АИТ в болезнь Грейвса не могут быть объяснены данной теорией.

Кроме того, имеются предположения о том, что переключение функции ЩЖ может происходить под воздействием некоторых внешних пусковых факторов. Например, в клиническом случае, описанном Ahmad E., Hafeez [11], болезнь Грейвса развилась на фоне инфекции верхних дыхательных путей спустя 27 лет после установления гипотиреоза у пациентки. Таким образом, воздействие внешнего триггера (например, вирусной инфекции, облучения области шеи) у генетически восприимчивого человека может способствовать переключению функции ЩЖ, вероятно, опять же посредством смещения баланса между блокирующими и стимулирующими АТ-рТТГ [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Подводя итоги вышесказанному, необходимо отметить, что, по всей видимости, несмотря на существенные патогенетические и клинические различия между аутоиммунными тиреопатиями, болезнь Грейвса и АИТ имеют больше общего, чем считалось ранее, и могут быть тесно связаны между собой.

Клинические наблюдения подтверждают возможность переключения функции ЩЖ у пациентов, возможность перехода из гипертиреоза в гипотиреоз, и наоборот, что, вероятно, связано с изменением баланса между титром стимулирующих и блокирующих АТ-рТТГ.

Причины конверсии функции ЩЖ и изменения доминирующего типа антител пока до конца не ясны, и необ-

ходимо проведение дальнейших исследований, чтобы установить точный патогенез этого процесса.

Учитывая тот факт, что при анализе данных мировой литературы, а также исходя из нашего собственного опыта, подобное явление встречается, оно, помимо научного интереса, имеет важное значение для практикующих врачей, так как в клинической практике при возникновении тиреотоксикоза на фоне АИТ ситуация, вероятнее всего, будет расценена как возникшая вследствие передозировки левотироксина, что может повлечь за собой длительную титрацию дозы препарата и последующую ее отмену, в то время как возможной причиной тиреотоксикоза может быть возникновение у пациента болезни Грейвса, своевременное обнаружение которой может существенно изменить тактику лечения и благоприятно повлиять на прогноз заболевания, предотвратив развитие осложнений.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Публикация настоящей работы подержана грантом РНФ №17-75-30035 «Аутоиммунные эндокринопатии с полиорганными поражениями: геномные, постгеномные и метаболические маркеры. Генетическое прогнозирование рисков, мониторинг, ранние предикторы, персонализированная коррекция и реабилитация».

Согласие пациента. Пациентка добровольно подписала информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в журнале в обезличенной форме.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Dong YH, Fu DG. Autoimmune thyroid disease: Mechanism, genetics and current knowledge. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014;18:3611-3618.
- Fröhlich E, Wahl R. Thyroid autoimmunity: Role of anti-thyroid antibodies in thyroid and extra-thyroidal diseases. *Front Immunol*. 2017;8:521. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00521>
- Kung AWC, Lau KS, Kohn LD. Epitope Mapping of TSH Receptor-Blocking Antibodies in Graves' Disease That Appear during Pregnancy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001;86(8):3647-3653.
- Gonzalez-Aguilera B, Betea D, Lutteri L, et al. Conversion to Graves disease from Hashimoto thyroiditis: a study of 24 patients. *Arch Endocrinol Metab*. 2018;62(6):609-614. doi: <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000086>
- Aversa T, Valenzise M, Salerno M, et al. Metamorphic thyroid autoimmunity in Down Syndrome: From Hashimoto's thyroiditis to Graves' disease and beyond. *Ital J Pediatr*. 2015;41:87. doi: <https://doi.org/10.1186/s13052-015-0197-4>
- Furqan S, Haque NU, Islam N. Conversion of autoimmune hypothyroidism to hyperthyroidism. *BMC Res Notes*. 2014;7:489. doi: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-489>
- Joplin GF, Fraser R. Thyrotoxicosis Developing in Recurrent Nodular Goitre with Focal Thyroiditis. *J R Soc Med*. 1959;52:177-178.
- Doniach D, Hudson RV, Roitt LM. Human autoimmune thyroiditis; Clinical studies. *Brit Med J*. 1960;1(5170):365-373.
- Gavras L, Thomson JA. Late thyrotoxicosis complicating autoimmune thyroiditis. *Acta Endocrinol*. 1972;69:44-46.
- Takasu N, Yamada T, Sato A, et al. Graves' Disease Following Hypothyroidism Due To Hashimoto's Disease: Studies Of Eight Cases. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1990;33(6):687-698. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1990.tb03906.x>
- Ahmad E, Hafeez K, Arshad MF, Isuga J, Vrettos A. Hypothyroidism conversion to hyperthyroidism: it's never too late. *Endocrinol Diabetes Metab Case Reports*. 2018;2018(6):687-698. doi: <https://doi.org/10.1530/EDM-18-0047>
- Moriarty M, Mills E, Yap HL, Hamda A. Conversion of autoimmune hypothyroidism to hyperthyroidism with thyroid eye disease. Tache Y, ed. *Endocr Abstr*. 2015;12(7):e0180745. doi: <https://doi.org/10.1530/endoabs.37.EP1307>
- Takasu N, Matsushita M. Changes of TSH-Stimulation Blocking Antibody (TSBAB) and Thyroid Stimulating Antibody (TSAb) Over 10 Years in 34 TSBAb-Positive Patients with Hypothyroidism and in 98 TSBAb-Positive Graves' Patients with Hyperthyroidism: Reevaluation of TSBAb and TSAb in TSH-Receptor-Antibody (TRAb)-Positive Patients. *J Thyroid Res*. 2012;2012:182176.
- Трошина Е.А., Панфилова Е.А., Паневин Т.С. Аутоиммунные полигланулярные нарушения при миотонической дистрофии // Проблемы эндокринологии. — 2019. — Т. 165. — №3. — С. 155–160. [Troshina EA, Panfilova EA, Panevin TS. Autoimmune polyglandular disorders in myotonic dystrophy. *Problems of endocrinology*. 2019;165(3):155-160. (In Russ.)]. doi: [10.14341/probl9775](https://doi.org/10.14341/probl9775)
- Проект клинических рекомендаций Российской ассоциации эндокринологов «Гипотиреоз». — М., 2019 / Под ред. акад. Дедова И.И., акад. Мельниченко Г.А. Доступно по: https://www.endocrincentr.ru/sites/default/files/specialists/science/clinic-recommendations/gipotireoz.proekt.klin_rek_3.pdf, дата обращения 21.09.2020.
- Ekepeghe C, Elmezughi K, Mtingi L. Graves' disease following hypothyroidism due to Hashimoto's thyroiditis in a black South African lady: A case report. *Pan Afr Med J*. 2019. doi: <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.32.186.18713>
- Shong YK, Cho BY, Hong SK, Lee HK, Koh CS, Min HK. Pathogenetic role of thyrotropin receptor antibody in the development of hyperthyroidism following primary hypothyroidism. *Korean J Intern Med*. 1989. doi: <https://doi.org/10.3904/kjim.1989.4.2.118>
- Wong M, Inder WJ. Alternating hyperthyroidism and hypothyroidism in Graves' disease. *Clin Case Rep*. 2018;6(9):1684-1688. doi: [10.1002/ccr3.1700](https://doi.org/10.1002/ccr3.1700)
- Morshed SA, Latif R, Davies TF. Delineating the autoimmune mechanisms in Graves' disease. *Immunol Res*. 2012;54(1-3):191-203. doi: [10.1007/s12026-012-8312-8](https://doi.org/10.1007/s12026-012-8312-8)

Рукопись получена: 04.05.2020. Одобрена к публикации: 05.10.2020. Опубликовано online: 03.11.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Панфилова Елена Александровна**, врач-эндокринолог, сотрудник отдела терапевтической эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России [**Elena A. Panfilova**, MD]; адрес: 117036, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, к. 2 [address: Dmitry Ulyanova street 11k2, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2770-1205>; eLibrary SPIN: 6686-1620; e-mail: e4erepanova@gmail.com

Крук Лидия Павловна [Lidiya P. Kruk]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1434-9671>; eLibrary SPIN: 2434-8475; e-mail: kruklida@mail.ru

Исаева Мария Петровна [Maria P. Isaeva]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9963-6783>; eLibrary SPIN: 6205-5170; e-mail: impdoctorx@gmail.com

Османова Патимат Османовна [Patimat O. Osmanova, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0473-8144>; eLibrary SPIN: 8179-7602; e-mail: patosm123@gmail.com

Бостанова Фатима Аслановна [Fatima A. Bostanova]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5824-9536>; eLibrary SPIN: 4595-5832; e-mail: fabostanova@gmail.com

Трошина Екатерина Анатольевна, д.м.н., профессор, член-корр. РАН [Ekaterina A. Troshina, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8520-8702>; eLibrary SPIN: 8821-8990; e-mail: troshina@inbox.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Панфилова Е.А., Крук Л.П., Исаева М.П., Османова П.О., Бостанова Ф.А., Трошина Е.А. Развитие болезни Грейвса на фоне длительно существующего первичного гипотиреоза в исходе аутоиммунного тиреоидита // *Проблемы эндокринологии*. — 2020. — Т.66. — №5. — С. 24–30. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12420>

FOR CITATION

Panfilova EA, Kruk LP, Isaeva MP, Osmanova PO, Bostanova FA, Troshina EA. The development of Graves' disease after long-term hypothyroidism due to Hashimoto's disease. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):24–30. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12420>

ПОЛНОТРАНСКРИПТОМНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ В СРАВНИТЕЛЬНОМ ИССЛЕДОВАНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ КВЕРЦЕТИНА НА ДВУХ МОДЕЛЯХ ОЖИРЕНИЯ



© Н.В. Трусов^{1*}, С.А. Апрытин¹, В.А. Шипелин^{1,2}, И.В. Гмошинский¹

¹Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

²Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Кверцетин (Q; 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавонол) при поступлении в организм в составе диетических лечебных продуктов и биологически активных добавок (БАД) может способствовать облегчению патологических последствий алиментарного ожирения и метаболического синдрома. Механизмы действия Q на генетическом уровне недостаточно изучены.

ЦЕЛЬ. Изучить экспрессию генов в ткани печени мышей с индуцированным диетой и генетически детерминированным ожирением при поступлении Q с рационом.

МЕТОДЫ. В течение 46 суток эксперимента на 32 самцах мышей линии C57Bl/6J, получавших рацион с избытком жира и фруктозы, и 24 самцах генетически тучных мышей линии db/db изучено влияние добавки Q в дозе 25 или 100 мг/кг массы тела на дифференциальную экспрессию 39 430 генов методом полнотранскриптомного профилирования на микрочипе по протоколу Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling (version 6.8). Для выявления метаболических путей (KEGGs), являющихся мишенями воздействия Q, транскриптомные данные анализировали методами биоинформатики в среде «R».

РЕЗУЛЬТАТЫ. Выявлены различия в характере влияния добавки Q на животных с индуцированным диетой и генетически детерминированным ожирением на ряд ключевых метаболических путей, включая обмен липидов и стероидов (гены *Saa3*, *Cidec*, *Scd1*, *Apoa4*, *Acss2*, *Fabp5*, *Car3*, *Acacb*, *Insig2*), аминокислот и азотистых оснований (*Ngef*, *Gls2*), углеводов (*G6pdx*, *Pdk4*), регуляцию клеточного роста, апоптоза и пролиферации (*Btg3*, *Cgref1*, *Fst*, *Nrep*, *Tuba8*), нейротрансмиссию (*Grin2d*, *Camk2b*), реакции иммунной системы (*CD14*, *Jchain*, *Ifi272b*).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Полученные данные позволяют объяснить неоднозначную эффективность Q, как и других полифенолов, в диетотерапии различных форм ожирения у людей, а также сформировать набор чувствительных маркеров, позволяющих оценивать результативность применения минорных биологически активных веществ пищи в доклинических испытаниях новых средств метаболической коррекции ожирения и метаболического синдрома.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: транскриптом; печень; мыши; ожирение; кверцетин; *in vivo* модели.

FULL TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF GENE EXPRESSION IN LIVER OF MICE IN A COMPARATIVE STUDY OF QUERCETIN EFFICIENCY ON TWO OBESITY MODELS

© Nikita V. Trusov^{1*}, Sergey A. Apryatin¹, Vladimir A. Shipelin^{1,2}, Ivan V. Gmoshinski¹

¹Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Russia, Moscow

²Plekhanov Russian University of Economics, Russia, Moscow

BACKGROUND: Quercetin (Q; 3,3',4',5,7 - pentahydroxyflavone) can help alleviate the pathological effects of nutritional obesity and metabolic syndrome when taken as part of products for special dietary needs and food supplements. The mechanisms of action of Q at the genetic level are not well understood.

AIMS: To study gene expression in liver tissue of mice with alimentary and genetically determined obesity upon intake of Q with diet.

MATERIALS AND METHODS: During 46 days of the experiment on 32 male C57Bl/6J mice fed a diet with an excess of fat and fructose and 24 male genetically obese db/db mice the effect of Q in dose of 25 or 100 mg/kg of body weight was studied on differential expression of 39430 genes in mice livers by full transcriptome profiling on microchip according to the Agilent One-Color Microarray-Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling protocol (version 6.8). To identify metabolic pathways (KEGGs) that were targets of Q exposure, transcriptomic data were analyzed using bioinformatics methods in an "R" environment.

RESULTS: Differences were revealed in the nature of Q supplementation action in animals with dietary induced and genetically determined obesity on a number of key metabolic pathways, including the metabolism of lipids and steroids (*Saa3*, *Cidec*, *Scd1*, *Apoa4*, *Acss2*, *Fabp5*, *Car3*, *Acacb*, *Insig2* genes), amino acids and nitrogen bases (*Ngef*, *Gls2*), carbohydrates

(*G6pdx*, *Pdk4*), regulation of cell growth, apoptosis and proliferation (*Btg3*, *Cgref1*, *Fst*, *Nrep*, *Tuba8*), neurotransmission (*Grin2d*, *Camk2b*), immune system reactions (*CD14i*, *Jchain*, *Ifi2712b*).

CONCLUSIONS: The data obtained help to explain the ambiguous effectiveness of Q, like other polyphenols, in the dietary treatment of various forms of obesity in humans, as well as to form a set of sensitive biomarkers that allow us to elucidate the effectiveness of minor biologically active food substances in preclinical trials of new means of metabolic correction of obesity and metabolic syndrome.

KEYWORDS: transcriptome; liver; mice; obesity; quercetin; in vivo models.

ОБОСНОВАНИЕ

Одной из основных проблем здравоохранения является массовое распространение ожирения и сопутствующих заболеваний (метаболический синдром, диабет 2-го типа, неалкогольный стеатогепатит и др.), связанных с несоответствием энергетической ценности рациона фактическим энерготратам. У млекопитающих, включая людей, поддержание постоянства состава и массы тела за счет обеспечения баланса поступающей с пищей и расходуемой энергии обеспечивается нейрогуморальными контрольными механизмами, в числе которых выделяются эволюционно древние и относительно более новые. Первые используют реакции нейронов дугообразных ядер гипоталамуса на регулируемые количеством поступающих пищевых субстратов уровни нейромедиаторов (нейропептид Y, проопиомеланокортин, лептин, грелин, биогенные амины, включая дофамин и серотонин) [1, 2], а вторые обусловлены активностью высших отделов ЦНС, связанных со вкусовыми рецепторами и отвечающих за получение удовольствия от процесса потребления пищи [3]. Вызванные избыточным поступлением нутриентов нарушения в этих регуляторных контурах лежат в основе влияния вкусной и высококалорийной пищи на уровень аппетита и насыщения, следствием чего становится вышеуказанный энергетический дисбаланс. При этом важную роль играет снижение чувствительности клеток к инсулину, лептину и грелину [4].

Коррекция указанных нарушений за счет снижения калорийности потребляемого рациона часто плохо переносится больными и не всегда достигает стойкого результата. Поэтому в качестве альтернативы рассматривается обогащение рациона минорными биологически активными веществами пищи (БАВ), в частности флавоноидом кверцетином (Q; 3,3',4',5,7-пентагидроксифлавоны). Q содержится в большом числе пищевых продуктов растительного происхождения, включая фрукты и овощи (преимущественно ярко окрашенные), зелень, ягоды, чай, красное вино и др., и представлен в них в форме гликозидов, легко расщепляющихся в желудочно-кишечном тракте. Он входит в группу биофлавоноидов (ранее известных как «Р-активные вещества»), впервые выделенных из сладкого перца нобелевским лауреатом Альбертом Сент-Дьёрдьи (Szent-Györgyi Albert) в 1930-е гг. По некоторым экспериментальным и клиническим данным [5–7], потребление Q в дозах, характерных для его содержания в пищевых продуктах, может способствовать снижению калорийности потребляемой пищи, облегчать метаболические последствия развившегося ожирения. Действие Q на организм объясняется эффектами на генетическом уровне, связанными прежде всего с активацией транскрипционных факторов PPAR- γ , SREBP1 и AMPK [8]. Вместе с тем данные о клини-

ческой эффективности Q при коррекции ожирения и метаболического синдрома противоречивы, что может быть связано с генетической гетерогенностью у обследуемых больных. Для разработки персонализированных подходов к применению Q (как и других БАВ) в регуляции аппетита, диетотерапии ожирения необходимы исследования на биологических моделях, воспроизводящих различные формы метаболического дисбаланса, вызванного как избыточной калорийностью рациона, так и возможными генетическими нарушениями энергетического обмена.

ЦЕЛЬ

Изучить влияние Q на экспрессию генов в печени вместе с оценкой морфологических, интегральных и метаболических показателей у самцов двух линий мышей: db/db с нокаутом гена *Lepr*, кодирующего рецептор лептина, склонных к спонтанному развитию ожирения, и мышей инбредной линии C57Black/6J, получающих гиперкалорийный высокоуглеводно-высокожировой рацион (ВУВЖР). В качестве основного метода исследования был выбран полнотранскриптомный анализ матричной рибонуклеиновой кислоты (мРНК), являющейся фракцией тотальной РНК, выделенной из ткани печени животных, с последующей биоинформатической обработкой полученных данных.

МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 24 самца мышей линии db/db (возраст 8 недель, средняя исходная масса тела (м.т.) $40,2 \pm 3,2$ г), полученных из питомника «ИЦиГ СО РАН» (Россия), и 32 самца мышей инбредной линии C57Black/6J (C57Bl/6J) того же возраста (средняя исходная масса тела $21,1 \pm 0,2$ г), полученных из питомника филиала «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России».

Работу с животными выполняли в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации № 199 н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Дизайн эксперимента был одобрен Комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (протокол №4 от 20.04.2017 г.).

Мыши линии db/db были разделены на три группы (№ 1, 2, 3) равной численности (N=8), а C57Bl/6J — на 4 группы (№ 4, 5, 6, 7), N=8. Мыши 1-й и 4-й групп получали контрольный сбалансированный полусинтетический рацион согласно AIN93M [9], 2-й и 3-й групп — такой же рацион с добавкой Q из расчета 25 и 100 мг/кг м.т. соответственно, 5-й группы — высокожировой (30% жиров) рацион с 20% раствором фруктозы вместо воды (ВУВЖР), 6-й и 7-й групп — ВУВЖР и добавку Q в дозах

25 и 100 мг/кг м.т. соответственно. Животные получали все рационы, воду и раствор фруктозы без ограничений. Мышей содержали по одной (C57Bl/6J) или две (db/db) особи в клетках из поликарбоната при 12/12-часовом режиме освещения и температуре воздуха $22 \pm 1^\circ\text{C}$. Ежедневно определяли количество потребленного корма и жидкостей и рассчитывали удельное энергопотребление и дозу Q. Общее время эксперимента составило 46 суток.

Выведение животных из эксперимента осуществляли на 47-е сутки путем обескровливания из нижней поллой вены под эфирной анестезией. Печень отбирали в асептических условиях стерильными хирургическими инструментами, немедленно охлаждали до температуры 0°C и делили на порции для проведения морфологического и транскриптомного исследования.

Морфологическое исследование ткани печени выполняли после окрашивания парафиновых срезов тканей гематоксилин-эозином, как указано в работе [10].

Выделение тотальной РНК из ткани печени проводили с помощью набора Agilent Total RNA Isolation Mini Kit (Agilent Technologies, США) согласно протоколу производителя. Навеску 20 мг печени гомогенизировали в стеклянном гомогенизаторе Поттера–Эдельвейма в 500 мкл лизирующего буфера (с добавлением 5 мкл β -меркаптоэтанола на 500 мкл буфера) при температуре 0 – 2°C . Полученную тотальную РНК дополнительно обрабатывали ДНКазой I для удаления следов геномной ДНК. Концентрацию РНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 1000 (Thermo Scientific, США), после чего разбавляли ее водой без нуклеаз до концентрации 200 нг/мкл и проводили анализ степени фрагментации на биоанализаторе Agilent 2100 (Agilent Technologies, США) с определением показателя RIN (RNA Integrity Number). РНК хранили в воде, свободной от нуклеаз, или в виде изопропанольных осадков при -80°C .

Полнотранскриптомный анализ проводили с использованием 100 нг тотальной РНК из ткани печени методом анализа на микрочипах из набора Gene Expression Hybridization Kit (Agilent Technologies, США) по протоколу Agilent One-Color Microarray Based Gene Expression Analysis Low Input Quick Amp Labeling, version 6.8. В работе использовали микрочипы SurePrint G3 Mouse GE 8x60K Microarray Kit (каталожный номер G4852A). Согласно информации производителя, на микрочипе представлены олигону-

клеотидные зонды длиной 60 нуклеотидов для покрытия 39 430 генов мыши, 16 251 длинных межгенных некодирующих РНК (long intergenic noncoding RNAs, lincRNAs) (https://www.agilent.com/en/product/gene-expression-microarray-platform/gene-expression-exon-microarrays/model-organism-microarrays/sureprint-g3-mouse-gene-expression-microarrays-228472#zoomELIBRARY_669002). На микрочипах представлены 24 независимых образца РНК печени из всех 7 исследуемых групп мышей: из группы 1 — 4 образца, группы 2 — 3, группы 3 — 3, группы 4 — 4, группы 5 — 4, группы 6 — 3, группы 7 — 3. Сканирование микрочипов выполняли на приборе Sure Scan Microarray Scanner (Agilent Technologies, США).

Дифференциальную экспрессию (ДЭ) генов выражали в виде логарифма по основанию 2 возрастания или убывания флуоресценции ($\log_2\text{FC}$) по сравнению с группами, рассматриваемыми в качестве контроля (мыши C57Bl/6J, получающие контрольный рацион (группа 4); мыши C57Bl/6J, получающие ВУВЖР (группа 5); мыши db/db, получающие контрольный рацион (группа 1) — для разных вариантов сравнений). Данные сканирования чипов загружали в среду «R» и проводили биоинформатический анализ с квантильной нормализацией и дальнейшим анализом ДЭ в пакете limma. Для выявления метаболических путей среди представленных в международной базе данных генов, метаболических путей и функций биологических систем Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) [11] и их визуализации применяли пакеты AnnotationDbi, org.Rn.eg.db, pathview, gage, gageData. Для визуализации результатов на всех этапах применяли стандартную графику «R» и дополнительные пакеты ggplot2, ggrepel и gplots. Достоверность изменения экспрессии оценивали путем анализа логарифмов интенсивности флуоресценции, нормализованных по внутреннему контролю (Spike-In), с использованием Т-теста с множественной коррекцией Benjamini–Hochberg [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Морфология печени

Анализ морфологической картины печени (рис. 1) показал, что у мышей db/db, потреблявших Q в обеих дозах на сбалансированном рационе, наблюдается резкое

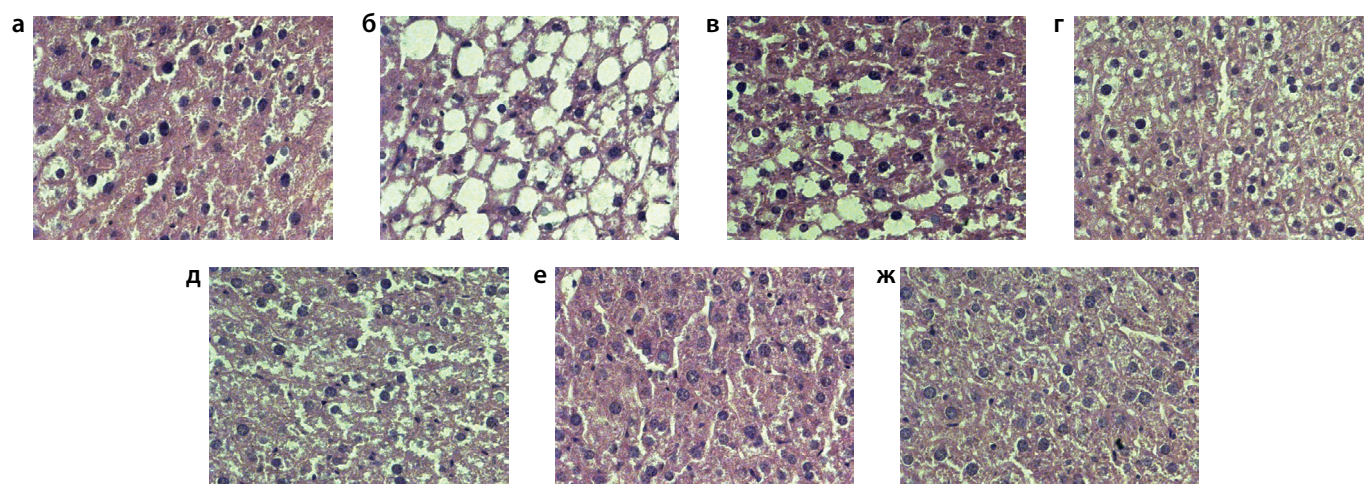


Рисунок 1. Репрезентативные микропрепараты печени мышей. Мыши db/db: а) группа 1; б) группа 2; в) группа 3; мыши C57Bl/6J: г) группа 4; д) группа 5; е) группа 6; ж) группа 7 (см. текст статьи).

усиление накопления жира в гепатоцитах печени, проявляющееся в образовании крупных жировых вакуолей, вытесняющих ядра и органеллы на периферию клетки. Напротив, у мышей C57Bl/6J контрольной (4-й) и получавшей ВУВЖР (5-й) групп накопление жира в печени было значительно слабее выражено и имело диффузный характер, а добавление в рацион Q приводило (особенно при дозе 100 мг/кг м.т.) к практически полному исчезновению жировых включений.

Общая характеристика полного транскриптома ткани печени

Полнотранскриптомное профилирование РНК в ткани печени было выполнено для 39 430 генов, 16 251 длинных межгенных некодирующих РНК, представленных на чипе. Сравнение проводили для мышей db/db контрольной группы с мышами C57Bl/6J группы 4, получавшими контрольный рацион, и с мышами db/db групп 2 и 3, получавшими добавку Q. В группах мышей C57Bl/6J определяли ДЭ в группе 5, получавшей ВУВЖР, против контрольной группы 4 и в группах 6 и 7, получавших Q, против группы 5, получавшей ВУВЖР. Тем самым была сопоставлена экспрессия генов при воспроизведении обеих экспериментальных моделей (мыши db/db и мыши C57Bl/6J на ВУВЖР в сравнении с контрольными мышами C57Bl/6J) и под воздействием Q на каждой из моделей по отдельности.

ДЭ как минимум для одного из этих межгрупповых сравнений в размере $|\log_2 FC| \geq 0,5$ (в сторону как усиления, так и ослабления) и при уровне значимости $p_{\text{value}} \leq 0,05$ выявлена для 2614 транскриптов (6,6% от общего числа представленных на чипе). Из этого количе-

ства в аннотированной международной базе данных <http://genemania.org/>, интегрированной с Национальным центром биотехнологической информации США NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), имелись сведения о 1898 транскриптах, отождествляемых с молекулами белков и/или РНК с известной функцией.

Как следует из результатов теоретико-множественного анализа, представленных на рис. 2а, у мышей db/db контрольной группы 1 в сравнении с контрольной группой мышей C57Bl/6J (группа 4) наблюдалась ДЭ 1827 генов, а потребление мышами линии C57Bl/6J ВУВЖР приводило к значимому изменению экспрессии 154 генов, причем 100 дифференциально экспрессированных генов были общими для обоих сравнений. 67 из этих генов имели известную функцию. При сопоставлении величин $\log_2 FC$ для сравниваемых групп видно (рис. 2б), что для подавляющего большинства генов знак ДЭ у мышей db/db и у мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, был противоположным. Величина ДЭ для двух линий мышей совпала только для 1 гена из 67 (*Ces2b*), а для 5 генов (*Crym*, *Camk2b*, *Tlr12*, *G6Pdx* и *Jchain*) различие в ДЭ было аномально большим.

Потребление Q в дозе 25 мг/кг м.т. вызывало ДЭ 125 генов у мышей C57Bl/6J, получавших ВУВЖР (группа 6 против группы 5), а у мышей db/db — 279 генов (группа 2 против группы 1), причем 6 из этих генов были общими (рис. 2в). При дозе Q 100 мг/кг м.т. ответ ДЭ выявлен для 139 генов мышей C57Bl/6J (группа 7 против группы 5) и 925 генов мышей db/db (группа 3 против группы 1); общим для обоих списков был 31 ген. Наконец, при сравнении двух доз Q (100 и 25 мг/кг м.т.) выявлена ДЭ 155 генов мышей C57Bl/6J и 392 генов мышей db/db, из числа которых

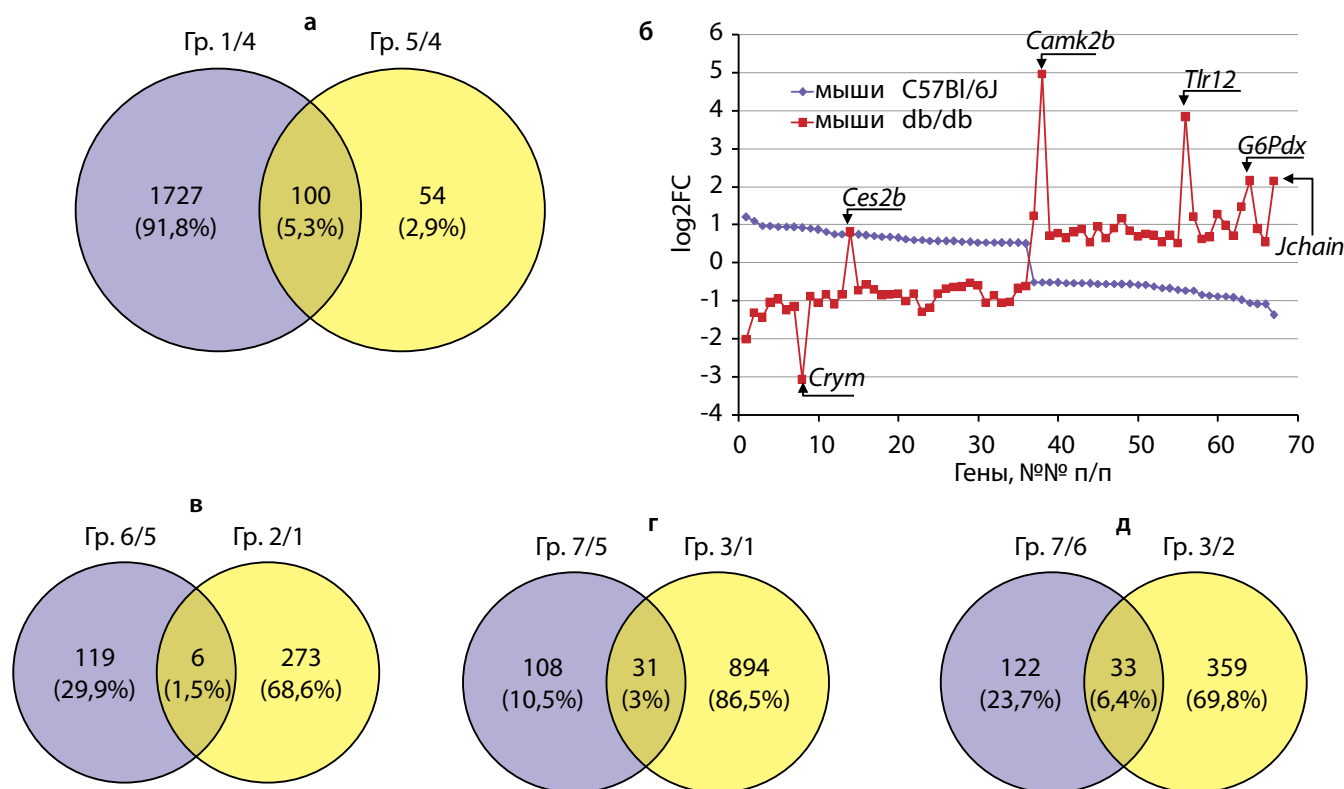


Рисунок 2. Теоретико-множественный анализ (диаграммы Венна) распределения числа дифференциально экспрессированных генов при сравнении экспериментальных *in vivo* моделей у db/db- и C57Bl/6J-мышей: а) гены, дифференциально экспрессированные в группе 1 и в группе 5 в сравнении с группой 4; б) сопоставление величин дифференциальной экспрессии 67 генов для этих двух сравнений; в–д) гены, дифференциально экспрессированные под действием Q у мышей db/db и у мышей C57Bl/6J, получавших высокоуглеводно-высокожировую рацион. Сравнения: в) доза 25 мг/кг массы тела против контроля; г) доза 100 мг/кг массы тела против контроля; д) доза 100 мг/кг массы тела против 25 мг/кг массы тела. Обозначения внутри секторов — число элементов подмножества (доля в %).

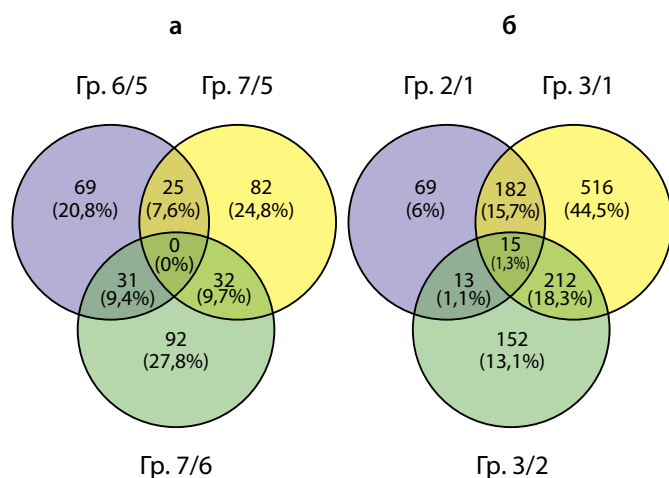


Рисунок 3. Теоретико-множественный анализ (диаграммы Венна) распределения числа дифференциально экспрессированных генов у мышей C57Bl/6J (а) и db/db (б) в зависимости от дозы Q. Обозначения см. рис. 2.

33 были общими. Таким образом, наблюдается закономерность возрастания числа ответивших генов с ростом дозы Q (более заметная для мышей db/db) и большего разнообразия дифференциально экспрессированных генов у мышей с генетическим ожирением в сравнении с нормальными мышами, получавшими ВУВЖР.

Как следует из данных рис. 3а, у мышей C57Bl/6J было выявлено 69 генов, ответивших статистически значимой ДЭ только на дозе Q 25 мг/кг м.т., 82 — только на дозе 100 мг/кг м.т. и 92 гена — только при сравнении групп на двух разных дозах. У мышей db/db это количество составило 69; 516 и 152 соответственно. Ответивших одновременно на двух дозах у мышей C57Bl/6J было 25, а у мышей db/db — в 8 раз больше (197 генов). 15 генов у мышей db/db характеризовались ДЭ совместно на обеих дозах и при сравнении двух доз (гены *G6pdx*, *Btg3*, *Srxn1*, *Tacc3*, *Afmid*, *Igfals*, *Upp2*, *Synj2*, *AK051754*, *Ces3b*, *Tk1*, *Ihh*, *Hsd3b2*, *Hsd3b3*, *Hsd3b6*), а у C57Bl/6J общие гены для такого сравнения отсутствовали.

В таблице 1 приведены в сравнительном аспекте данные о ДЭ генов, имеющих важное значение в процессах жирового и углеводного обмена и/или ответивших одновременно на двух экспериментальных моделях. Представленные данные позволяют предположить, что изменения экспрессии генов, участвующих в обмене липидов и стероидов (*Saa3*, *Cidec*, *Scd1*, *Apoa4*, *Acsc2*, *Fabp5*, *Car3*, *Acacb*, *Insig2*), аминокислот и азотистых оснований (*Ngef*, *Gls2*), углеводов (*G6pdx*, *Pdk4*), регуляции клеточного роста, апоптоза и пролиферации (*Btg3*, *Cgref1*, *Fst*, *Nrep*, *Tuba8*), нейротрансмиссии (*Grin2d*, *Camk2b*), реакции иммунной системы в печени и жировой ткани (*CD14*, *Jchain*, *Ifi2712b*), могут рассматриваться как чувствительные биологические маркеры, определяющие специфические различия в действии Q на мышей db/db и C57Bl/6J, характеризующихся соответственно генетической предрасположенностью и относительной резистентностью к развитию ожирения. Наличие ДЭ генов *Bcl6* (B cell leukemia/lymphoma 6) и *Tlr12* (toll-like receptor 12) позволяет рассматривать их транскрипты как маркирующие различия двух экспериментальных моделей ожирения как таковых, безотносительно воздействия БАВ.

Сравнение влияния Q на метаболические пути

Анализ профилей ДЭ в среде «R» позволил выявить ряд метаболических путей (KEGGs), достоверно являющихся мишенями воздействия Q у мышей обеих линий. Всего было выявлено 34 метаболических пути (KEGGs), в которых произошли изменения под действием БАВ, в том числе 2 метаболических пути, относящихся к обмену белка, 2 — углеводов, 10 — липидов (включая стерины), 4 — к внутриклеточной передаче сигнала (PPAR-, JAK/STAT-, p53-, TLR-сигналинг), 3 — метаболизму ксенобиотиков, 7 — реакциям иммунной системы, 1 — обмену триптофана, 5 — другим важным биологическим процессам (аутофагия, рецепция, клеточная дифференцировка). При этом у мышей C57Bl/6J на дозе Q 25 мг/кг м.т. было затронуто 7 метаболических путей, при дозе 100 мг/кг м.т. — 13, совместно при этих двух дозах — 5, при сравнении двух доз — 6 (рис. 4). Количество дифференциально ответивших KEGGs у мышей db/db составило 10, 20, 5 и 12 соответственно, что, опять же, указывает на большую лабильность метаболического ответа у животных с генетически обусловленным ожирением.

При меньшей дозе Q (25 мг/кг м.т.) одновременно у животных обеих линий наиболее статистически значимым было влияние на обменные пути *mtmu00830* (секреция желчи, *bile secretion*) и *mtmu04620* (сигналинг Toll-рецепторов, *Toll-like receptor signaling pathway*). В первом из этих случаев ответ у мышей db/db и C57Bl/6J имел ряд принципиальных различий, включавших, в частности, активацию у первых и подавление у вторых

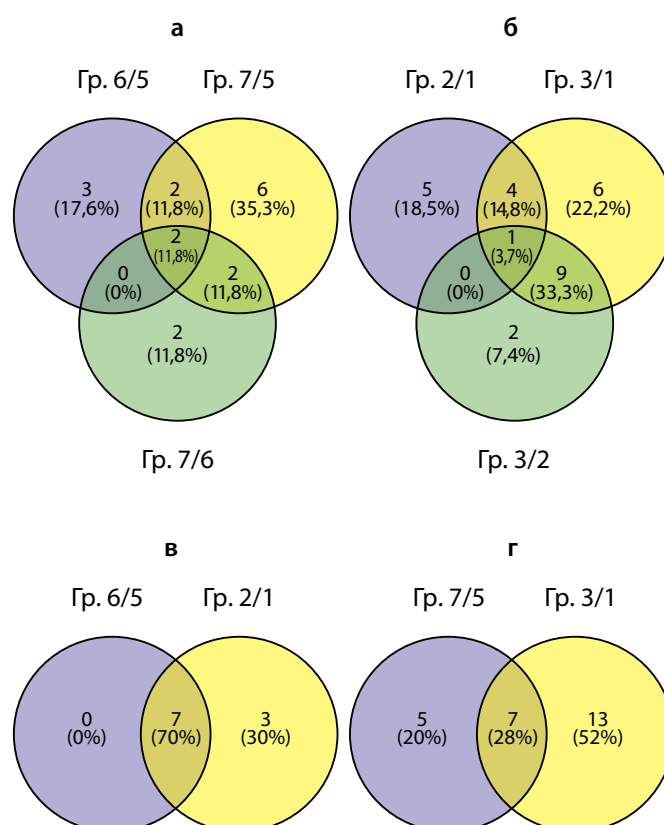


Рисунок 4. Теоретико-множественный анализ (диаграммы Венна) распределения числа модифицированных метаболических путей (KEGGs) у мышей C57Bl/6J (а) и db/db (б) в зависимости от дозы Q и при сравнении мышей двух этих линий между собой при дозах Q 25 (в) и 100 мг/кг массы тела (г). Обозначения см. рис. 2.

Таблица 1. Аннотированный список генов, различающихся по дифференциальной экспрессии на двух экспериментальных моделях мышей в ответ на потребление Q₁ (начало таблицы)

№ п/п	Ген	Название согласно http://genemania.org/	Ответ, log ₂ FC; (p _{value})						Роль в развитии ожирения и метаболического синдрома, ссылки
			У db/db		У C57Bl/6J				
			На Q 25 Гр. 2/Гр. 1	На Q 100 Гр. 3/Гр. 1	Против C57Bl/6J Гр. 1/Гр. 4	На Q 25 Гр. 6/Гр. 5	На Q 100 Гр. 7/гр. 5	На ВУВЖР Гр. 5/Гр. 4	
1	<i>Saa3</i>	serum amyloid A 3	н/о	3,396 (5×10 ⁻⁴)	2,539 (0,003)	н/о	н/о	н/о	[17, 18]
2	<i>Cidec</i>	cell death-inducing DFFA-like effector c.	2,102 (0,013)	2,085 (0,014)	н/о	н/о	н/о	н/о	[19, 20]
3	<i>S100a4</i>	S100 calcium binding protein A4	1,304 (0,011)	1,105 (0,028)	1,179 (0,012)	н/о	н/о	н/о	-
4	<i>S100a11</i>	S100 calcium binding protein A11	0,933 (0,016)	1,905 (0,006)	н/о	н/о	н/о	н/о	-
5	<i>Scd1</i>	stearoyl-Coenzyme A desaturase 1	1,031 (0,025)	н/о	1,219 (0,003)	н/о	-0,944 (0,038)	н/о	[23, 24]
6	<i>Apoa4</i>	apolipoprotein A-IV	0,876 (0,034)	1,279 (0,003)	н/о	н/о	н/о	н/о	[21]
7	<i>Ngef</i>	neuronal guanine nucleotide exchange factor.Синонимы: Tims2; ephexin	-1,005 (3×10 ⁻⁵)	-0,918 (9×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	н/о	0,546 (0,005)	[22]
8	<i>Grin2d</i>	glutamate receptor, ionotropic, NMDA2D (epsilon 4).	0,805 (9×10 ⁻⁴)	н/о	н/о	-0,612 (0,008)	-0,598 (0,009)	н/о	[38, 39]
9	<i>Gls2</i>	glutaminase 2	н/о	н/о	-0,856 (2×10 ⁻⁵)	-0,641 (0,013)	н/о	н/о	-
10	<i>Acsc2</i>	acyl-CoA synthetase short-chain family member 2	н/о	н/о	1,265 (5×10 ⁻⁵)	-0,736 (0,012)	-0,754 (0,010)	н/о	[30]
11	<i>Fabp5</i>	Fabp5 fatty acid binding protein 5, epidermal	н/о	н/о	4,022 (5×10 ⁻¹²)	-1,354 (2×10 ⁻⁴)	-1,167 (0,001)	н/о	[31–33]
12	<i>Bcl6</i>	B cell leukemia/lymphoma 6	н/о	н/о	-2,000 (5×10 ⁻⁴)	н/о	н/о	1,201 (0,023)	[44]
13	<i>Btg3</i>	BTG anti-proliferation factor 3	-0,573 (0,028)	1,900 (2×10 ⁻⁴)	1,287 (1×10 ⁻⁴)	н/о	н/о	-0,873 (0,004)	[45]
14	<i>Camk2b</i>	calcium/calmodulin-dependent protein kinase II, beta	-0,583 (0,004)	-0,570 (0,004)	4,959 (3×10 ⁻¹⁸)	н/о	н/о	-0,504 (0,006)	[37]
15	<i>Car3</i>	carbonic anhydrase 3	н/о	-1,405 (0,001)	-1,038 (0,008)	н/о	н/о	0,972 (0,012)	[46]

Примечание: н/о — ответ дифференциальной экспрессии не обнаружен ($|\log_2 FC| < 0,5$ и/или $p_{value} > 0,05$).

Таблица 1. Аннотированный список генов, различающихся по дифференциальной экспрессии на двух экспериментальных моделях мышей в ответ на потребление Q₂ (окончание таблицы)

№ п/п	Ген	Название согласно http://genemania.org/	Ответ, log ₂ FC; (p _{value})						Роль в развитии ожирения и метаболического синдрома, ссылки
			У db/db			У C57Bl/6J			
			Ha Q 25 Гр. 2/Гр. 1	Ha Q 100 Гр. 3/Гр. 1	Против C57Bl/6J Гр. 1/Гр. 4	Ha Q 25 Гр. 6/Гр. 5	Ha Q 100 Гр. 7/гр. 5	Ha ВУВЖР Гр. 5/Гр. 4	
16	<i>Cd14</i>	CD14 antigen	н/о	2,383 (1×10 ⁻⁴)	1,473 (0,005)	н/о	н/о	-0,971 (0,049)	[47]
17	<i>Crym</i>	crystallin, mu	н/о	н/о	-3,064 (2×10 ⁻¹⁰)	н/о	-1,071 (0,001)	0,921 (0,002)	-
18	<i>G6pdx</i>	glucose-6-phosphate dehydrogenase X-linked	0,701 (0,037)	1,451 (2×10 ⁻⁴)	2,161 (2×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	-1,047 (0,002)	[27]
19	<i>Jchain</i>	immunoglobulin joining chain	н/о	1,275 (0,010)	2,149 (5×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	-1,361 (0,004)	[49]
20	<i>Tlr12</i>	toll-like receptor 12	н/о	н/о	3,841 (7×10 ⁻¹¹)	н/о	н/о	-0,725 (0,029)	[50]
21	<i>Ifi272lb</i>	interferon, alpha-inducible protein 27 like 2B	0,859 (0,012)	0,889 (0,009)	0,907 (0,005)	-1,149 (0,001)	-0,668 (0,042)	н/о	[48]
22	<i>Acacb</i>	acetyl-Coenzyme A carboxylase beta синонимы Acc2; Accb	н/о	0,642 (9×10 ⁻⁴)	0,777 (6×10 ⁻⁵)	н/о	-0,645 (9×10 ⁻⁴)	н/о	[25,26]
23	<i>Cgref1</i>	cell growth regulator with EF hand domain 1 синоним Cgr11	1,049 (0,012)	1,518 (7×10 ⁻⁴)	0,834 (0,029)	н/о	-0,964 (0,020)	н/о	[42]
24	<i>Fst</i>	folistatin	н/о	0,929 (0,005)	-1,095 (7×10 ⁻⁴)	н/о	-0,744 (0,002)	н/о	[28]
25	<i>Igfals</i>	insulin-like growth factor binding protein, acid labile subunit	-0,608 (0,007)	-1,188 (1×10 ⁻⁵)	н/о	н/о	0,602 (0,008)	н/о	[51]
26	<i>Igfbp1</i>	Insulin-like growth factor binding protein 1	н/о	1,114 (0,006)	-1,468 (2×10 ⁻⁴)	н/о	-0,930 (0,018)	н/о	[51]
27	<i>Insig2</i>	insulin induced gene 2	0,890 (0,001)	0,715 (0,007)	-0,631 (0,005)	н/о	-0,540 (0,022)	н/о	[52]
28	<i>Nrep</i>	neuronal regeneration related protein синоним: p311	-1,271 (0,038)	-1,740 (0,006)	1,135 (0,004)	н/о	1,214 (0,046)	н/о	[43]
29	<i>Pdk4</i>	pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 4	н/о	1,611 (0,001)	-1,722 (4×10 ⁻⁴)	н/о	-1,033 (0,028)	н/о	[41]
30	<i>Tuba8</i>	tubulin, alpha 8	1,352 (0,005)	1,816 (4×10 ⁻⁴)	1,255 (0,005)	н/о	-1,218 (0,011)	н/о	[40]

Примечание: n/o — ответ дифференциальной экспрессии не обнаружен (log₂FC<0,5 и/или p_{value}>0,05).

секреции воды в желчные каналцы за счет разнонаправленных изменений экспрессии гена, кодирующего аквапорин 8 (*Aqp8*). Напротив, у *db/db*-мышей значительно подавлялась секреция холестерина посредством транспортера *Abscg8* [13] в отличие от *C57Bl/6J*, характеризующихся несущественной активацией этого пути. В совокупности выявленные изменения указывают на способность *Q* усиливать накопление стероидов в печени у *db/db*-мышей. При этой же дозе *Q* у мышей *db/db* отмечается повышение экспрессии гена *Cd14*, связанного с развитием иммунной реакции по TLR4-опосредуемому пути, в то время как у *C57Bl/6J*, возможно, активируются другие пути TLR-сигналинга, опосредуемые, например, фосфоинозитид-3-киназой (PI3k) [14].

При дозе *Q* 100 мг/кг м.т. большие различия на двух мышинных моделях выявлены в ответе метаболического пути *mtm00140* (биосинтез стероидов, Steroid hormone biosynthesis), рис. 5. А именно, у мышей *db/db* подавление с $|\log FC| > 1$ экспрессии *steroid Delta-isomerase* (код фермента (КФ) 5.3.3.1) и *3-beta-hydroxy-Delta5-steroid dehydrogenase* (КФ 1.1.1.45) приводит к метаболическому блоку образования кортикостерона, прогестерона, кортизола и тестостерона из их предшественников, тогда как у мышей *C57Bl/6J* эти пути обмена, напротив, активируются. Противоположной направленностью характеризовались у мышей двух линий и ДЭ у КФ 2.8.2.4 (*estrone sulfotransferase*) и КФ 2.4.1.17 (*glucuronosyltransferase*), следствием чего могут быть усиление у мышей *db/db* сульфатирования, ослабление глюкуронирования стероидов и противоположная направленность изменений у мышей *C57Bl/6J*.

В дозе *Q* 100 мг/кг м.т. в метаболическом пути PPAR-сигналинга (*mtm03320*) у *db/db*-мышей, в отличие от *C57Bl/6J*, подавляется экспрессия ретиноидного X-рецептора RXR, регулирующего экспрессию генов липогенеза (рис. 6). Вследствие этого у *db/db*-мышей, по-видимому, нарушается нормальный уровень продукции таких вторичных мишеней PPAR-пути, как *ApoA1*, *ApoCIII*, *CYP7A1*, *CYP4A1* и других. Одновременно у *db/db* отмечается дисрегуляция в экспрессии генов, кодирующих печеночные транспортеры липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) и хиломикрон — *FATP* и *CD36*.

Q в дозе 100 мг/кг м.т. также неодинаково влиял у мышей двух линий на метаболические пути детоксикации ксенобиотиков. Так, у *db/db*-мышей отмечалось увеличение экспрессии вышеуказанной УДФ-глюкуронозилтрансферазы (КФ 2.4.1.17) и альдегидоксидазы (КФ 1.2.3.1), и подавление глутатион-S-трансферазы (КФ 2.5.1.18), а у *C57Bl/6J* эти изменения были противоположными. С другой стороны, у *C57Bl/6J* усиливается экспрессия альдегиддегидрогеназы (КФ 1.2.1.5), что не наблюдается у *db/db*. Противоположную направленность имеет у двух линий мышей и экспрессия карбоксилэстеразы (КФ 3.1.1.1); уровень экспрессии цитидиндеаминазы (КФ 3.5.4.5) повышается только у мышей *C57Bl/6J*.

У мышей *db/db*, получавших *Q* в дозе 100 мг/кг м.т., отмечается метаболический блок в путях трансформации триптофана по триптаминовому (декарбоксилирование) и кинурениновому пути за счет подавления экспрессии декарбоксилазы ароматических аминокислот (КФ 4.1.1.28, КФ 4.1.1.105) и арилформамидазы (КФ 3.5.1.9) соответственно. У *C57Bl/6J*-мышей первый из этих путей

затрагивается незначительно, а второй активируется. Наблюдаемые особенности влияния *Q* на обмен триптофана у *db/db*-мышей могут приводить у них к нарушению образования серотонина, следствием чего может быть активация дофаминовой системы, принимающей непосредственное участие в регуляции метаболических процессов, и способствовать накоплению токсичных аномальных метаболитов триптофана.

В продолжение рассмотрения влияния высокой дозы *Q* на процессы рецепции нейропептидов (метаболический путь *mtm04080*) обращают на себя внимание свойственные двум линиям различия в экспрессии анорексигенного кисспептида (*KISS1*) [15] (повышение у *C57Bl/6J* и снижение у *db/db*), предшественника брадикинина *KNG* (активация у *C57Bl/6J* при отсутствии эффекта у *db/db*) и рецептора пролактина *PRLR* (активация у *db/db* при отсутствии ответа у *C57Bl/6J*). Ожидаемым образом у *C57Bl/6J*-мышей *Q* вызывал усиление экспрессии рецептора лептина *LEPR*, тогда как у *db/db* этого не наблюдалось, несмотря на резко повышенный у них уровень циркулирующего лептина [16].

По-видимому, ключевую роль в различной реакции мышей двух линий на *Q* играют влияния этого БАВ на экспрессию генов метаболизма ретинола (*mtm00830*), рис. 7. При большой дозе *Q* наблюдается противоположный ответ вышеуказанной мультифункциональной альдегидоксидазы (КФ 1.2.3.1), *CYP2A* и УДФ-глюкуронозилтрансферазы (*UGT*) — повышение у *C57Bl/6J* и подавление у *db/db*, *CYP3A* — повышение только у *db/db*. При этом у мышей обеих линий *Q* в указанной дозе одинаково подавлял экспрессию дегидрогеназы ретинола (*RDH*). Следствием этих эффектов может быть, в частности, метаболический блок в образовании 9-цис-ретиноевой кислоты в пользу полной транс-ретиноевой кислоты и ее метаболитов, а также накопление аномальных ретиноидов и замедление их экскреции у мышей *db/db*. В совокупности это может внести существенный вклад в развитие токсического повреждения печени у мышей *db/db* на высокой дозе *Q* с учетом важной роли ретиноидов в процессах клеточной дифференцировки, пролиферации и межклеточного распознавания. Примечательно, что в отличие от мышей *C57Bl/6J*, получавших ВУВЖР, у мышей *db/db* отмечаются зависимые от дозы *Q* изменения ДЭ вышеуказанных факторов *CYP3A*, *RDH*, а также *CYP26*.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полнотранскриптомный анализ ткани печени был проведен для двух линий мышей, из которых первая, *db/db*, характеризовалась спонтанным развитием ожирения, гиперлипидемии и гипергликемии даже при потреблении сбалансированного стандартного рациона, а вторая, *C57Bl/6J*, была относительно резистентна к увеличению жировой массы при потреблении гиперкалорийного ВУВЖР. При этом воздействие *Q* на мышей *C57Bl/6J*, получавших ВУВЖР, с одной стороны, и мышей *db/db*, с другой, также имело свои особенности.

В ранее опубликованном исследовании, выполненном на рассматриваемых группах животных [16], отмечалась гибель трех из восьми мышей *db/db* во 2-й группе и пяти из восьми мышей в 3-й группе при явлениях острой циркуляторной дисфункции легких и миокарда.

Black

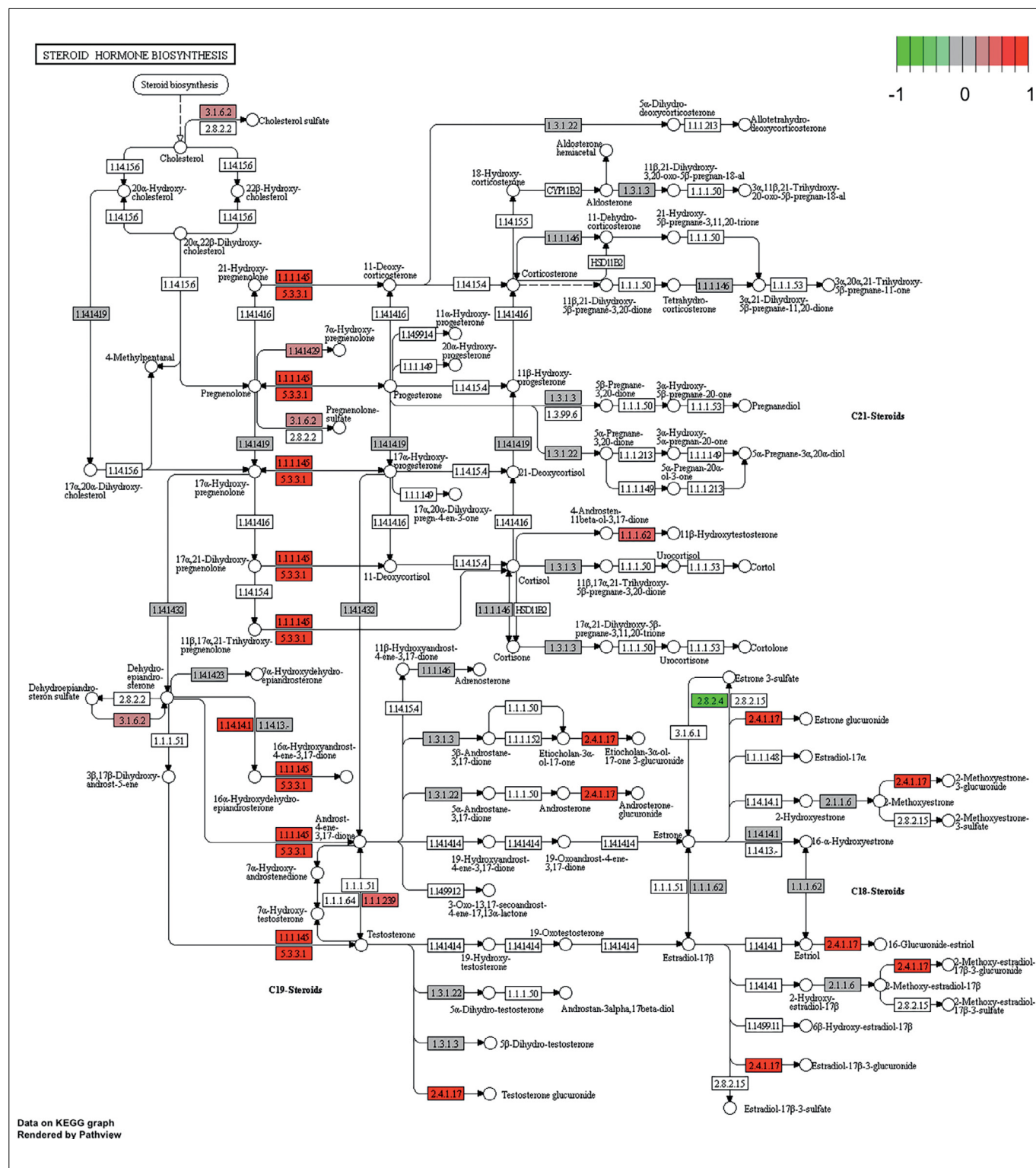


Рисунок 5. Сравнение изменений метаболических путей Steroid hormone biosynthesis у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Q100 Steroid hormone biosynthesis

DB

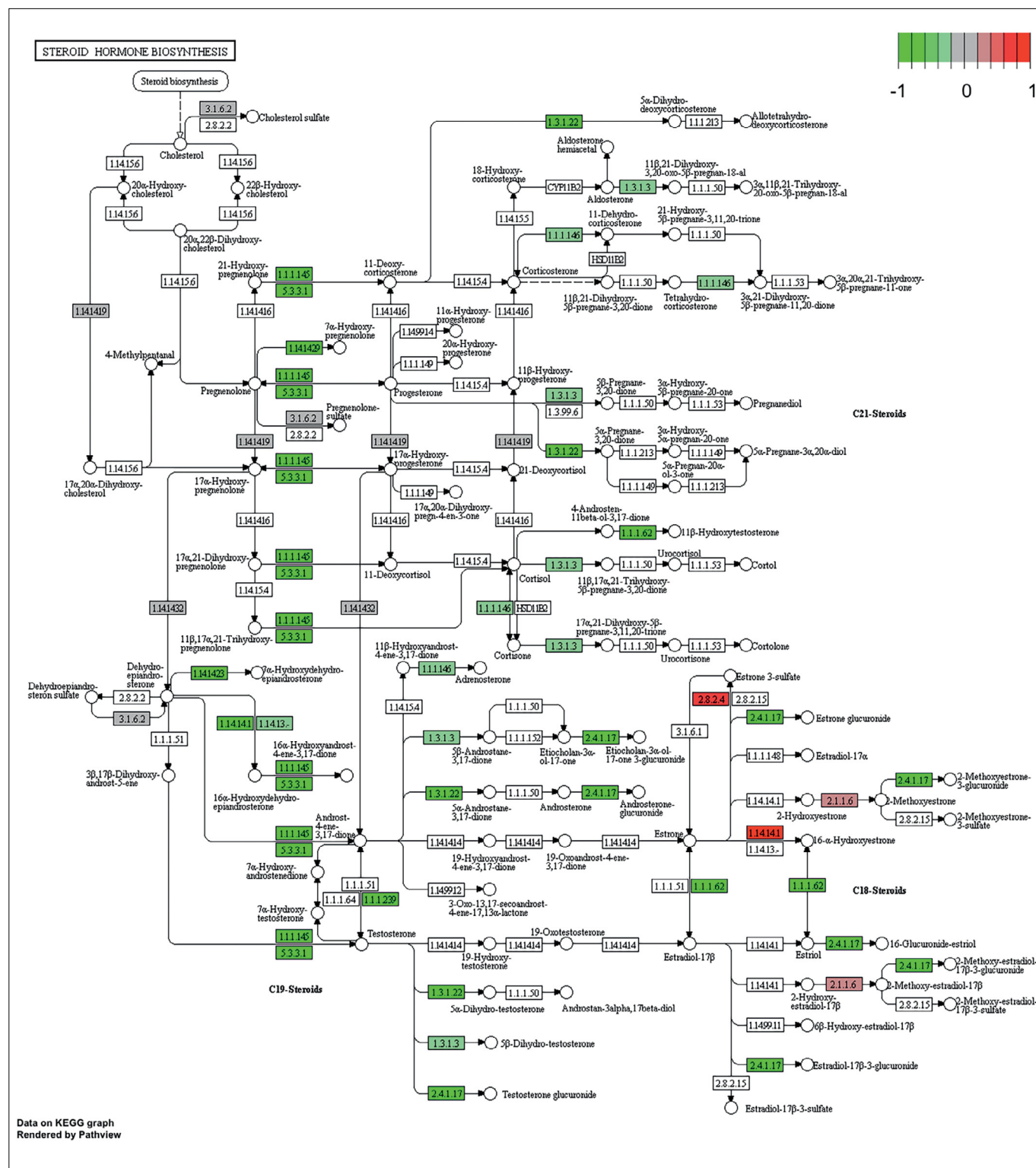
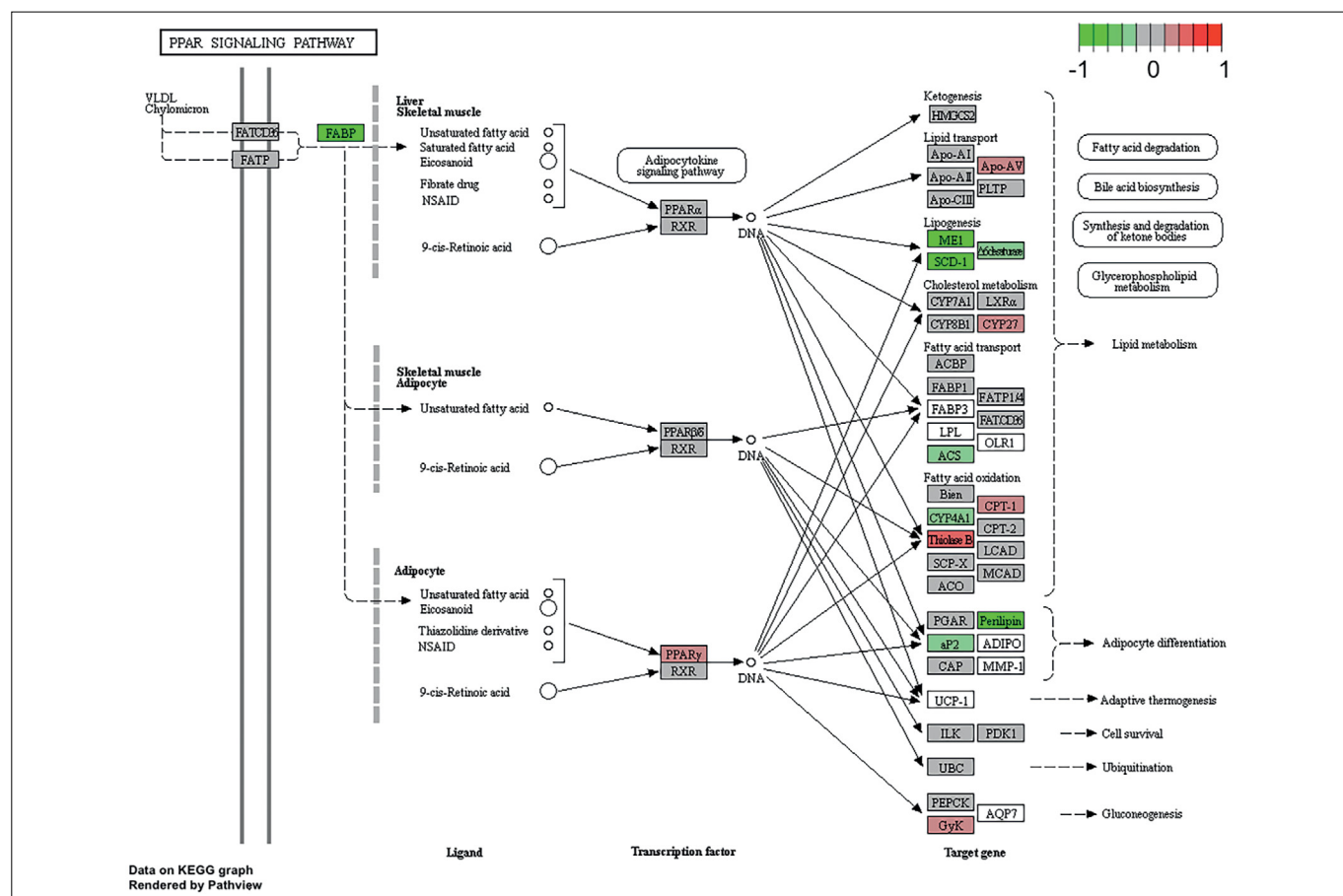


Рисунок 5, продолжение. Сравнение изменений метаболических путей Steroid hormone biosynthesis у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Q100 PPAR SIGNALING

Black



DB

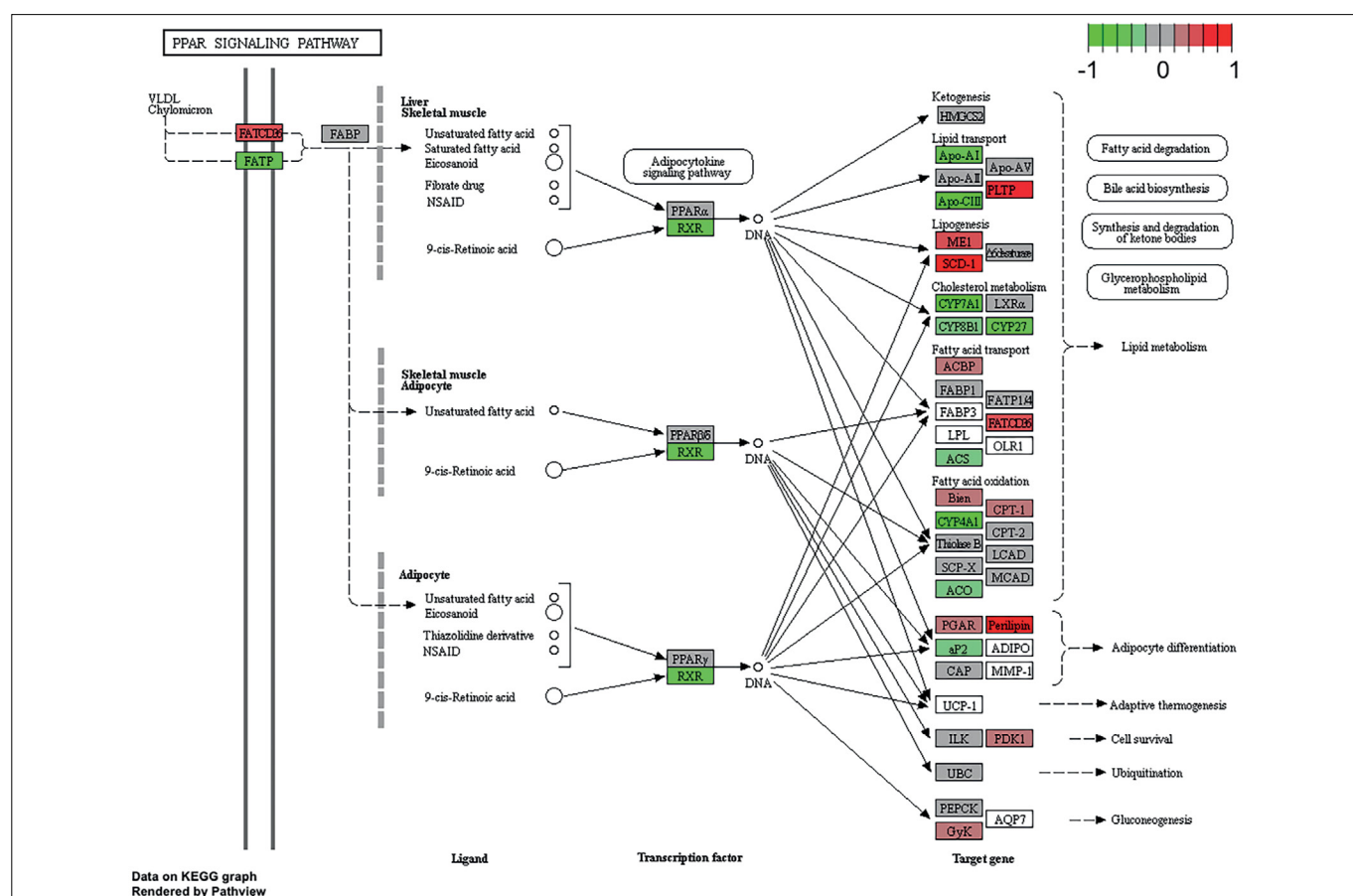


Рисунок 6. Сравнение изменений метаболических путей PPAR Signaling у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Black

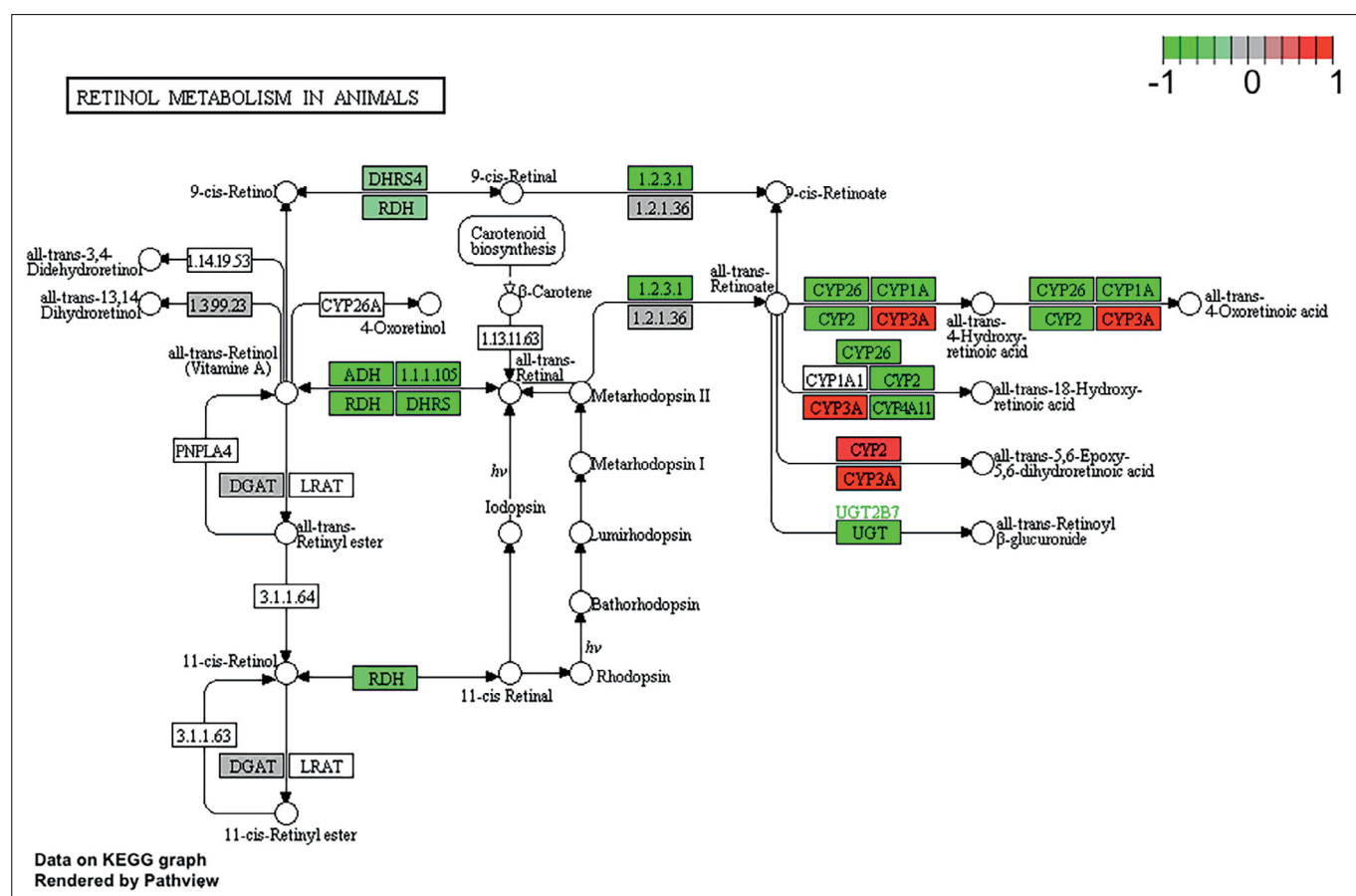


Рисунок 7. Сравнение изменений метаболических путей Retinol metabolism у мышей db/db и C57Bl/6J под действием Q в дозе 100 мг/кг массы тела.

Все животные остальных опытных групп имели нормальный внешний вид и систематически прибавляли в массу тела. Среднее удельное энергопотребление, выраженное в ккал/г м.т. в сутки, у мышей db/db достоверно не различалось между группами. Все мыши db/db демонстрировали выраженные фенотипические признаки ожирения. Потребление Q мышами db/db не оказывало влияния на их интегральные показатели, за исключением возрастания массы забрюшинного жира в группе, получавшей Q в дозе 25 мг/кг м.т. Мыши C57Bl/6J 5-й группы характеризовались достоверно повышенным удельным энергопотреблением в сравнении с группой 4. Q достоверно снижал этот показатель в группе 6 и на уровне тенденции в группе 7.

У мышей C57Bl/6J группы 5, получавших ВУВЖР, м.т. и масса жировой ткани достоверно не отличались от контроля. Потребление Q мышами C57Bl/6J приводило к снижению массы печени, повышению массы забрюшинного белого жира (группа 6) и снижению запасов подлопаточного бурого жира по сравнению с животными, потреблявшими только ВУВЖР.

У мышей db/db контрольной группы были многократно повышены уровни циркулирующего лептина в сравнении с мышами C57Bl/6J, получавшими как сбалансированный рацион, так и ВУВЖР. В сопоставимых условиях у db/db-мышей был также достоверно повышен в сравнении с C57Bl/6J уровень провоспалительного цитокина IL-10. Q не оказывал влияния на уровень лептина, грелина и IL-10 у db/db.

Под действием Q у мышей db/db достоверно снижался уровень глюкозы, возрастало содержание липопротеинов низкой плотности (ЛПНП), а уровни липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) и триглицеридов демонстрировали тенденцию к снижению. У мышей C57Bl/6J Q не вызывал достоверного изменения указанных биохимических показателей. Суммарная липолитическая активность плазмы крови достоверно снижалась под действием Q только у мышей C57Bl/6J.

У мышей db/db группы 1 были достоверно повышены уровни глюкозы, общего холестерина, холестерина ЛПВП и ЛПНП и триглицеридов и при этом, понижено отношение активностей аспартатаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы (коэффициент де Ритиса) в сравнении с мышами C57Bl/6J групп 4 и 5. У C57Bl/6J кормление ВУВЖР не приводило к изменению коэффициента де Ритиса.

Представленная морфологическая картина печени свидетельствует о неблагоприятном эффекте Q у мышей db/db, проявлявшемся в резком усилении аккумуляции жира в печени (что может быть связано, в частности, с усилением транспорта холестерина в печень посредством повышенных уровней ЛПВП), в то время как у получавших Q мышей C57Bl/6J накопление жира в гепатоцитах видимым образом снижалось.

Указанные фенотипические особенности получили свое отражение и на транскриптомном уровне. Так, ДЭ гена *Saa3* (serum amyloid A 3) повышалась только у db/db, получавших Q, что может быть связано с развитием воспаления на фоне резкого усиления метаболической активности. SAA3 представляет собой аполипопротеин, жестко регулируемый при различных воспалительных процессах и рассматриваемый как провоспалительный медиатор [17], способствующий пролиферации макро-

фагов в жировую ткань [18]. Ген *Cidec* (cell death-inducing DFFA-like effector c), также экспрессируемый в ответ на Q только у мышей db/db, рассматривается как подавляющий мобилизацию жира из депо и способствующий его накоплению [19]. Фармакологическая блокада CIDEc у мышей ob/ob приводила к снижению запасов висцерального жира, улучшению инсулиновой чувствительности, активации генов, участвующих в распаде и синтезе жиров [20].

По данным Duvenger et al. [21], гиперэкспрессия гена *Apoa4* (apolipoprotein A-IV) вызывала увеличение уровней ЛПНП, что согласовалось с нашими данными для мышей db/db, получавших Q [16], и сопровождалась усилением транспорта холестерина из периферических органов в печень, что на фоне метаболического блока окисляющих стерины ферментов (см. рис. 6) могло быть одной из причин наблюдаемого усиления аккумуляции липидов в печени. Избирательное подавление под влиянием Q экспрессии *Ngef* (neuronal guanine nucleotide exchange factor, синонимы: *Tims2*; *ephexin*) наблюдалось только у db/db мышей. Shi et al. [22] показали, что нокаут этого гена приводил к нарушению координации движений и мышечной усталости, что согласуется с нашими данным определения мышечного тонуса у db/db, получавших Q [16].

Наблюдаемое у db/db повышение уровня экспрессии *Scd1* (стеарил-КоА десатураза) как по сравнению с мышами C57Bl/6J, так и при низкой дозе Q в рационе согласуется с усилением в этих условиях накопления жира в печени (см. рис. 1), поскольку активность данного фермента является фактором, предрасполагающим к развитию как вызванного алкоголем, так и неалкогольного стеатогепатита на мышинной модели [23]. Аналогичными этому были различия в направленности ДЭ гена *Scd1* под действием Q у двух линий крыс — относительно резистентной и склонной к развитию ожирения, по данным [24].

Повышенная экспрессия гена *Acacb* (ацетил-коэнзим А карбоксилаза бета), рассматриваемого в качестве регулируемого АМПК (cAMP-activated protein kinase) промотера липогенеза и фактора, препятствующего митохондриальному β -окислению жирных кислот [25, 26], отмечалась у db/db-мышей, получавших Q, в то время как ответ этого гена у мышей C57Bl/6J был противоположным. Малонил-КоА, генерируемый ацетил-КоА-карбоксилазами, является ключевым метаболитом в синтезе жирных кислот. Сходные с выявленными нами закономерности были обнаружены ранее для экспрессии родственного гена *Acaca* на крысиных моделях в работе [24].

Ключевой ген пентозофосфатного пути *G6pdx* (glucose-6-phosphate dehydrogenase X-linked) показал повышенную ДЭ у db/db-мышей в сравнении с C57Bl/6J, а Q вызывал дальнейшее усиление его экспрессии в печени, что по данным [27] может рассматриваться как признак развития инсулиновой резистентности и оксидантного стресса. Характерно, что у мышей C57Bl/6J экспрессия этого гена под воздействием ВУВЖР снижалась, что подчеркивает способность этих животных к адаптации при потреблении избыточного по энергетической ценности рациона.

Экспрессия *Fst* (фоллистатин), рассматриваемого как маркер печеночной инсулинорезистентности у мышей [28], имела противоположную направленность у мышей двух линий при высокой дозе Q. Интерпретация этого факта, однако, затрудняется тем обстоя-

тельством, что уровень мРНК этого гена был снижен у мышей db/db контрольной группы по сравнению с контрольными C57Bl/6J.

В отличие от вышеперечисленных генов, ДЭ гена *Gls2* (glutaminase 2), кодирующего ключевой фермент катаболизма глутамина, наблюдалась только у C57Bl/6J, получавших Q. Это может означать, что, вероятно, у этих животных БАВ способен вызывать переключение энергетического обмена с использования белка на углеводные субстраты и кетонные тела, что может осуществляться посредством PPARα сигнального каскада [29].

Однозначно подавляемыми только у C57Bl/6J под действием Q явились ключевые гены липогенеза *Acs2* (acyl-CoA synthetase short-chain family member 2) и *Fabp5* (fatty acid binding protein 5, epidermal). Регулируемая при участии SREBP-1a (sterol regulatory element-binding protein 1) *Acs2* способствует увеличению жировых запасов и отягощению ожирения [30]. Кодированный *Fabp5* переносчик жирных кислот препятствует апоптозу адипоцитов [31] посредством системы эндоканнабиноидов и GIP, повышает потребление пищи и на высококалорийных рационах, чем способствует развитию диет-индуцированного ожирения [32, 33]. Характерно, что у мышей db/db контрольной группы экспрессия обоих этих генов была, по-видимому, изначально повышена по сравнению с контрольными C57Bl/6J.

Повышенная экспрессия генов, связанных с кальциевым обменом: Ca-связывающих белков *S100a4* (S100 calcium binding protein A4), *S100a11* (S100 calcium binding protein A11) и кальций/кальмодулин-зависимой протеинкиназы 2 бета *Camk2b* у мышей db/db в сравнении с C57Bl/6J и под воздействием Q может быть связана с ролью этих факторов в развитии ожирения, которая в настоящее время недостаточно изучена. По некоторым данным, белки семейства S100a способны препятствовать олигомеризации и транспорту p53 [34], необходимому, в частности, для активации анорексигенных AgRP нейронов гипоталамуса при избыточном по калорийности питании [35]. Однако вопрос о том, каким образом может быть связана с этими процессами эктопическая гиперэкспрессия генов *S100a4* и *S100a11* в печени, остается открытым.

Ген *Camk2b*, экспрессия которого у db/db-мышей повышена в 32 раза по сравнению с получавшими ВУВЖР мышами C57Bl/6J, рассматривается как маркер апоптоза и оксидантного стресса в эндоплазматическом ретикулуме [36]. По данным [37], в хабенуле эпителия головного мозга гиперэкспрессия *Camk2b* может маркировать развитие депрессии. Противоположная направленность экспрессии *Grin2d* (glutamate receptor, ionotropic, NMDA2D (epsilon 4)) у получавших Q мышей двух линий может определяться участием этого ионофорного рецептора анионных аминокислот во внутриклеточном транспорте кальция, приводящем к активации транскрипционного фактора CREB (cAMP response element-binding protein) [38], играющего роль триггера в развитии воспаления в жировой ткани при ожирении [39].

Ряд генов, ответивших положительной ДЭ у db/db и отрицательной у C57Bl/6J, получавших Q, могут рассматриваться как маркеры развития жирового гепатоза у мышей первой из этих линий. В их числе *Tuba8* (tubulin, alpha 8), активируемый на мышинной модели неалкогольного стеатогепатита [40], *Pdk4* (pyruvate dehydrogenase

kinase, isoenzyme 4), являющийся мишенью воздействия PPAR β/δ [41], и *Cgref1* (cell growth regulator with EF hand domain 1, синоним *Cgr11*), повышенная экспрессия которого связывается с арестом клеточного цикла и ингибированием тканевых репаративных процессов [42]. Противоположную направленность имела экспрессия *Nrep* (neuronal regeneration related protein, синоним p311) — гена, связанного с регуляцией накопления липидов в печени через обмен ретиноидов [43]. Обращает на себя внимание противоположный знак ДЭ у db/db и C57Bl/6J, получавших ВУВЖР, при сравнении с C57Bl/6J на контрольном рационе таких генов, как *Bcl6* (B cell leukemia/lymphoma 6) и *Btg3* (BTG anti-proliferation factor 3). При дефиците первого из этих факторов, принадлежащего к группе ядерных белков «цинковые пальцы», у мышей наблюдается дисрегуляция липидного обмена, опосредуемая SOC-сигналингом и связанная с экспрессией *Scd1* и *Chrebp* [44], второй предположительно активируется при оксидантном стрессе [45]. В этой связи также примечательна активация транскрипции *Btg3* у db/db, но не у C57Bl/6J, получавших высокую дозу Q. Сходный с *Bcl6* профиль экспрессии наблюдался у *Car3* (carbonic anhydrase 3), с той разницей, что Q подавлял его у db/db. Снижение экспрессии данного гена маркирует токсическое повреждение печени, связанное с избыточными уровнями ионов Cu^{2+} или болезнью Вильсона [46].

Различия в ДЭ отмечались также для комплекса генов, участвующих в иммунной реакции. У мышей db/db в норме и при потреблении Q повышалась экспрессия *CD14* (CD14 antigen), *Ifi272b* (interferon, alpha-inducible protein 27 like 2B) и *Jchain* (immunoglobulin joining chain), рассматриваемых как маркеры иммунологически опосредуемого воспаления при накоплении жира в печени [47, 48, 49]. На возможную роль TLR-сигналинга в этих процессах указывает гиперэкспрессия гена toll-рецептора *Tlr12* [50] у db/db-мышей одновременно с подавлением экспрессии этого гена у C57Bl/6J на ВУВЖР.

О различном влиянии Q в двух использованных *in vivo* моделях на гормональную регуляцию углеводно-энергетического обмена указывает реципрокная экспрессия факторов связывания инсулиноподобного фактора роста ИФР *Igfals* (insulin-like growth factor binding protein, acid labile subunit) и *Igfbp1* (insulin-like growth factor binding protein 1) у db/db и C57Bl/6J-мышей. Первый из этих генов кодирует полипептид, являющийся нормальным компонентом регуляторного комплекса ИФР и гормона роста, тогда как гиперэкспрессия второго, находящаяся под контролем PPAR-пути, приводит к развитию гипергликемии и снижению толерантности к глюкозе [51]. Еще одним геном, противоположно отвечающим на прием Q у мышей двух линий, явился *Insig2* (insulin induced gene 2), повышенная экспрессия которого может рассматриваться как один из маркеров инсулиновой резистентности [52].

Подводя итог анализу ответа транскриптома печени мышей двух линий на применяемые генетические воздействия, следует отметить, что в основе фундаментальных различий в реакции на Q генетического аппарата мышей db/db и их родительской линии C57Bl/6J лежит отсутствие у первых нормальной рецепции лептина, вследствие чего его нейротропные и регуляторные функции не могут адекватно реализоваться [53].

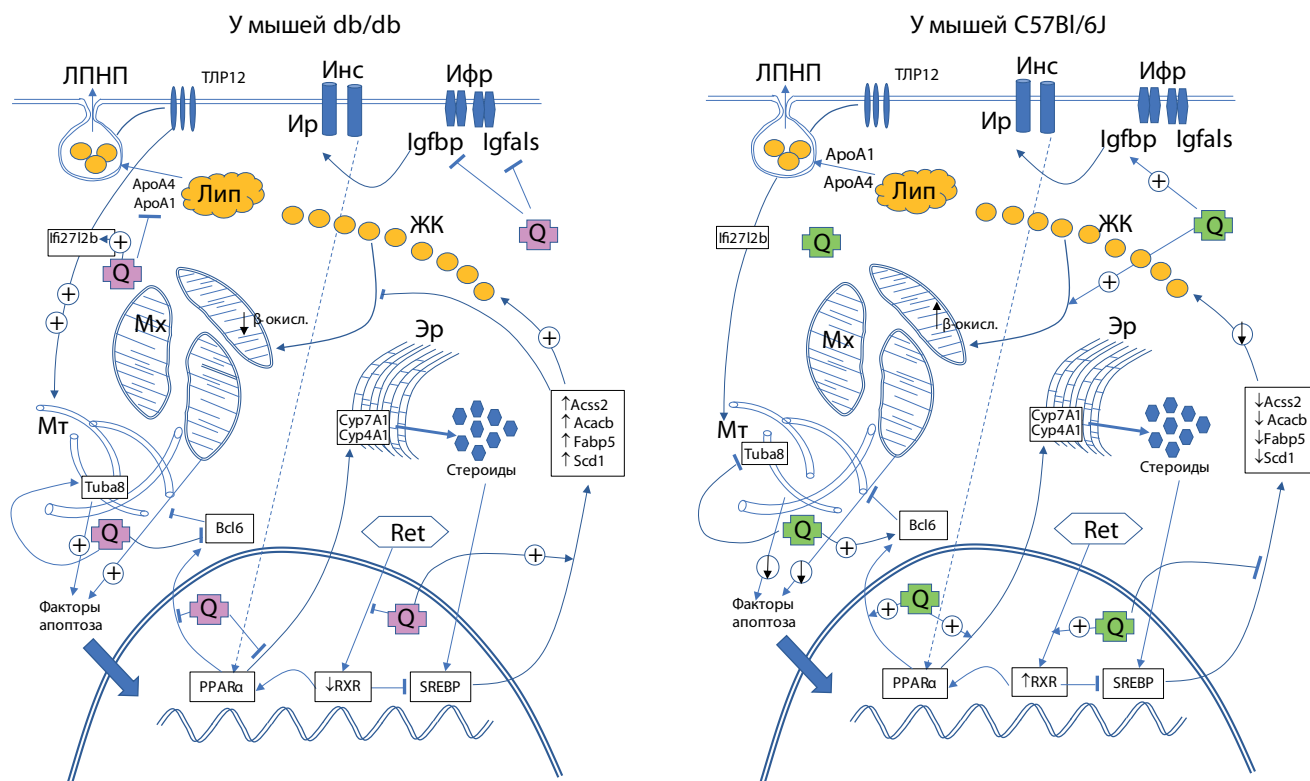


Рисунок 8. Схема, основанная на результатах полнотранскриптомного анализа, взаимосвязи внутриклеточных процессов, являющихся мишенями воздействия кверцетина в гепатоцитах мышей db/db и C57Bl/6J. Обозначения: ЖК — жирные кислоты; Инс — инсулин; Ир — рецептор инсулина; Ифр — инсулиноподобный фактор роста; Лип — липиды; Мх — митохондрии; Мт — микротрубочки; Эр — эндоплазматический ретикулум; Q — кверцетин; ↑ — усиление экспрессии; ↓ — ослабление экспрессии; + — активация (потенцирование), ⊥ — подавление (ингибирование).

На рис. 8 представлена обобщенная схема, демонстрирующая в сопоставлении основные различия во влиянии Q на экспрессию генов и связанные с ней изменения в метаболических процессах в клетках печени мышей линий db/db и C57Bl/6J.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полнотранскриптомное профилирование ткани печени мышей db/db и C57Bl/6J, представляющих две *in vivo* модели, первая из которых соответствует спонтанному генетически обусловленному ожирению, а вторая — состоянию относительной резистентности к развитию ожирения при потреблении высококалорийного рациона, выявили множественные различия во влиянии БАВ полифенольной природы Q на экспрессию генов (см. рис. 8). Эти различия распространялись на группы ключевых генов жирового и углеводно-энергетического обмена, биосинтеза стероидов, обмена производных ретинола, PPAR-сигналинга, развития инсулиновой резистентности, опосредованной Toll-рецепторами иммунной реакции, внутриклеточных и секреторных транспортных процессов и других показателей.

Во всех проанализированных случаях изменения активности транскрипции генов согласовались с фенотипическими изменениями организма мышей, состоявшими в повышенной летальности, утяжелении состояния дислипидемии и жирового гепатоза у мышей db/db, и противоположной, благоприятной для организма реакцией у мышей C57Bl/6J на потребление данного БАВ. Выявленные на геномном уровне различия в эффектах Q позволяют, во-первых, пролить свет на неоднозначную эффективность этого БАВ, как и других полифенолов,

в диетотерапии различных форм ожирения у людей и, во-вторых, сформировать набор чувствительных маркеров, которые позволят в перспективе, при наличии клинически доступного биосубстрата, оценивать результативность применения БАВ при диетотерапии ожирения, метаболического синдрома, других метаболических состояний, в том числе опосредованных нейродегенеративными нарушениями.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 17-16-01043 «Поиск эффекторных звеньев метаболизма, регулируемых алиментарными факторами при ожирении, для разработки инновационных специализированных пищевых продуктов».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Трусев Н.В. — полнотранскриптомный анализ на микрочипе, написание статьи (разделы «Методы», «Обсуждение»); Апрытин С.А. — разработка дизайна эксперимента, написание статьи (разделы «Методы», «Результаты»); Шипелин В.А. — написание статьи (раздел «Обсуждение»); Гмошинский И.В. — разработка общей концепции исследования, сбор и анализ данных литературы, статистическая обработка и интерпретация данных, написание статьи (разделы «Введение», «Обсуждение», «Заключение»). Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Благодарности. Коллектив авторов благодарит Наумова Владимира Александровича (elibrary SPIN-код: 9218-7997; e-mail: loongdog@gmail.com) за проведение биоинформатического анализа.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Deck CA, Honeycutt JL, Cheung E, et al. Assessing the functional role of leptin in energy homeostasis and the stress response in vertebrates. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:63. doi: 10.3389/fendo.2017.00063.
- Hsu TM, Hahn JD, Konanur VR, et al. Hippocampus ghrelin signaling mediates appetite through lateral hypothalamic orexin pathways. *Elife*. 2015;4:e11190. doi: 10.7554/eLife.11190.
- Bojanowska E, Ciosek J. Can we selectively reduce appetite for energy-dense foods? An overview of pharmacological strategies for modification of food preference behavior. *Curr Neuropsychopharmacol*. 2016;14(2):118–142. doi: 10.2174/1570159X1466615110 9103147.
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85–97. doi: 10.1038/nri2921.
- Kobori M, Masumoto S, Akimoto Y, Oike H. Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55(4):530–540. doi: 10.1002/mnfr.201000392.
- Panchal SK, Poudyal H, Brown L. Quercetin ameliorates cardiovascular, hepatic, and metabolic changes in diet-induced metabolic syndrome in rats. *J Nutr*. 2012;142(6):1026–1032. doi: 10.3945/jn.111.157263.
- Edwards RL, Lyon T, Litwin SE, et al. Quercetin reduces blood pressure in hypertensive subjects. *J Nutr*. 2007;137(11):2405–2411. doi: 10.1093/jn/137.11.2405.
- Castrejón-Tellez V, Rodríguez-Pérez JM, Pérez-Torres I, et al. The effect of resveratrol and quercetin treatment on PPAR mediated uncoupling protein (UCP)-1, 2, and 3 expression in visceral white adipose tissue from metabolic syndrome rats. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7):1069. doi: 10.3390/ijms17071069.
- Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*. 1993;123(11):1939–1951. doi: 10.1093/jn/123.11.1939.
- Апратин С.А., Трусов Н.В., Горбачев А.Ю., и др. Сравнительный анализ полнотранскриптомного профиля печени крыс Wistar, получавших рационы с различным содержанием жира, фруктозы и холестерина // Биохимия. — 2019. — Т. 84. — №9. — С. 1344–1358. [Apriyatn SA, Trusov NV, Gorbachev AYU, et al. Comparative whole transcriptome profiling of liver tissue from Wistar rats fed with diets containing different amounts of fat, fructose, and cholesterol. *Biochemistry (Moscow)*. 2019;84(9):1093–1106. (In Russ.)]. doi: 10.1134/S0320972519090124.
- Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG). Available from: <https://www.genome.jp/kegg/>.
- Benjamini Y, Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *J R Statist Soc B*. 1995;57(1):289–300. doi: 10.1111/j.2517-6161.1995.tb02031.x.
- Kosters A, Kunne C, Looije N, et al. The mechanism of ABCG5/ABCG8 in biliary cholesterol secretion in mice. *J Lipid Res*. 2006;47(9):1959–1966. doi: 10.1194/jlr.M500511-JLR200.
- Мургина Н.Е., Будихина А.С., Максимчик П.В., и др. Синергическое взаимодействие рецепторов NOD1 и TLR4 врожденного иммунитета: транскрипционные и метаболические аспекты // Иммунология. — 2019. — Т. 40. — №2. — С. 9–16. [Muragina NE, Budikhina AS, Maximchik PV, et al. Synergistic interactions of NOD1 and TLR4 receptors of innate immunity: transcriptional and metabolic aspects. *Immunologiya*. 2019;40(2):9–16. (In Russ.)]. doi: 10.2411/0206-4952-2019-12002.
- Yang JA, Yasrebi A, Snyder M, Roepke TA. The interaction of fasting, caloric restriction, and diet-induced obesity with 17 β -estradiol on the expression of KNDy neuropeptides and their receptors in the female mouse. *Mol Cell Endocrinol*. 2016;437:35–50. doi: 10.1016/j.mce.2016.08.008.
- Апратин С.А., Шипелин В.А., Трусов Н.В., и др. Влияние кверцетина на метаболизм и поведенческие реакции мышей с нормальной и нарушенной рецепцией лептина // Известия РАН. Серия биологическая. — 2020. — №4. — С. 411–422. [Apriyatn SA, Shipelin VA, Trusov NV, et al. The effect of quercetin on metabolism and behavioral responses in mice with normal and impaired leptin reception. *Biology Bulletin*. 2020;47(4):407–416. (In Russ.)]. doi: 10.1134/s1062359020040020.
- Ather JL, Poynter ME. Serum amyloid A3 is required for normal weight and immunometabolic function in mice. *PLoS One*. 2018;13(2):e0192352. doi: 10.1371/journal.pone.0192352.
- Sanada Y, Yamamoto T, Satake R, et al. Serum amyloid A3 gene expression in adipocytes is an indicator of the interaction with macrophages. *Sci Rep*. 2016;6:38697. doi: 10.1038/srep38697.
- Puri V, Konda S, Ranjit S, et al. Fat-specific protein 27, a novel lipid droplet protein that enhances triglyceride storage. *J Biol Chem*. 2007;282(47):34213–34218. doi: 10.1074/jbc.M707404200.
- Langhi C, Arias N, Rajamoorthi A, et al. Therapeutic silencing of fat-specific protein 27 improves glycemic control in mouse models of obesity and insulin resistance. *J Lipid Res*. 2017;58(1):81–91. doi: 10.1194/jlr.M069799.
- Duverger N, Tremp G, Caillaud JM, et al. Protection against atherogenesis in mice mediated by human apolipoprotein A-IV. *Science*. 1996;273(5277):966–968. doi: 10.1126/science.273.5277.966.
- Shi L, Butt B, Ip FC, et al. Ephexin1 is required for structural maturation and neurotransmission at the neuromuscular junction. *Neuron*. 2010;65(2):204–216. doi: 10.1016/j.neuron.2010.01.012.
- Lounis MA, Escoula Q, Veillette C, et al. SCD1 deficiency protects mice against ethanol-induced liver injury. *Biochim Biophys Acta*. 2016;1861(11):1662–1670. doi: 10.1016/j.bbalip.2016.07.012.
- Мжельская К.В., Трусов Н.В., Апратин С.А., и др. Влияние кверцетина на экспрессию генов ферментов углеводного и липидного обмена в печени у крыс с генетически обусловленным и алиментарным ожирением // Вопросы питания. — 2019. — Т. 88. — №2. — С. 6–16. [Mzhelskaya KV, Trusov NV, Apriyatn SA, et al. Effect of quercetin on the expression of the carbohydrate and lipid metabolism genes in the liver of rats with genetic. *Vopr Pitan*. 2019;88(2):6–16. (In Russ.)]. doi: 10.24411/0042-8833-2019-10012.
- Takagi H, Ikehara T, Kashiwagi Y, et al. ACC2 deletion enhances IMCL reduction along with acetyl-CoA metabolism and improves insulin sensitivity in male mice. *Endocrinology*. 2018;159(8):3007–3019. doi: 10.1210/en.2018-00338.
- Jeon SM, Chandel NS, Hay N. AMPK regulates NADPH homeostasis to promote tumour cell survival during energy stress. *Nature*. 2012;485(7400):661–665. doi: 10.1038/nature11066.
- Ham M, Choe SS, Shin KC, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency improves insulin resistance with reduced adipose tissue inflammation in obesity. *Diabetes*. 2016;65(9):2624–2638. doi: 10.2337/db16-0060.
- Tao R, Wang C, Stöhr O, et al. Inactivating hepatic follistatin alleviates hyperglycemia. *Nat Med*. 2018;24(7):1058–1069. doi: 10.1038/s41591-018-0048-0.
- Velázquez-Villegas LA, Charabati T, Contreras AV, et al. PPAR α downregulates hepatic glutaminase expression in mice fed diets with different protein:carbohydrate ratios. *J Nutr*. 2016;146(9):1634–1640. doi: 10.3945/jn.116.232868.
- Huang Z, Zhang M, Plec AA, et al. ACS2 promotes systemic fat storage and utilization through selective regulation of genes involved in lipid metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115(40):E9499–E9506. doi: 10.1073/pnas.1806635115.
- Ma X, Ren X, Han P, et al. siRNA against Fapb5 induces 3T3-L1 cells apoptosis during adipocytic induction. *Mol Biol Rep*. 2010;37(8):4003–4011. doi: 10.1007/s11033-010-0059-5.
- Hamilton J, Koumas C, Clavin BH, et al. Fatty acid-binding proteins 5 and 7 gene deletion increases sucrose consumption and diminishes forced swim immobility time. *Behav Pharmacol*. 2018;29(6):503–508. doi: 10.1097/FBP.0000000000000402.
- Shibue K, Yamane S, Harada N, et al. Fatty acid-binding protein 5 regulates diet-induced obesity via GIP secretion from enteroendocrine K cells in response to fat ingestion. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2015;308(7):E583–591. doi: 10.1152/ajpendo.00543.2014.
- Fernandez-Fernandez MR, Vepintsev DB, Fersht AR. Proteins of the S100 family regulate the oligomerization of p53 tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(13):4735–4740. doi: 10.1073/pnas.0501459102.
- Quiñones M, Al-Massadi O, Folgueira C, et al. p53 in AgRP neurons is required for protection against diet-induced obesity via JNK1. *Nat Commun*. 2018;9(1):3432. doi: 10.1038/s41467-018-05711-6.

36. Roe ND, Ren J. Oxidative activation of Ca(2+) / calmodulin-activated kinase II mediates ER stress-induced cardiac dysfunction and apoptosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2013;304(6):H828–839. doi: 10.1152/ajpheart.00752.2012.
37. Li K, Zhou T, Liao L, et al. β CaMKII in lateral habenula mediates core symptoms of depression. *Science*. 2013;341(6149):1016–1020. doi: 10.1126/science.1240729.
38. Hardingham GE, Fukunaga Y, Bading H. Extrasynaptic NMDARs oppose synaptic NMDARs by triggering CREB shut-off and cell death pathways. *Nat Neurosci*. 2002;5(5):405–414. doi: 10.1038/nn835.
39. Qi L, Saberi M, Zmuda E, et al. Adipocyte CREB promotes insulin resistance in obesity. *Cell Metab*. 2009;9(3):277–286. doi: 10.1016/j.cmet.2009.01.006.
40. Rein-Fischboeck L, Pohl R, Haber EM, et al. Tubulin alpha 8 is expressed in hepatic stellate cells and is induced in transformed hepatocytes. *Mol Cell Biochem*. 2017;428(1–2):161–170. doi: 10.1007/s11010-016-2926-4.
41. Degenhardt T, Saramäki A, Malinen M, et al. Three members of the human pyruvate dehydrogenase kinase gene family are direct targets of the peroxisome proliferator-activated receptor beta/delta. *J Mol Biol*. 2007;372(2):341–355. doi: 10.1016/j.jmb.2007.06.091.
42. Rabinovich RA, Drost E, Manning JR, et al. Genome-wide mRNA expression profiling in vastus lateralis of COPD patients with low and normal fat free mass index and healthy controls. *Respir Res*. 2015;16(1):1. doi: 10.1186/s12931-014-0139-5.
43. Leung JK, Cases S, Vu TH. P311 functions in an alternative pathway of lipid accumulation that is induced by retinoic acid. *J Cell Sci*. 2008;121(Pt 16):2751–2758. doi: 10.1242/jcs.027151.
44. LaPensee CR, Lin G, Dent AL, Schwartz J. Deficiency of the transcriptional repressor B cell lymphoma 6 (Bcl6) is accompanied by dysregulated lipid metabolism. *PLoS One*. 2014;9(6):e97090. doi: 10.1371/journal.pone.0097090.
45. Seo MS, Lee MS, Lim IK. Expression of rat BTG(3) gene, Rbtg3, is regulated by redox changes. *Gene*. 1999;240(1):165–173. doi: 10.1016/S0378-1119(99)00415-1.
46. Carter WG, Vigneshwara V, Newlaczyl A, et al. Isoaspartate, carbamoyl phosphate synthase-1, and carbonic anhydrase-III as biomarkers of liver injury. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;458(3):626–631. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.01.158.
47. Roncon-Albuquerque R, Moreira-Rodrigues M, Faria B, et al. Attenuation of the cardiovascular and metabolic complications of obesity in CD14 knockout mice. *Life Sci*. 2008;83(13–14):502–510. doi: 10.1016/j.lfs.2008.07.021.
48. Lu MY, Liao F. Interferon-stimulated gene ISG12b2 is localized to the inner mitochondrial membrane and mediates virus-induced cell death. *Cell Death Differ*. 2011;18(6):925–936. doi: 10.1038/cdd.2010.160.
49. Arai S, Maehara N, Iwamura Y, et al. Obesity-associated autoantibody production requires AIM to retain the immunoglobulin M immune complex on follicular dendritic cells. *Cell Rep*. 2013;3(4):1187–1198. doi: 10.1016/j.celrep.2013.03.006.
50. Kim SJ, Choi Y, Choi YH, Park T. Obesity activates toll-like receptor-mediated proinflammatory signaling cascades in the adipose tissue of mice. *J Nutr Biochem*. 2012;23(2):113–122. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.10.012.
51. Ueki I, Giesy SL, Harvathine KJ, et al. The acid-labile subunit is required for full effects of exogenous growth hormone on growth and carbohydrate metabolism. *Endocrinology*. 2009;150(7):3145–3152. doi: 10.1210/en.2008-1740.
52. Yabe D, Komuro R, Liang G, et al. Liver-specific mRNA for Insig-2 down-regulated by insulin: implications for fatty acid synthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2003;100(6):3155–3160. doi: 10.1073/pnas.0130116100.
53. Kobayashi K, Forte TM, Taniguchi S, et al. The db/db mouse, a model for diabetic dyslipidemia: molecular characterization and effects of Western diet feeding. *Metabolism*. 2000;49(1):22–31. doi: 10.1016/S0026-0495(00)90588-2.

Рукопись получена: 05.08.2020. Одобрена к публикации: 17.09.2020. Опубликовано online: 30.10.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Трусов Никита Вячеславович [Nikita V. Trusov]**, 109240 Москва, Устьинский проезд, д. 2/14 [address: 2/4, Ustyinsky proezd, Moscow, Russia 109240]. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1919-9297>; elibrary SPIN-код: 5182-2665, E-mail: nikkitosu@yandex.ru

Апратин Сергей Алексеевич, к.б.н. [Sergey A. Apryatin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6543-7495>; elibrary SPIN-код: 4250-2758, E-mail: apryatin@mail.ru

Шипелин Владимир Александрович, к.м.н. [Vladimir A. Shipelin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0015-8735>; elibrary SPIN-код: 6779-8351, E-mail: v.shipelin@yandex.ru

Гмошинский Иван Всеволодович, д.б.н. [Ivan V. Gmoshinski, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3671-6508>; elibrary SPIN-код: 4501-9387, E-mail: gmosh@ion.ru

КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Трусов Н.В., Апратин С.А., Шипелин В.А., Гмошинский И.В. Полнотранскриптомный анализ экспрессии генов в печени мышей в сравнительном исследовании эффективности кверцетина на двух моделях ожирения // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 31–47. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12561>

TO CITE THIS ARTICLE:

Trusov TV, Apryatin SA, Shipelin VA, Gmoshinski IV. Full transcriptome analysis of gene expression in liver of mice in a comparative study of quercetin efficiency on two obesity models. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):31–47. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12561>

ТЕХНОЛОГИЯ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА ДЛЯ РАСПОЗНАВАНИЯ КОМПРЕССИОННЫХ ПЕРЕЛОМОВ ПОЗВОНКОВ С ПОМОЩЬЮ МОДЕЛИ МОРФОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА, ОСНОВАННОЙ НА СВЕРТОЧНЫХ НЕЙРОННЫХ СЕТЯХ



© А.В. Петрайкин¹, Ж.Е. Белая², А.Н. Киселева³, З.Р. Артюкова^{1*}, М.Г. Беляев⁴, В.А. Кондратенко⁴, М.Е. Писов^{4,5}, А.В. Соловьёв⁶, А.К. Сморгачева⁷, Л.Р. Абуладзе⁸, И.Н. Киева⁹, В.А. Феданов⁷, Л.Р. Яссин⁸, Д.С. Семенов¹, Н.Д. Кудрявцев², С.П. Щелыкалина¹⁰, В.В. Зинченко¹, Е.С. Ахмад¹, К.А. Сергунова¹, В.А. Гомболевский¹, Л.А. Низовцова¹, А.В. Владимирский¹, С.П. Морозов¹

¹Научно-практический клинический центр диагностики и телемедицинских технологий, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

³Научный центр неврологии, Москва, Россия

⁴Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия

⁵Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН, Москва, Россия

⁶Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского, Москва, Россия

⁷Центральная государственная медицинская академия Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

⁸Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

⁹Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

¹⁰Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Патологические низкоэнергетические (НЭ) компрессионные переломы (КП) тел позвонков являются признаками тяжелого течения остеопороза и предикторами последующих НЭ-переломов. До 84% случаев КП тел позвонков корректно не описываются при рентгеновских методах, что обуславливает необходимость разработки ассистента радиолога на основе технологий искусственного интеллекта (ИИ) для повышения качества диагностики остеопороза, его осложнений и профилактики последующих переломов.

ЦЕЛЬ. Разработать модель ИИ для автоматической диагностики КП позвонков по данным компьютерной томографии (КТ) органов грудной клетки.

МЕТОДЫ. С сентября 2019 г. по май 2020 г. было проведено ретроспективное выборочное исследование, основанное на результатах КТ органов грудной клетки (ОГК). Были отобраны и анонимизированы результаты 160 КТ ОГК пациентов старше 60 лет, у 60% из которых отмечались переломы с компрессией более 25%. Разметка данных выполнена семью разметчиками. Проводились морфометрический анализ с вычислением средних размеров (вентрального, медиального, дорсального) тел позвонков и последующая полуколичественная классификация степени компрессии по Genant. Размеченный набор данных использовался для обучения созданной на основе двух сверточных нейронных сетей (CNN) модели ИИ Comprise-G, которая в последующем производила аналогичные измерения размеров тел позвонков с расчетом степени компрессии. Оценку модели выполняли по методу анализа ROC-кривых, расчета чувствительности и специфичности.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Для 160 пациентов разметка проведена суммарно по 2066 позвонкам. Пациенты разделены на две группы: 100 — обучающая и 60 — тестовая выборка, не использованная в обучении модели ИИ. Оценка диагностической возможности Comprise-G: выявления 2-й и 3-й степени компрессии у пациентов при 5-FOLD кросс-валидации — чувствительность 90,7%, специфичность 90,7%, площадь под ROC-кривой 0,974; для тестовых данных — чувствительность 83,2%, специфичность 90,0%, площадь под ROC-кривой 0,956; у позвонков для кросс-валидационных данных: чувствительность 91,5%, специфичность 95,2%, площадь под ROC-кривой 0,981; для тестовых данных: чувствительность 79,3%, специфичность 98,7%, площадь под ROC-кривой 0,978.

ВЫВОД. Разработанная модель ИИ Comprise-G продемонстрировала высокие диагностические возможности для автоматического выявления КП тел позвонков при КТ-исследованиях грудной клетки и может быть рекомендована для дальнейшей валидации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: искусственный интеллект; Comprise-G; компрессионные переломы; остеопороз; компьютерная томография.

ARTIFICIAL INTELLIGENCE FOR DIAGNOSIS OF VERTEBRAL COMPRESSION FRACTURES USING A MORPHOMETRIC ANALYSIS MODEL, BASED ON CONVOLUTIONAL NEURAL NETWORKS

© A.V. Petraikin¹, Zh.E. Belaya², A.N. Kiseleva³, Z.R. Artyukova^{1*}, M.G. Belyaev⁴, V.A. Kondratenko⁴, M.E. Pisov^{4,5}, A.V. Solov'ev⁶, A.K. Smorchkova⁷, L.R. Abuladze⁸, I.N. Kieva⁹, V.A. Fedanov⁷, L.R. Iassin⁸, D.S. Semenov¹, N.D. Kudryavtsev¹, S.P. Shchelykalina¹⁰, V.V. Zinchenko¹, E.S. Akhmad¹, K.A. Sergunova¹, V.A. Gombolevskiy¹, L.A. Nizovtsova¹, A.V. Vladzhymsky¹, S.P. Morozov¹.

¹Research and Practical Clinical Center for Diagnostics and Telemedicine Technologies, Moscow, Russia

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

³Research Center of Neurology, Moscow, Russia

⁴Skolkovo Institute of Science and Technology, Moscow, Russia

⁵Kharkevich Institute for Information Transmission Problems, Moscow, Russia

⁶Sklifosovsky Clinical and Research Institute of Emergency Medicine, Moscow, Russia

⁷Central State Medical Academy of the Presidential Administration of the Russian Federation, Moscow, Russia

⁸Sechenov University, Moscow, Russia

⁹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

¹⁰Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

BACKGROUND: Pathological low-energy (LE) vertebral compression fractures (VFs) are common complications of osteoporosis and predictors of subsequent LE fractures. In 84% of cases, VFs are not reported on chest CT (CCT), which calls for the development of an artificial intelligence-based (AI) assistant that would help radiology specialists to improve the diagnosis of osteoporosis complications and prevent new LE fractures.

AIMS: To develop an AI model for automated diagnosis of compression fractures of the thoracic spine based on chest CT images.

MATERIALS AND METHODS: Between September 2019 and May 2020 the authors performed a retrospective sampling study of CCT images. The 160 of results were selected and anonymized. The data was labeled by seven readers. Using the morphometric analysis, the investigators received the following metric data: ventral, medial and dorsal dimensions. This was followed by a semiquantitative assessment of VFs degree. The data was used to develop the Comprise-G AI mode based on CNN, which subsequently measured the size of the vertebral bodies and then calculates the compression degree. The model was evaluated with the ROC curve analysis and by calculating sensitivity and specificity values.

RESULTS: Formed data consist of 160 patients (a training group - 100 patients; a test group - 60 patients). The total of 2,066 vertebrae was annotated. When detecting Grade 2 and 3 maximum VFs in patients the Comprise-G model demonstrated sensitivity - 90,7%, specificity - 90,7%, AUC ROC - 0.974 on the 5-FOLD cross-validation data of the training dataset; on the test data - sensitivity - 83,2%, specificity - 90,0%, AUC ROC - 0.956; in vertebrae demonstrated sensitivity - 91,5%, specificity - 95,2%, AUC ROC - 0.981 on the cross-validation data; for the test data sensitivity - 79,3%, specificity - 98,7%, AUC ROC - 0.978.

CONCLUSIONS: The Comprise-G model demonstrated high diagnostic capabilities in detecting the VFs on CCT images and can be recommended for further validation.

KEYWORDS: artificial intelligence; Comprise-G; vertebral fractures; osteoporosis; computed tomography.

ОБОСНОВАНИЕ

Остеопороз (ОП) — метаболическое заболевание скелета, характеризующееся снижением костной массы, нарушением микроархитектоники костной ткани и, как следствие, переломами при минимальной травме [1]. Распространенность ОП в Москве составляет 27% среди мужчин и 34% среди женщин старше 50 лет [2]. Более 2 млн жителей Европы имеют инвалидность по этому диагнозу [3]. Низкоэнергетические патологические переломы являются осложнением ОП и ведут к снижению качества жизни людей, инвалидности, летальным исходам и существенным экономическим затратам, достигающим 25 млрд рублей в год на лечение подобных переломов в России [2].

Компрессионные переломы (КП) тел позвонков следует выделить отдельно среди других низкоэнергетических переломов, поскольку в большинстве случаев они

протекают бессимптомно и проявляются лишь в снижении роста и изменении осанки пациента [4]. Кроме того, данная патология недооценивается при описании рентгенограмм и изображений компьютерной томографии (КТ): только 13–16% КП указываются врачами во время интерпретации КТ-данных [5, 6]. Между тем наличие КП позвонка формально означает диагноз ОП и повышает риск возникновения последующего КП в 5 раз, проксимального отдела бедра — в 2,8 раза и иных низкоэнергетических переломов — в 1,9 раза [7]. При своевременном выявлении КП дальнейшее развитие заболевания может быть предотвращено путем назначения антирезорбтивной и анаболической терапии [8].

Поэтому автоматическая диагностика КП позвонков с помощью моделей искусственного интеллекта (ИИ) может быть полезна в клинической практике для повышения доли выявленных КП. Многие из ранее разработанных подходов требуют предварительного обнаружения

позвонков на КТ-изображениях [9, 10, 11] или проведения сегментации позвоночника [12, 13, 14]. Однако даже при наличии высокой точности обнаружения КП разработанные классификаторы не позволяют количественно оценить степень компрессии позвонка.

Верификация КП при проведении КТ органов грудной клетки (ОГК) и брюшной полости является дополнительной нагрузкой на рентгенолога и, как правило, не проводится без специального назначения. Для автоматического выявления КП с использованием ИИ за рубежом были разработаны различные подходы, которые имеют как сильные стороны, так и ограничения. Часть методов, применяющих различные подходы ИИ, основана на определении вероятности КП отдельных позвонков у пациентов (например, более 50% признается как достоверный признак наличия КП) [11, 14, 15]. Также применяется морфометрический анализ на основании разделения позвонка на 17 секторов [12], отличный от рекомендованного в базовой публикации [16], с полуколичественной классификацией степени компрессии. Однако в указанных работах не используются методы измерения высоты позвонков, соответствующие разметке при морфометрическом анализе [16].

Внедрение ИИ является национальной стратегией развития на период до 2030 г. (указ Президента от 10 октября 2019 г. № 490 «О развитии искусственного интеллекта в Российской Федерации») [17]. Развитие технологии ИИ для автоматической верификации пациентов с КП является актуальным для РФ.

ЦЕЛЬ

Разработать модель ИИ для автоматической диагностики КП позвонков по данным КТ ОГК.

Дизайн исследования

Было проведено ретроспективное выборочное исследование, основанное на результатах КТ ОГК. Схема проведенного исследования представлена на рисунке 1.

Критерии соответствия

Производился отбор пациентов от 60 лет, которым была выполнена КТ ОГК по стандартному протоколу сканирования со следующими параметрами: напряжение рентгеновской трубки при исследовании — 120 кВ; толщина срезов — 1,0 мм; фильтр реконструкции для мягких тканей; сила тока выбиралась автоматически с учетом

анатомических параметров грудной клетки пациента (Sure Exposure 3D, 80–500 мА, обеспечивая качество изображения с условием: стандартное отклонение шума 10 HU). Время ротации трубки составляло 0,5 с; питч фактор составлял 0,828; алгоритмы итеративной реконструкции не использовались. Отбор пациентов производился до достижения сопоставимости количества пациентов с КП различных степеней в полученной выборке (табл. 1, 4), а также сбора необходимого объема данных для получения устойчивых результатов обучения разработанной модели. В соответствии с поставленной целью выборки пациентов содержали больше наблюдений с КП, чем среднепопуляционные показатели.

Критерии исключения: сколиоз III степени и выше с углом сколиотической деформации более 25°; несоответствие технологических режимов КТ-сканирования обозначенным выше; ошибки укладки пациента с отклонением оси позвоночника более 20° от направления сканирования; наличие у пациента металлических имплантов позвоночника.

Условия проведения

Результаты КТ-сканирования были получены из базы Единого Радиологического Информационного Сервиса (ЕРИС), реализованной на платформе AGFA Enterprise v9.0. Томографические исследования выполняли в разных медицинских организациях с использованием оборудования одной модели (Aquilion 64), одного производителя (Canon Medical Systems, Japan).

Продолжительность исследования

Отбор результатов сканирования из ЕРИС проводился с сентября 2019 г. по февраль 2020 г. Процедура разметки выполнялась с октября 2019 г. по март 2020 г. Обработка полученных результатов и подготовка отчета — апрель–май 2020. Смещения запланированных временных результатов не было.

Описание медицинского вмешательства

В работе участвовали семь специалистов по разметке данных (разметчиков). Для разметки было использовано программное обеспечение NeuroML (разработчики — ИППИ РАН и «Сколтех», Россия) с web-доступом и персональными аккаунтами для каждого разметчика. Валидаторами разметки выступали рентгенологи со стажем работы 15 и 35 лет, которые согласовывали методику разметки, проверяли корректность аннотирования

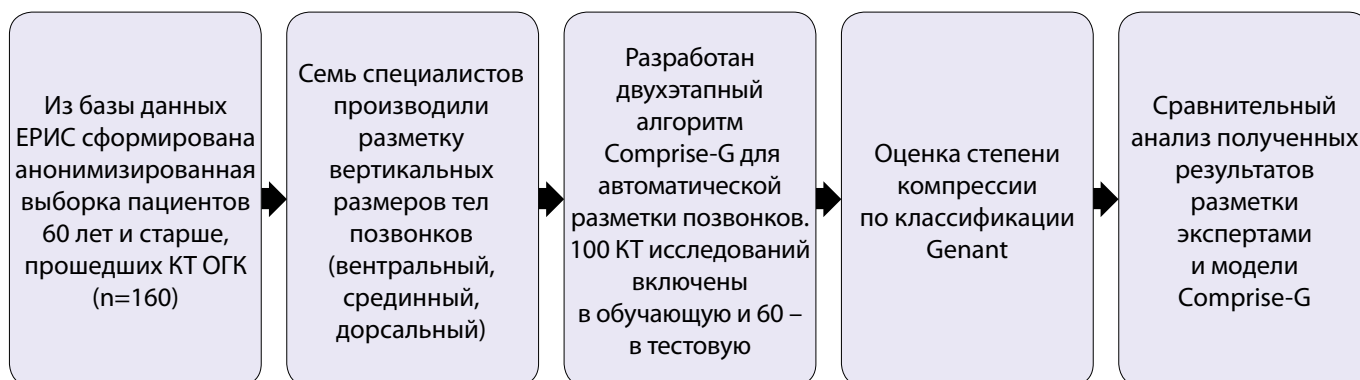


Рисунок 1. Схема проведенного исследования

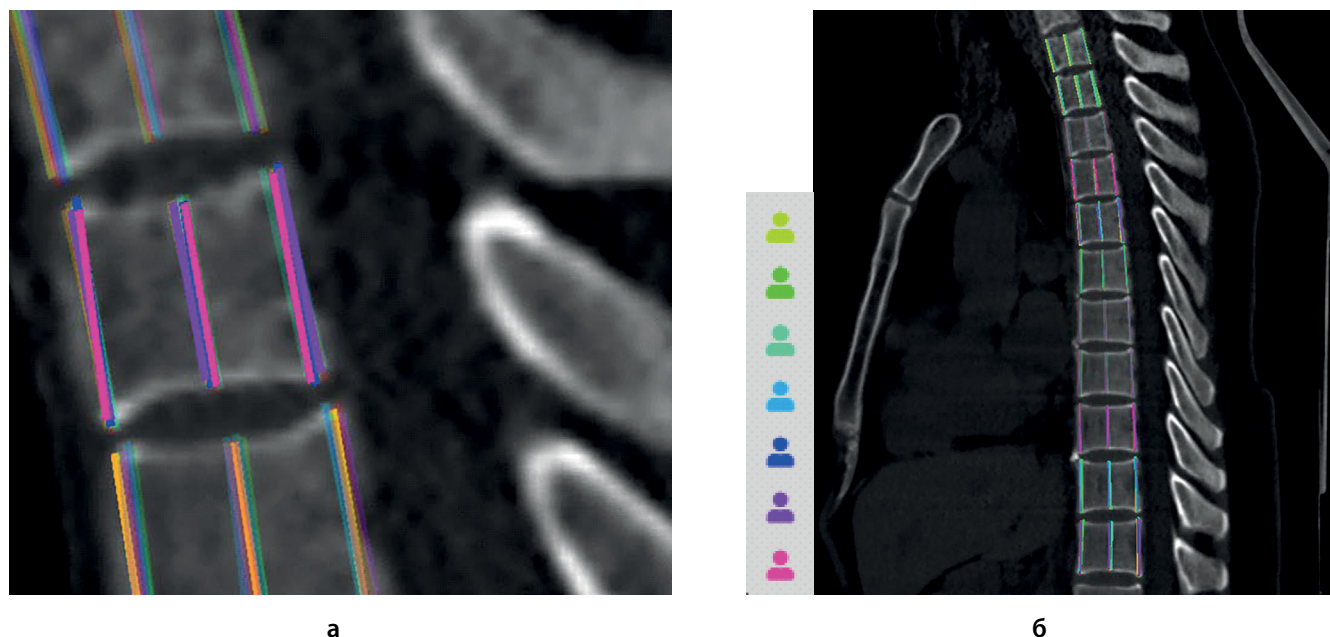


Рисунок 2. Пример разметки: а) разметка вентрального, медиального и дорсального размеров отдельного позвонка (Th11); б) Разметка грудного отдела позвоночника от ThI до ThXI. Приведены данные по семи разметчикам, маркированные цветом (интерфейс валидатора, представлены результаты всех разметок). Ярким цветом подсвечены измерения в плоскости реконструкции, более темные измерения в параллельных плоскостях, отражаемые проекционно.

перед отправкой данных в обучающую или тестовую выборку, а также проводили совместные консультации сложных для разметки случаев. Разметку выполняли на анонимизированных наборах данных слепым методом (разметчики видели только свои результаты). Средняя относительная погрешность измерений вертикальных и сагиттальных размеров в аннотаторе NeuroML составляла 0,02% и 0,04% соответственно. Проведены сравнения с измерениями в зарегистрированном ПО на платформе AGFA Enterprise v9.0: абсолютная погрешность определения линейных размеров составляла 0,5 мм (половина толщины среза реконструкции, 1,0 мм). Согласованность результатов измерений между 7 разметчиками, рассчитанная как средний коэффициент вариации по всем разметчикам, составила 3%; средняя абсолютная погрешность измерений была равна 0,6 мм, что приближается к приборной погрешности 0,5 мм.

Разметка позвонков на КТ ОГК приводилась в сагиттальной проекции. Каждый из разметчиков отмечал высоту каждого позвонка в вентральном (h_a), медиальном (h_m), дорсальном (h_p) отделах. При подсчете метрик в качестве истинных значений высот использовали средние по всем разметчикам величины. На основании этих данных рассчитывалась степень компрессии G (формула 1) каждого позвонка для классификации по Genant [13]. По результатам разметки и морфометрического анализа производилось сопоставление степени деформации с полуколичественной шкалой Genant, рекомендованной для этих целей международной организацией остеопороза — International Osteoporosis Foundation [18]. Степень 0 указывает на отсутствие перелома — снижение высоты позвонка менее чем на 20%, степень 1 — минимальный перелом при уменьшении высоты в диапазоне 20–24%, степень 2 — умеренный перелом с уменьшением высоты в пределах 25–40% и степень 3 — тяжелый перелом с уменьшением высоты более чем на 40% [19].

Разметка в аннотаторе NeuroML проводилась в единых параметрах, соответствующих «костному» окну: ширина 540 HU, центр 460 HU, толщина среза реконструкции 10 мм. Разметка каждого позвонка производилась на срезе с наибольшей шириной позвоночного канала, условно соответствующем середине тела позвонка. Разметку начинали с первого грудного позвонка до дистальных позвонков (ThI–ThXII/LII), полностью вошедших в область сканирования (рис. 2).

Основной исход исследования

Диагностические возможности метода Comprise-G для выявления пациентов с переломами тел позвонков G2, G3 при проведении рутинных КТ ОГК и первичная валидация этих данных.

Дополнительные исходы исследования

Диагностические возможности Comprise-G для классификации степени компрессии тел позвонков.

Анализ в подгруппах

Анализ в подгруппах производился по степени компрессии переломов тел позвонков.

Методы регистрации исходов

Для каждого позвонка на основании усредненных величин (h_a , h_m , h_p) рассчитывали значения индекса G, количественно характеризующего степень компрессии позвонка:

$$G = \frac{\max\{h_a, h_m, h_p\} - \min\{h_a, h_m, h_p\}}{\max\{h_a, h_m, h_p\}} * 100, \quad (1)$$

где h_a — средняя высота переднего (вентрального) участка позвонка по всем разметчикам; h_m — средняя высота срединного участка позвонка; h_p — средняя высота дорсального участка позвонка.

На основании полученного значения G для каждого позвонка производилась классификация по Genant.

Проводилось прямое сравнение результатов оценки КТ-изображений с применением Comprise-G и экспертной оценки. На основании этого проводился расчет площади под кривой операционных характеристик (AUC), определялись чувствительность и специфичность с расчетом доверительных интервалов.

Этическая экспертиза

Было проведено этическое рассмотрение данной работы на заседании ЛЭК «Морозовская ДГКБ ДЗМ», протокол № 160 от 11.08.2020 г.

Статистический анализ

Объемы выборки, необходимые для обучения разработанной модели автоматической детекции компрессионных переломов Comprise-G и отложенной выборки для оценки точности работы модели, определялись эмпирически по результатам предварительного обучения прототипа модели Comprise-G на 20 пациентах, которые впоследствии вошли в обучающую выборку.

Статистический анализ и визуализация полученных результатов осуществлялись на языке программирования Python 3. Для оценки диагностической значимости количественных данных, полученных моделью при морфометрическом анализе позвонков, применялся метод анализа ROC-кривых. С его помощью определялось оптимальное разделяющее значение количественного признака, позволяющее классифицировать позвонки и пациентов по степени компрессии, обладающее наилучшим сочетанием чувствительности и специфичности. Качество прогностической модели оценивалось исходя

из значений площади под ROC-кривой с 95% доверительным интервалом (ДИ).

Алгоритм искусственного интеллекта

Для автоматической оценки изменений формы позвонков по шкале Genant была разработана двухэтапная модель автоматической классификации степени компрессии тел позвонков Comprise-G.

Первый этап работы модели состоит в нахождении центров тел позвонков и «выпрямлении» позвоночника. За основу модели взята нейронная сеть с архитектурой, схожей с U-net [20] и 2D-soft-argmax-функцией в конце, позволяющей выделить координаты предсказанного центра (рис. 3 а, б). В качестве функции потерь используется средняя абсолютная ошибка, которая вычисляет среднюю сумму абсолютной разницы между истинными и прогнозируемыми значениями. Соединяя единой линией центры позвонков, формируется трехмерная кривая, перпендикулярно которой находятся плоскости позвонков (рис. 3 в). Отображение данных плоскостей параллельно друг другу позволяет получить «выпрямленный» позвоночник (рис. 3 г), центральный сагиттальный срез которого используется для проведения измерений высот на втором этапе (рис. 3 д). Простое выделение центральных срезов КТ-серии не могло быть использовано для пациентов с искривлениями позвоночника: данный алгоритм позволил включать в анализ все КТ-серии без исключения сложных случаев с выраженным кифозом и сколиозом. Обучение нейронной сети производилось с использованием оптимизатора Adam [21] со стандартными параметрами ($\beta_1=0,9$, $\beta_2=0,999$) и скоростью обучения $lr=10^{-3}$ и заняло 10 ч на видеокарте Nvidia Tesla M40. Батч включал 3 КТ-серии, было выполнено 10 000 итераций до сходимости.

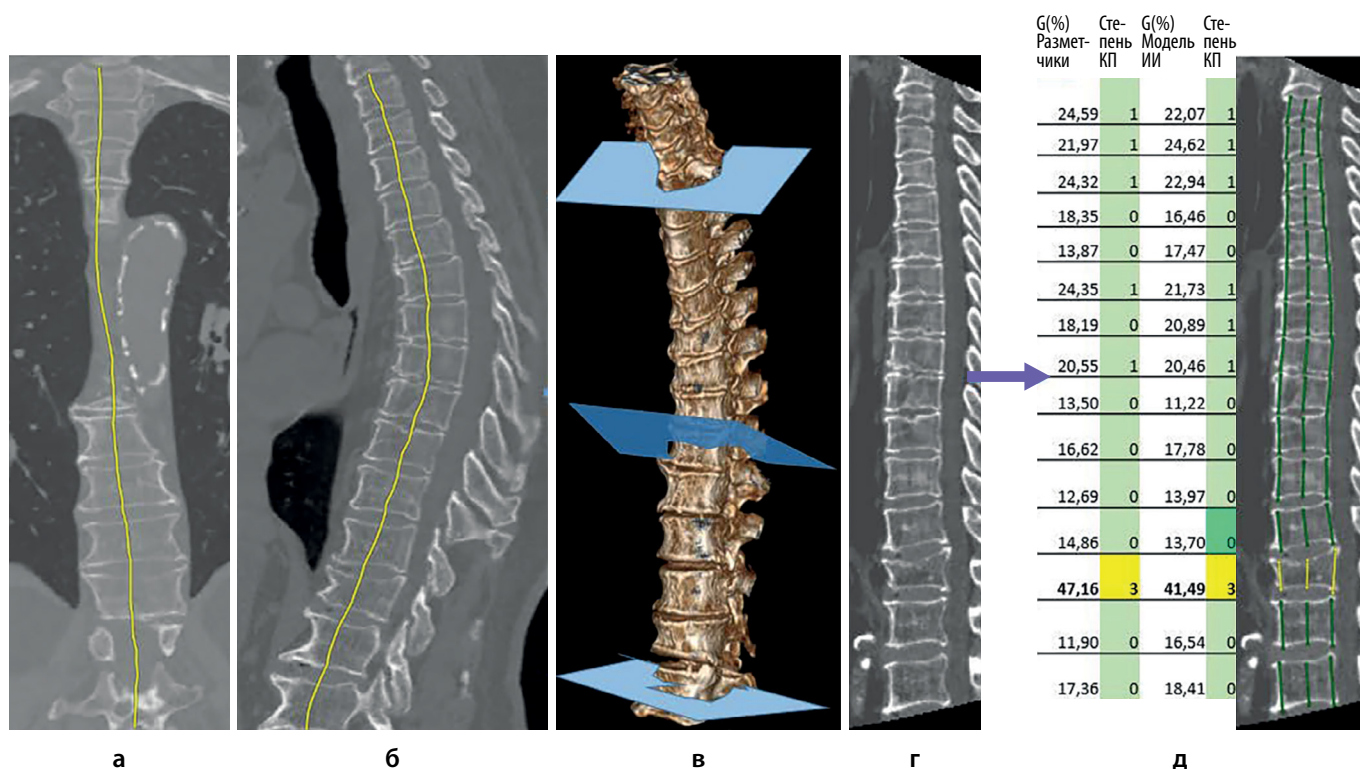


Рисунок 3. Обзор работы модели Comprise-G. Этап 1: локализация центров позвонков на 3D-КТ а) в коронарной; б) в сагиттальной плоскости; в) 3D-модель с непараллельными плоскостями, направленными перпендикулярно позвоночному столбу; г) создание 2D-изображения путем «выпрямления» позвоночника. Этап 2: д) определение ключевых точек и соответствующих высот тел позвонков, расчет индекса G: цветом обозначена степень компрессии позвонка по Genant (зеленый цвет — норма и слабая степень компрессии: 0; 1, желтый — средняя и выраженная 2; 3).

Таблица 1. Характеристики обучающей и отложенной тестовой выборок.

Выборка	Количество пациентов	Возраст, лет		Соотношение мужчин/женщин
		Медиана [квартили]	Размах [мин-макс]	
Обучающая	100	76 [68; 82]	60–92	36/54
Отложенная, тестовая	60	78 [73; 82]	62–91	22/38

Второй этап — морфометрический анализ тел позвонков. Модель Comprise-G детектирует каждый позвонок с помощью сверточной нейронной сети, основанной на архитектуре YOLOv3 [22]. Далее на каждом позвонке размечает шесть точек, соответствующих вертикальным размерам тел позвонков (вентральному, медиальному и дорсальному). Использованная для обучения нейронной сети функция потерь складывается из ошибки детекции позвонка и суммы средних абсолютных ошибок для координат шести ключевых точек с учетом степени деформации позвонка: чем сильнее деформация, тем больший вклад вносит это слагаемое в функцию потерь. Обучение сети производилось в течение 4000 итераций с размером батча 30. Скорость обучения на начальных стадиях была уменьшена в 2 раза после 1000, 1400 и 2000 итераций с целью более быстрого достижения сходимости. Время обучения второй нейросети составило 40 ч на видеокарте Nvidia GTX 980. Принципиальная схема работы ИИ для морфометрического анализа тел позвонков с описанием отдельных этапов отражена на рисунке 3, подробно описана в статье [23].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Была сформирована выборка из КТ ОГК 160 пациентов. Медиана возраста пациентов составила 78 лет [25% и 75% квартили: 70; 82]. Все пациенты были разделены на обучающую и отложенную, тестирующую выборку, характеристики которых представлены в таблице 1.

Основные результаты исследования

Для оценки качества работы модели ИИ Comprise-G на кросс-валидационных данных проведен ROC-анализ для классификации отдельных позвонков и пациентов по степеням тяжести компрессионных переломов, который представлен на рисунке 4. Количественная характеристика полученных ROC-кривых (AUC ROC) с 95% доверительными интервалами (ДИ) приведена в таблице 2. Чувствительность и специфичность бинарной классификации отдельных позвонков и пациентов с КП различной степени также приведены в таблице 2. При этом

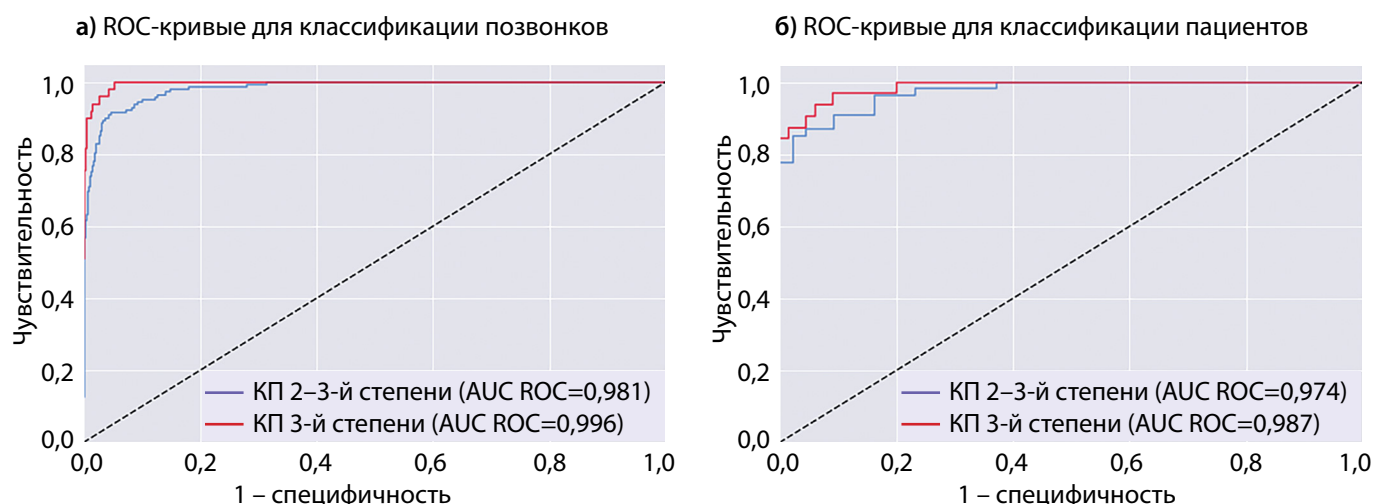


Рисунок 4. ROC-кривые для классификации позвонков (а) и пациентов (б) по степеням компрессии с помощью модели искусственного интеллекта Comprise-G по данным кросс-валидации (N=1249 позвонков, 100 пациентов)

Таблица 2. Площадь под ROC-кривой (AUC ROC), чувствительность и специфичность бинарной классификации компрессионных переломов, произведенной моделью Comprise-G на кросс-валидационных данных, сравнение с результатами экспертной разметки. В квадратных скобках обозначен 95% доверительный интервал приведенных характеристик модели.

Позвонки (N=1249)	КП 2–3-й степени	КП 3-й степени
ROC AUC	0,981 [0,973; 0,989]	0,996 [0,992; 1,0]
Чувствительность	91,5 [90,0; 93,0]	98,0% [97,2; 98,8]
Специфичность	95,2 [94,0; 96,4]	95,6% [94,5; 96,7]
Пациенты (N=100)		
ROC AUC	0,974 [0,943; 1,0]	0,987 [0,965; 1,0]
Чувствительность	90,7 [83,4; 98,0]	96,9% [92,5; 101,3]
Специфичность	90,7 [83,4; 98,0]	90,8% [83,5; 98,1]

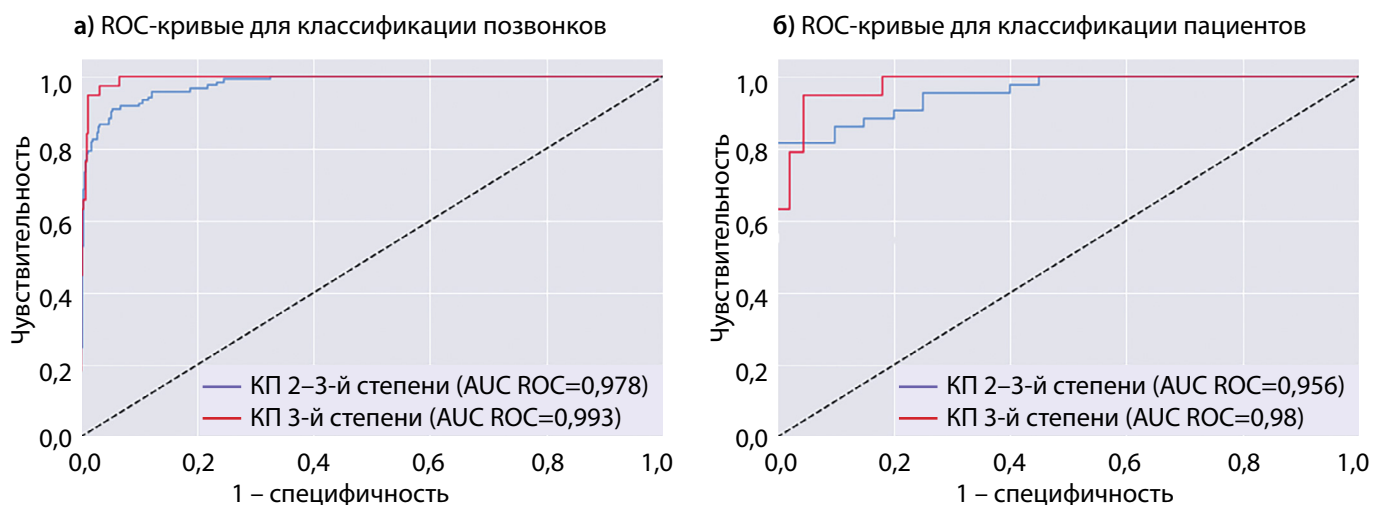


Рисунок 5. ROC-кривые для классификации позвонков (а) и пациентов (б) по степеням компрессии с помощью модели искусственного интеллекта Comprise-G при тестировании на отложенной выборке (N=817 позвонков, 60 пациентов).

Таблица 3. Площадь под ROC-кривой (AUC ROC), чувствительность и специфичность бинарной классификации компрессионных переломов, произведенной моделью Comprise-G на отложенной выборке. В квадратных скобках обозначен 95% доверительный интервал приведенных характеристик модели.

Позвонки (N=817)	КП 2–3-й степени	КП 3-й степени
ROC AUC	0,978 [0,968; 0,988]	0,993 [0,987; 0,999]
Чувствительность	79,3 [76,5; 82,1]	97,4% [96,3; 98,5]
Специфичность	98,7 [97,9; 99,5]	96,5% [95,2; 97,8]
Пациенты (N=60)	> второй степени	Третья степень
ROC AUC	0,956 [0,904; 1,0]	0,980 [0,945; 1,0]
Чувствительность	83,2 [73,7; 92,7]	94,7% [89; 100]
Специфичность	90,0% [82,4; 97,6]	95,5% [90,3; 100]

приведены данные для клинически значимых 2-й и 3-й степеней компрессионных переломов.

Данные ROC-кривых для отложенной выборки, в которую вошли данные по 60 пациентам, не использованные в обучении нейросети, представлены на рисунке 5. Количественная характеристика полученных ROC-кривых с 95% ДИ для отложенной выборки приведена в таблице 3, где также приведены данные по чувствительности и специфичности бинарной классификации.

Таблицы сопряженности для классификации позвонков и пациентов по степеням компрессии, сопоставляющие экспертную классификацию с автоматической детекцией, произведенной моделью, приведены на рисунке 6. Классификация позвонков по степеням компрессии по Genant производится алгоритмом с точностью 81,5% (95% ДИ 79,8–83,2), классификация пациентов — с точностью 73,8% (95% ДИ 67,0–80,6)), причем наибольшей чувствительностью и положительной

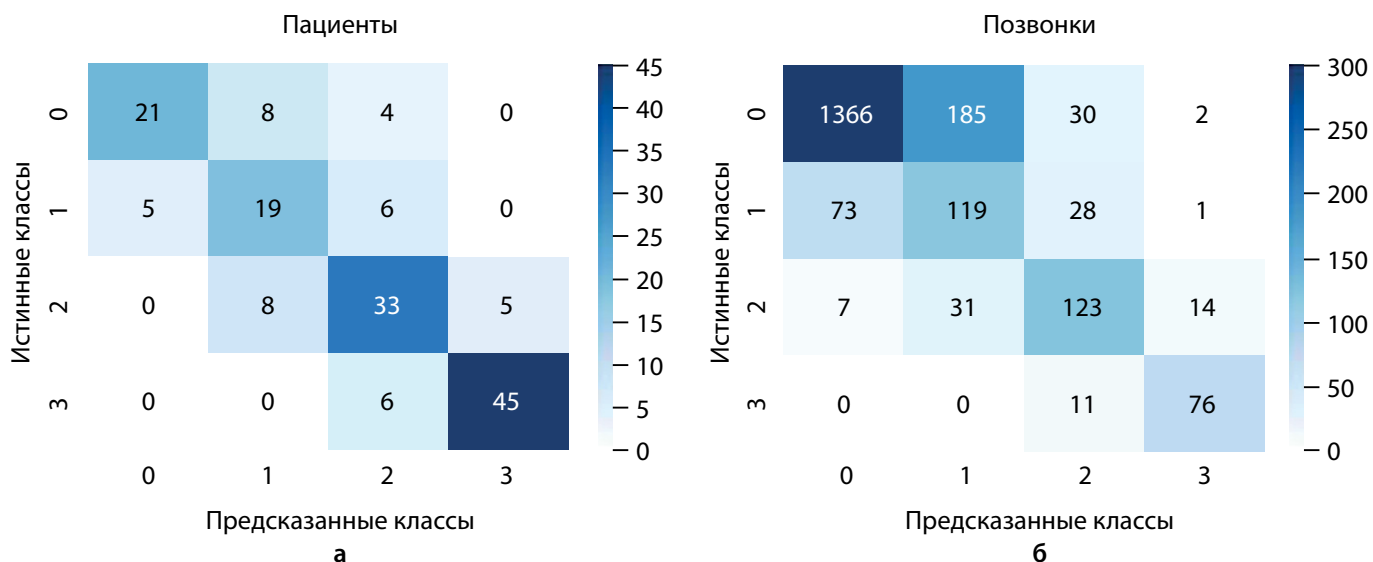


Рисунок 6. Таблицы сопряженности классификации позвонков (а) и пациентов (б) по степеням компрессионных переломов, произведенной моделью Comprise-G. Строки — степени компрессии по данным экспертной разметки, столбцы — по измерениям модели

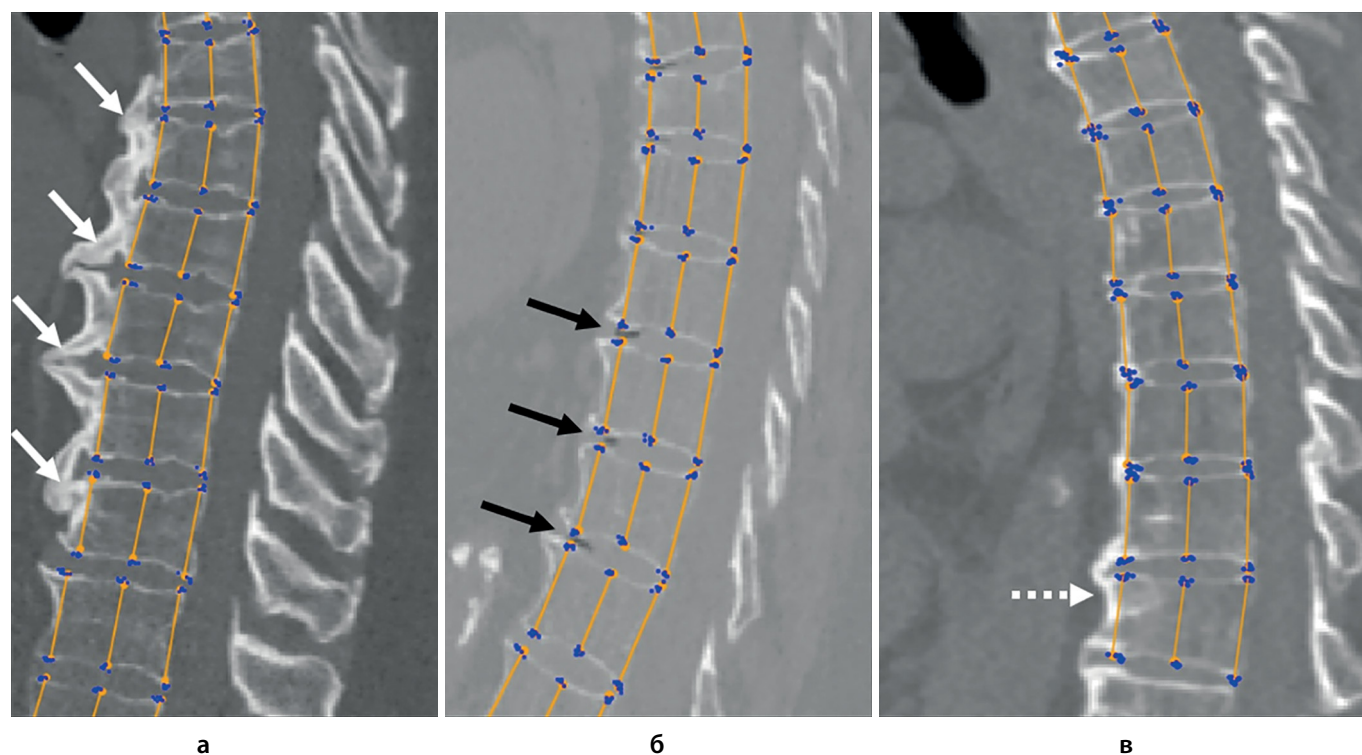


Рисунок 7. Примеры соответствия ручной разметки экспертами (синие точки — отдельные координаты по семи разметчикам) автоматическому измерению моделью Comprise-G (оранжевые отрезки) для трех пациентов. Белые стрелки (а) — выраженный спондилез с формированием замковых остеофитов, черные стрелки (б) — участки вакуум-феномена в межпозвоночных дисках, белая пунктирная стрелка (в) — остеофиты с участком склероза в теле позвонка. Модель демонстрирует устойчивость в данных сложных заданиях.

прогностической ценностью обладает определение 3-й и 2-й степеней компрессии.

В результате работы модели Comprise-G локализация позвонков в 3D-формате с последующей процедурой «выпрямления» (рис. 3 г, д) осуществляется со средней ошибкой в 1,0 мм. Сегментация отдельных позвонков в 2D достигла точности 0,99 и полноты 1,0.

Примеры автоматических измерений вертикальных размеров тел позвонков, произведенных нейронной сетью модели Comprise-G, представлены на рисунке 7.

Дополнительные результаты исследования

В результате проведения морфометрического анализа были определены классы степени максимальной деформации для отдельных позвонков и пациентов в соответствии с классификацией степени компрессии согласно полуколичественному подходу Genant [15, 18]. Результаты представлены в таблице 4.

По результатам усреднения по 7 разметчикам линейных размеров был рассчитан индекс степени компрессии G для 2066 позвонков, среди которых 483 имели компрессионные переломы. Распределение количества переломов тел позвонков у отдельных пациентов представлено на рисунке 8. Выявленные по индексу G компрессионные переломы были впоследствии подтверждены двумя экспертами-рентгенологами.

Распределение позвонков с КП — бимодальное с локальными максимумами в среднегрудном отделе (локализации ThVI–VIII) и нижней части грудного отдела с переходом в поясничный отдел (ThXI–LI)

Таблица 4. Распределение позвонков и пациентов в результате выполненного морфометрического анализа и последующей классификации степени компрессии согласно полуколичественному подходу Genant [15, 18] (экспертная разметка), n (%)

Степень КП	Количество позвонков	Количество пациентов
0	1583 (76,6)	33 (20,6)
1	221 (10,7)	30 (18,8)
2	175 (8,5)	46 (28,8)
3	87 (4,2)	51 (31,9)



Рисунок 8. Распределение пациентов по количеству переломов (всех степеней) согласно экспертной разметке N=160.

Распределение позвонков в грудном и поясничном отделах с компрессионными переломами

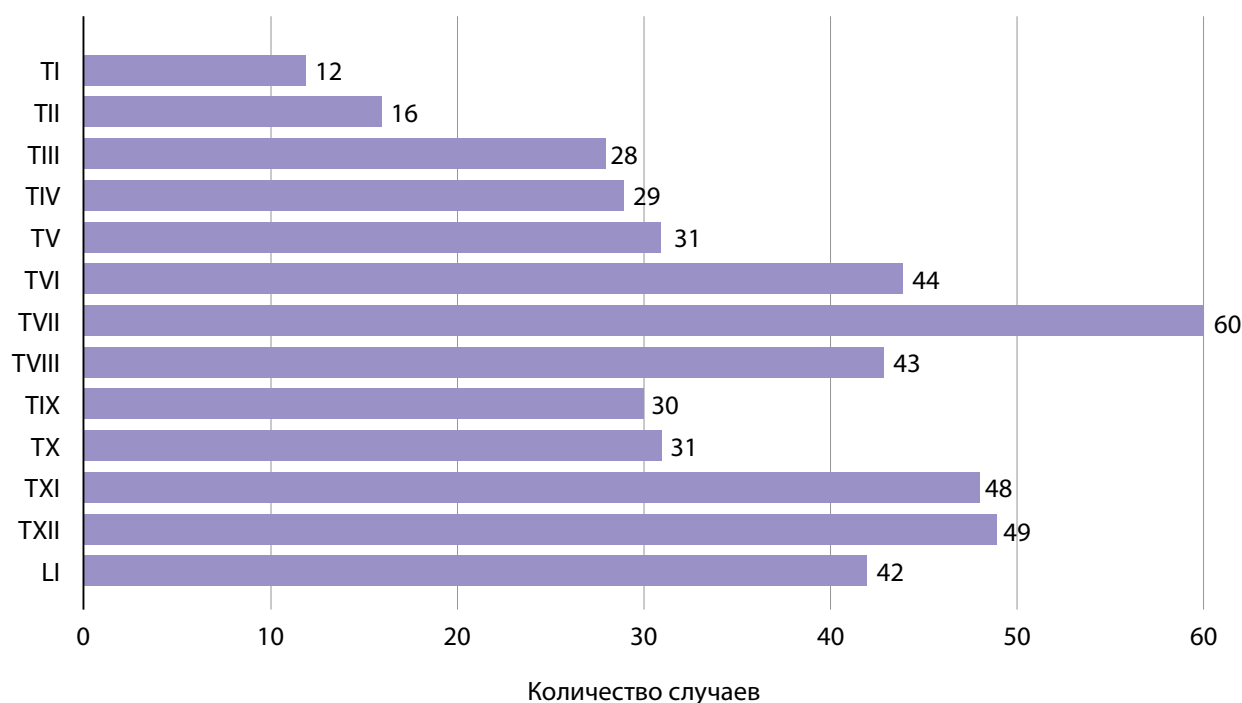


Рисунок 9. Распределение количества позвонков с компрессионными переломами в грудном отделе позвоночника и первом поясничном позвонке (экспертная разметка), N=160.

Таблица 5. Распределение позвонков по степени компрессии в ходе выполнения морфометрического анализа и последующей классификации степени компрессии согласно полуколичественному подходу Genant (экспертная разметка), n (%)

Тип компрессии	Все степени	1-я степень	2-я степень	3-я степень
Срединная деформация	411 (85)	183 (83)	147 (84)	81 (93)
Передняя деформация	72 (15)	38 (17)	28 (16)	6 (7)

позвоночника (рис. 9). Самый распространенный тип деформации в выборке — срединная (максимальная разница между дорсальными и срединными размерами), значительно реже встречалась передняя; позвонки с деформацией, когда дорсальный размер был минимальным, при наборе данных отсутствовали (табл. 5). Согласованность между моделью и экспертами в определении формы КП составила 91,0% (95% ДИ 88,4–93,6).

Нежелательные явления

Нежелательные явления не отмечены, так как работа выполнена ретроспективно, без дополнительного вмешательства для пациента.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе нашего исследования разработана модель морфометрического анализа тел позвонков, производящая автоматическую идентификацию, морфометрию и оценку степени тяжести КП позвонков с расчетом индекса G (соответствует классификации Genant), обладающая высокой чувствительностью и специфичностью.

Первый этап работы модели Comprise-G — новый метод идентификации центра позвоночного столба

на трехмерных КТ-данных и последующее приведение к «выпрямленному» двумерному средне-сагитальному срезу для дальнейшего измерения параметров каждого позвонка. Это позволяет эффективно компенсировать основные виды деформации позвоночного столба — естественные изгибы (кифоз/лордоз), сколиоз, торсионную деформацию. Подобный подход также реализован в Zebra [11, 14].

Второй этап работы модели Comprise-G производит сегментацию позвонков и находит шесть ключевых точек, позволяющих измерить три высоты (h) каждого позвонка, с последующей оценкой степени компрессии по Genant. На обоих этапах применяются сверточные нейронные сети, более подробно описанные в разделе «алгоритм искусственного интеллекта» и представленные в публикации [23]. При сравнении с результатами разметки экспертами показатели ROC AUC для кросс-валидационной и отложенной тестовой выборки превышают значение 90% для всех степеней КП как для классификации отдельных позвонков, так и для классификации пациентов, что говорит о высокой эффективности полученной модели. ROC AUC возрастает с увеличением степени КП в обоих случаях.

Рассматриваемая задача распознавания отдельных позвонков и определение степени их компрессии при

патологическом переломе потенциально решаема для моделей ИИ. Это обусловлено высоким контрастом костных структур, анатомическим «консерватизмом» исследуемого объекта — позвоночника, включающего сходные между собой элементы — тела позвонков, деформацию которых необходимо оценить.

В литературе описаны подходы автоматической детекции КП по результатам лучевых исследований разной модальности: КТ [11–14, 15], денситометрии в боковой проекции [24], магнитно-резонансной томографии. Технологии ИИ привлекательны не только для распознавания КП, но и для диагностики других патологических переломов, например, дистальной трети предплечья [25].

Наибольшие отклонения модели от истинных значений наблюдаются в случаях, где высока изменчивость экспертного мнения. Это в большей степени касается деформации позвонков с низкой, 1-й степенью компрессии (от 20 до 25%). Для данных переломов затруднительно определить, насколько это состояние не является клинической деформацией, например, в среднегрудном отделе позвоночника. Неустойчивость модели при диагностике деформации 1-й степени подтверждается данными таблиц сопряженности (рис. 6), так, при 1-й степени компрессии корректно могли быть предсказаны только 54% позвонков и 63% пациентов (65% позвонков, по данным J.E. Burns [12]). Для 2-й степени компрессии это 73% позвонков и 71% пациентов (83% позвонков [12]), для 3-й степени — 87% и 88% (59% позвонков [12]). Клинически значимые переломы 2–3-й степени компрессии детектируются с ROC AUC 97,8% для позвонков и 95,6% для пациентов при тестировании на отложенной выборке. В ряде публикаций также учитываются как клинически значимые КП 2-й и 3-й степени компрессии [26, 27]. Таким образом, для оценки работы модели Comprise-G мы привели данные по умеренным и тяжелым переломам.

Разработанная модель ИИ Comprise-G успешно детектирует размеры тел позвонков вблизи визуально «сложных» участков, где область измерения располагается вблизи участков повышенной плотности (спондилез — обызвествление передней продольной связки с формированием остеофитов), вблизи участков сниженной плотности (при вакуум-феномене).

В ходе оценки эффективности работы модели Comprise-G получены данные ROC AUC, а также параметры чувствительности и специфичности. Чувствительность/специфичность модели Comprise-G составили 79,3%/98,7% при детекции переломов 2-й и 3-й степени компрессии по данным ROC-анализа на отложенной выборке. Это сопоставимо с результатами работы модели, основанной на рекуррентной сверточной сети (RCN), реализованной в коммерческом продукте Zebra (83,9%/93,8%) [14]. Несколько большая чувствительность — 98,7%, но худшая специфичность описаны в морфометрической модели [12]. Модели использования нейронных сетей CNN/RNN (Tomita et al., 2018) осуществляют качественную классификацию (наличие/отсутствие перелома) и демонстрируют чувствительность 85,2% и специфичность 95,8% [16]. В данной модели анализировались только срединные срезы (5% от всего 3D-массива), что ограничивало ее использование при неточной укладке, вынужденном положении пациента или выраженном сколиозе.

Полученные нами данные AUC ROC для отдельных позвонков/пациентов, в том числе для отложенной, тестовой выборки: чувствительность 97,8%; специфичность 95,6%, сопоставимы с данными Nicolaes et al., 2019 (чувствительность 95%; специфичность 93%) [11], полученными при кросс-валидации (5 выборок из 90 пациентов). В исследовании Tomita et al. [16], ROC AUC от 0,903 до 0,918 в зависимости от реализованной CNN модели, проводилось тестирование на отложенной выборке 129 пациентов. В нашем исследовании отложенная тестовая выборка пациентов также не использовалась для обучения нейросети.

В работе Antonio et al. [9] нейронная сеть для детекции КП была обучена всего на 15 КТ-сериях, точность на тестовой выборке составила 93,29%, однако небольшой объем данных мог привести к переобучению модели.

В нашей работе ROC AUC для отложенной выборки (60 пациентов) близка к результатам, полученным при кросс-валидации (100 пациентов). Это говорит об отсутствии переобучения нейронных сетей, входящих в модель Comprise-G.

Полученные нами данные о бимодальном распределении переломов тел позвонков с максимумами на среднегрудном (вершина грудного кифоза) и верхнепоясничном отделах позвоночника (максимальные осевые нагрузки) соответствуют данным Burns et al., 2017 [12], Nicolaes et al., 2019 [11].

Предполагаются дальнейшие исследования по валидации разработанной модели Comprise-G. Перспективой внедрения данного подхода является проведение оппортунистического скрининга остеопороза при выполнении КТ ОГК и брюшной полости.

Ограничения исследования

Наиболее вероятные ограничения модели ИИ Comprise-G для автоматической диагностики КП: сканирование других анатомических регионов, на других томографах или с другими условиями (фильтр реконструкции, иная толщина среза и др.), сканирование пациентов с металлическими имплантами, сканирование пациентов с повышенным ИМТ (снижение отношения сигнал/шум) либо применение итеративных механизмов шумоподавления или сканирования со сниженной лучевой нагрузкой.

Учитывая методический характер данной статьи, мы предполагаем более широкое доклиническое тестирование данной модели в различных условиях для уточнения реальных ограничений и выработки более детальных методических указаний по использованию модели Comprise-G.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработанная модель Comprise-G при первичном анализе позволяет с высокой эффективностью диагностировать КП тел позвонков по данным КТ-сканирования ОГК. Модель представляет собой последовательность двух сверточных нейронных сетей, осуществляющих поиск позвоночника, его «выпрямление» и морфометрию отдельных позвонков — определение вентрального, срединного и дорсального размеров с вычислением индекса компрессии и последующей классификацией в соответствии с полуколичественной шкалой Genant.

Для обучения модели использованы анонимизированные КТ-изображения 100 пациентов из нескольких медицинских организаций. Разметка проводилась 7 разметчиками со средней относительной погрешностью 3% под контролем двух рентгенологов со стажем 15 и 35 лет, тестирование работы модели Comprise-G проводилось как при кросс-валидационных данных, так и на отложенной тестовой выборке из 60 пациентов, не использованной при обучении модели. При тестировании на отложенной выборке ROC AUC, для клинически значимых переломов с компрессией более 25%: AUC 0.978/0.956 (позвонки/пациенты).

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа и подготовка статьи проведены на личные средства авторского коллектива.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Петрайкин А.В. — разработка дизайна исследования, общее руководство группой разметчиков, валидация разметки; Белая Ж.Е. — постановка задачи, контроль этапов выполнения работы; Киселева А.Н. — статистический анализ, экспертная разметка; Артюкова З.Р. — выгрузка данных, экспертная разметка,

макетирование рукописи; Беляев М.Г. — контроль взаимодействия группы разработчиков модели, взаимодействие с клинической группой; Кондратенко В.А. — разработка II этапа работы модели; Писов М.Е. — разработка I этапа работы модели, разработка аннотатора; Соловьёв А.В. — экспертная разметка; Сморокова А.К. — экспертная разметка, разработка внутренней документации по разметке; Абуладзе Л.Р. — экспертная разметка; Киева И.Н. — экспертная разметка; Феданов В.А. — экспертная разметка; Яссин Л.Р. — экспертная разметка; Семенов Д.С. — анонимизация данных; Кудрявцев Н.Д. — анализ и выгрузка данных; Щелыкина С.П. — статистический анализ; Зинченко В.В. — оформление публикации, организация внутреннего согласования проекта; Ахмад Е.С. — техническое IT-обеспечение работы группы разметчиков, обеспечение безопасного перемещения данных; Сергунова К.А. — организация регистрации анонимизированных данных, разработка документации по разметке; Гомблевский В.А. — разработка дизайна модели; Низовцова Л.А. — валидация разметки, разработка документации по разметке; Владимирский А.В. — разработка дизайна исследования, организация этапных коллоквиумов по этапам выполнения работы; Морозов С.П. — анализ и редактирование макета рукописи, общее руководство выполняемым исследованием. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Благодарности. Авторы выносят благодарность отделу координации научной деятельности ГБУЗ «НПКЦ ДиТ ДЗМ» за помощь на всех этапах научной работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Мельниченко Г.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза // Проблемы эндокринологии. — 2017. — Т. 63. — №6. — С. 392–426. [Mel' nichenko GA, Belaya ZhE, Rozhinskaya LYa, et al. Russian federal clinical guidelines on the diagnostics, treatment, and prevention of osteoporosis. *Problemy endocrinologii*. 2017;63(6):392-426. (in Russ.)]. doi: 10.14341/probl2017636392-426
2. Лесняк О.М., Баранова И.А., Белова К.Ю. и др. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) // Травматология и ортопедия России. — 2018. — Т. 24. — №1. — С. 155–168. [Lesnyak OM, Baranova IA, Belova KYu et al. Osteoporosis in Russian Federation: Epidemiology, Socio-Medical and Economical Aspects (Review). *Travmatologiya i ortopediya Rossii [Traumatology and orthopedics of Russia]*. 2018;24(1):155-168. (in Russ.)]. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-1-155-168
3. Лесняк О.М. Аудит состояния проблемы остеопороза в странах восточной европы и центральной азии 2010 // Остеопороз и остеопатии. — 2011. — Т. 14. — №2. — С. 3–6. [Lesnyak OM. The Eastern European & Central Asian Regional Audit Epidemiology, costs & burden of osteoporosis in 2010. *Osteoporosis and bone diseases*. 2011;14(2):3-6. (in Russ.)]. doi: 10.14341/osteo201123-6
4. Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis International*. 2013; 24:23–57. doi: 10.1007/s00198-012-2074-y
5. Williams AL, Al-Busaidi A, Sparrow PJ, et al. Under-reporting of osteoporotic vertebral fractures on computed tomography. *European journal of radiology*. 2009;69(1):179–183. doi: 10.1016/j.ejrad.2007.08.028
6. Carberry GA, Pooler BD, Binkley N, et al. Unreported vertebral body compression fractures at abdominal multidetector CT. *Radiology*. 2013;268(1):120–126. doi: 10.1148/radiol.13121632
7. Black DM, Arden NK, Palermo L, et al. Prevalent vertebral deformities predict hip fractures and new vertebral deformities but not wrist fractures. *J. Bone Miner. Res.* 1999;14(5): 821–828. doi: 10.1359/jbmr.1999.14.5.821
8. Ahmed N, Mandel R, Fain MJ. Frailty: An Emerging Geriatric Syndrome. *The American Journal of Medicine*. 2007;120(9):748–753. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.10.018
9. Antonio CB, Bautista LGC, Labao AB et al. Vertebra fracture classification from 3D CT lumbar spine segmentation masks using a convolutional neural network. 10th Asian Conference on Intelligent Information and Database Systems, ACIDS 2018. 2018 March 19–21. Dong Hoi City, Vietnam;449–458. doi: 10.1007/978-3-319-75420-8_43
10. Valentinitich A, Trebeschi S, Kaesmacher J, et al. Opportunistic osteoporosis screening in multi-detector ct images via local classification of textures. *Osteoporosis international*. 2019;30(6):1275–1285. doi: 10.1007/s00198-019-04910-1
11. Nicolaes J, Raeymaeckers S, Robben D, et al. Detection of vertebral fractures in CT using 3D Convolutional Neural Networks. *Computational Methods and Clinical Applications for Spine Imaging*. 2019:3–14. doi: 10.1007/978-3-030-39752-4_1
12. Burns JE, Yao J, Summers RM. Vertebral body compression fractures and bone density: automated detection and classification on CT images. *Radiology*. 2017;284(3):788–797. doi: 10.1148/radiol.2017162100
13. Roth HR, Wang Y, Yao J, et al. Deep convolutional networks for automated detection of posterior-element fractures on spine CT. *Medical Imaging 2016: Computer-Aided Diagnosis*. 2016. doi: 10.1117/12.2217146
14. Bar A, Wolf L, Amitai OB, et al. Compression fractures detection on CT. *Medical Imaging 2017: Computer-Aided Diagnosis*. 2017. doi:10.1117/12.2249635
15. Tomita N, Cheung YY, Hassanpour S. Deep neural networks for automatic detection of osteoporotic vertebral fractures on CT scans. *Computers in biology and medicine*. 2018;(98):8–15. doi: 10.1016/j.compbiomed.2018.05.011
16. Genant HK, Wu CY, Van KC, et al. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *Journal of bone and mineral research*. 1993;8(9):1137–1148. doi: 10.1002/jbmr.5650080915
17. Указ Президента РФ от 10 октября 2019 г. № 490 «О развитии искусственного интеллекта в Российской Федерации». [Decree of the President of Russian Federation N490 of 10 October 2019. О razvitiy iskusstvennogo intellekta v Rossiiskoi Federatsii]. (In Russ.)]. Доступно по: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/44731>. Ссылка активна на 03.09.2020.
18. Adams JE, Lenchik L, Roux C, Genant HK. Vertebral Fracture Initiative. Part II. Radiological Assessment of Vertebral Fracture. [Internet]. [cited 2020 Aug 5]; 49 p. Available from: https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/PDFs/Vertebral%20Fracture%20Initiative/IOF_VFI-Part_II-Manuscript.pdf

19. Alqahtani FF, Offiah AC. Diagnosis of osteoporotic vertebral fractures in children. *Pediatric Radiology*. 2019;49(3):283–296. doi: 10.1007/s00247-018-4279-5
20. Ronneberger O, Fischer P, Brox T. U-net: Convolutional networks for biomedical image segmentation. Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention — MICCAI 2015. 2015 October 4–9. Munich, Germany; 234–241. doi: 10.1007/978-3-319-24574-4_28
21. Kingma DP, Ba JL. Adam: A method for stochastic optimization. 3rd International Conference on Learning Representations, ICLR 2015 — Conference Track Proceedings [Internet]. 2015 May 7–9. San Diego, USA. Available from: <https://arxiv.org/pdf/1412.6980.pdf>
22. Redmon J, Farhadi A. Yolov3: An incremental improvement. [Internet]. [cited 2020 Jul 20]; 6 p. Available from: <https://arxiv.org/pdf/1804.02767.pdf>
23. Pisov M, Kondratenko V, Zakharov A et al. Keypoints localization for joint vertebra detection and fracture severity quantification. [Internet]. [cited 2020 Jul 20]; 13 p. Available from: <https://arxiv.org/pdf/2005.11960.pdf>
24. Derkach S, Kirby C, Kimelman D, Jozani MJ, et al. Identification of Vertebral Fractures by Convolutional Neural Networks to Predict Nonvertebral and Hip Fractures: A Registry-based Cohort Study of Dual X-ray Absorptiometry. *Radiology*. 2019;293(2):190–201. doi: 10.1148/radiol.2019190201
25. Kim DH, MacKinnon T. Artificial intelligence in fracture detection: transfer learning from deep convolutional neural networks. *Clinical Radiology*. 2018;73(5):439–445. doi: 10.1016/j.crad.2017.11.015
26. Pickhardt PJ, Pooler BD, Lauder T, et al. Opportunistic Screening for Osteoporosis Using Abdominal Computed Tomography Scans Obtained for Other Indications. *Annals of Internal Medicine*. 2013;158(8):588–595. doi: 10.7326/0003-4819-158-8-201304160-00003.
27. Alacreu E, Moratal D, Arana E. Opportunistic screening for osteoporosis by routine CT in Southern Europe. *Osteoporosis International*. 2017;28(3):983–990. doi: 10.1007/s00198-016-3804-3

Рукопись получена: 27.08.2020. Одобрена к публикации: 21.09.2020. Опубликовано online: 26.10.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Артюкова Злата Романовна [Zlata R. Artyukova]**; адрес: Россия, 127051, Москва, ул. Петровка, д. 24 [address: 24 Petrovka street, 127051 Moscow, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2960-9787>; eLibrary SPIN: 5873-2280; e-mail: zl.artyukova@gmail.ru

Петрайкин Алексей Владимирович, к.м.н., доцент [Alexey V. Petraikin, PhD, Med., Associate Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1694-4682>; eLibrary SPIN: 6193-1656; e-mail: alexeypetraikin@gmail.com

Белая Жанна Евгеньевна, д.м.н., профессор [Zhanna E. Belaya, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6674-6441>; eLibrary SPIN: 4746-7173; e-mail: jannabelaya@gmail.com

Киселёва Анастасия Николаевна [Anastasia N. Kiseleva]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5713-5307>; eLibrary SPIN: 9586-5720, email: anastasia.kiseleva.97@mail.ru

Беляев Михаил Геннадьевич, к.ф.-м.н. [Mikhail G. Belyaev, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9906-6453>; eLibrary SPIN: 2406-1772, email: m.belyaev@skoltech.ru

Кондратенко Владимир Анатольевич [Vladimir A. Kondratenko]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8123-0462>; eLibrary SPIN: 9265-9820; email: v.kondratenko@skoltech.ru

Писов Максим Евгеньевич [Maxim E. Pisov]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8727-5792>; eLibrary SPIN: 7812-9031; email: m.pisov@skoltech.ru

Соловьев Александр Владимирович [Alexander V. Solovetv]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4485-2638>; eLibrary SPIN: 9654-4005; email: atlantis.92@mail.ru

Сморчкова Анастасия Кирилловна [Anastasia K. Smorchkova]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9766-3390>; eLibrary SPIN: 4345-8568, email: smanki97@gmail.com

Абуладзе Лия Руслановна [Liya R. Abuladze]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6745-1672>; eLibrary SPIN: 8640-9989; email: drliabuladze@gmail.com

Киева Ирина Николаевна [Irina N. Kievа]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4060-5966>; eLibrary SPIN: 2279-9141; e-mail: irina.kieva9@yandex.ru

Феданов Владимир Александрович [Vladimir A. Fedanov]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1979-0359>; eLibrary SPIN: 4700-0649; e-mail: vfedanov@gmail.com

Яссин Лейла Раедовна [Leila R. Iassin]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2772-1401>; eLibrary SPIN: 3439-6381; e-mail: yassin.leila@yandex.ru

Семенов Дмитрий Сергеевич [Dmitry S. Semenov]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4293-2514>; eLibrary SPIN: 2278-7290; e-mail: d.semenov@npcmr.ru

Кудрявцев Никита Дмитриевич [Nikita D. Kudryavtsev]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4203-0630>; eLibrary SPIN: 1125-8637; e-mail: n.kudryavtsev@npcmr.ru

Щелыкалина Светлана Павловна, к.м.н., доцент [Svetlana P. Shchelykalina, PhD, Med., Associate Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3292-8949>; eLibrary SPIN: 9804-0820; e-mail: svetlanath@gmail.com

Зинченко Виктория Валерьевна [Victoria V. Zinchenko]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3292-8949>; eLibrary SPIN: 4188-0635; e-mail: v.zinchenko@npcmr.ru

Ахмад Екатерина Сергеевна [Ekaterina S. Akhmad]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8235-936>; eLibrary SPIN: 5891-4384; e-mail: e.ahmad@npcmr.ru

Сергунова Кристина Анатольевна, к.т.н. [Kristina A. Sergunova, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9596-7278>; eLibrary SPIN: 6946-3205; e-mail: sergunova@npcmr.ru

Гомболевский Виктор Александрович, к.м.н. [Victor A. Gombolevsky, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-1816-1315>; eLibrary SPIN: 6810-3279; e-mail: gombolevskiy@npcmr.ru

Низовцова Людмила Арсеньевна, д.м.н., профессор [Lyudmila A. Nisovstova, PhD, Professor];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9614-450>, eLibrary SPIN: 9957-8107; e-mail: nizovtsova@npcmr.ru

Владимирский Антон Вячеславович, д.м.н. [Anton V. Vladzimirsky, MD, PhD];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2990-7736>; eLibrary SPIN: 3602-7120; e-mail: a.vladzimirsky@npcmr.ru

Морозов Сергей Павлович, д.м.н., профессор [Sergey P. Morozov, MD, PhD, Professor];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6545-6170>; eLibrary SPIN: 8542-1720; e-mail: morozov@npcmr.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Петрайкин А.В., Белая Ж.Е., Киселева А.Н., Артюкова З.Р., Беляев М.Г., Кондратенко В.А., Писов М.Е., Соловьев А.В., Смorchкова А.К., Абуладзе Л.Р., Киева И.Н., Феданов В.А., Яссин Л.Р., Семёнов Д.С., Кудрявцев Н.Д., Щелыкалина С.П., Зинченко В.В., Ахмад Е.С., Сергунова К.А., Гомболевский В.А., Низовцова Л.А., Владимирский А.В., Морозов С.П. Технология искусственного интеллекта для распознавания компрессионных переломов позвонков с помощью модели морфометрического анализа, основанной на сверточных нейронных сетях // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 48–60. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12605>

TO CITE THIS ARTICLE:

Petraikin AV, Belaya ZhE, Kiseleva AN, Artyukova ZR, Belyaev MG, Kondratenko VA, Pisov ME, Solovlev AV, Smorchkova AK, Abuladze AR, Kiev IN, Fedanov VA, Iassin LR, Semenov DS, Kudryavtsev ND, Shchelykalina SP, Zinchenko VV, Akhmad ES, Sergunova KA, Gombolevskiy VA, Nisovtsova LA, Vladzimirsky AV, Morozov SP. Artificial intelligence for diagnosis of vertebral compression fractures using a morphometric analysis model, based on convolutional neural networks. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):48–60. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12605>

СЕРИЯ КЛИНИЧЕСКИХ СЛУЧАЕВ СИНДРОМА СЕМЕЙНОЙ ГИПОКАЛЬЦИУРИЧЕСКОЙ ГИПЕРКАЛЬЦИЕМИИ



© Ю.А. Крупинова*, А.А. Алмасханова, А.К. Еремкина, Е.Е. Бибик, Е.В. Васильев, Н.Г. Мокрышева

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Семейная гипокальциурическая гиперкальциемия (familial hypocalciuric hypercalcemia, FHH) — редкое заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования. FHH, как правило, развивается вследствие гетерозиготной инактивирующей мутации в гене кальций-чувствительного рецептора (*CASR*), реже — по причине гетерозиготных мутаций в *GNA11* и *AP2S1*. Мутации в *CASR* изменяют порог чувствительности к кальцию, что приводит к повышению его концентрации в сыворотке для подавления синтеза паратгормона. В проксимальных канальцах почек увеличивается реабсорбция кальция, развиваются гиперкальциемия и гипокальциурия. В большинстве случаев FHH может протекать бессимптомно или сопровождаться невыраженными клиническими проявлениями. В отличие от первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ), FHH не требует хирургического лечения, в связи с чем крайне важной является дифференциальная диагностика этих двух состояний. Учитывая генетическую природу заболевания, ближайшие родственники пробында с FHH требуют исключения наследования болезни.

Нами представлена серия клинических случаев с генетически подтвержденным диагнозом FHH. Описанные наблюдения свидетельствуют о разнообразии клинических проявлений заболевания и сложностях дифференциальной диагностики с ПГПТ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: семейная гипокальциурическая гиперкальциемия; кальций-чувствительный рецептор; *CASR*; первичный гиперпаратиреоз.

A SERIES OF CLINICAL CASES OF FAMILIAL HYPOCALCIURIC HYPERCALCEMIA SYNDROME

© Julia A. Krupinova*, Alina A. Almaskhanova, Anna K. Eremkina, Ekaterina E. Bibik, Evgeny V. Vasilyev, Natalia G. Mokrysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Familial hypocalciuric hypercalcemia (FHH) – rare disease with predominantly autosomal dominant inheritance. FHH typically develops due to a heterozygous inactivating mutation in the calcium-sensitive receptor gene (*CASR*), less commonly due to heterozygous mutations in *GNA11* and *AP2S1*. *CASR* mutations lead to an increase in the threshold for calcium sensitivity, which requires a higher concentration in serum to reduce the release of PTH. These changes are accompanied by an increase of calcium and magnesium reabsorption in the proximal tubules, which leads to hypercalcemia and hypocalciuria. Basically, FHH may be asymptomatic or accompanied by mild hypercalcemia. FHH doesn't require surgical treatment, unlike primary hyperparathyroidism (PHPT), therefore, differential diagnosis of these two conditions is extremely important. In addition, immediate relatives of a proband with FHH also require the exclusion of disease inheritance. We analyzed a series of clinical cases with a genetically confirmed diagnosis of FHH. Our clinical cases indicate a variety of clinical manifestations and the difficulties of differential diagnosis with PHPT.

KEYWORDS: familial hypocalciuric hypercalcemia; calcium-sensitive receptor; *CASR*; primary hyperparathyroidism.

Семейная гипокальциурическая гиперкальциемия (familial hypocalciuric hypercalcemia, FHH) — редкое заболевание с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования [1, 2]. Как правило, FHH развивается вследствие гетерозиготной инактивирующей мутации в гене кальций-чувствительного рецептора (*CASR*), реже — в *GNA11* и *AP2S1* [3]. При этом в 30% случаев заболевание остается без установленной генетической причины. Лабораторные показатели характеризуются сочетанием целевого или умеренно повышенного паратиреоидного гормона (ПТГ) и гиперкальциемии с нормальным или сниженным уровнем экскреции кальция с мочой [1, 4]. FHH может протекать бессимптомно или сопровождаться невыраженными клиническими проявлениями [5, 6]. В отличие от пер-

вичного гиперпаратиреоза (ПГПТ), FHH не требует хирургического лечения, в связи с чем крайне важна дифференциальная диагностика этих двух заболеваний [7, 8].

По данным популяционных исследований, частота FHH находится в диапазоне от 1:10 000 до 1:100 000 с равной встречаемостью среди мужчин и женщин, тогда как заболеваемость ПГПТ составляет 30 на 10 000 населения и преобладает среди женщин в менопаузе [9]. Оценка истинной распространенности FHH затруднена ввиду частого бессимптомного течения и сложности постановки диагноза. Среди всех пациентов, подвергшихся хирургическому лечению ПГПТ, в 9–23% случаев имела место несвоевременно диагностированная FHH [10, 11].

ОРГАНИЗАЦИЯ КАЛЬЦИЙ-ЧУВСТВИТЕЛЬНОГО РЕЦЕПТОРА

CaSR относится к классу рецепторов, сопряженных с G-белком (GPCR), и состоит из 1078 аминокислот [12–14]. Ген, кодирующий CaSR, находится на длинном плече 3 хромосомы (3q13.3–21), включает 8 экзонов и 103 триплета нуклеотидов [15]. Регуляция экспрессии *CASR* играет значимую роль в патогенезе нарушений фосфорно-кальциевого обмена. *CASR* наиболее широко экспрессируется в околощитовидных железах (ОЩЖ), а также почечных канальцах и в меньшей степени в других тканях [12, 14, 15]. В промоторе *CASR* присутствует витамин-D-чувствительный участок, и при повышении концентрации $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ в крови стимулируется экспрессия мРНК *CASR* в ОЩЖ. Подобные изменения приводят к увеличению чувствительности желез к внеклеточной концентрации ионизированного кальция (Ca^{2+}) и подавлению секреции ПТГ [15].

Аминокислотные последовательности CaSR включают в себя NH_2 -концевой внеклеточный домен и большой внутриклеточный COOH -концевой фрагмент [5]. Ионы Ca^{2+} связываются с внеклеточной частью рецептора, в то время как его внутриклеточные домены приводят к конформационным изменениям и G-белок-опосредованной передаче сигнала [5]. CaSR взаимодействует с различными α -субъединицами G-белка для контроля нисходящих сигнальных путей [5, 16] (рис. 1). Передача сигналов посредством CaSR является лиганд-направленной, т.е. зависит от подтипа трансмембранных рецепторов и вторичных посредников, а также белков-адаптеров, контролирующих сборку сигнальных молекулярных комплексов [3, 16]. Стимуляция GPCR приводит к активации фосфолипазы C, мобилизации ионов Ca^{2+} и далее Ca^{2+} -зависимому ингибированию аденилатциклазы. Функция вторичного посредника диацилглицерола состоит в активации протеинкиназы C, которая участвует в регуляции каскада фосфорилирования белков, включая сигнальные пути: митоген-активируемую протеинкиназу (MAPK — mitogen-activated protein kinase) и ERK (extracellular signal-regulated kinase, Ras-ERK, MAPK/ERK). Указанные сигнальные пути участвуют в транскрипции генов, ответственных за дифференцировку, пролиферацию и выживание клеток [3, 12, 14].

Увеличение концентрации цитозольного Ca^{2+} подавляет секрецию ПТГ главными клетками ОЩЖ и уменьшает реабсорбцию Ca^{2+} в почечных канальцах [14]. Физиологически важными активаторами и агонистами CaSR являются Ca^{2+} , магний (Mg^{2+}), L-аминокислоты, полиамины и γ -глутамилпептиды, такие анионы, как фосфат, сульфат [3, 12].

Мутации в *CASR* могут приводить к увеличению порога чувствительности к Ca^{2+} , что, в свою очередь, требует более высокой его концентрации в сыворотке для подавления синтеза и секреции ПТГ. В проксимальных канальцах почек увеличивается реабсорбция кальция, вследствие чего развиваются гиперкальциемия и гипокальциурия [14].

ТИПЫ FHH (1-3)

FHH типа 1 (OMIM # 145980) является наиболее распространенной формой заболевания, обусловленной

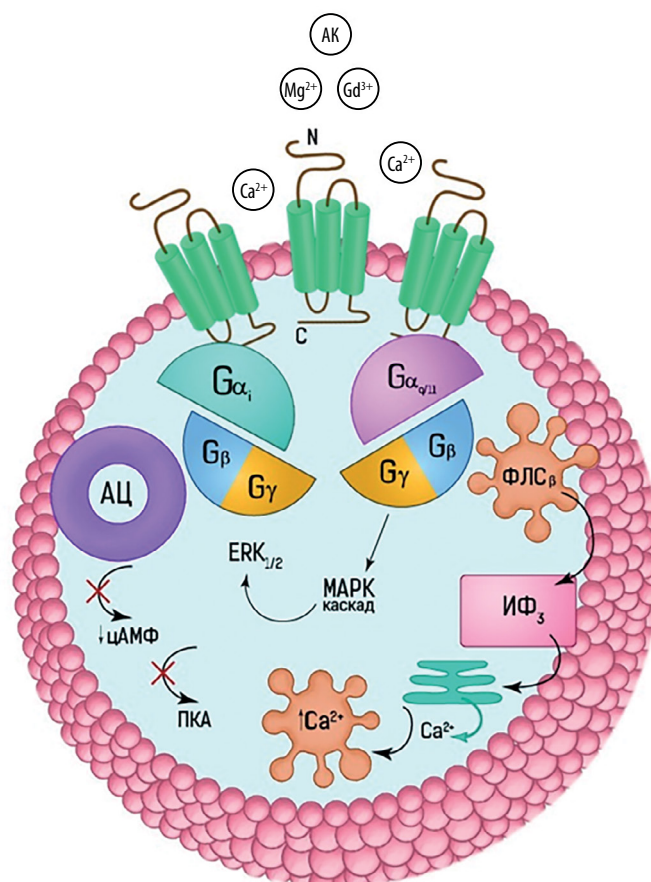


Рисунок 1. Внутриклеточные сигнальные пути. Ca^{2+} и другие физиологические агонисты, включая Mg^{2+} , аминокислоты и полиамины, способствуют активации либо $\text{G}\alpha_i$, либо $\text{G}\alpha_q/11$, которые приводят к ингибированию аденилатциклазы и фосфолипазы C соответственно. Первый путь ассоциирован со снижением цАМФ и ингибированием протеинкиназы А. Второй способствует синтезу диацилглицерола (DAG) и инозитола-1,4,5-трифосфата (ИФ₃) посредством CaSR-индуцированной активации GPCR и фосфолипазы C. DAG активирует протеинкиназу C (ПКС), что приводит к фосфорилированию белков, высвобождению кальция из внутриклеточного депо и активации каскадов MAPK и внеклеточной сигнальной киназы (ERK1/2): С — С-конец CaSR; PKA — протеинкиназа А; AK — аминокислоты; АЦ — аденилатциклаза; $\text{G}\alpha_i$, $\text{G}\alpha_q$ и $\text{G}\gamma$ — различные субъединицы G-белка.

зародышевой гетерозиготной мутацией в гене *CASR*, на которую приходится около 65% всех случаев. Примерно 50% мутаций в *CASR*, ассоциированных с FHH1, нарушают биосинтез и посттрансляционный процессинг белка CaSR внутри эндоплазматического ретикула или аппарата Гольджи [3]. Большинство мутаций (более 85%) представлены миссенс-заменами, в свою очередь, на точечные нонсенс-мутации, хромосомные перестройки по типу делеций, инсерций, а также мутации сайта сплайсинга приходится менее 15%. FHH1 обычно имеет доброкачественное течение без значимых осложнений. В редких случаях встречаются гомозиготные или гетерозиготные мутации *CASR*, ассоциированные с неонатальным тяжелым гиперпаратиреозом (NSHPT) [3, 4].

FHH типа 2 (OMIM # 145981) составляет около 10% случаев заболевания и развивается вследствие гетерозиготных мутаций в гене *GNA₁₁* (19p13), кодирующем субъединицу $\text{G}\alpha_{11}$ [6] с нарушением CaSR-опосредованной передачи сигналов [3, 17]. Мутации при FHH2 включают три миссенс-замены: Thr54Met, Leu135Gln и Phe220Ser и хромосомную aberrацию по типу делеции изолейцина (Ile200del).

ФНН типа 3 (OMIM # 600740) является самой тяжелой формой ФНН, вызванной гетерозиготными мутациями в гене *AP2S1*, который кодирует белок-адаптер 2 σ -субъединицы. Гетерозиготные мутации в *AP2S1* выявляются у 13–20% пациентов с ФНН в отсутствие мутаций в *CASR* [11, 18, 19]. ФНН3 характеризуется значительным повышением сывороточного кальция, магния, снижением экскреции кальция с мочой, а также ранним развитием симптомов заболевания [10]. Мутации в *AP2S1* включают миссенс-замены Arg15Cys, Arg15His или Arg15Leu, которые в дальнейшем изменяют экспрессию CaSR на клеточной мембране, тем самым нарушая эндоцитоз и последующую передачу сигнала [10, 20].

КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА

Для ФНН в большинстве случаев характерно бессимптомное течение, однако у лиц с выраженной гиперкальциемией могут отмечаться неспецифические жалобы в виде мышечной слабости, повышенной утомляемости, артралгии и жажды [21]. Описаны единичные случаи острого панкреатита [22–24], хондрокальциноза [25, 26]. Несколько чаще наблюдался нефролитиаз [20]. У ряда пациентов отмечались снижение минеральной плотности кости (МПК) [20], а также остеомалация в условиях гипофосфатемии [25]. Имеются данные о присоединении неврологических и психических расстройств [6, 27, 28] как при тяжелом течении ФНН [29, 31–34], так и при ПГПТ [30].

ДИАГНОСТИКА И ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА

Основная цель дифференциальной диагностики ФНН заключается в исключении ПГПТ, так как лечебная тактика при этих заболеваниях различна [32]. Необходимо обследовать пациента на предмет наличия дефицита витамина 25(OH)D и нарушений фильтрационной функции почек [35]. Крайне редко встречается сочетание ФНН и ПГПТ, что значительно затрудняет диагностический поиск [6, 32].

ФНН характеризуется невыраженной гиперкальциемией (как правило, не более 3,0 ммоль/л), нормальным (до 80%) или повышенным уровнем ПТГ в крови и относительно низкой почечной экскрецией кальция с мочой [3, 17, 35]. В ряде случаев могут определяться умеренные гипофосфатемия и гипермагниемия. В отличие от ПГПТ, снижение фильтрационной функции почек для пациентов с ФНН не характерно [17, 36].

Наиболее важным этапом дифференциальной диагностики является определение суточной экскреции кальция с мочой. В исследовании S.E. Christensen и соавт. была определена отрезная точка суточной кальциурии для дифференциальной диагностики ФНН и ПГПТ менее 5,45 ммоль и менее 0,52 ммоль/ммоль для клиренса креатинина в суточной моче [30]. Расчет отношения почечного клиренса кальция к клиренсу креатинина (CCCR) можно провести при помощи формулы: $CaCl/CrCl = [Ca_u \times Cr_s] / [Cr_u \times Ca_s]$, где CaCl — клиренс кальция; CrCl — клиренс креатинина; Ca_u — концентрация кальция в моче (ммоль/л); Cr_s — концентрация креатинина в сыворотке крови (мкмоль/л); Cr_u — концентрация креатинина в моче (мкмоль/л); Ca_s — концентрация кальция в сыворотке крови (ммоль/л) [10, 32, 37].

В исследовании S.E. Christensen и соавт., в которое вошли 54 пациента с ФНН и мутациями в гене *CASR* и 97 пациентов с ПГПТ, было подтверждено, что расчет CCCR, в отличие от суточной экскреции кальция и креатинина в моче, характеризуется меньшим количеством ошибочных результатов. По полученным данным, показатель CCCR менее 0,02 определялся у 98% (53/54) пациентов с ФНН и у 35% (34/97) пациентов с ПГПТ. Отрезная точка для CCCR <0,0115 чаще соответствовала ФНН (65%), а CCCR в диапазоне от 0,01 до 0,02 наблюдалось как при ФНН (35%), так и при ПГПТ (33%). Таким образом, при обследовании пациентов с подозрением на ФНН экспертами было предложено использовать 2 диагностических этапа: расчет CCCR с последующим анализом гена *CASR* [32, 38].

Не стоит забывать, что топическая диагностика (ультразвуковое исследование (УЗИ), скintiграфия ^{99m}Tc -МИБИ с однофотонной эмиссионной компьютерной томографией (ОФЭКТ), мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ) и позитронная эмиссионная компьютерная томография (ПЭТ/КТ)) образований ОЩЖ проводится только пациентам с установленным диагнозом ПГПТ, которым планируется хирургическое лечение. Инструментальные методы визуализации ОЩЖ не позволяют провести дифференциальную диагностику между ПГПТ и ФНН [6, 32, 38, 39].

Постановка диагноза ФНН затруднена в случае отсутствия мутаций в гене *CASR* у пациентов с типичной клинико-лабораторной картиной. Доступность генетического анализа с определением мутаций в генах *GNA11* и *AP2S1* и других генов-кандидатов, вовлеченных в патологический процесс, ограничена. Поэтому необходимым условием в диагностике ФНН является скрининг членов семьи первой линии родства.

ЛЕЧЕНИЕ

Заболевание не требует специфического лечения. Хирургическое удаление ОЩЖ не устраняет этиологической причины развития ФНН, поэтому в послеоперационном периоде может наблюдаться лишь транзитное снижение уровня кальция сыворотки крови с последующим лабораторным рецидивом. Субтотальная или тотальная паратиреоидэктомия (ПТЭ) может рассматриваться как паллиативный метод лечения в самых тяжелых случаях, характеризующихся значимым повышением ПТГ, жизнеугрожающей гиперкальциемией и ассоциированными с ней состояниями [3]. Напротив, при ПГПТ хирургическое лечение является единственным радикальным методом, приводящим к нормализации уровня кальция и ПТГ в крови, устранению или предотвращению прогрессирования осложнения заболевания [40, 41].

В некоторых случаях ФНН возможно пробное назначение цинакальцета, который является аллостерическим модулятором рецептора CaSR. Он повышает чувствительность CaSR к внеклеточному кальцию и, как следствие, снижает секрецию ПТГ [40–42]. При этом лечение цинакальцетом пациентов с ФНН эффективно только в том случае, если кальцимиметик будет способен модифицировать функцию мутированного белка CaSR. Первое

упоминание об использовании кальцимиметиков при ФНН с положительным эффектом встречается в клиническом наблюдении Timmers H.J.L.M. и соавт. [43]. По данным экспериментальных исследований *in vitro*, около трети всех инактивирующих мутаций *CASR* чувствительны к кальцимиметикам [44]. Начальная доза препарата составляет 30 мг в сутки с последующим увеличением при необходимости. Титрация дозы препарата проводится исходя из уровней кальция и ПТГ в крови, а также степени выраженности клинических симптомов [40, 42].

Мы представляем серию клинических случаев семей с генетически верифицированной ФНН, демонстрирующей широкую вариабельность клинического течения заболевания.

Четырем членам из трех семей с ФНН проведено молекулярно-генетическое исследование *CASR* путем прямого секвенирования по Сэнгеру. У троих пациентов с развернутой клинической картиной ФНН выявлены патологические мутации в гене *CaSR*. Остальные члены родословных в настоящее время недоступны для обследования.

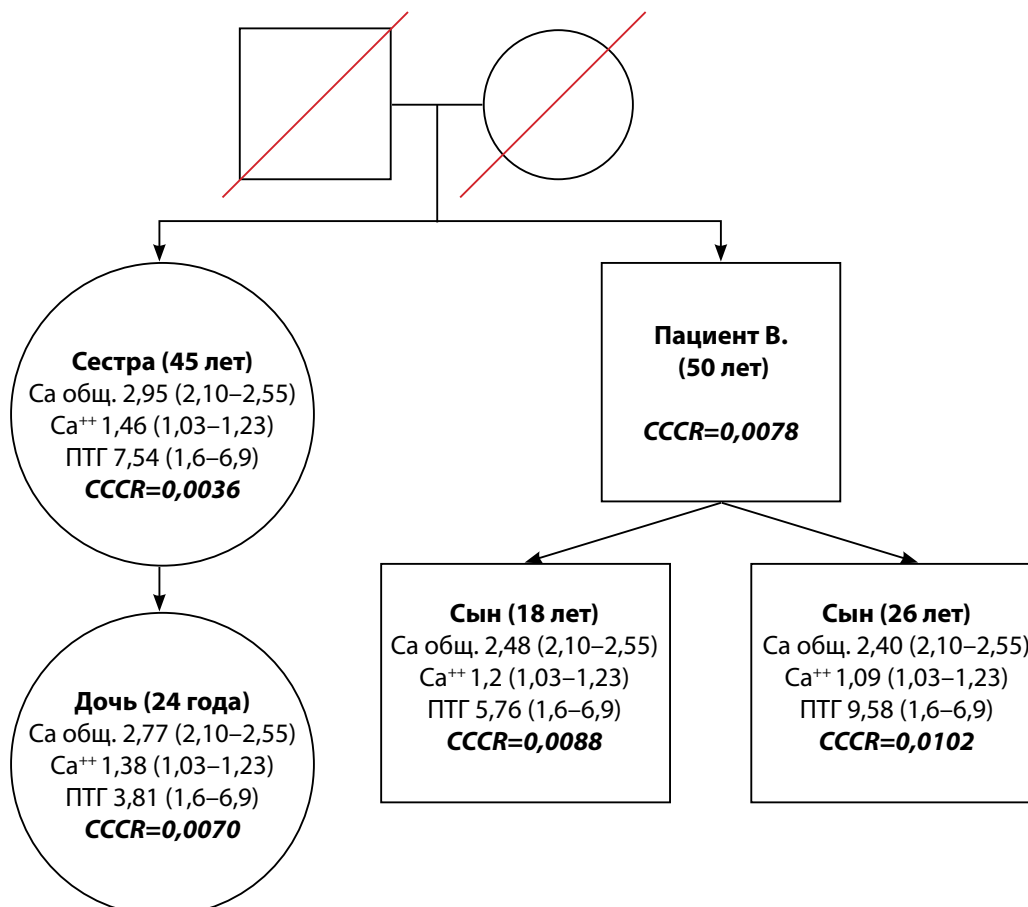
КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Клинический случай №1

Пациент В., 47 лет, обратился в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в июле 2017 г. с жалобами на выраженную головную боль, которая беспокоила его в течение последних 5 лет. В июне 2017 г. впервые выявлено повышение уровней общего кальция кро-

ви до 3,4 ммоль/л (2,15–2,55), Ca^{2+} до 1,51 ммоль/л (1,03–1,29), ПТГ до 13,53 пмоль/л (1,6–6,9). В дальнейшем выраженная гиперкальциемия подтверждалась неоднократно. По результатам эзофагогастродуоденоскопии выявлен поверхностный гастробульбит. При рентгеновской денситометрии данных за остеопороз получено не было (МПК в шейке бедренной кости (Neck) -1,3 SD, в поясничном отделе позвоночника (L1–L4) -0,7 SD, в дистальном отделе лучевой кости (Radius 33%) 0,3 SD по Z-критерию). Состояние было расценено как ПГПТ, и, учитывая молодой возраст пациента и выраженную гиперкальциемию, рекомендовано хирургическое лечение в плановом порядке. По результатам топических методов обследования первой линии (УЗИ и сцинтиграфии ОЩЖ с $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -МИБИ в сочетании с ОФЭКТ/КТ) объемные образования ОЩЖ в местах их типичного расположения не визуализированы. Дополнительные методы исследования, включая МСКТ шеи с контрастным усилением и ПЭТ/КТ с ^{18}F -фторхолином, также не дали результатов.

Пациент был направлен в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. В ходе обследования впервые была определена экскреция кальция в моче и выявлена гипокальциурия (1,5 ммоль/л (2,5–8), CCCR составил 0,0078), что позволило заподозрить синдром ФНН. Учитывая полученные данные, были обследованы родственники пациента первой линии: сестра (45 лет, CCCR 0,0036), ее дочь (24 года, CCCR 0,0070) и сыновья пациента. У младшего сына (18 лет) уровень CCCR составил 0,0088, у старшего сына (26 лет) — CCCR 0,0102 (рис. 2). В дальнейшем



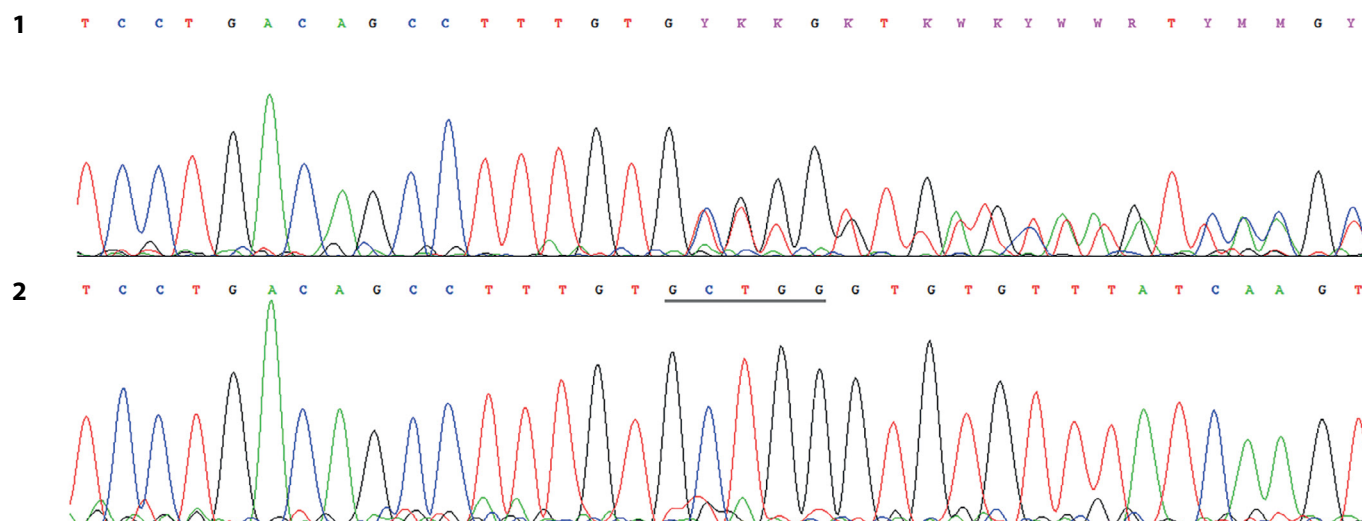


Рисунок 3. Хроматограмма 7 экзона *CASR* — секвенирование по Сэнгеру: делеция с.1890_1894del (1) и нормальная последовательность (2). Делетированные нуклеотиды подчеркнуты.

по результатам молекулярно-генетического анализа *CASR* у пробанда установлена гетерозиготная делеция 5 п.н. в 7 экзоне гена (NM_000388.4) с.1890_1894del:p.V630fs. Данная мутация приводит к сдвигу рамки считывания при трансляции мРНК после 630 кодона и, как следствие, нарушению структуры белка CaSR. Выявленная мутация описана нами впервые. Результат секвенирования представлен на рисунке 3. У сына пробанда мутация не обнаружена.

С целью коррекции гиперкальциемии пациенту рекомендовано расширение питьевого режима до 1,5–2,0 л/сут, исключение продуктов, богатых кальцием, терапия цинакальцетом 30 мг по 1 таблетке 2 р/сут. При повторном обращении через 2 месяца на фоне консервативного лечения у больного значимой положительной динамики не наблюдалось. По данным лабораторного обследования сохранялись признаки гиперкальциемии на фоне повышенного уровня ПТГ: кальций общий сыворотки крови 2,98–3,0 ммоль/л (2,15–2,55), Ca^{2+} 1,5–1,56 ммоль/л (1,03–1,29), ПТГ 14,1–11,63 пмоль/л (1,6–6,9). В связи с этим терапия цинакальцетом была прекращена, и рекомендовано динамическое наблюдение.

Клинический случай № 2

Пациентка Д., 56 лет, обратилась в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в 2019 г. с жалобами на боли в крупных суставах, в поясничном отделе позвоночника, учащенное сердцебиение. Из анамнеза известно, что в течение 15 лет она страдала язвенной болезнью двенадцатиперстной кишки с редкими обострениями. В 2012 г. у нее впервые зафиксировано повышение уровня Ca^{2+} до 1,47 ммоль/л (1,05–1,29), альбумин-скорректированного кальция до 3,2 ммоль/л (2,2–2,6), однако в течение последующих 5 лет женщина не обследовалась. В 2017 г. ввиду сохраняющейся гиперкальциемии (кальций общий — 3,17 ммоль/л (2,2–2,6), Ca^{2+} — 1,46 ммоль/л (1,05–1,29)) проводился онкопоиск. Со стороны желудочно-кишечного тракта, молочных желез и органов малого таза органической патологии не выявлено. Коррекция гиперкальциемии не проводилась.

При плановом лабораторном обследовании через год были получены следующие результаты: кальций общий — 3,37 ммоль/л (2,2–2,6), Ca^{2+} — 1,8 ммоль/л (1,05–1,29), фосфор — 0,78 ммоль/л (0,9–1,32), ПТГ — 10,9 пмоль/л (1,3–9,3), 25(OH)D — 8 нг/мл. Учитывая дефицит 25(OH)D, проводилась терапия колекальциферолом 3000 МЕ/сут. Спустя месяц от начала лечения определялась положительная динамика в виде увеличения уровня 25(OH)D до 26,4 нг/мл и снижения уровня ПТГ до 7,3 пмоль/л (1,3–9,3) без значимого нарастания гиперкальциемии: общий кальций — 3,4 ммоль/л (2,2–2,6), Ca^{2+} — 1,86 ммоль/л (1,05–1,29). Выведение кальция с суточной мочой было снижено до 0,34 ммоль/сут (2,5–7,5). По данным УЗИ почек были выявлены микролиты, скорость клубочковой фильтрации составила 56 мл/мин/1,73 м². По результатам рентгеновской денситометрии диагностирован остеопороз (снижение МПК в шейке бедра до -3,04 SD, в поясничных позвонках — до -2,57 SD по Т-критерию).

При поступлении в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России у пациентки была подтверждена гиперкальциемия (альбумин-скорректированный кальций — 2,94 ммоль/л (2,15–2,55), Ca^{2+} — 1,39 ммоль/л (1,03–1,29)) в сочетании с повышенным уровнем ПТГ до 123 пг/мл (15–65) и суточной гипокальциемией — 0,6 ммоль/сут (2,5–8). CCCR составило 0,0013 при СКФ 99 мл/мин/1,73 м². Убедительных УЗ-данных за наличие образований ОЩЖ получено не было. Снижение МПК в лучевой кости соответствовало остеопении (-2,0 SD по Т-критерию), признаки нефролитиаза при УЗИ отсутствовали. С целью коррекции гиперкальциемии у пациентки инициирована терапия кальцимитетиком (цинакальцет 30 мг/сут) с положительной динамикой кальциемии в виде снижения альбумин-скорректированного кальция до 2,81 ммоль/л. В связи с наличием остеопороза женщине дополнительно рекомендованы антиостеопоротическая терапия и прием нативного витамина D в поддерживающей дозе под контролем показателей минерального обмена. По результатам секвенирования *CASR* выявлен гетерозиготный вариант с.554G>A p.R185Q, подтверждающий FHH (рис. 4).

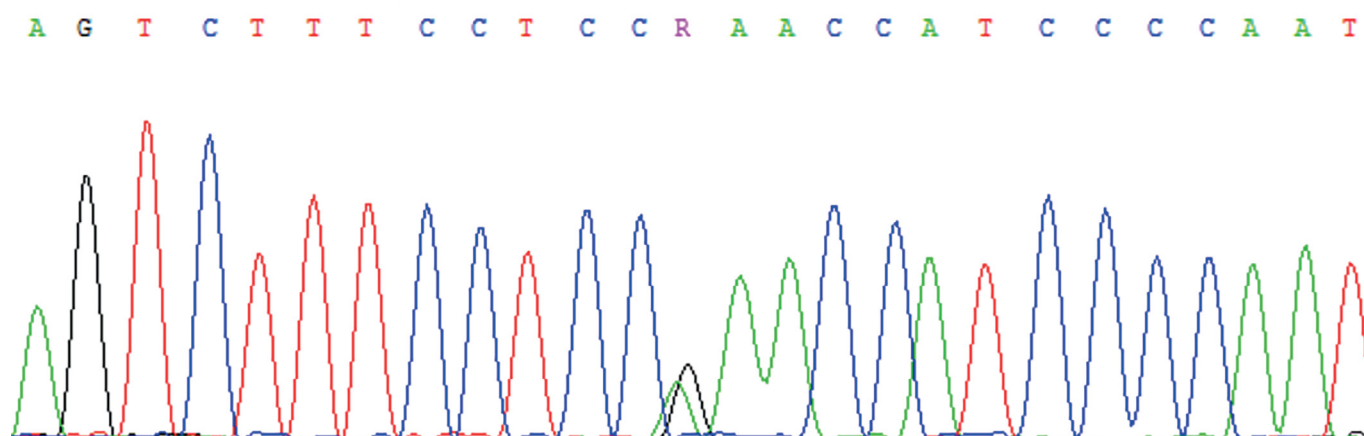


Рисунок 4. Хроматограмма 4 экзона *CASR* – секвенирование по Сэнгеру: миссенс-мутация с.554G>A.

Клинический случай № 3

Пациентка К., 63 лет, обратилась в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Из анамнеза известно, что с 56 лет она наблюдалась у эндокринолога по поводу постменопаузального остеопороза, получала терапию алендроновой кислотой в сочетании с альфакальцитолом 0,5 мкг/сут. В 2016 г. у женщины впервые было зафиксировано повышение уровня Ca^{2+} до 1,34 ммоль/л (1,16–1,32), до этого времени показатель не определялся. Расширенное обследование на предмет нарушений фосфорно-кальциевого обмена проведено только в 2018 г. В анализах крови отмечалось повышение уровня ПТГ до 9,43 пмоль/л (1,6–6,9) в сочетании со стойкой гиперкальциемией (альбумин-скорректированный кальций — 2,6–2,8 ммоль/л (2,15–2,55)), нормофосфатемией и целевым уровнем 25(OH)D (>30 нг/мл). При УЗИ визуализировалось образование в проекции левой нижней ОЩЖ размерами до 1 см. Показатели МПК по результатам рентгенденситометрии соответствовали остеопорозу, определялись эхографические признаки микролитов без снижения фильтрационной функции почек. Указанные изменения расценены как проявления ПГПТ с абсолютными показаниями к хирургическому лечению, для чего пациентка была направлена в центр.

Ввиду отсутствия данных о суточной кальциурии впервые рассчитан показатель CCCR, который составил менее 0,001. Для верификации диагноза FHN выполнено секвенирование гена *CASR*, подтвердившее наличие гетерозиготной инсерции с.362_363insTTCT:p.D121fs в 3-м экзоне. Вставка 4 нуклеотидов привела к сдвигу рамки считывания после 121 кодона.

В качестве антиостеопоротической терапии, а также для коррекции гиперкальциемии у пациентки инициирована терапия ибандроновой кислотой 3,0 мл в/в 1 раз в 3 месяца. На фоне лечения была достигнута нормокальциемия (альбумин-скорректированный кальций — 2,33 ммоль/л), ПТГ сохранялся повышенным до 19,23 пмоль/л (1,6–6,9). Было проведено обследование членов семьи пациентки: у брата альбумин-скорректированный кальций составил 2,54 ммоль/л, у младшей дочери — 2,31 ммоль/л, у старшей дочери — 2,5 ммоль/л. Учитывая высоконормальные показатели кальциемии

у брата и старшей дочери, планируется их обследование, включая расчет CCCR с последующим решением вопроса о генетическом тестировании.

ОБСУЖДЕНИЕ

Расчет CCCR в настоящее время остается одним из наиболее простых, доступных и информативных методов дифференциальной диагностики ПГПТ и FHN. Менее точным является определение суточной экскреции кальция с мочой. Совокупность использования данных методов может повысить диагностическую значимость биохимического анализа суточной мочи. Своевременное выявление FHN позволяет избежать трудоемкого и безрезультативного поиска измененных ОЩЖ и, что наиболее важно, необоснованных хирургических вмешательств. Во всех представленных клинических случаях пациенты были направлены в наш центр с целью подготовки к хирургическому лечению ПГПТ. В изученной нами литературе наиболее часто встречаются описания бессимптомной гиперкальциемии, выявленной при рутинном обследовании либо при обращении за медицинской помощью ввиду наличия неспецифических жалоб, как это наблюдалось в первом клиническом случае [8, 28].

Сложность постановки диагноза FHN у первого пациента заключалась в малосимптомном течении заболевания, наличии неспецифических жалоб, к которым больной адаптировался на протяжении нескольких лет, что привело к позднему обращению за специализированной помощью (более чем через 10 лет от первого факта выявления гиперкальциемии). Некорректно установленный диагноз ПГПТ в первом наблюдении был ассоциирован с обширным инструментальным обследованием. В двух других случаях, напротив, отмечались типичные «классические» проявления и осложнения ПГПТ: остеопороз и нефролитиаз, что, вероятно, привело к постановке ошибочного диагноза. При корректном обследовании пациентов с подозрением на ПГПТ, согласно клиническим рекомендациям, а именно своевременном определении суточной кальциурии и расчете CCCR, подобных ошибок удалось бы избежать [45].

Тщательный сбор наследственного анамнеза может помочь клиницисту в постановке диагноза и определении дальнейшей тактики обследования и лечения. Отсутствие убедительных топических данных при инструментальном обследовании и показатель CCCR менее 0,01 могут указывать на наличие FHH и отсутствие ПГПТ. Безусловно, наиболее достоверным исследованием остается проведение молекулярно-генетического анализа гена *CASR*.

Расчет CCCR является первым шагом в постановке диагноза FHH, его преимущество перед суточной экскрецией кальция заключается в более тщательном отборе пациентов для проведения дорогостоящего молекулярно-генетического исследования, возможности которого на сегодняшний день ограничены. Ряд мутаций, затрагивающих структурные изменения *CaSR*, технически не доступны для определения, что снижает вероятность выявления FHH. Однако при отсутствии мутаций в гене *CASR* у пациентов с высокой вероятностью FHH следует учитывать возможные изменения в других ассоциированных генах (*GNA11* и *AP2S1*) и обследовать родственников ближайшей линии [10, 11].

В некоторых случаях применение кальцимиметиков у пациентов с мутациями в гене *CASR* может быть эффективным, что было продемонстрировано на примере пациентки Д. [8, 43, 46]. С другой стороны, 2/3 пациентов остаются нечувствительными к препарату (первый клинический случай). Пробная терапия цинакальцетом назначалась нами при выраженной гиперкальциемии более 2,8 ммоль/л. В третьем клиническом случае наличие остеопороза смешанного генеза позволило назначить антирезорбтивную терапию бисфосфонатами, которая была направлена не только на восстановление МПК, но и на нормализацию лабораторных показателей за счет гипокальциемического эффекта препарата. В представленном случае по результатам динамического наблюдения отмечался положительный эффект в виде нормализации показателей кальция сыворотки крови.

Описанные выше наблюдения свидетельствуют о разнообразии клинических и лабораторных проявлений FHH. С высокой точностью возможно исключение FHH при CCCR более 0,02, в противном случае единственным методом верификации диагноза является проведение генетического анализа. В настоящее время в России доступно определение мутаций гена *CASR* без возможности исследования генов *GNA11* и *AP2S1*, что значительно затрудняет диагностику FHH.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Своевременная постановка диагноза FHH позволяет избежать необоснованного и трудоемкого инструментального обследования и неэффективного хирургического лечения. Родственникам ближайшей линии пациентов с FHH необходимо рекомендовать соответствующее обследование, по возможности с проведением молекулярно-генетического анализа гена *CASR*.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Поисково-аналитическая работа и подготовка статьи проведены на личные средства авторского коллектива.

Согласие пациента. Пациенты добровольно подписали информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Крупникова Ю.А., Алмасханова А.А. — сбор, анализ данных литературы, ведение пациентов, написание статьи, подготовка иллюстраций; Васильев Е.В. — молекулярно-генетический анализ, подготовка иллюстраций; Еремкина А.К., Бирик Е.Е., Мокрышева Н.Г. — редактирование статьи, ведение пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Tosur M, Lopez ME, Paul DL. Primary hyperparathyroidism versus familial hypocalciuric hypercalcemia: a challenging diagnostic evaluation in an adolescent female. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2019;24(3):195–198. doi: 10.6065/apem.2019.24.3.195.
2. Lietman SA, Tenenbaum-Rakover Y, Jap TS, et al. A novel loss-of-function mutation, Gln459Arg, of the calcium-sensing receptor gene associated with apparent autosomal recessive inheritance of familial hypocalciuric hypercalcemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(11):4372–4379. doi: 10.1210/jc.2008-2484.
3. Hannan FM, Kallay E, Chang W, et al. The calcium-sensing receptor in physiology and in calcitropic and noncalcitropic diseases. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;15(1):33–51. doi: 10.1038/s41574-018-0115-0.
4. García-Castaño A, Madariaga L, Azriel S, et al. Identification of a novel large *CASR* deletion in a patient with familial hypocalciuric hypercalcemia. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2018;2018:18-0114. doi: 10.1530/EDM-18-0114.
5. Hofer AM, Brown EM. Extracellular calcium sensing and signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4(7):530–538. doi: 10.1038/nrm1154.
6. Vahe C, Benomar K, Espiard S, et al. Diseases associated with calcium-sensing receptor. *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):19. doi: 10.1186/s13023-017-0570-z.
7. Carling T, Szabo E, Bai M, et al. Familial hypercalcemia and hypercalciuria caused by a novel mutation in the cytoplasmic tail of the calcium receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(5):2042–2047. doi: 10.1210/jcem.85.5.6477.
8. Mahajan A, Buse J, Kline G. Parathyroid hormone-dependent familial hypercalcemia with low measured PTH levels and a presumptive novel pathogenic mutation in *CaSR*. *Osteoporos Int.* 2020;31(1):203–207. doi: 10.1007/s00198-019-05170-9.
9. Yeh MW, Ituarte PH, Zhou HC, et al. Incidence and prevalence of primary hyperparathyroidism in a racially mixed population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):1122–1129. doi:10.1210/jc.2012-4022.
10. Lee JY, Shoback DM. Familial hypocalciuric hypercalcemia and related disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(5):609–619. doi: 10.1016/j.beem.2018.05.004.
11. Christensen SE, Nissen PH, Vestergaard P, Mosekilde L. Familial hypocalciuric hypercalcaemia: a review. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2011;18(6):359–370. doi: 10.1097/MED.0b013e32834c3c7c.
12. Conigrave AD, Ward DT. Calcium-sensing receptor (*CaSR*): pharmacological properties and signaling pathways. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2013;27(3):315–331. doi: 10.1016/j.beem.2013.05.010.
13. Mastromatteo E, Lamacchia O, Campo MR, et al. A novel mutation in calcium-sensing receptor gene associated to hypercalcemia and hypercalciuria. *BMC Endocr Disord.* 2014;14:81. doi: 10.1186/1472-6823-14-81.
14. Hannan FM, Nesbit MA, Zhang C, et al. Identification of 70 calcium-sensing receptor mutations in hyper- and hypo-calcaemic patients: evidence for clustering of extracellular domain mutations at calcium-binding sites. *Hum Mol Genet.* 2012;15;21(12):2768–2778. doi: 10.1093/hmg/dds105.

15. Hendy GN, Canaff L, Cole DE. The CASR gene: alternative splicing and transcriptional control, and calcium-sensing receptor (CaSR) protein: structure and ligand binding sites. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2013;27(3):285–301. doi: 10.1016/j.beem.2013.02.009.
16. Neer EJ. G-proteins: critical control points for transmembrane signals. *Protein Sci.* 1994;3(1):3–14. doi: 10.1002/pro.5560030102.
17. Nesbit MA, Hannan FM, Howles SA, et al. Mutations affecting G-protein subunit $\alpha 11$ in hypercalcemia and hypocalcemia. *N Engl J Med.* 2013;368(26):2476–2486. doi: 10.1056/NEJMoa1300253.
18. Nesbit MA, Hannan FM, Howles SA, et al. Mutations in AP2S1 cause familial hypocalciuric hypercalcemia type 3. *Nat Genet.* 2013;45(1):93–97. doi: 10.1038/ng.2492.
19. Hendy GN, Canaff L, Newfield RS, et al. Codon Arg15 mutations of the AP2S1 gene: common occurrence in familial hypocalciuric hypercalcemia cases negative for calcium-sensing receptor (CASR) mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(7):E1311–1315. doi: 10.1210/jc.2014-1120.
20. Vargas-Poussou R, Mansour-Hendili L, Baron S, et al. Familial Hypocalciuric Hypercalcemia Types 1 and 3 and Primary Hyperparathyroidism: Similarities and Differences. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(5):2185–2195. doi: 10.1210/jc.2015-3442.
21. Law WM Jr, Heath H. Familial benign hypercalcemia (hypocalciuric hypercalcemia). Clinical and pathogenetic studies in 21 families. *Ann Intern Med.* 1985;102(4):511–519. doi: 10.7326/0003-4819-102-4-511.
22. Gunganah K, Grossman A, Druce M. Recurrent pancreatitis in a patient with familial hypocalciuric hypercalcaemia treated successfully with cinacalcet. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep.* 2014;140050. doi: 10.1530/EDM-14-0050.
23. Marx SJ, Stock JL, Attie MF, et al. Familial hypocalciuric hypercalcemia: recognition among patients referred after unsuccessful parathyroid exploration. *Ann Intern Med.* 1980;92(3):351–356. doi: 10.7326/0003-4819-92-3-351.
24. Davies M, Klimiuk PS, Adams PH, et al. Familial hypocalciuric hypercalcaemia and acute pancreatitis. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1981;282(6269):1023–1025. doi: 10.1136/bmj.282.6269.1023.
25. Volpe A, Guerriero A, Marchetta A, et al. Familial hypocalciuric hypercalcemia revealed by chondrocalcinosis. *Joint Bone Spine.* 2009;76(6):708–710. doi: 10.1016/j.jbspin.2009.02.001.
26. McMurtry CT, Schranck FW, Walkenhorst DA, et al. Significant developmental elevation in serum parathyroid hormone levels in a large kindred with familial benign (hypocalciuric) hypercalcemia. *Am J Med.* 1992;93(3):247–258. doi: 10.1016/0002-9343(92)90229-5.
27. Masson E, Chen JM, Férec C. Overrepresentation of Rare CASR coding variants in a sample of young french patients with idiopathic chronic pancreatitis. *Pancreas.* 2015;44(6):996–998. doi: 10.1097/MPA.0000000000000361.
28. Carlsson ER, Nielsen MB, Høgh AM, et al. A novel mutation of the calcium-sensing receptor gene causing familial hypocalciuric hypercalcemia complicates medical followup after roux-en-y gastric bypass: a case report and a summary of mutations found in the same hospital laboratory. *Case Rep Endocrinol.* 2019;13;2019:9468252. doi: 10.1155/2019/9468252.
29. Hannan FM, Babinsky VN, Thakker RV. Disorders of the calcium-sensing receptor and partner proteins: insights into the molecular basis of calcium homeostasis. *J Mol Endocrinol.* 2016;57(3):R127–142. doi: 10.1530/JME-16-0124.
30. Мокрышева Н.Г., Крупинова Ю.А., Бибики Е.Е., Мельниченко Г.А. Когнитивные нарушения при первичном гиперпаратиреозе // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика.* — 2019. — Т.11. — №1. — С. 103–108. [Mokrysheva NG, Krupinova YA, Bibiki EE, Melnichenko GA. Cognitive impairment in primary hyperparathyroidism. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics.* 2019;11(1):103–108. (In Russ.)]. doi: 10.14412/2074-2711-2019-1-103-108.
31. Hannan FM, Howles SA, Rogers A, et al. Adaptor protein-2 sigma subunit mutations causing familial hypocalciuric hypercalcaemia type 3 (FHH3) demonstrate genotype-phenotype correlations, codon bias and dominant-negative effects. *Hum Mol Genet.* 2015;24(18):5079–5092. doi: 10.1093/hmg/ddv226.
32. Christensen SE, Nissen PH, Vestergaard P, et al. Discriminative power of three indices of renal calcium excretion for the distinction between familial hypocalciuric hypercalcaemia and primary hyperparathyroidism: a follow-up study on methods. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2008;69(5):713–720. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03259.x.
33. Bilezikian JP, Cusano NE, Khan AA, et al. Primary hyperparathyroidism. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;19;2:16033. doi: 10.1038/nrdp.2016.33.
34. Walker MD, Silverberg SJ. Primary hyperparathyroidism. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(2):115–125. doi: 10.1038/nrendo.2017.104.
35. Eastell R, Brandi ML, Costa AG, et al. Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):3570–3579. doi: 10.1210/jc.2014-1414.
36. Heath DA. Familial hypocalciuric hypercalcemia. *Rev Endocr Metab Disord.* 2000;1(4):291–296. doi: 10.1023/a:1026566418011.
37. Bilezikian JP, Potts JT Jr, Fuleihan GH, et al. Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(12):5353–5361. doi: 10.1210/jc.2002-021370.
38. Silverberg SJ, Clarke BL, Peacock M, et al. Current issues in the presentation of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(10):3580–3594. doi: 10.1210/jc.2014-1415.
39. Forde HE, Hill AD, Smith D. Parathyroid adenoma in a patient with familial hypocalciuric hypercalcaemia. *BMJ Case Rep.* 2014;2014:bcr2014206473. doi: 10.1136/bcr-2014-206473.
40. Marx SJ. Calcimimetic use in familial hypocalciuric hypercalcemia—a perspective in endocrinology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(11):3933–3936. doi: 10.1210/jc.2017-01606.
41. D'Souza-Li L. The calcium-sensing receptor and related diseases. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(4):628–639. doi: 10.1590/s0004-27302006000400008.
42. Vannucci L, Brandi ML. Familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Front Horm Res.* 2019;51:52–62. doi: 10.1159/000491038.
43. Timmers HJ, Karperien M, Hamdy NA, et al. Normalization of serum calcium by cinacalcet in a patient with hypercalcaemia due to a de novo inactivating mutation of the calcium-sensing receptor. *J Intern Med.* 2006;260(2):177–182. doi: 10.1111/j.1365-2796.2006.01684.x.
44. Mayr B, Schnabel D, Dörr HG, Schöfl C. Genetics in endocrinology: Gain and loss of function mutations of the calcium-sensing receptor and associated proteins: current treatment concepts. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(5):R189–208. doi: 10.1530/EJE-15-1028.
45. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Мокрышева Н.Г., и др. Первичный гиперпаратиреоз: клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы лечения // *Проблемы эндокринологии.* — 2016. — Т.62. — №6. — С. 40–77. [Dedov II, Melnichenko GA, Mokrysheva NG, et al. Primary hyperparathyroidism: the clinical picture, diagnostics, differential diagnostics, and methods of treatment. *Problems of Endocrinology.* 2016;62(6):40–77. (In Russ.)]. doi: 10.14341/probl20166240-77.
46. Caillaux A, Vuillermet P, Basuyau JP, et al. A step towards cinacalcet testing for the diagnosis of primary hyperparathyroidism: comparison with the standardized intravenous calcium loading. A pilot study. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;82(5):663–669. doi: 10.1111/cen.12729.

Рукопись получена: 01.05.2020. Одобрена к публикации: 09.06.2020. Опубликовано online: 24.07.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Крупина Юлия Александровна** [Julia A. Krupinova, MD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: 0000-0001-7963-5022; eLibrary SPIN: 6279-8247; e-mail: j.krupinova@gmail.com

Алмасханова Алина Анатольевна [Alina A. Almaskhanova, medical resident]; e-mail: alina-almaskhanova@yandex.ru; ORCID: 0000-0002-2320-2532; eLibrary SPIN: 8944-0460

Еремкина Анна Константиновна, к.м.н. [Anna K. Eremkina, MD, PhD]; e-mail: a.lipatenkova@gmail.com; ORCID: 0000-0001-6667-062X; eLibrary SPIN: 8848-2660

Бибик Екатерина Евгеньевна [Ekaterina E. Bibik, MD]; e-mail: bibikaterina@mail.ru; ORCID: 0000-0001-5952-5846; eLibrary SPIN: 8522-9466

Васильев Евгений Витальевич, к.б.н. [Evgeny V. Vasilyev]; e-mail: vas-evg@gmail.ru; ORCID: 0000-0003-1107-362X; eLibrary SPIN: 5767-1569

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., профессор [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD, Professor]; e-mail: parathyroid.enc@gmail.com; ORCID: 0000-0002-9717-9742; eLibrary SPIN: 5624-3875

ЦИТИРОВАТЬ:

Крупина Ю.А., Алмасханова А.А., Еремкина А.К., Бибик Е.Е., Васильев Е.В., Мокрышева Н.Г. Серия клинических случаев синдрома семейной гипокальциурической гиперкальциемии // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 61–69. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12537>

TO CITE THIS ARTICLE:

Krupinova JA, Almaskhanova AA, Eremkina AK, Bibik EE, Vasilyev EV, Mokrysheva NG. A series of clinical cases of familial hypocalciuric hypercalcemia syndrome *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):61–69. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12537>

ПРИМЕНЕНИЕ АНАЛОГОВ СОМАТОСТАТИНА ПРОЛОНГИРОВАННОГО ДЕЙСТВИЯ ПРИ ВРОЖДЕННОМ ГИПЕРИНСУЛИНИЗМЕ



© Е.Э. Новокрещенных, Д.Н. Губаева*, М.А. Меликян

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Дети с врожденным гиперинсулинизмом (ВГИ), тяжелым орфанным заболеванием по-прежнему являются одними из наиболее трудных пациентов в практике врача-эндокринолога. Использование препаратов первой и второй линии не всегда эффективно и имеет ряд ограничений. В качестве альтернативной инсулиностатической терапии возможно применение аналога соматостатина длительного действия — ланреотида. Основное преимущество ланреотида состоит в достижении более стойкой концентрации препарата в крови, позволяющем минимизировать количество инъекций. Однако на сегодняшний день опыт применения ланреотида в лечении ВГИ ограничен небольшими группами пациентов. Также существует проблема отсутствия единой схемы терапии, в клинической практике отмечается потребность в калькуляторе расчета начальной эффективной дозы препарата.

ЦЕЛЬ. Оценка эффективности и безопасности терапии ланреотидом при лечении ВГИ у детей.

МЕТОДЫ. Проведено открытое одноцентровое ретроспективное исследование на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ. В исследование были включены пациенты детского возраста с ВГИ и доказанным диазоксид-резистентным течением заболевания, исходно получавшие терапию октреотидом в виде дробных подкожных инъекций или непрерывной подкожной инфузии с помощью помп. Оценивались показатели эффективности и безопасности терапии на фоне приема ланреотида на момент первой инъекции и после повторных инъекций на момент последнего очередного визита.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Группа исследования включала 12 пациентов. Компенсации углеводного обмена удалось достичь у 67% испытуемых (8/12). Полная эффективность терапии отмечалась у 8/12 пациентов (67%), частичная — у 3/12 (25%), отсутствие эффекта констатировано у 1/12 пациента (8%). Возраст пациентов на момент назначения ланреотида составлял 6 мес (5; 15). По данным исследования, наиболее эффективным является применение ланреотида в дозе 3,5–5,5 мг/кг/мес. Значимых побочных эффектов от терапии в нашей группе пациентов выявлено не было.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Применение ланреотида у пациентов с диазоксид-резистентным течением ВГИ оказалось эффективным и безопасным у подавляющего большинства пациентов. Более того, нам удалось найти решение клинического вопроса по расчету эффективной дозировки ланреотида у пациентов с ВГИ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: врожденный гиперинсулинизм; гипогликемия; ланреотид; аналоги соматостатина.

THE USE OF LONG-ACTING SOMATOSTATIN ANALOGS IN CONGENITAL HYPERINSULINISM

© Evgeniya E. Novokreshhennykh, Diliara N. Gubaeva*, Maria A. Melikyan

Endocrinology research Centre, Moscow, Russia

BACKGROUND: Children with congenital hyperinsulinism (CHI), a severe orphan disease, are still one of the most demanding patients in the endocrinology practice. The use of first- and second-line drugs is not always effective and has a number of restrictions. Lanreotide — long-acting somatostatin — represents an alternative insulinostatic therapy. The main advantage of lanreotide is stable concentration of the drug in the blood that enables minimizing the number of injections. However, the experience of using lanreotide in the treatment of CHI is limited to small groups of patients. There is also a problem of the absence of a standardized regimen in clinical practice; and the calculator for evaluating the initial effective drug dose is needed.

AIM of the study is to evaluate the effectiveness and safety of lanreotide therapy in the treatment of CHI in children.

MATERIALS AND METHODS: An open single-center observational study was conducted on the basis of Endocrinology Research Centre. The study included diazoxide-unresponsive pediatric patients with CHI who were initially treated with octreotide in different modes: multiple daily subcutaneous injections or continuous subcutaneous infusion via pumps. The indicators of the effectiveness and safety of the lanreotide therapy were evaluated shortly after the first injection and lately on a regular visit after further injections.

RESULTS: The study group included 12 patients. Persistent euglycaemia was achieved in 67% of the subjects (8/12). Complete effectiveness of the therapy was observed in 8/12 patients (67%), partial — in 3/12 (25%), and lack of effectiveness — in 1/12 of the patient (8%). The age of the patients at the time of lanreotide administration was 6 months (5; 15). According to the study, the most effective dose of lanreotide is 3.5–5.5 mg/kg/month. There were no significant side effects observed.

CONCLUSIONS: The use of lanreotide in patients with diazoxide-resistant congenital hyperinsulinism was effective and safe in the vast majority of the patients. Moreover, we were able to calculate the effective dosage of lanreotide in CHI patients which fulfilled the clinical demand.

KEYWORDS: congenital hyperinsulinism; hypoglycaemia; lanreotide; somatostatin analogues.

ОБОСНОВАНИЕ

Врожденный гиперинсулинизм (ВГИ) — это гетерогенное наследственное заболевание, характеризующееся неадекватной секрецией инсулина β -клетками поджелудочной железы, что ведет к развитию персистирующих гипогликемий в детском возрасте. По данным литературы, частота встречаемости ВГИ составляет 1:30 000–1:50 000 в общей популяции и 1:2500 в закрытых популяциях с высоким процентом близкородственных браков [1]. Поддержание эугликемии у пациентов с ВГИ критически важно для благополучного развития ребенка. К сожалению, препараты первой и второй линии (дiazоксид, октреотид) не всегда эффективны и имеют ряд недостатков, поэтому в данном исследовании мы представляем результаты по использованию альтернативного препарата — ланреотида — у детей с ВГИ.

Выбор тактики терапии напрямую зависит от морфологической формы заболевания. При фокальной форме заболевания (40–50% случаев ВГИ, поражение небольшого участка поджелудочной железы) оптимальным методом лечения является проведение частичной резекции фокуса, что ведет к выздоровлению пациента при сохранении секреторной функции поджелудочной железы [2, 3]. Пациентам с диффузной (50–60% случаев ВГИ, поражение всего островкового аппарата поджелудочной железы) и атипичной (5% случаев ВГИ, сочетание признаков как диффузного, так и фокального поражения) формами заболевания рекомендовано консервативное лечение [3]. В случае резистентности к терапии проводится субтотальная панкреатэктомия, что неизбежно приводит к развитию инсулинозависимого сахарного диабета и экзокринной недостаточности поджелудочной железы [4]. Именно поэтому в лечении диффузной формы ВГИ предпочтительнее применение консервативной инсулиностатической терапии.

Препаратом первой линии является diaзоксид. Являясь агонистом АТФ-зависимых К-каналов, diaзоксид снижает деполяризацию мембраны β -клетки с последующим блокированием секреции инсулина [5]. Однако в 35% случаев диффузных форм заболевания терапия diaзоксидом оказывается неэффективной [3]. При отсутствии положительного эффекта от терапии diaзоксидом применяется инсулиностатический препарат второй линии — октреотид (аналог соматостатина короткого действия). Фармакокинетика октреотида и способ введения ограничивают его применение у детей [6]. При подкожном введении октреотида его максимальная концентрация в крови наблюдается через 30 мин, а время полувыведения составляет 100 мин, что ведет к резкому колебанию уровня гликемии (гипергликемии через 30–60 мин после инъекции, гипогликемии через 5–7 ч после инъекции) [3, 6]. Режим множественных подкожных инъекций каждые 4–6 ч позволяет достичь стойкой концентрации препарата в крови,

но значительно снижает качество жизни пациента и его семьи [6]. Также существует методика введения октреотида в виде непрерывной подкожной инфузии с использованием инсулиновых помп [3]. Однако постоянное ношение помпы существенно ограничивает двигательную активность детей младшего возраста, кроме того, существуют риски удаления канюли (например, в ночные часы), что создает высокие риски гипогликемии у детей первых 3 лет жизни.

В качестве альтернативной инсулиностатической терапии diaзоксид-резистентных форм ВГИ возможно применение аналога соматостатина длительного действия — ланреотида. Ланреотид — синтетический аналог соматостатина, представляющий собой циклический октапептид, обладающий медленным ферментативным расщеплением и высокой избирательностью действия по отношению к соматостатиновым рецепторам (SSTR1-SSTR5) [7]. В поджелудочной железе соматостатин оказывает ингибирующее действие на высвобождение глюкагона и инсулина из островковых клеток поджелудочной железы. Преимущество ланреотида состоит в длительном периоде полувыведения (23–30 дней), что позволяет добиться более стойкой концентрации препарата в крови [8]. Кроме того, меньшая частота введения препарата способствует улучшению качества жизни пациента и его семьи. На сегодняшний день опыт применения аналогов соматостатина длительного действия в лечении ВГИ ограничен единичными случаями и небольшими группами пациентов [9–11]. Также существует проблема отсутствия единой схемы терапии ланреотидом, в клинической практике отмечается потребность в калькуляторе расчета эффективной дозы препарата [12].

ЦЕЛЬ

Целью нашего исследования является оценка эффективности и безопасности терапии аналогами соматостатина пролонгированного действия при лечении ВГИ у детей.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено открытое одноцентровое ретроспективное исследование с оценкой медицинских данных 12 пациентов, которые были переведены на аналог соматостатина пролонгированного действия (ланреотид).

Критерии соответствия

В исследование были включены пациенты от 0 до 18 лет с диффузной формой ВГИ и diaзоксид-резистентным течением заболевания, находящиеся на терапии октреотидом, родители/законные представители которых предоставили информированное согласие на участие.

Диагноз и форма заболевания были подтверждены данными генетического анализа и радионуклидного исследования (позитронно-эмиссионная компьютерная томография (ПЭТ) с ^{18}F -ДОФА). Резистентность к терапии диазоксидом определялась как сохранение 2 и более гипогликемических эпизодов в сутки (гликемия менее $3,5$ ммоль/л) на фоне терапии диазоксидом в максимальной дозировке $15\text{--}20$ мг/кг/сут в течение не менее 7 дней.

Условия проведения

Набор пациентов проводился на базе Института детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ.

Продолжительность исследования

Исследование проведено в период с января 2014 г. по май 2020 г.

Описание медицинского вмешательства

Согласно клиническим рекомендациям, всем детям проводилась стартовая терапия диазоксидом с постепенным повышением дозы до $15\text{--}20$ мг/кг/сут. В связи с отсутствием компенсации углеводного обмена, сохранением гипогликемических состояний на фоне нормального режима питания терапия диазоксидом была отменена. Затем был использован препарат второй линии, октреотид, в режиме подкожных инъекций или непрерывной подкожной инфузии с применением помп, на фоне чего отмечалась относительная компенсация заболевания. Для улучшения качества жизни и снижения количества подкожных инъекций, а также уменьшения рисков гипогликемии при неисправности работы помп пациентам был рекомендован переход на терапию аналогом соматостатина длительного действия (ланреотидом). Стартовая доза ланреотида у всех пациентов, независимо от исходной дозы октреотида, возраста и веса, составляла 30 мг/мес. Препарат вводился ежемесячно. Коррекция дозы ланреотида проводилась по результатам гликемического профиля и проведения контрольных гормональных тестов.

Эффективность терапии оценивалась по результатам контрольной пробы с голоданием с оценкой инсулина в плазме крови в момент гипогликемии и по данным гликемического профиля. *Полная эффективность* определялась у пациентов при сохранении целевых показателей гликемии ($4,0\text{--}8,0$ ммоль/л), вместе со снижением инсулина менее $2,0$ мЕд/мл в конце пробы с голоданием, а также при отсутствии гипогликемии в течение дня по данным гликемического профиля. *Частичной эффективностью* считались положительные результаты пробы с голоданием у пациентов с наличием гипогликемии в течение суток. Необходимость повышения дозы определялась либо наличием гипогликемии (менее $3,5$ ммоль/л) по результатам пробы с голоданием, либо при фиксировании 2 и более гипогликемий в течение дня. Решение о снижении дозировки ни у одного пациента принято не было.

Для оценки безопасности терапии были выполнены следующие исследования: анализ анамнестических данных (наличие диспепсии — отрыжка/изжога/тошнота/

рвота/боли в животе/вздутие живота/нарушение частоты дефекации/нарушение консистенции стула); клинический осмотр по стандартной методике с оценкой антропометрических данных (SDS роста, SDS скорости роста и SDS инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) на возраст пациента); биохимический анализ крови (глюкоза, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ)); гормональный анализ крови (ИФР-1, тиреотропный гормон (ТТГ), свободный тироксин (свТ4)); ультразвуковое исследование (УЗИ) брюшной полости. *Ранние побочные эффекты* оценивались в течение 1 мес после первой инъекции препарата, *поздние побочные эффекты* — после повторных инъекций препарата на момент последнего очередного визита.

Основные конечные точки исследования для оценки эффективности:

- количество пациентов с полной и частичной эффективностью на фоне терапии ланреотидом;
- количество пациентов с положительным эффектом от терапии в зависимости от дозы препарата;
- количество пациентов с положительным эффектом от терапии в зависимости от расчетной дозы препарата на вес пациента;
- зависимость подобранной терапевтической дозы ланреотида от изначальной дозы октреотида.

Основные конечные точки в разделе безопасности:

- количество пациентов, у которых отмечались ранние и поздние побочные эффекты;
- структура ранних и поздних побочных эффектов ланреотида;
- зависимость наличия поздних побочных эффектов от дозы препарата.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Методика проведения пробы с голоданием

Перед началом пробы детям выполнялась постановка периферического венозного катетера. Контроль капиллярной гликемии проводился каждый час при гликемии выше $4,5$ ммоль/л, каждые 30 мин при гликемии от $3,5$ до $4,4$ ммоль/л, каждые 15 мин при гликемии от $3,0$ до $3,4$ ммоль/л. Проба останавливалась при достижении гипогликемии менее $3,0$ ммоль/л. На этом фоне детям производился забор крови на глюкозу и инсулин.

Мониторинг гликемии проводился в отделении с использованием аппаратов суточного мониторинга гликемии (CGMS Medtronic MiniMed, США) и портативных глюкометров не реже чем каждые 3 ч в течение суток.

Биохимические исследования проводились на базе биохимической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» на биохимическом анализаторе Hitachi 912 (Япония) стандартными наборами La Roche.

Гормональные исследования выполнены в лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». Анализ уровня инсулина проведен методом усиленной электрохемилюминесценции на анализаторе Cobras 6000 (La Roche). Уровень ИФР-1 исследовался методом электрохемилюминесценции на анализаторе Liason (DiaSorin). Уровень ТТГ и свТ4 определяли методом твердофазного

иммуноферментного анализа (ИФА) при помощи системы Architect (Abbott, США).

Этическая экспертиза

Перед включением в регистр у пациентов или их законных представителей было получено информированное согласие на обработку и использование данных. Протокол исследования одобрен локальным Комитетом по этике ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (Протокол №1 от 22.01.2014).

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета прикладных программ Microsoft Office Excel 2010 и Statistica 12.0. Качественные данные выборки представлялись с указанием абсолютной и относительной частот признака. Относительная частота признака выражалась в процентах. Количественные данные приведены в виде медианы и квартилей Me (Q25; Q75). Сравнение двух независимых групп по качественному признаку производилось по критерию Манна–Уитни. Сила корреляции рассчитывалась по критерию Спирмена. Достаточная степень значимости была принята за p менее 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Группа исследования включала 12 пациентов (4 мальчика и 8 девочек). У всех детей диагноз был подтвержден генетически: у 11 пациентов выявлены мутации в генах *ABCC8/KCNJ11* (92%), у одного ребенка обнаружена мутация в гене *GCK* (8%). По данным ПЭТ с 18F-ДОФА, у всех пациентов установлена диффузная форма заболевания. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 1. В трех случаях до начала терапии ланреотидом было проведено оперативное вмешательство (резекция 85% поджелудочной железы у пациента 1, резекция 90% поджелудочной железы у пациента 4, субтотальная панкреатэктомия с удалением 98% ткани железы у пациента 5).

Основные результаты исследования

Эффективность терапии

В связи с отсутствием эффекта от терапии препаратом первой линии (диазоксид), относительной компенсации гликемии на фоне терапии октреотидом, а также с целью улучшения качества жизни на фоне режима множественных инъекций данная группа пациентов была переведена на аналог соматостатина пролонгированного действия (ланреотид, торговое название «Соматулин

Таблица 1. Клинические данные пациентов, включенных в исследование.

Пациент	Возраст манифестации заболевания	Результаты генетического исследования	Оперативное лечение
1	В 1-е сутки жизни	Гомозиготная мутация с.G286A: p.A96T в гене <i>KCNJ11</i>	Нет
2	В 1-е сутки жизни	Компаундная гетерозиготная мутация с.G1332T:p.Q444H, p.R1250X в гене <i>ABCC8</i>	Субтотальная панкреатэктомия (85%)
3	В 1-е сутки жизни	Две гетерозиготные мутации с.C761T: p.P254L и с.G868A: p.V290M в гене <i>KCNJ11</i>	Нет
4	В 1-е сутки жизни	Гомозиготная мутация с. G221A: p.R74Q в гене <i>ABCC8</i>	Субтотальная панкреатэктомия (90%)
5	1 год 1 месяц	Гетерозиготная мутация с.1361_1363dupCGG в гене <i>GCK</i>	Субтотальная панкреатэктомия (98%)
6	В 1-е сутки жизни	Гетерозиготная мутация с.122T>G:p.A41C в гене <i>ABCC8</i>	Нет
7	В 1-е сутки жизни	Компаундная гетерозиготная мутация с.C4306T:p.R1436X и с.G2921-9A в гене <i>ABCC8</i>	Нет
8	В 1-е сутки жизни	Гомозиготная мутация с.617G>A:p.R206H в гене <i>KCNJ11</i>	Нет
9	В 1-е сутки жизни	Гомозиготная мутация с.T259C:p.C87R в гене <i>ABCC8</i>	Нет
10	3 мес	Гетерозиготная мутация с.C4475T: p.A1492V в гене <i>ABCC8</i>	Нет
11	В 1-е сутки жизни	Гетерозиготная мутация с.3623_3625delAAG: p.E1208del в гене <i>ABCC8</i>	Нет
12	В 1-е сутки жизни	Гетерозиготная мутация с.4160 4162delTCT: p.F1387del в гене <i>ABCC8</i>	Нет

Таблица 2. Основные параметры терапии ланреотидом

Пациент	Возраст начала терапии	Доза октреотида на момент начала терапии, мкг/кг/сут	Эффективная доза ланреотида (или максимальная доза при отсутствии эффективности), мкг/мес (мг/кг/мес)	Эффективность п — полная, ч — частичная, о — отсутствие	Кратность инъекций, после которой достигнута компенсация/субкомпенсация	Длительность терапии	Ранние побочные эффекты терапии	Поздние побочные эффекты терапии
1	4 года 6 мес	5,5	60 (2,4)	п	3	76 мес	-	Стеаторея. Диспепсия. Липомы в месте инъекций
2	1 год 4 мес	6	60 (3,8)	ч	-	8 мес (терапия завершена)	Стеаторея	-
3	5 мес	10,8	30 (3,6)	п	1	42 мес	Нет	Стеаторея. Гипергликемии. Липомы в месте инъекций
4	1 год 2 мес	8,5	60 (4,8)	п	5	52 мес	Нет	Однократное повышение трансаминаз. Гипергликемии
5	2 года 2 мес	13,2	60 (3,9)	ч	-	8 мес	Диспепсия	Не оценены
6	7 мес	6,3	60 (5,5)	п	2	23 мес	Нет	Диспепсия
7	6 мес	6,3	45 (5,5)	п	1	12 мес	Нет	Не оценены
8	6 мес	13,5	90 (5,5)	ч	-	9 мес	Нет	Нет
9	5 мес	10,3	60 (6,8)	п	2	9 мес	Нет	Стеаторея
10	6 мес	2,4	45 (6,5)	п	1	10 мес	Стеаторея. Гипергликемия	Нет
11	7 мес	10,5	60 (7,5)	о	-	2 мес (терапия завершена)	Нет	Отек лица
12	5 мес	2,5	45 (5,1)	п	1	4 мес	Нет	Не оценены

Аутожель»). Возраст пациентов на момент назначения ланреотида составлял 6 мес (5; 15) (табл. 2).

Для всех пациентов, независимо от исходной дозы октреотида, возраста и веса, стартовая доза ланреотида равнялась 30 мг/мес. Дальнейшая коррекция проводилась по результатам пробы с голоданием. Медиана эффективной дозы составила 60 мг/мес (45; 60), медиана продолжительности терапии на момент последнего визита к врачу — 9,5 мес (8; 32,5).

По результатам нашего исследования, при переводе пациентов на аналог соматостатина пролонгированного действия дальнейшее лечение продолжили 10 из 12 детей. Полная эффективность терапии отмечалась у 8/12 пациентов (67%), частичная — у 3/12 (25%), отсутствие эффективности — у 1/12 пациента (8%). Пациент 2 с частичной эффективностью получал терапию ланреотидом 60 мг/мес в течение 8 мес, однако в связи с сохранением эпизодов гипогликемии пациенту была проведена повторная субтотальная панкреатэктомия (95%). Пациенты 5 и 8 с частичной эффективностью продолжают получать терапию ланреотидом и находятся на частом кормлении для поддержания эугликемии. У пациента 11 терапия препаратом в дозировке 60 мг/мес была прекращена через 2 мес в связи с неэффективностью (сохранение гипогликемий на фоне увеличения дозы ланреотида) и побочным эффектом (отек лица после инъекции).

В настоящее время у данного пациента удалось достичь компенсации углеводного обмена на фоне терапии октреотидом методом непрерывной подкожной инфузии с помощью помпы.

Дополнительно мы рассчитали эффективность терапии в зависимости от применяемой дозировки (рис. 1).

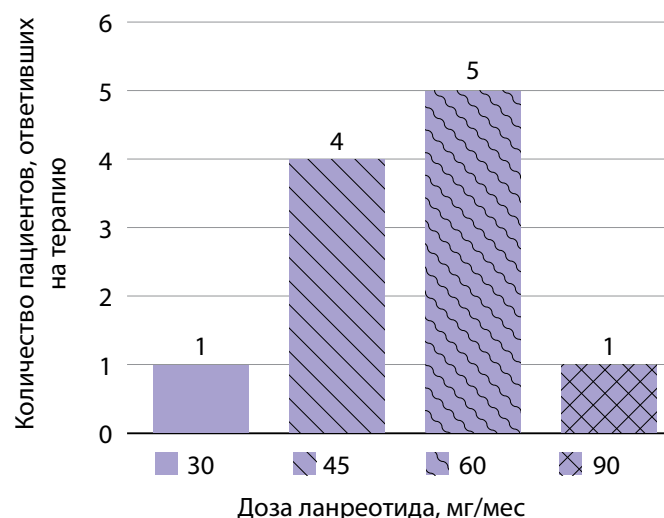


Рисунок 1. Эффективность терапии в зависимости от дозы, мг/мес.

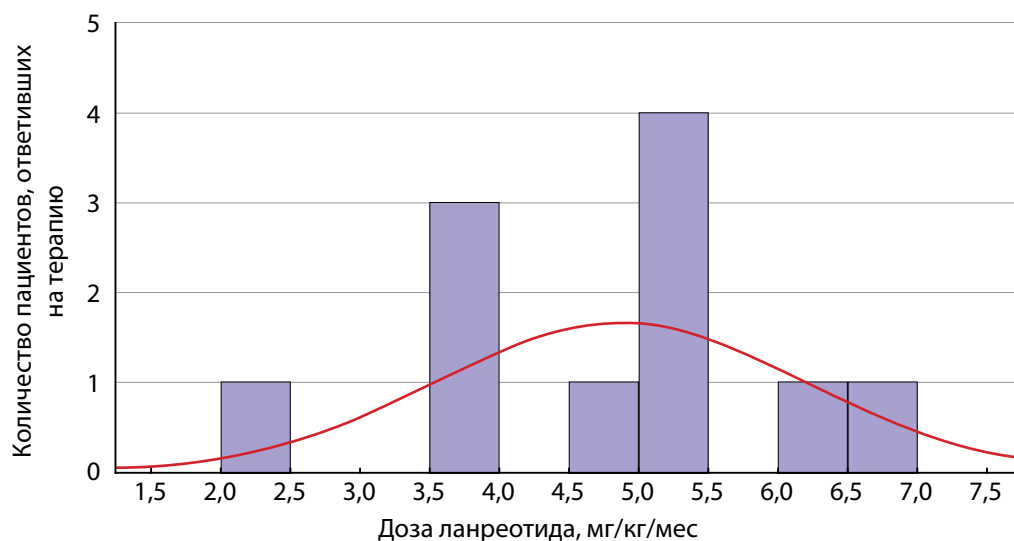


Рисунок 2. Эффективность терапии в зависимости от дозы на массу тела пациента, мг/кг/мес

В большинстве случаев (91%) полная или частичная эффективность была достигнута на фоне применения ланреотида в дозировках 45 и 60 мг/мес. (95%, 10/11).

Также в исследовании были проанализированы терапевтические дозы аналога соматостатина пролонгированного действия в расчете на массу тела ребенка (рис. 2). По нашим данным, наиболее эффективным является применение ланреотида в дозе 3,5–5,5 мг/кг/мес. Компенсации углеводного обмена на данной дозировке удалось достичь у 67% испытуемых (8/12).

По полученным результатам, предварительный расчет эффективной дозы ланреотида только на основании дозы октреотида не представляется возможным, так как между данными показателями не отмечено значимой корреляционной связи (критерий Спирмена = –0,21).

Безопасность терапии

На фоне терапии ланреотидом побочные эффекты были зафиксированы у 9/12 пациентов (75%). Анализ ранних побочных эффектов был проведен у всех пациентов в течение месяца после введения первой инъекции ланреотида. Троим пациентам не было проведено стационарное обследование после повторных инъекций ланреотида, поэтому оценка поздних побочных эффектов была невозможна. У 3/12 пациентов отмечались ранние, а у 6/9 — поздние побочные эффекты (см. табл. 2). Также каждый из побочных эффектов был оценен по частоте встречаемости (табл. 3).

Наиболее частыми ранними побочными эффектами являлись стеаторея (25%) и гипергликемия в 1-е сутки после инъекции (16%). У одного ребенка в течение 1-х суток после инъекции наблюдались диспепсические проявления (абдоминальные боли, разжиженный стул). Также у пациента 11 отмечались нежелательные реакции в виде отека лица после повторной инъекции, в связи с чем терапия была отменена.

Среди поздних нежелательных проявлений также наиболее часто наблюдалась стеаторея (33%). У каждого пятого пациента отмечались такие побочные эффекты, как гипергликемия в 1-е сутки после инъекции, диспепсические проявления и образование подкожных липом. Серьезный побочный эффект в виде повышения печеночных трансаминаз (АЛТ 86 Ед/л, АСТ 66 Ед/л) зафиксирован у одного пациента. Однако, по данным анамнеза, аналогичные повышения трансаминаз наблюдались и до начала терапии

Таблица 3. Структура ранних и поздних побочных эффектов, %.

Побочные эффекты	Ранние, n=12	Поздние, n=9
Стеаторея	25	33
Гипергликемия	16	22
Диспепсия	8	22
Кожные липомы	0	22
Повышение печеночных ферментов	0	11
Отек лица	0	11
Холелитиаз	0	0
Гипотиреоз	0	0
Снижение скорости роста/ИФР-1	0	0

Таблица 4. Характеристики роста и скорости роста на фоне терапии.

Показатели	До терапии Ме	На фоне терапии Ме (Q1; Q3)
SDS роста	0,03 (-0,51; 1,24)	0,22 (-0,22; 1,25)
SDS скорости роста	-	0,21 (-1,16; 1,93)
SDS ИФР-1	-	0,90 (-0,30; 2,34)

октреотидом и ланреотидом. По поводу цитолиза ребенку была назначена терапия препаратами урсодезоксихолевой кислоты в течение 3 мес с положительным эффектом (показатели АЛТ и АСТ нормализовались).

Учитывая возможное ингибирующее влияние ланреотида на скорость роста, были подробно оценены SDS роста, SDS скорости роста и SDS ИФР-1 до и на фоне терапии (табл. 4). На момент начала терапии показатели роста пациентов были в пределах нормы. На фоне лечения

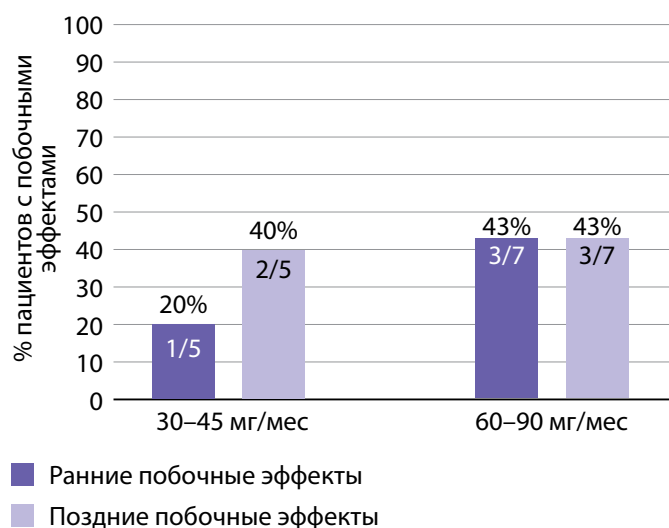


Рисунок 3. Побочные эффекты на фоне применения различных доз ланреотида.

при дальнейших обследованиях задержки роста у детей выявлено не было, на момент последнего осмотра медиана скорости роста составляла +0,21. Показатели ИФР-1 находились в пределах референсных значений.

Кроме того, в нашем исследовании была проанализирована зависимость наличия поздних побочных эффектов от дозы препарата (рис. 3). Согласно полученным данным, доза препарата не влияла на развитие поздних нежелательных явлений ($p=1,0$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Резюме основного результата исследования

Эффективность терапии ланреотидом была отмечена у большинства пациентов в исследовании. Побочные эффекты не являлись жизнеугрожающими и не привели к отмене препарата.

Обсуждение основного результата исследования

Несмотря на то что врожденный гиперинсулинизм является орфанным заболеванием, он по-прежнему остается одной из наиболее распространенных причин рецидивирующих стойких гипогликемий раннего возраста. Учитывая высокий риск развития тяжелых неврологических осложнений, своевременное выявление и грамотно подобранная терапия данного заболевания играют первоочередную роль. Дети с диффузной формой ВГИ, безусловно, являются наиболее сложной когортой пациентов. Распространенная резистентность к терапии диазоксидом подталкивает к выбору в пользу оперативного лечения [13]. Однако субтотальная панкреатэктомия является несовершенным вариантом лечения. В отдаленном периоде дети неизбежно подвергаются риску развития гипергликемий и в конечном итоге инсулинозависимого сахарного диабета. По данным некоторых авторов, вероятность развития сахарного диабета варьирует от 13% вскоре после операции до 77–96% через 7–10 лет после оперативного вмешательства [14]. Именно поэтому в ведении пациентов с диффузной формой ВГИ очень важно отдавать предпочтение консервативной терапии.

Аналоги соматостатина длительное время успешно используются в педиатрической практике, однако до сих пор

вынуждены назначаться off-label, что существенно ограничивает возможности их применения. В проведенном исследовании применение ланреотида оказалось эффективным у большинства пациентов и не привело к значимым побочным эффектам. У 95% пациентов полный или частичный эффект от терапии был достигнут при приеме дозы 45–60 мг/мес. Мы предполагаем, что данные дозы можно использовать в качестве стартовых, минуя этап применения 30 мг/мес. Стандартизированного протокола ведения пациентов, получающих ланреотид, в настоящее время не существует, в литературе указываются различные терапевтические дозировки — от 30 до 90 мг/мес [15]. При расчете препарата на массу тела пациентов, по нашим данным, наиболее эффективным является интервал дозы 3,5–5,5 мг/кг/мес, что в дальнейшем может помочь при расчете индивидуальной дозы для каждого ребенка. Интересно, что наименьшую эффективную дозу ланреотида получал самый взрослый пациент в группе. Изначально доза ланреотида на массу тела составляла 2,3 мг/кг/мес, с ростом ребенка доза препарата не изменялась. Данное наблюдение позволяет предположить снижение потребности в терапии с возрастом. Подбор дозы ланреотида теоретически может быть основан на предшествующей терапии октреотидом. Тем не менее в нашем исследовании не было найдено корреляции между этими показателями.

Ланреотид, как аналог соматостатина, помимо инсулиностатического эффекта, также оказывает влияние на подавление синтеза гормона роста, ингибирование моторики желудочно-кишечного тракта, в частности желчного пузыря, и снижение мезентериального кровотока [15]. По полученным результатам, серьезных побочных эффектов в нашей группе пациентов выявлено не было. Наиболее частым как ранним, так и поздним побочным эффектом среди наших пациентов являлась стеаторея в 1-е сутки после инъекции препарата. Данный симптом успешно купировался приемом ферментативных препаратов. В дальнейшем многим детям ферментативные препараты назначались превентивно, сразу после инъекции, на фоне чего отмечались улучшение состояния, нормализация стула.

Повышение печеночных ферментов у одного из наших пациентов нельзя однозначно трактовать как побочный эффект ланреотида, так как подобные результаты анализов наблюдались и до назначения препарата. Поэтому было принято решение о продолжении терапии ланреотидом в сочетании с препаратами урсодезоксихолевой кислоты в течение 3 мес, на фоне чего отмечалась положительная динамика в виде нормализации АЛТ, АСТ. Тем не менее мы посчитали правильным указать цитолиз в рамках побочного эффекта в исследовании. По данным литературы, описывают единичные случаи развития токсического гепатита на фоне длительного приема аналогов соматостатина [16–18]. Во всех наблюдениях показатели АЛТ, АСТ нормализовались после отмены препарата.

Некоторые исследования среди взрослых пациентов показали, что аналоги соматостатина снижают перистальтику желудочно-кишечного тракта, а также вызывают образование камней в желчном пузыре путем ингибирования сокращения желчного пузыря и увеличения концентрации дезоксихолевой кислоты [19, 20]. По нашим данным, только у одного пациента был выявлен хронический холелитиаз. Более того, он отмечался

еще до начала терапии ланреотидом, отрицательной динамики после назначения препарата выявлено не было.

Учитывая возможное ингибирующее действие аналогов соматостатина на синтез гормона роста, существует теоретический риск задержки роста на фоне длительного приема препарата. На данный момент не существует крупномасштабных исследований, оценивающих влияние ланреотида при длительном применении на секрецию гормона роста и линейный рост детей. Согласно исследованиям некоторых авторов, применение аналогов соматостатина у детей с ВГИ не показало клинически значимого подавления синтеза гормона роста или задержки роста у исследуемых [21]. В проведенном нами исследовании на фоне лечения ланреотидом задержки роста у детей выявлено не было, на момент последнего осмотра медиана скорости роста составляла +0,21. Показатели ИФР-1 у всех пациентов, получающих аналоги соматостатина, на всех этапах соответствовали возрастной норме.

Основное преимущество ланреотида основано на его фармакокинетических показателях. После однократной инъекции концентрация ланреотида в плазме крови остается достаточно высокой в течение первых дней после введения, а затем уменьшается и достигает плато, которое остается стабильным в период с 14-го по 42-й день [22]. Данный фармакокинетический профиль обеспечивает непрерывную стабильную концентрацию ланреотида в плазме крови в течение не менее 4 нед [23]. Напротив, короткий период полувыведения октреотида имеет ряд недостатков. Многократные ежедневные инъекции октреотида ухудшают качество жизни пациентов, а использование октреотида через помпы ограничено ввиду рисков технических поломок из-за подвижности возрастной группы пациентов, которые могут привести к тяжелым гипогликемическим состояниям. Мы полагаем, что применение ланреотида, возможно, вскоре станет более предпочтительным и распространенным среди пациентов с ВГИ.

Ограничения исследования

Ограничениями исследования являлись небольшая выборка и малая продолжительность наблюдения. В на-

стоящий момент представляется актуальным проведение более масштабного исследования по использованию аналогов соматостатина пролонгированного действия у пациентов с диазоксид-резистентным течением ВГИ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Тяжесть ВГИ и резистентность к терапии первой линии у многих пациентов с диффузной формой заболевания диктует необходимость поиска новых методов консервативной терапии. Применение аналогов соматостатина короткого действия имеет ряд ограничений: короткий период действия препарата, резкие колебания концентрации препарата в крови, необходимость многократных ежедневных инъекций, возникновение технических трудностей при использовании помповой терапии. Использование аналога соматостатина длительного действия — ланреотида — оказалось эффективным у подавляющего большинства пациентов при переводе с терапии октреотидом. Также в нашей группе пациентов не было отмечено тяжелых побочных эффектов, что указывает на относительную безопасность препарата. Более того, нам удалось не только оценить эффективность и безопасность терапии, но и найти решение клинического вопроса по расчету эффективной дозировки ланреотида у пациентов с ВГИ. Учитывая небольшую выборку, представляются необходимыми дальнейшие исследования терапии ланреотида на более многочисленной группе пациентов с ВГИ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Данная научная работа проведена в рамках государственного задания.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Все авторы принимали непосредственное участие в диагностике и лечении пациентов, включенных в исследование, а также в проведении непосредственно самого исследования и подготовке статьи. Все авторы прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Glaser B, Thornton P, Otonkoski T, Junien C. Genetics of neonatal hyperinsulinism. *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition*. 2000;82:F79-F86. doi:10.1136/fn.82.2.f79
2. De Vroede M, Bax NM, Brusgaard K et al. Laparoscopic diagnosis and cure of hyperinsulinism in two cases of focal adenomatous hyperplasia in infancy. *Pediatrics*. 2004;114:e520–e522. doi: 10.1542/peds.2003-1180-I
3. Меликян МА. Врожденный гиперинсулинизм: молекулярная основа, клинические особенности и персонализированное лечение: Эндокринология. М.: Федеральное государственное учреждение «Эндокринологический научный центр»; 2019. Дисс. ... д-ра мед. наук. [Melikyan MA. Vrozhdennyj giperinsulinizm: molekulyarnaja osnova, klinicheskie osobennosti i personalizirovannoe lechenie [dissertation]. M.: Endocrinology research centre, Russia; 2019 (in Russ.)].
4. Cherian MP, Abduljabbar MA. Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy (PHHI): Long-term outcome following 95% pancreatectomy. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2005;18:1441–1448. doi: 10.1515/jpem.2005.18.12.1441
5. Меликян МА. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и ведению детей и подростков с врожденным гиперинсулинизмом // Проблемы эндокринологии. — 2014. — № 60. — С. 31–41. [Melikyan MA. Federal clinical practice guidelines on the diagnostics, treatment, and management of the children and adolescents presenting with congenital hyperinsulinism. *Problems of Endocrinology*. 2014;60:31–41. (in Russ.)]. doi: 10.14341/probl201460231-41
6. Van der Steen I, van Albada ME, Mohnike K, Christesen HT, Empting S, Salomon-Estebanez M, et al. A Multicenter Experience with Long-Acting Somatostatin Analogues in Patients with Congenital Hyperinsulinism. *Horm Res Paediatr*. 2018; 89(2):82–89. doi: 10.1159/000485184
7. Welters A, Lerch C, Kummer S, Marquard J, Salgin B, Mayatepek E, et al. Long-term medical treatment in congenital hyperinsulinism: a descriptive analysis in a large cohort of patients from different clinical centers. *Orphanet J Rare Dis*. 2015 Nov;10(1). doi: 10.1186/s13023-015-0367-x

8. Иловайская ИА. Применение ланреотида Аутожеля в лечении акромегалии // Проблемы эндокринологии. — 2010. — № 6. — С. 55–62. [Ilovaiskaya IA. The application of lanreotide autogel for the treatment of acromegaly. *Problems of Endocrinology*. 2010;6:55–62 (in Russ.). doi: 10.14341/probl201056655-62]
9. Dastamani A, Güemes M, Pitfield C, Morgan K, Rajab M, Rottenburger C, Bomanji J, De Coppi P, Dattani M, Shah P. The Use of a Long-Acting Somatostatin Analogue (Lanreotide) in Three Children with Focal Forms of Congenital Hyperinsulinaemic Hypoglycaemia. *Hormone Research in Paediatrics*. 2018;91(1):56–61. doi: 10.1159/000491101
10. Al Anezi A. A New Experience in Treatment of Congenital Hyperinsulinism with Long Acting Octreotide: A Case Report. *Endocrinol Int J*. 2016;3(5). doi: <https://doi.org/10.15406/emij.2016.03.00058>
11. Modan-Moses D, Koren I, Mazor-Aronovitch K, Pinhas-Hamiel O, Landau H. Treatment of Congenital Hyperinsulinism with Lanreotide Acetate (Somatuline Autogel). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96:2312–2317. doi: 10.1210/jc.2011-0605
12. Güemes M, Rahman SA, Kapoor RR, et al. Hyperinsulinemic hypoglycemia in children and adolescents: Recent advances in understanding of pathophysiology and management. *Rev Endocr Metab Disord*. 2020;21(4):577–597. doi: <https://doi.org/10.1007/s11154-020-09548-7>
13. Banerjee I, Salomon-Estebanez M, Shah P, et al. Therapies and outcomes of congenital hyperinsulinism-induced hypoglycaemia. *Diabetic Medicine*. 2019;36(1):9–21. doi:10.1111/dme.13823
14. Arya VB, Senniappan S, Demirbilek H, Alam S, Flanagan SE, Ellard S, et al. Pancreatic endocrine and exocrine function in children following near-total pancreatectomy for diffuse congenital hyperinsulinism. *PLoS One*. 2014;9:e98054. doi: 10.1371/journal.pone.0098054
15. Modan-Moses D, Koren I, Mazor-Aronovitch K, et al. Treatment of Congenital Hyperinsulinism with Lanreotide Acetate (Somatuline Autogel). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2011;96(8):2312–2317. doi:10.1210/jc.2011-0605
16. McMahon AW, Wharton GT, Thornton P, De Leon DD. Octreotide use and safety in infants with hyperinsulinism. *Pharmacoevid Drug Saf*. 2017 Jan;26(1):26–31. doi: 10.1002/pds.4144
17. Ben-Ari J, Greenberg M, Nemet D, et al. Octreotide-induced hepatitis in a child with persistent hyperinsulinemia hypoglycemia of infancy. *J Pediatr Endocrinol Metab JPEM*. 2013;26(1–2):179–82. doi: 10.1515/jpem-2012-0349
18. Avatapalle B, Padidela R, Randell T, Banerjee I. Drug-induced hepatitis following use of octreotide for long-term treatment of congenital hyperinsulinism. *BMJ Case Rep*. 2012;2012. doi: 10.1136/bcr-2012-006271
19. Catnach SM, Anderson JV, Fairclough PD, et al. Effect of octreotide on gall stone prevalence and gall bladder motility in acromegaly. *Gut*. 1993;34:270–273. doi:10.1136/gut.34.2.270
20. Plockinger U, Dienemann D, Quabbe HJ. Gastrointestinal side effects of octreotide during long-term treatment of acromegaly. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1990;71:1658–1662. doi: 10.1210/jcem-71-6-1658
21. Demirbilek H, Shah P, Arya VB, Hinchey L, et al. Long-Term Follow-Up of Children With Congenital Hyperinsulinism on Octreotide Therapy. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(10):3660–3667. doi: 10.1210/jc.2014-1866
22. Astruc B, Marbach P, Bouterfa H, Denot C, Safari M, Vitaliti A, Sheppard M. Long-acting octreotide and prolonged-release lanreotide formulations have different pharmacokinetic profiles. *Journal of Clinical Pharmacology*. 2005;45(7):836–844. doi: 10.1177/0091270005277936
23. Le Quan Sang KH, Arnoux JB, Mamoune A, Saint-Martin C, Bellanne-Chantelote C, et al. Successful treatment of congenital hyperinsulinism with long-acting release octreotide. *Eur J Endocrinol*. 2012;166:333–339. doi: 10.1530/eje-11-0874

Рукопись получена: 05.09.2020. Одобрена к публикации: 22.09.2020. Опубликовано online: 24.10.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Новокрещенных Евгения Эдуардовна [Evgeniya E. Novokreshhennykh];** адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID 0000-0002-6505-7548; eLibrary SPIN: 2213-1513; e-mail: evgenya.shejdt@yandex.ru

Губаева Диляра Наилевна [Diliara N. Gubaeva]; ORCID 0000-0003-3922-2869; eLibrary SPIN: 3431-3323; e-mail: gubaevadn@gmail.ru

Меликян Мария Арменаковна, к.м.н., в.н.с. [Maria A. Melikyan, PhD]; ORCID: 0000-0002-1491-2460; eLibrary SPIN: 4184-4383; e-mail: melikyan.maria@gmail.com

ЦИТИРОВАТЬ:

Новокрещенных Е.Э., Губаева Д.Н., Меликян М.А. Применение аналогов соматостатина пролонгированного действия при врожденном гиперинсулинизме // Проблемы эндокринологии. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 70–78. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12654>

TO CITE THIS ARTICLE:

Novokreshhennykh EE, Gubaeva DN, Melikyan MA. The use of long-acting somatostatin analogs in congenital hyperinsulinism. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):70–78. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12654>



СЛУЧАЙ ДИАГНОСТИКИ РЕДКОЙ ФОРМЫ ГЛИКОГЕНОВОЙ БОЛЕЗНИ

© Р.А. Атанесян^{1*}, М.В. Воронцова², Т.М. Вдовина¹, Л.Я. Климов¹, Е.И. Андреева¹, Г.А. Санеева¹, Р.И. Аракелян¹

¹Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Дифференциальная диагностика гипогликемического синдрома остается актуальной проблемой в педиатрии. В представленной статье у мальчика описан случай болезни накопления гликогена (БНГ) типа 0, который, несомненно, является редкой патологией, что затрудняет диагностику данной формы гликогеноза. В настоящем описании случай БНГ 0 типа обусловлен мутацией в гене *GYS2*, кодирующей печеночную изоформу гликогенсинтазы. Эта форма болезни, как правило, протекает бессимптомно в младенчестве. Однако ее можно заподозрить в случае, когда отказ от ночных кормлений вызывает определенные затруднения из-за возникающей у ребенка голодной кетотической гипогликемии. Первые клинические симптомы появляются в раннем детстве при включении более разнообразного питания у ребенка, увеличении промежутков между приемами пищи. Симптомы заболевания обусловлены в первую очередь гипогликемией. Необходимо отметить, что, несмотря на низкие показатели гликемии, у большинства детей нет никаких нарушений психического развития, так как повышение уровня кетоновых тел в плазме крови обеспечивает мозг альтернативным источником энергии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь накопления гликогена; гипогликемия; гиперлактатемия; клинический случай; задержка роста.

CASE OF DIAGNOSTICS OF A RARE FORM OF GLYCOGEN DISEASE

© Rosa A. Atanesyan, Maria V. Vorontsova, Tatyana M. Vdovina, Leonid Y. Klimov, Elena I. Andreeva, Galina A. Saneeva, Rafael I. Arakelyan

¹Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Differential diagnosis of hypoglycemic syndrome remains an urgent problem in Pediatrics. In this article, a case of glycogen storage disease (BNG) type 0 is described in the boy, which is undoubtedly a rare pathology, which makes it difficult to diagnose this form of glycogenosis. In this description, the case of type 0 BNG is caused by a mutation in the *GYS2* gene encoding the hepatic isoform of glycogen synthase. This form of the disease is usually asymptomatic in infancy. However, it can be suspected in the case when the refusal of night feeding causes certain difficulties due to the hungry ketotic hypoglycemia that occurs in the child. The first clinical symptoms appear in early childhood with the inclusion of a more varied diet in the child, increasing the intervals between meals. Symptoms of the disease are primarily caused by hypoglycemia. It should be noted that, despite the low levels of glycemia, most children do not have any mental development disorders, since the increase in the level of ketone bodies in the blood plasma provides the brain with an alternative source of energy.

KEYWORDS: glycogen storage disease; hypoglycemia; hyperlactatemia; clinical case; growth retardation.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Одной из важных проблем в педиатрии остается дифференциальная диагностика гипогликемического синдрома, в структуре которого особое место занимают врожденные болезни обмена. К ним в настоящее время относят около 500 нозологических форм, в том числе и болезни накопления гликогена (БНГ) [1]. БНГ представляют собой наследственные патологии углеводного обмена вследствие мутаций различных генов, кодирующих ферменты, ответственные за процессы синтеза и распада гликогена [1, 2]. Несмотря на то что симптомокомплекс достаточно специфичен, до настоящего времени в клинической практике характерна гиподиагностика этого заболевания.

БНГ типа 0 была впервые описана в 1963 г., однако в литературе зарегистрировано менее 30 случаев, что, несомненно, обусловлено редкостью патологии, а также сложностью ее диагностики [3, 4].

В исходном описании БНГ 0 типа Lewis G.M. et al. представили описание клинического случая ребенка с тяжелой гипогликемией, умственной отсталостью и рецидивирующими эпилептическими приступами [5]. В течение следующих 14 лет после первого описания не было представлено других случаев БНГ 0 типа, и исследователи предположили, что дефицит печеночной гликогенсинтазы — несовместимая с жизнью патология [6]. Однако далее стало очевидным, что БНГ 0 отнюдь не всегда сопровождается состояниями, приводящими к летальному исходу. Широкое внедрение молекулярной генетики, открытие гена *GYS2*, который кодирует специфичную для печени форму гликогенсинтазы, позволили составить фенотипический «портрет» пациента с БНГ 0 типа и уточнить клиническую характеристику заболевания, вызванного дефицитом этого фермента [7, 8].

БНГ 0 типа (агликогеноз) — аутосомно-рецессивное метаболическое заболевание, вызываемое дефицитом гликогенсинтазы в печени или в мышцах,

ассоциированное с крайне низкими запасами гликогена в гепатоцитах или миоцитах и, соответственно, в отличие от других типов, не протекающее с его избыточным отложением [1, 9]. В зависимости от локализации дефицитного фермента выделяют печеночную и мышечную формы заболевания [10]. Причиной возникновения БНГ 0 типа являются мутации в генах *GYS2* и *GYS1*, кодирующих печеночную и мышечную гликогенсинтазу соответственно. Генный локус БНГ 0 типа соответствует 12p12.1 — для печеночной формы и 19q13.33 — для мышечной [11–13].

Данная разновидность БНГ является довольно редкой формой, частота встречаемости неизвестна. В настоящем описании представлен случай БНГ 0 типа, обусловленный мутацией в гене *GYS2*, кодирующем печеночную изоформу гликогенсинтазы. Ген *GYS2* расположен на хромосоме 12p12.2, содержит 16 экзонов и занимает более 30 kb геномной ДНК [7, 14].

В настоящее время в литературе зарегистрировано более 15 различных мутаций [15]. Из них 14 мутаций уникальны в определенных семьях [14]. Единственная распространенная мутация находится в экзоне 4 (R246X). Она была обнаружена у пациентов итальянского происхождения, проживающих как в Европе, так и в Северной Америке, также случаи БНГ 0 типа были выявлены в Европе, Северной и Южной Америке [16].

Гликогенсинтаза участвует в синтезе гликогена, который представлен крупным полимером глюкозы, одним из часто встречающихся видов параплазматических включений, который содержится абсолютно во всех клетках организма и является важнейшим и наиболее легко мобилизуемым резервом углеводов [10].

Молекулярное строение гликогена делает его легкодоступным абсолютно для всех ферментов, контролирующих последовательность его распада и синтеза. Гликоген печени расщепляется для поддержания концентрации глюкозы в крови по требованию. Альтернативно, после приема пищи, избыток глюкозы в крови запускает выделение инсулина, синтез и накопление гликогена в печени и мышцах [9]. Во время стресса или коротких периодов голодания глюкагон запускает процесс расщепления запасов гликогена в глюкозу (гликогенолиз) в печени, глюкоза высвобождается в кровоток, поддерживается гомеостаз глюкозы в крови.

Нарушение активности гликогенсинтазы приводит к значительному снижению накопления гликогена в печени, что делает пациента склонным к развитию кетотической гипогликемии и низким уровням лактата на фоне продолжительного голодания [17, 18]. Эпизоды гипогликемии купируются приемом пищи, однако параллельно запускается гликолитический путь утилизации глюкозы, что объясняет транзиторную постпрандиальную гипергликемию, гиперлактатемию и гиперлипидемию [19]. Вместе с тем эта биохимическая характеристика может и отсутствовать у ряда пациентов с БНГ 0 типа, что затрудняет диагностику заболевания [20].

Эта редкая форма болезни, как правило, протекает бессимптомно в младенчестве, и чаще первые симптомы появляются в раннем детстве при переходе на более разнообразное питание и увеличении временных промежутков между приемами пищи. Вместе с тем в младенческом возрасте заболевание можно заподозрить в том случае, когда отказ от ночных кормлений становится

чрезвычайно затруднительным на фоне возникающей у ребенка голодной кетотической гипогликемии [19].

Диагностика БНГ 0 типа затруднена, так как фенотипические признаки варьиабельны, а диапазон их проявления широк. Симптомы заболевания обусловлены в первую очередь гипогликемией и в остром проявлении включают в себя: глубокий сон вплоть до летаргии, бледность кожных покровов, тошноту, рвоту, боли в животе, иногда судороги в утреннее время суток до принятия пищи [1, 6, 11]. При этом у некоторых больных какие-либо отклонения лабораторных показателей от нормы отсутствуют либо слабо выражены. Хотя БНГ 0 типа включена в дифференциальный диагноз кетотической гипогликемии, она обычно не учитывается при оценке глюкозурии или постпрандиальной гипергликемии [20]. Важно отметить, что, несмотря на патологически низкие показатели гликемии, у большинства детей не установлено никаких нарушений психического развития или когнитивной дисфункции, поскольку повышение уровня кетоновых тел в плазме крови, образующихся в результате окисления жирных кислот, обеспечивает мозг альтернативным источником энергии [21].

Сходными клиническими признаками практически у всех пациентов с БНГ 0 типа являются: патологическая задержка роста при длительном течении заболевания без терапии, отсутствие выраженной гепатомегалии и остеопения [18]. Крайне редко БНГ 0 типа может манифестировать гипергликемией и глюкозурией, что способствует возникновению затруднений при постановке диагноза [20].

Таким образом, специфическими лабораторными признаками БНГ 0 типа являются: кетотическая гипогликемия после ночного голодания, нередко отсутствующая или слабо выраженная гепатомегалия и гипогликемические судороги. После приема пищи характерны высокие уровни глюкозы, лактата и аланина в крови.

Определение диагноза БНГ 0 типа у большинства детей носит случайный характер. В связи с тем что лабораторные проявления зачастую неуловимы, дети могут сначала обратиться к врачу по поводу задержки роста, дефицита веса, гиперлипидемии или повышения уровня печеночных трансаминаз. В процессе диагностического поиска постпрандиальная гипергликемия и кетонурия натощак, характерные для этого заболевания, могут расцениваться как манифестация сахарного диабета 1 типа. Очевидно, что у любого ребенка с бессимптомной гипергликемией или глюкозурией следует рассматривать БНГ 0 типа в качестве одной из возможных причин, требующих дифференциального диагноза [17]. Ввиду отсутствия специфических клинических симптомов и редкости заболевания возникают сложности в интерпретации лабораторных отклонений. Так, среди всех зарегистрированных случаев БНГ в возрасте до 2 лет диагноз был верифицирован лишь у 30% детей [21].

Как правило, постановка диагноза начинается со случайного определения низкого уровня глюкозы крови в отсутствие классических клинических симптомов гипогликемии. Дальнейший мониторинг уровня глюкозы в крови подтверждает наличие гипогликемии, определение кетоновых тел в моче часто изначально используется для скрининга этого расстройства, поскольку гипогликемия натощак и кетонурия универсальны у детей младше 5 лет.

В случае выявления кетотической гипогликемии натощак необходима оценка постпрандиальной

гиперлактатемии посредством проведения перорального теста на толерантность к глюкозе с одновременным измерением концентраций глюкозы и лактата в крови после ночного голодания [17]. Важно понимать, что стандартное исследование натощак, в котором не измеряются концентрации метаболитов в крови, и в постпрандиальном периоде зачастую не позволяют диагностировать явные гормональные или биохимические нарушения, что приводит к ошибочному диагнозу «кетотическая гипогликемия» или «ускоренное голодание».

Ранее подтверждение диагноза БНГ 0 типа требовало проведения биопсии печени. Несмотря на снижение содержания гликогена в печени, ответ на глюкагон является переменным и, по непонятным причинам, может быть даже почти нормальным. Поскольку в настоящее время нет клинических лабораторий, которые бы анализировали активность фермента, биопсия печени может быть неубедительной. В настоящее время золотым стандартом диагностики является молекулярно-генетический анализ ДНК, в частности, анализ пораженного гена, который в диагностическом алгоритме позволяет верифицировать диагноз без биопсии печени [15, 20].

К настоящему времени в литературе не так много работ, представляющих долгосрочное наблюдение за пациентами с этой патологией. Существует несколько сообщений о взрослых пациентах с БНГ 0 типа, однако возраст самого старшего из представленных пациентов составил 34 года [8]. Есть основания полагать, что прогноз у пациентов благоприятный [20]. Долгосрочные осложнения, обычно наблюдаемые при других формах накопления гликогена, такие как печеночные аденомы, цирроз печени, дисфункция почек и мышечные нарушения, не были зарегистрированы у подростков или взрослых с БНГ 0 типа, что, возможно, связано с отсутствием длительных наблюдений [1].

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

В настоящем сообщении приводится описание мальчика с генетически верифицированным случаем БНГ 0 типа на фоне случайно диагностированной гипогликемии, длительно наблюдающегося по поводу задержки роста.

Пациент Э. в возрасте 10 лет был госпитализирован в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» (г. Москва) с жалобами на задержку роста и дефицит веса, сниженные темпы роста, низкие показатели глюкозы крови по утрам с запахом ацетона изо рта, слабость, тошноту, избирательный аппетит, частые боли в животе на фоне приема пищи.

Анамнез жизни. Мальчик от 3-й беременности, протекавшей на фоне угрозы прерывания с ранних сроков, гестоза с 1-й половины беременности. Роды третьи, в срок. Масса при рождении — 2700 г (SDS=-1,2), длина тела — 47 см (SDS=-1,2), оценка по шкале Апгар – 9 баллов. Из родильного дома ребенок выписан на 5-е сутки в удовлетворительном состоянии. На грудном вскармливании до 4-месячного возраста, затем искусственное вскармливание. Нервно-психическое развитие на первом году жизни без особенностей.

Возраст матери на момент рождения ребенка составлял 32 года, отца — 37 лет. Родители мальчика соматиче-

ски здоровы, старшая сестра и брат пациента также здоровы. Родители пациента не являются родственниками.

Анамнез заболевания. Из анамнеза заболевания известно, что родители мальчика отмечают задержку роста и дефицит веса с года. В возрасте 3 лет мальчика стала беспокоить слабость в утреннее время суток, которая сопровождалась повышенным потоотделением, резким запахом ацетона в выдыхаемом воздухе. Кроме того, ребенок стал регулярно отказываться от еды из-за болей в животе вскоре после приема пищи.

Впервые мальчик был направлен к эндокринологу в возрасте 4 лет 4 месяцев с жалобами на низкие показатели глюкозы крови (глюкоза крови — 2,1 ммоль/л и менее), которые были зафиксированы случайно при ухудшении самочувствия после плановой тонзиллэктомии и аденомотомии. В возрасте 6 лет впервые проконсультирован генетиком, выполнено кариотипирование: 46XY. Назначено обследование с целью исключения целиакии и муковисцидоза: антитела (IgG и IgA к глиадину в норме), потовая проба без отклонений (хлориды пота — 20,9 ммоль/л). В возрасте 7 лет мальчик госпитализирован в детское эндокринологическое отделение с целью уточнения диагноза. В отделении при выполнении гликемического профиля: показатели уровня глюкозы крови в диапазоне 2,9–4,4 ммоль/л, гликированный гемоглобин — 5,7%. Выполнена МРТ головного мозга — данных за органическое поражение головного мозга не выявлено. Мальчик выписан с диагнозом «Перинатальное резидуальное органическое поражение ЦНС, синдром вегето-висцеральных нарушений (ваго-инсулярные пароксизмы)», с рекомендациями о динамическом наблюдении.

В возрасте 8 лет при плановом обследовании выполнено УЗИ органов брюшной полости, выявлены признаки умеренного увеличения размеров правой доли печени и размеров длинника желчного пузыря. В возрасте 8 лет 10 месяцев родители с мальчиком обратились в краевой эндокринологический диспансер, где при обследовании подтверждена лабораторно гипогликемия с кетонурией: глюкоза крови — 2,2 ммоль/л, гликированный гемоглобин — 5,2%, общий анализ мочи: удельный вес — 1,020, анализ на глюкозу и белок отрицательные, ацетон — положительный. В биохимическом анализе крови все показатели в пределах референсных значений. При выполнении гормонального профиля диагностировано снижение уровня инсулина натощак — 0,9 мкЕд/мл (3,0–17,0), снижение уровня инсулиноподобного фактора роста 1 (ИФР-1) — 50,2 нг/мл (55,0–222,0), показатели уровней других гормонов (тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (свТ4), антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО), пролактина, кортизола) в пределах референсных значений.

В последующем мальчик неоднократно консультирован генетиком, при обследовании выполнена КТ головного мозга, по результатам которой выявлены: признаки умеренно выраженного расширения ликворных пространств лобных, теменных долей, киста прозрачной перегородки небольших размеров, умеренная асимметрия боковых желудочков мозга. Также выполнялась ТСХ (тонкослойная хроматография крови) – патологии не выявлено. Ребенку было рекомендовано дробное частое питание сложными углеводами, повторная консультация эндокринолога через 3 месяца.

В ходе очередной консультации эндокринолога при обследовании обратили на себя внимание: сохраняющаяся периодическая гипогликемия (глюкоза крови — 3,3 ммоль/л (норма 3,5–5,5 ммоль/л)), наличие кетонов в моче, сниженные показатели инсулина — 0,47 мкМЕ/мл (2,0–23,0) и С-пептида натощак — 0,44 нг/мл (1,1–4,4). Ребенку был выполнен оральный глюкозотолерантный тест (ОГТТ), выявлено нарушение толерантности к углеводам: глюкоза крови натощак — 2,4 ммоль/л, через 2 ч после нагрузки — 9,0 ммоль/л.

Дифференциально-диагностический поиск при наличии кетотической гипогликемии, учитывая также задержку роста и низкие показатели ИФР-1, включал исключение гипопитуитаризма (дефицита соматотропного гормона (СТГ)) и наследственных заболеваний обмена веществ. Этиологическую диагностику заболевания затрудняло прогрессивное снижение показателей С-пептида и инсулина натощак, а также выявленное нарушение толерантности к глюкозе в ходе глюкозотолерантного теста, что оценивалось как возможная манифестация сахарного диабета.

В этой связи мальчику была рекомендована госпитализация в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» (г. Москва) с целью обследования и уточнения диагноза.

Результаты физикального, лабораторного и инструментального исследования

Объективный статус на момент осмотра: общее состояние удовлетворительное. Антропометрические показатели: рост — 122 см (-2,35 SDS), масса тела — 23,4 кг (-2,06 SDS), ИМТ — 15,7 кг/м² (-0,39 SDS). Ребенок правильного телосложения, умеренного питания. Мышечная система развита без особенностей. Кожные покровы смуглой окраски, гиперпигментация на локтях, стопах, в области шеи и линий ладоней. Голова округлой формы.

Зубная формула: скученность зубного ряда. Фенотип си-нофриз, низкий рост волос на лбу, сандалевидная щель, плосковальгусная установка стоп.

Сердечные тоны звучные, ритмичные. Систолический шум на верхушке и в V точке. Артериальное давление (АД) — 95/70 мм рт. ст., частота сердечных сокращений (ЧСС) — 87 в минуту. При аускультации дыхание в легких везикулярное, хрипов нет. Живот при пальпации безболезненный. Размеры печени пальпаторно не увеличены. Селезенка не увеличена. Вторичные половые признаки допубертатные (стадия по Таннеру 1), testis в мошонке.

Результаты лабораторно-инструментального исследования

Лабораторное обследование: гликированный гемоглобин — 5,2% (4–6%), общий анализ мочи: гиперстенирия (удельный вес — 1,035), кетоны — 1,5 ммоль/л (0–0,5), глюкоза — отр.

Биохимическое исследование крови: глюкоза крови — 3,51 ммоль/л, креатинин — 44,9 мкмоль/л (63,0–110,0), другие показатели без отклонений.

Гормональное исследование крови (ТТГ, свТ4, кортизол, пролактин, ИФР-1, инсулин): отклонений не выявлено.

С целью исключения дефицита гормона роста (ГР) выполнена СТГ-проба с клофелином (клофелин *per os* 0,133 мг). В результате проведенного стимуляционного теста максимальная секреция ГР на 90-й минуте составила 24,9 нг/мл, что позволило исключить дефицит ГР.

В таблице 1 представлен гликемический профиль пациента в течение пребывания в стационаре. В таблице 2 представлены результаты определения глюкозы и лактата крови натощак и через 90 мин после завтрака.

В стационаре также выполнен ОГТТ с нагрузкой 40 г глюкозы (из расчета 1,75 г на 1 кг массы тела). Результаты ОГТТ продемонстрированы в таблице 3.

Таблица 1. Гликемический профиль пациента в период пребывания в стационаре.

09.00	12.00	14.00	16.00	18.00	21.00	00.00	03.00	06.00
3,8	4,3	7,5	5,8	5,4	5,3	5,8	4,4	3,3
4,4	4,3		7,9	5,5	4,9	6,5	5,5	4,1
3,5	9,9	7,4	13,2	8,2	5,2	4,1	5,2	3,4
3,4	8,0	4,6	7,8	4,7	4,7	5,4	5,2	3,8

Таблица 2. Определение глюкозы и лактата крови.

Показатель	Натощак	Через 90 минут после еды	Норма
Глюкоза крови, ммоль/л	2,7	6,4	3,1–6,1
Лактат крови, ммоль/л	1,47	8,74	0–2,4

Таблица 3. Результаты орального глюкозотолерантного теста.

Время, мин	Глюкоза крови, ммоль/л	Инсулин, мкЕ/мл	Лактат крови, ммоль/л
0	3,02	0,425	
30-я	8,48	36,21	
60-я	10,26	40,01	
90-я	9,72	53,41	
120-я	9,32	66,94	более 16,45

Таблица 4. Гликемический профиль пациента на фоне диетотерапии в стационаре

09.00	12.00	14.00	16.00	18.00	21.00	00.00	03.00	06.00
	4,3	7,3	4,7	5,2	6,3	4,8	4,5	4,4
4,2	5,4	5,4	7,5	3,4	5,8	4,5	5,9	4,4

Рассчитаны индексы инсулинорезистентности: Matsuda — 27,35; Kargo — 7,11; HOMA — 0,06.

По результатам выполненного ОГТТ диагностированы следующие отклонения: гипогликемия натощак, гипергликемия на 120-й минуте, что является проявлением нарушения толерантности к глюкозе. Уровень лактата на 120-й минуте пробы составил более 16,45 ммоль/л, что значительно превышает допустимые значения показателя.

УЗИ брюшной полости: эхо-признаки гепатомегалии, деформации желчного пузыря.

Дифференциальная диагностика

Результаты пробы с клофелином, отсутствие лабораторных критериев недостаточности других тропных гормонов аденогипофиза, нормальный уровень ИФР-1 (SDS ИФР-1=–0,7) в совокупности позволили исключить гипопитуитаризм как возможную причину кетотической гипогликемии и задержки физического развития.

По результатам проведенного ОГТТ диагностировано нарушение толерантности к глюкозе (гликемия на 120-й минуте — 9,32 ммоль/л), многократно определялось повышение лактата после нагрузки пищей и глюкозой.

Наличие кетотической гипогликемии, нарастание лактата после нагрузки завтраком, отсутствие гипопитуитаризма, задержка физического развития и умеренная гепатомегалия позволили заподозрить у мальчика БНГ 0 типа.

В ФГБУ «Медико-генетический научный центр» в лаборатории селективного скрининга выполнено генетическое исследование. В образце ДНК пациента методом массового параллельного секвенирования (прибор Ion S5) проведен анализ 56 ядерных генов, ассоциированных с развитием наследственных форм гипогликемий. В ходе анализа выявлено изменение нуклеотидной последовательности в гене **GYS2: NM_021957: exon 7c. G1015C:p.A339Prs121918421 CM980966** в гомозиготном состоянии.

Ранее описанная миссенс-мутация в 7 экзоне (Ala339 Pro) была представлена зарубежными коллегами, в России описаний данной мутации нет [4].

Таким образом, выполненное молекулярно-генетическое исследование позволило подтвердить предполагаемый диагноз и определить тактику ведения пациента.

ЛЕЧЕНИЕ

В настоящее время доказано, что неотъемлемой частью терапии считается добавление в рацион сырого кукурузного крахмала, в особенности на ночь, что дает положительные результаты, начиная с 6–8-месячного возраста. В связи с тем, что кукурузный крахмал медленно и непрерывно расщепляется панкреатической амилазой, удовлетворительный уровень гликемии сохраняется более длительное время, в среднем около 4 ч. С 2007 г. при диетотерапии БНГ применяется новый вид крахмала

(необработанного модифицированного кукурузного — обозначение «WMHM20»). Использование его в диете в дозе 2,0 г/кг (смешанного с водой) у большинства наблюдаемых пациентов с Ia, Ib и III типами гликогенозов приводило к достижению большей продолжительности нормогликемии и более благоприятному метаболическому контролю (по сравнению с применением традиционного кукурузного крахмала) [1]. Очевидно, что при диетотерапии гликогенозов важно соблюдение лечебного режима питания. В частности, исключение коротких углеводов, а завершающий прием пищи за день должен приходиться на 22.00–23.00 ч.

В отделении ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» ребенок переведен на диетотерапию, исключены простые углеводы, рекомендовано частое дробное питание в течение дня и использование кукурузного крахмала перед сном.

Исход и результаты последующего наблюдения

Результаты гликемического профиля после диетотерапии представлены в таблице 4.

Сравнительный анализ показателей глюкозы крови мальчика до и после введения кукурузного крахмала наглядно демонстрирует нормализацию гликемии, купирование гипогликемий в утреннее время суток (06.00, 09.00).

Осенью того же года мальчик госпитализирован планово в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». Выполнена эластография печени: общий результат исследования с наибольшей вероятностью соответствует гистологической стадии фиброза F0 (по Metavir). Уровень стеатоза 173 соответствует степени стеатоза S0.

При выписке пациенту даны рекомендации: кормление каждые 3 ч, поздний ужин в 21.00, глюкоза до 15–20 г/сут (добавлять в каши), кукурузный крахмал 15 г — в 22.00, 20 г — в 03.00.

В настоящее время состояние мальчика удовлетворительное, показатели гликемического профиля в течение дня стабильные, однако до 2–3 раз в неделю отмечается гипогликемия натощак, в домашних условиях ацетон в моче отрицательный. Ростовые показатели демонстрируют положительную динамику — SDS роста=–2,11.

ОБСУЖДЕНИЕ

БНГ 0 типа является редкой патологией, которая сложно поддается дифференциальной диагностике. Вместе с тем возможно предположить, что при улучшении диагностики будет увеличиваться и количество наблюдаемых пациентов. Клинические проявления мягкие, но длительное отсутствие правильной диеты может приводить к ряду осложнений, в частности, к нарушению функции печени и задержке роста.

Специфического лечения БНГ 0 типа до настоящего времени не разработано. Основным видом терапии

является режим питания, направленный на предупреждение гипогликемии, метаболического ацидоза, кетоза, гиперлипидемии, а также на коррекцию нарушений функционального состояния гепатобилиарной системы.

Для достижения этой цели пациентам рекомендуют диету с высоким содержанием белка и сложных углеводов с низким гликемическим индексом. В свою очередь, также уменьшается зависимость от окисления жирных кислот, что снижает синтез кетонов. Купирование гиперкетонемии предотвращает системный ацидоз, но также усиливает глюконеогенез, поскольку из скелетных мышц может высвобождаться больше аланина [21]. У маленьких детей гипогликемия может возникать на фоне диеты с высоким содержанием белка, а сырой кукурузный крахмал (1–1,5 г/кг), вводимый перед сном и каждые 6 ч во время инфекционных заболеваний, предотвращает утреннюю гипогликемию и кетоз. Дневная гипогликемия обычно не выражена, и прием пищи каждые 2–4 ч обычно предотвращает гипогликемию. У детей, которые особенно активны, доза кукурузного крахмала утром или за 1 ч до напряженной длительной физической активности может улучшить выносливость. Простые углеводы должны быть ограничены, так как они могут увеличить концентрацию лактата в крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный клинический случай БНГ 0 типа представляет интерес не только в структуре синдрома гипогли-

кемии, но также при обследовании детей с задержкой роста, и, очевидно, требует включения в дифференциально-диагностический поиск синдрома низкорослости.

БНГ 0 типа не предусматривает медикаментозной коррекции, поскольку к настоящему времени она не разработана. Однако строгое выполнение рекомендаций в отношении режима питания ребенка и ежедневное использование кукурузного крахмала позволяют купировать гипогликемию, гиперкетонемию, гиперлактатемию, что, в свою очередь, улучшает физическое развитие детей, показатели минеральной плотности костной ткани, способствуя благоприятному прогнозу и повышению качества жизни пациентов с этим заболеванием.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Рукопись подготовлена на личные средства авторов.

Согласие пациента. Официальный представитель добровольно подписал информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в журнале «Проблемы эндокринологии».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Благодарности. Предоставляется возможность выразить слова благодарности тем, чей вклад в написание рукописи был недостаточен для признания их соавторами, но вместе с тем считается авторами значимым (консультации, техническая помощь, переводы и пр.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Kanungo S, Wells K, Tribett T, et al. Glycogen metabolism and glycogen storage disorders. *Ann Transl Med*. 2018 Dec;6(24):474. doi: 10.21037/atm.2018.10.59
- Ellingwood SS, Cheng A. Biochemical and clinical aspects of glycogen storage diseases. *J Endocrinol*. 2018;238(3):R131–R141. doi: 10.1530/JOE-18-0120
- Gitzelmann R, Spycher MA, Feil G, et al. Liver glycogen synthase deficiency: a rarely diagnosed entity. *Eur. J. Pediatr*. 1996;155:561–567. doi: 10.1007/bf01957905
- Orho M, Bosshard NU, Buist NR, et al. Mutations in the liver glycogen synthase gene in children with hypoglycemia due to glycogen storage disease type 0. *J Clin Invest*. 1998;102:507–515. doi: 10.1172/jci2890
- Lewis GM, Spencer-Peet J, Stewart KM. Infantile hypoglycaemia due to inherited deficiency of glycogen synthetase in liver. *Arch. Dis. Child*. 1963;38:40–48. doi: 10.1136/adc.38.197.40
- Aynsley-Green A, Williamson DH, Gitzelmann R. Hepatic glycogen synthetase deficiency. Definition of syndrome from metabolic and enzyme studies on a 9-year-old girl. *Arch. Dis. Child*. 1977;52:573–579. doi: 10.1136/adc.52.7.573
- Nessa A, Kumaran A, Kirk R, et al. Mutational analysis of the GYS2 gene in patients diagnosed with ketotic hypoglycaemia. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2012;25:963–967. doi: 10.1515/jpem-2012-0165
- Laberge AM, Mitchell GA, van de Werve G, et al. Long-term follow-up of a new case of liver glycogen synthase deficiency. *Am J Med Genet A*. 2003;120A:19–22. doi: 10.1002/ajmg.a.20110
- Roach PJ, Depaoli-roach AA, Hurley TD, et al. Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. *Biochem J*. 2012;441:763–787. doi: 10.1042/bj20111416
- Wolfsdorf JL, Weinstein DA. Glycogen storage diseases. *Rev Endocr Metab Disord*. 2003;4:95–102. doi: 10.1023/a:1021831621210
- Rutledge SL, Atchison J, Bosshard NU, et al. Case report: liver glycogen synthase deficiency – a cause of ketotic hypoglycemia. *Pediatrics*. 2001;108:495–497. doi: 10.1542/peds.108.2.495
- Cameron JM, Levandovsky V, MacKay N, et al. Identification of a novel mutation in GYS1 (muscle-specific glycogen synthase) resulting in sudden cardiac death, that is diagnosable from skin fibroblasts. *Mol Genet Metab*. 2009;98:378–382. doi: 10.1016/j.ymgme.2009.07.012
- Sukigara S, Liang WC, Komaki H, et al. Muscle glycogen storage disease 0 presenting recurrent syncope with weakness and myalgia. *Neuromuscul Disord*. 2012;22:162–165. doi: 10.1016/j.nmd.2011.08.008
- Szymańska E, Rokicki D, Wątrobska U, et al. Pediatric patient with hyperketotic hypoglycemia diagnosed with glycogen synthase deficiency due to the novel homozygous mutation in GYS2. *Mol Genet Metab Rep*. 2015;4:83–86. doi: 10.1016/j.ymgmr.2015.07.003
- Hacıhamdioğlu B, Özgürhan G, Çaran B, et al. Glycogen storage disease type 0 due to a novel frameshift mutation in glycogen synthase 2 (GYS2) gene in a child presenting with fasting hypoglycemia and postprandial hyperglycemia. *Turkish Journal of Pediatrics*. 2018;60:581–583. doi: 10.24953/turkjped.2018.05.018
- Soggia AP, Correa-Giannelli ML, Fortes MA, et al. A novel mutation in the glycogen synthase 2 gene in a child with glycogen storage disease type 0. *BMC Med Genet*. 2010;11(1). doi: 10.1186/1471-2350-11-3
- Weinstein DA, Correia CE, Saunders AC, et al. Hepatic glycogen synthase deficiency: an infrequently recognized cause of ketotic hypoglycemia. *Mol Genet Metab*. 2006;87(4):284–288. doi: 10.1016/j.ymgme.2005.10.006
- Kasapçara ÇS, Aycan Z, Açoğlu E, et al. The variable clinical phenotype of three patients with hepatic glycogen synthase deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;30(4):459–62. doi: 10.1515/jpem-2016-0317
- Spiegel R, Mahamid J, Orho-Melander M, et al. The variable clinical phenotype of liver glycogen synthase deficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2007;20:1339–1342. doi: 10.1515/jpem.2007.20.12.1339
- Bachrach BE, Weinstein DA, Orho-Melander M, et al. Glycogen synthase deficiency (glycogen storage disease type 0) presenting with hyperglycemia and glucosuria: report of three new mutations. *J Pediatr*. 2002 Jun;140(6):781–783. doi: 10.1067/mpd.2002.124317
- Brown LM, Corrado MM, van der Ende RM, et al. Evaluation of glycogen storage disease as a cause of ketotic hypoglycemia in children. *J Inher Metab Dis*. 2015;38:489–493. doi: 10.1007/s10545-014-9744-1

Рукопись получена: 16.09.2020. Одобрена к публикации: 04.10.2020. Опубликовано online: 01.11.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Атанесян Роза Артуровна**, к.м.н. [**Rosa A. Atanesyan**, MD, PhD]; адрес: Россия, 355017, Ставрополь, ул. Мира, д. 310 [address: 310 Mira street, 355017 Stavropol, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5811-0024>; eLibrarySPIN: 8508-1027; e-mail: rozaatanesyan@rambler.ru

Воронцова Мария Владимировна, к.м.н. [Maria V. Vorontsova, MD, PhD]; ORCID: 0000-0002-9124-294X; eLibrarySPIN-код: 4168-6851, e-mail: maria.v.vorontsova@mail.ru

Вдовина Татьяна Михайловна, к.м.н. [Tatyana M. Vdovina, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0355-3116>; eLibrarySPIN: 2345-2185; e-mail: vdovina.71.71@mail.ru

Климов Леонид Яковлевич, к.м.н., доцент [Leonid Y. Klimov, MD, PhD, Associate Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7248-1614>; eLibrarySPIN: 5396-7746; e-mail: klimov_leo@mail.ru

Андреева Елена Ивановна, к.м.н., доцент [Elena I. Andreeva, MD, PhD, Associate Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0034-8616>; eLibrarySPIN: 4891-8156; e-mail: eandreeva-doctor@yandex.ru

Санеева Галина Александровна, к.м.н., доцент [Galina A. Saneeva, MD, PhD, Associate Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0489-254X>; eLibrarySPIN: 6229-7352; e-mail: sun-stav@yandex.ru

Аракелян Рафаэл Исаакович [Rafael I. Arakelyan]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5680-1999>; eLibrarySPIN: 4145-2184; e-mail: r.arakelyan20@yandex.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Атанесян Р.А., Воронцова М.В., Климов Л.Я., Вдовина Т.М., Андреева Е.И., Санеева Г.А., Аракелян Р.И. Случай диагностики редкой формы гликогеновой болезни // *Проблемы эндокринологии*. — 2020. — Т.66. — №5. — С. 79–85. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12668>

FOR CITATION

Atanesyan RA, Vorontsova MV, Vdovina TM, Klimov LY, Andreeva EI, Saneeva GA, Arakelyan RI. Case of diagnostics of a rare form of glycogen disease. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):79–85. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12668>

РАННЯЯ ИНТЕНСИФИКАЦИЯ САХАРОСНИЖАЮЩЕЙ ТЕРАПИИ: УРОКИ VERIFY И РЕАЛЬНАЯ КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА НА ПРИМЕРЕ ДАННЫХ РЕГИСТРА САХАРНОГО ДИАБЕТА МОСКОВСКОЙ ОБЛАСТИ



© И.В. Мисникова*, Ю.А. Ковалева, В.А. Губкина

Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Распространенность сахарного диабета 2 типа (СД2) неуклонно возрастает не только среди пожилых, но и в молодом возрасте. СД2 предшествует достаточно длительный период значительных изменений метаболизма с развитием инсулинорезистентности и дисфункции β -клеток. Для снижения распространенности осложнений необходимо лечение, воздействующее на несколько патогенетических звеньев заболевания. Монотерапия метформином в дебюте СД2 часто является недостаточной. Исследование VERIFY продемонстрировало преимущество раннего назначения комбинации вилдаглиптина и метформина в отношении времени удержания гликемического контроля в сравнении с поэтапной интенсификацией метформина вилдаглиптином у пациентов с СД2.

ЦЕЛЬ. На основании данных регистра СД Московской области оценить текущую ситуацию по частоте осложнений СД2 и структуре назначения различных сахароснижающих препаратов. На клинических примерах продемонстрировать преимущества ранней комбинированной терапии вилдаглиптином и метформином у пациентов с небольшой длительностью СД2.

МЕТОДЫ. Для анализа использованы данные регистра СД Московской области, являющегося частью Федерального регистра Российской Федерации. Структура причин смерти пациентов с СД2 оценена по данным о 6096 пациентах с СД2, умерших в 2019 г. Структура сахароснижающей терапии проанализирована по данным о 226 327 пациентах с СД2 (за 2020 г.), а также отдельно по 14 379 пациентам с впервые выявленным СД2 в 2019 г. Клинические примеры описаны на основании данных по двум пациентам с СД2, имеющих в базе регистра СД МО и амбулаторных картах.

РЕЗУЛЬТАТЫ. У пациентов, заболевших СД2 до 40 лет, распространенность тяжелых стадий осложнений выше, чем в общей популяции пациентов с СД2: распространенность слепоты больше в 5,9 раза, терминальной стадии хронической почечной недостаточности — в 2,9 раза, ампутаций нижних конечностей — в 6,4 раза. При назначении препаратов неинсулинового ряда (ПНИР) чаще используется терапия одним препаратом, в большинстве случаев метформином. При двойной комбинации ПНИР в 96,22% используется метформин. В структуре ПНИР при впервые выявленном СД2 комбинированная терапия применяется реже, чем в целом у пациентов с СД2. Из препаратов группы ингибиторов дипептидилпептидазы-4 наиболее часто назначается вилдаглиптин — в 46,25% (в том числе в виде фиксированной комбинации с метформином — в 12,22%). Клинические примеры демонстрируют быстрый клинический эффект — снижение HbA_{1c} до целевого уровня за 6 мес, отсутствие гипогликемий, других нежелательных побочных явлений, положительную динамику веса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Достаточно большой процент пациентов с СД2 находятся на монотерапии ПНИР. Назначение комбинации метформина и вилдаглиптина пациентам при установлении диагноза СД2 позволяет добиться более длительного поддержания гликемического контроля без повышения риска гипогликемии и набора массы тела

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 2 типа; структура сахароснижающей терапии; ингибиторы DPP-4; ранняя комбинированная терапия.

EARLY INTENSIFICATION OF GLUCOSE-LOWERING THERAPY: VERIFY LESSONS AND REAL CLINICAL PRACTICE ON THE EXAMPLE OF THE MOSCOW REGION DIABETES REGISTER DATA

© Inna V. Misnikova*, Yulia A. Kovaleva, Valeria A. Gubkina

Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russia

BACKGROUND: The prevalence of T2DM is steadily increasing not only among the elderly, but also at a young age. T2DM is preceded by a long period of significant metabolic changes with the development of insulin resistance and β -cell dysfunction. To reduce the prevalence of complications, treatment is needed which affects several pathophysiological mechanisms underlying the disease. Monotherapy with metformin at the onset of T2DM is often insufficient. The VERIFY study demonstrated the advantage of early administration of a combination of vildagliptin and metformin in relation to the glycemic durability compared to the sequential intensification of metformin with vildagliptin in patients with type 2 diabetes.

AIMS: To assess the current situation in terms of the incidence of T2DM complications and the structure of the prescribing glucose lowering drugs based on the data from the Diabetes Register (DR) of the Moscow Region. To demonstrate the advantages of early combination therapy in patients with newly diagnosed T2DM using clinical cases.

MATERIALS AND METHODS: The data from the DR of the Moscow region, which is part of the National Diabetes Register of the Russian Federation, were used for the analysis. The data of 6,096 patients with T2DM who died in 2019 were evaluated for building the structure of the causes of death of patients with T2DM. The pattern of glucose-lowering therapy was analyzed based on data of 226,327 patients with T2DM (for 2020), as well as separately of 14,379 patients with newly diagnosed T2DM in 2019. Clinical cases are described based on the data of two patients with T2DM, available in the DR database and outpatient records.

RESULTS: In patients with young onset T2DM (<40 years), the prevalence of severe complications is higher than in the general population of patients with T2DM: blindness is in 5.9 times, end-stage chronic renal failure in 2.9 times, lower limb amputations in 6.4 times more. When prescribing glucose lowering drugs, monotherapy is prevalent, mostly metformin. In double combination, metformin is used in 96.22% of cases. In the structure of glucose lowering drugs, with newly diagnosed T2DM, combination therapy is used less frequently than in patients with T2DM in general. Of the drugs of the IDP-4 group, vildagliptin is most often prescribed — 46.25% (including of a fixed combination with metformin — 12.22%). Clinical cases reflect a rapid clinical outcome: a decrease in HbA_{1c} to the target in 6 months, the absence of hypoglycemia or other side effects, and positive weight dynamics.

CONCLUSIONS: A fairly large proportion of patients with T2DM are on monotherapy with glucose lowering drugs. Early prescription of the combination of metformin plus vildagliptin provides a longer maintenance of glycemic control without increasing the risk of hypoglycemia and weight gain for patients with newly diagnosed T2DM.

KEYWORDS: type 2 diabetes mellitus; the structure of glucose-lowering therapy, DPP-4 inhibitors, early combination therapy.

ОБОСНОВАНИЕ

Сахарный диабет 2 типа (СД2) признан серьезным социально значимым заболеванием, распространенность которого неуклонно возрастает не только среди пожилых, но и в молодом возрасте. СД2 предшествует достаточно длительный период значительных изменений метаболизма с развитием инсулинорезистентности и дисфункции β -клеток. Уже на стадии ранних нарушений углеводного обмена неуклонно прогрессируют дисфункция в секреции инсулина и снижение объема функционирующих β -клеток. При развитии СД2 процесс прогрессирования метаболических нарушений ускоряется, усугубляется дисфункция β -клеток, увеличивается эндогенная продукция глюкозы в постпрандиальном периоде [1].

Постепенно хроническая гипергликемия приводит к развитию кардиоренального метаболического синдрома [2], риск которого многократно увеличивается при СД2. В настоящее время многие пациенты с СД2 имеют не только хроническую гипергликемию, но и страдают кардиоренальными или метаболическими осложнениями [3]. Во многом это связано с принятым в настоящее время поэтапным подходом в назначении сахароснижающих препаратов. Для снижения распространенности кардиоренального синдрома при СД2 принципиальное значение имеют раннее выявление СД2 и активная тактика лечения, начиная с момента установления диагноза, направленная на предотвращение прогрессирования метаболических нарушений. Ранний, эффективный и устойчивый контроль уровня глюкозы в крови позволяет отсрочить начало и снизить тяжесть микрососудистых и неврологических осложнений СД2 и помогает уменьшить риск макрососудистых осложнений [4, 5], так как это во многом определяет прогноз развития поздних осложнений СД.

Монотерапия метформином в дебюте СД2 в большинстве случаев не может рассматриваться как достаточная, так как на этой стадии уже имеются значительные изменения, требующие одновременного воздействия на несколько патогенетических звеньев развития СД2. Еще исследование UKPDS показало, что при старте лечения СД2 с любого варианта монотерапии, несмотря на достигнутый гликемический контроль в первый год терапии, в дальнейшем отмечалось нарастание уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) [6].

Поэтому метформин должен назначаться как можно раньше, на стадии ранних нарушений углеводного обмена, а при развитии СД2 следует применять более эффективные схемы сахароснижающей терапии, направленные на длительное поддержание хорошего гликемического контроля и замедление прогрессирования СД2. Ингибиторы дипептидилпептидазы-4 (ИДПП-4) снижают гипергликемию, стимулируя секрецию инсулина и подавляя синтез глюкагона в постпрандиальном периоде. ИДПП-4 могут помочь сохранить функцию β -клеток поджелудочной железы. Исследования последних лет показывают, что на начальных стадиях СД2 дисфункция β -клеток обратима [7]. Данные метаанализа Xiafei Lu демонстрируют, что ИДПП-4 в качестве монотерапии или в комбинации с другими сахароснижающими препаратами значительно улучшают функцию β -клеток, что подтверждается повышением НОМА-В индекса [8]. Терапия вилдаглиптином, высокоселективным ИДПП-4, приводит к значительным улучшениям в показателях функции β -клеток как натощак, так и после приема пищи у пациентов с СД2 [9].

В Алгоритмах лечения СД 2019 г. показанием для комбинированной терапии в дебюте СД2 является уровень HbA_{1c}, превышающий целевой на 1–2,5%. Но при старте монотерапии метформином рекомендо-

вано не позже чем через 6 мес назначение комбинации сахароснижающих препаратов, если HbA_{1c} снизился менее чем на 0,5% и не достигнута индивидуальная цель по HbA_{1c} [10, 11]. В Консенсусе ADA/EASD (редакция 2020 г.) отмечено, что у ряда пациентов старт с комбинации сахароснижающих препаратов может иметь преимущество, что подтвердило исследование VERIFY (*Vildagliptin Efficacy in combination with metformin For early treatment of type 2 diabetes*) [11]. Исходная комбинация вилдаглиптина и метформина продемонстрировала превосходство в отношении времени удержания гликемического контроля на терапии в сравнении с поэтапной интенсификацией метформина вилдаглиптином. В исследовании VERIFY был включен 2001 пациент в возрасте 18–70 лет с СД2, диагностированным в течение 2 лет, уровнем HbA_{1c} 6,5–7,5% [12]. После 3-недельного вводного периода титрации метформина до 1000 мг 2 раза в сутки пациенты были распределены в группы ранней комбинированной терапии (вилдаглиптин по 50 мг 2 раза в сутки и метформин по 1000 мг 2 раза в сутки) или поэтапной интенсификации монотерапии метформином. Необходимость интенсификации терапии путем добавления новых лекарственных препаратов может рассматриваться как маркер прогрессирования заболевания. В исследовании VERIFY первичной конечной точкой являлось время с момента рандомизации до неудачи стартовой терапии. Потеря гликемического контроля определялась по двум значениям $HbA_{1c} > 7\%$, отмеченным на двух последовательных визитах с интервалом 13 нед. Первый эпизод потери гликемического контроля мог быть отмечен не ранее чем через 6 мес от рандомизации. Переход на инсулин по совместному решению врача и пациента считался 2-й неудачей достижения гликемического контроля, которая оценивалась не ранее чем через 12 мес от рандомизации. Четыре вторичные конечные точки включали динамику уровня HbA_{1c} от начала до конца второго периода.

Длительность наблюдения составила пять лет. Раннее начало комбинированной терапии вилдаглиптином и метформином обеспечивало устойчивое долгосрочное улучшение контроля гликемии в сравнении с поэтапной интенсификацией монотерапии метформином у данной категории больных, причем разница составила 2 года в пользу раннего назначения комбинации. В группе поэтапной интенсификации стартовой монотерапии метформином по завершении исследования у 62,1% пациентов была отмечена потеря контроля, а в группе ранней комбинированной терапии – лишь у 43,6%. В группе ранней комбинированной терапии по сравнению с группой поэтапной интенсификации терапии метформином было достоверное снижение на 49% относительного риска наступления неудачи терапии. В группе ранней комбинированной терапии по сравнению с группой поэтапной интенсификации на 26% был ниже относительный риск наступления 2-й неудачи терапии [12].

Ранняя комбинированная терапия вилдаглиптином и метформином приводила к улучшению функции β -клеток по сравнению с монотерапией на старте [13].

Применение ранней комбинированной терапии вилдаглиптином и метформином у пациентов с впер-

вые выявленным СД2 ведет к значимому и стабильному длительному улучшению отдаленных показателей гликемического контроля в сравнении со стандартной поэтапной стратегией назначения монотерапии метформином с возможностью последующей интенсификации.

Учитывая необходимость активного внедрения современных алгоритмов лечения СД2 в рутинную клиническую практику, представляется важным проведение анализа структуры терапии пациентов с СД2. В статье на основании данных регистра СД Московской области представлена частота назначения различных сахароснижающих препаратов как в виде монотерапии, так и в комбинации в целом и при впервые выявленном СД2. Для оценки преимуществ ранней комбинированной терапии приведены клинические примеры применения сахароснижающих препаратов у пациентов с небольшой длительностью СД2 как в виде комбинированной терапии вилдаглиптином и метформином, так и в виде монотерапии метформином.

ЦЕЛЬ

На основании данных регистра СД Московской области оценить текущую ситуацию по частоте осложнений СД2 и структуре назначения различных сахароснижающих препаратов. На клинических примерах продемонстрировать преимущества ранней комбинированной терапии вилдаглиптином и метформином у пациентов с небольшой длительностью СД2.

МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено ретроспективное исследование. Для анализа использованы данные регистра СД Московской области, являющегося частью Федерального регистра Российской Федерации.

Структура причин смерти пациентов с СД2 оценена на основании данных о 6096 пациентах с СД2, умерших в 2019 г.

Структура сахароснижающей терапии у пациентов с СД2 проанализирована на основании данных 226 327 пациентов с СД2 (за 2020 г.), а также отдельно – 14 379 пациентов с впервые выявленным (за 2019 г.) СД2.

Клинические примеры описаны на основании данных по двум пациентам с СД2, имеющихся в базе регистра СД Московской области и амбулаторных картах.

Условия проведения

Информация о пациентах, собранная в регистре, поступает от врачей-эндокринологов из различных лечебных учреждений Московской области, в которых эти пациенты наблюдаются. Использовались данные, включающие сведения о возрасте пациентов, получаемом лечении, микрососудистых осложнениях, причинах смерти (среди умерших).

Анализ в подгруппах

Рассмотрены причины смерти, связанные с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ). Выборки сформированы в зависимости от пола и возрастной группы.

Доля больных, имеющих микрососудистые осложнения и нейропатию, рассчитана по отношению к общему числу больных СД2.

Структура назначений препаратов неинсулинового ряда (ПНИР) была оценена в целом в процентном отношении к общему числу больных СД. Определено процентное соотношение назначений препаратов в виде монотерапии, двойной и тройной терапии. Проведен анализ структуры назначений ПНИР у пациентов в первый год после установления диагноза СД2.

Этическая экспертиза

Протокол исследования рассмотрен локальным независимым этическим комитетом при ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского (протокол №3 от 06 марта 2018 г.) и получил положительное решение.

Статистический анализ

Выборки созданы с помощью компьютерной программы Регистр СД, разработанной компанией Aston Consulting. Расчет выполняли в программе Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

Объектами исследования являлись данные регистра СД МО за 2019–2020 гг.

Основные результаты исследования

Большой вклад в инвалидизацию и смертность вносят микрососудистые осложнения СД и диабетическая нейропатия. Диабетическая ретинопатия и диабетическая нефропатия регистрируются у больных СД2 практически с одинаковой частотой — около 11% (табл. 1). Диабетическая нейропатия диагностируется в 17,9%.

У пациентов, заболевших СД2 до 40 лет, распространенность тяжелых стадий осложнений гораздо выше, чем в общей популяции пациентов с СД2 (рис. 1). Так, у пациентов, заболевших до 40 лет, по сравнению с общей популяцией пациентов распространенность слепоты больше в 5,9 раза, терминальной стадии хронической почечной недостаточности (ХПН) — в 2,9 раза, а ампутаций нижних конечностей — в 6,4 раза.

Таблица 1. Распространенность микрососудистых осложнений и нейропатии у больных сахарным диабетом 2 типа.

Осложнения	Стадия осложнений	Распространенность	
		N	%
Диабетическая ретинопатия	Непролиферативная	19 562	8,23
	Препролиферативная	4956	2,08
	Пропролиферативная	1887	0,79
	Слепота	358	0,15
Диабетическая нефропатия	C1	561	0,24
	C2	14 647	6,16
	C3a	8593	3,61
	C3b	2768	1,16
	C4	580	0,24
	C5	822	0,35
Диабетическая нейропатия	Дистальная	39 740	16,71
	Автономная	2827	1,19

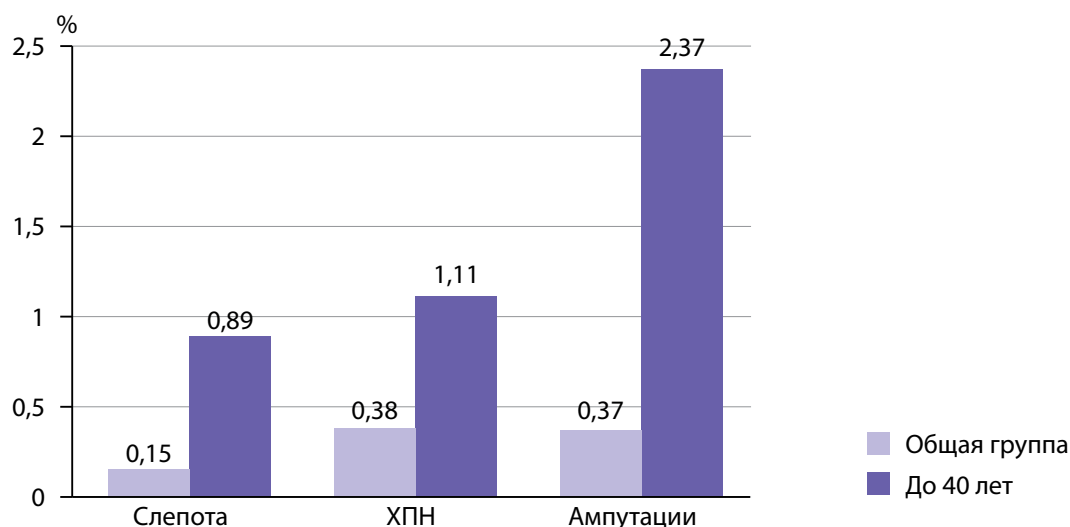


Рисунок 1. Поздние осложнения у больных сахарным диабетом 2 типа, заболевших в возрасте до 40 лет, в сравнении с общей группой больных сахарным диабетом 2 типа (%).

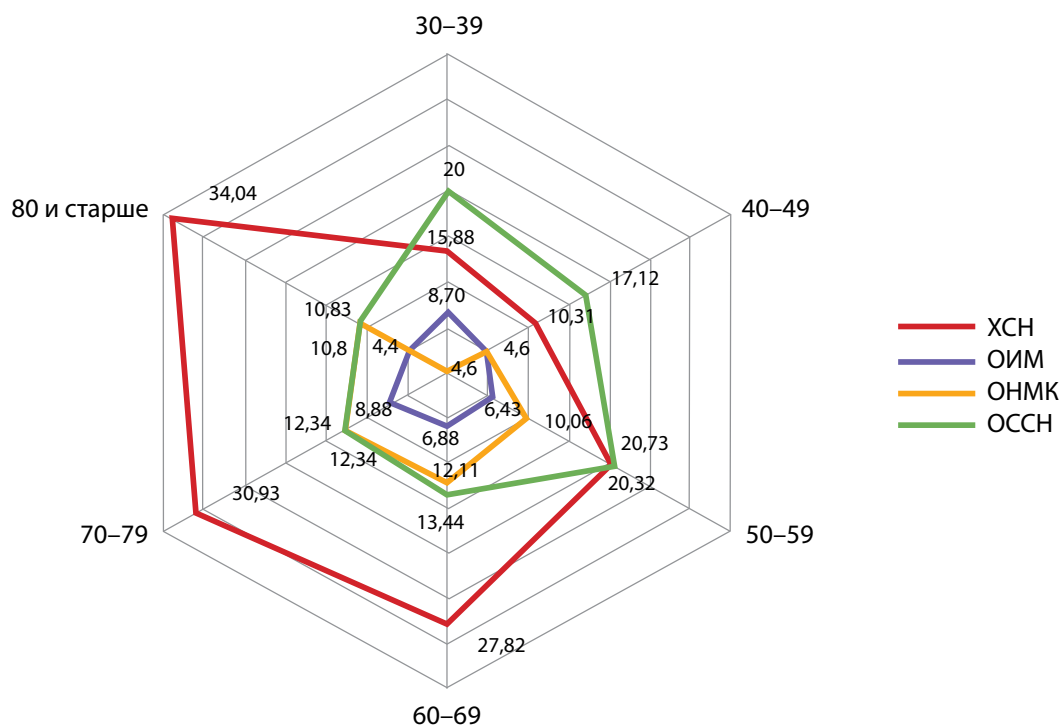


Рисунок 2. Основные причины смерти при сахарном диабете 2 типа в зависимости от возраста (шесть осей на диаграмме соответствуют различным возрастным группам в годах, пересечение фигуры на оси соответствует проценту встречаемости показателя в соответствующей возрастной группе). ХСН — хроническая сердечная недостаточность; ОИМ — острый инфаркт миокарда; ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения; ОССН — острые сердечно-сосудистые нарушения.

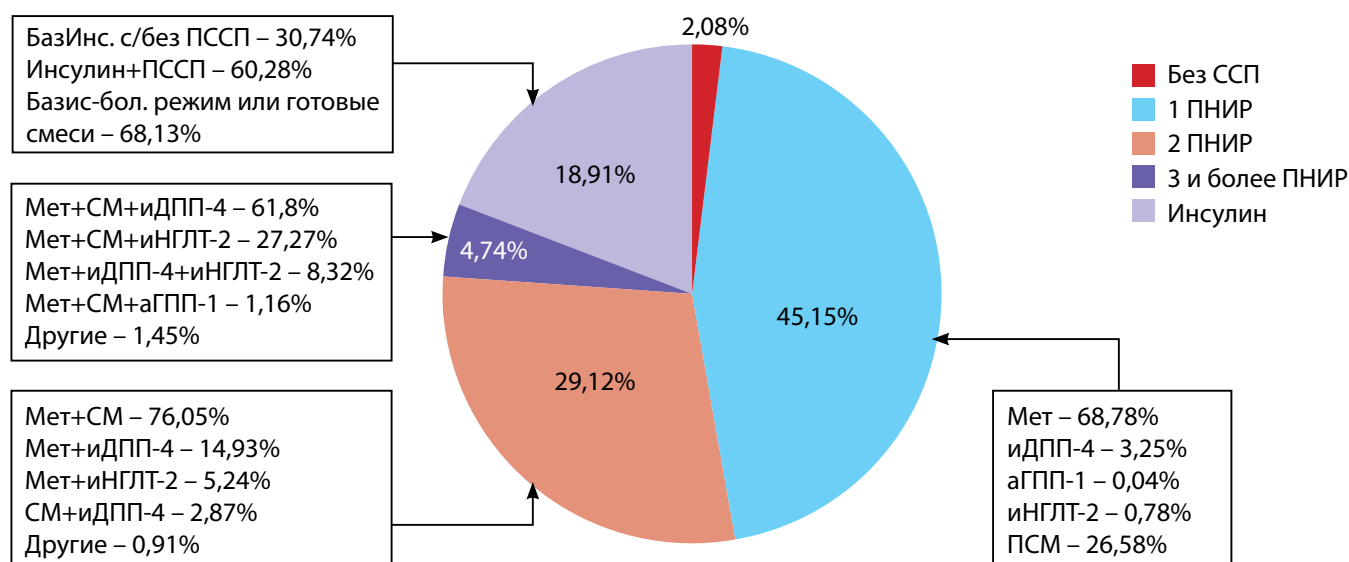


Рисунок 3. Структура сахароснижающей терапии сахарного диабета 2 типа в 2020 г. (%). ПССП — пероральные сахароснижающие препараты; СМ — сульфонилмочевина; иДПП-4 — ингибиторы дипептидилпептидазы-4; иНГЛТ-2 — ингибиторы натрийглюкозного котранспортера 2; аГПП-1 — аналоги глюкагоноподобного пептида 1; ПНИР — препараты неинсулинового ряда.

В структуре причин смерти лидирует хроническая сердечная недостаточность (ХСН) — 30,07%, острые сердечно-сосудистые нарушения (ОССН) — 12,86%, нарушение мозгового кровообращения (НМК) — 11,58%. На долю острого инфаркта миокарда (ОИМ) приходится 5,66% причин смерти (рис. 2). У мужчин и женщин структура причин смерти сопоставима, при этом у женщин несколько чаще в сравнении с мужчинами причиной смерти является ХСН и реже — другие ССЗ.

Есть определенные различия в структуре причин смерти в зависимости от возраста. В группе больных СД2 до 60 лет причиной смерти чаще всего являются ОССН,

в более старшей возрастной группе — ХСН, которая наиболее часто является причиной смерти в возрасте 80 и более лет (рис. 2).

В структуре медикаментозной сахароснижающей терапии СД2 в 2020 г. преобладает доля назначений ПНИР — 79,01% (рис. 3), инсулинотерапия как в сочетании с ПНИР, так и без них используется менее чем в 19%. Доля пациентов, не использующих медикаментозную сахароснижающую терапию, составляет 2,08%.

В общей структуре назначений ПНИР лидирует метформин, на 2-м месте — препараты сульфонилмочевины (СМ), далее — иДПП-4 (табл. 2).

Таблица 2. Назначение препаратов неинсулинового ряда.

Тип препарата	Число пациентов	%
Метформин	158 681	70,11
СМ	118 872	52,52
идПП-4	25 638	11,33
иНГЛТ-2	12 605	5,57
Фиксированные комбинации СМ/метформин	10 309	4,55
Фиксированные комбинации идПП4 /метформин	5475	2,42
Глиниды	1688	0,75
Агонисты рецепторов глюкагоноподобного пептида-1	827	0,37
Фиксированные комбинации иНГЛТ-2/метформин	113	0,05
Ингибиторы альфа-глюкозидазы	33	0,02
Тиазолидиндионы	31	0,01

Таблица 3. Распределение больных по возрастным группам в зависимости от схемы препаратов неинсулинового ряда, назначенной в дебюте сахарного диабета 2 типа.

Возраст	Количество ПНИР							
	1 ПНИР		2 ПНИР		3 ПНИР		Всего	
	n	%	n	%	N	%	N	%
≤60 лет	3551	57,1	2274	36,6	390	6,3	6215	100
>60 лет	5429	67,3	2377	29,4	269	3,3	8075	100

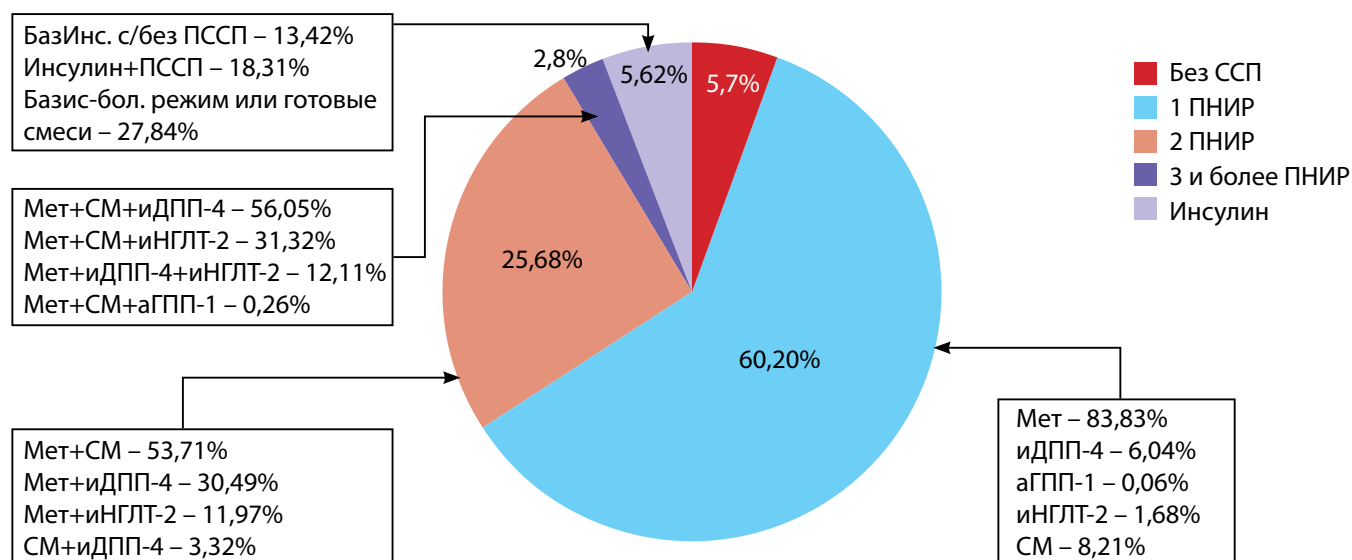


Рисунок 4. Структура сахароснижающей терапии впервые выявленного сахарного диабета 2 типа в 2019 г. (%). ПССП — пероральные сахароснижающие препараты; СМ — сульфонилмочевина; идПП-4 — ингибиторы дипептидилпептидазы-4; иНГЛТ-2 — ингибиторы натрийглюкозного котранспортера 2; аГПП-1 — аналоги глюкагоноподобного пептида 1; ПНИР — препараты неинсулинового ряда

При назначении ПНИР чаще используется терапия одним препаратом, в большинстве случаев метформин. Препараты СМ в виде монотерапии назначаются все еще в достаточно большом проценте случаев (26,58%), идПП-4 — в 3,25% случаев. При двойной комбинации ПНИР в 96,22% используется метформин. Наиболее часто он применяется в сочетании с СМ и идПП-4, реже — с иНГЛТ-2. Менее чем в 5% случаев используется комбинация трех и более ПНИР. Из тройных комбинаций чаще всего используется сочетание препаратов метформина, СМ, идПП-4.

В структуре ПНИР при впервые выявленном СД2 комбинированная терапия применяется реже, чем в целом

у пациентов с СД2 (рис. 4). При этом более активно назначаются препараты идПП-4. При использовании комбинации отмечается более активное назначение метформина и идПП-4 (30,49% — в группе больных с впервые выявленным СД2 и 14,93% — в общей группе больных СД2). В тройной комбинации ПНИР наиболее часто назначается комбинация метформина, препаратов СМ, идПП-4 (56,05%).

Пациенты в возрасте 60 лет и младше почти в 2 раза чаще получают тройную комбинацию различных ПНИР, чем в более старшей возрастной группе, процент назначения двойных комбинаций в более молодом возрасте также несколько выше (табл. 3). Тем не менее

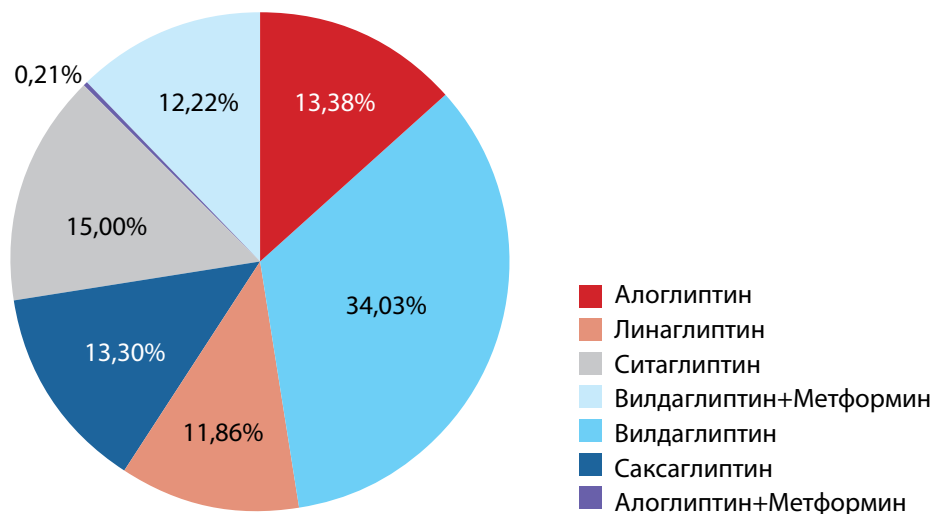


Рисунок 5. Структура препаратов в группе ингибиторов дипептидилпептидазы-4, 2020 г. (%).

монотерапия составляет более 50% назначений в сравнении с другими схемами вне зависимости от возрастной группы, представляется неоправданным в свете современных рекомендаций по раннему назначению комбинированной сахароснижающей терапии в дебюте СД2.

Из препаратов группы ИДПП-4 наиболее часто назначается вилдаглиптин — в 46,25% (в том числе в виде фиксированной комбинации с метформином — в 12,22%) (рис. 5).

Далее на конкретных клинических примерах рассмотрены преимущества раннего назначения комбинации вилдаглиптина и метформина при впервые выявленном СД2.

Описание клинических случаев.

1. Пациентка Б. (46 лет).

Диагноз СД установлен в январе 2014 г. в возрасте 40 лет, когда направлена терапевтом к эндокринологу по месту жительства в связи с повышением уровня глюкозы в биохимическом анализе крови (7,1 ммоль/л). При повторном исследовании крови: глюкоза плазмы натощак — 7,4 ммоль/л, HbA_{1c} — 7,3%, общий холестерин — 7,2 ммоль/л. Пациентка была очень обеспокоена повышением гликемии, имела в семье пример тяжелого течения диабета у отца.

Данные физикального обследования в 2014 г.

Рост 154 см, вес 74,0 кг. Индекс массы тела (ИМТ) 31,2 кг/м². Распределение подкожножировой клетчатки

с преимущественным отложением на животе. Ритм сердечных сокращений правильный. Тоны сердца ясные. ЧСС 80 в 1 мин. АД 140/80 мм рт. ст. Живот мягкий, безболезненный, печень не выступала из-под края реберной дуги. Дизурических явлений не было.

Установлен диагноз: СД2. Целевой уровень HbA_{1c} менее 6,5%. Ожирение 1-й степени, алиментарно-конституционального генеза. Дислипидемия. Артериальная гипертензия 1-й степени, очень высокий риск сердечно-сосудистых осложнений.

Лечение: 01.02.2014 рекомендована диета с ограничением простых углеводов и животных жиров, назначена комбинированная терапия: вилдаглиптин 50 мг 2 раза в день и метформин 850 мг 2 раза в день. На фоне проводимого лечения гликемия в 2014 г. была 6,2–6,7 ммоль/л натощак и до 8,5 ммоль/л через 2 ч после еды, HbA_{1c} — 6,4%, АД — 130–140/75–80 мм рт.ст., общий холестерин снизился до 4,8 ммоль/л. В 2015 г. пациентка переведена на фиксированную комбинацию вилдаглиптин/метформин 50/850 по 1 таблетке 2 раза в день, продолжала принимать антигипертензивную терапию: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ) (эналаприл по 5 мг 2 р/д), β-блокаторы (бисопролол 5 мг 1 р/д), статины (аторвастатин 20 мг/сут). Динамическое наблюдение за весом, биохимическими анализами, HbA_{1c} больной подтвердило адекватность подобранной терапии (табл. 4). На фоне проводимой терапии побочных явлений не было, пациентка была удовлетворена результатами лечения.

Таблица 4. Показатели, отражающие состояние пациентки в динамике.

Год наблюдения	Вес, кг	ИМТ, кг/м ²	HbA _{1c} , %	Креатинин, мкмоль/л	Холестерин, ммоль/л
2015	73,3	30,9	6,4	76,0	4,8
2016	72,0	30,4	6,3	75,0	4,6
2017	72,4	30,5	6,4	76,0	4,5
2018	72,0	30,4	6,5	67,0	4,5
2019	71,5	30,1	6,3	77,0	4,4
2020	71,0	29,9	6,5	77,4	4,3

Обсуждение клинического случая. Диагноз СД был выявлен у пациентки в молодом возрасте, что увеличивает риск развития поздних осложнений СД в сравнении с лицами среднего и старшего возраста и в дальнейшем ведет к сокращению продолжительности жизни. К моменту диагностики СД2 функциональный резерв β -клеток истощен уже на 50%, поэтому требуется назначение терапии, способной не только быстро достичь целевых значений гликемии и стойко поддерживать гликемический контроль, но и затормозить прогрессирование СД2 [14]. Назначенная терапия не должна вызывать прибавку массы тела, так как у пациентки ожирение 1-й степени. Этим условиям отвечала комбинация метформина с вилдаглиптином, которая в исследовании VERIFY доказала преимущества в качестве ранней комбинированной терапии по сравнению с традиционным пошаговым подходом [12]. Хотя в исследовании VERIFY использовалась комбинация двух препаратов, назначение вилдаглиптина с метформином в качестве фиксированной комбинации в препарате Галвус Мет[®] удобно для пациентов и повышает приверженность терапии [15].

2. Пациент Ю. (42 года).

Диагноз СД2 установлен в феврале 2013 г. в возрасте 35 лет. Обратился к эндокринологу по месту жительства, когда проходил медкомиссию при устройстве на работу. При обследовании в биохимическом анализе крови выявлена гликемия 6,8 ммоль/л. Проведен оральный глюкозотолерантный тест с нагрузкой 75 г глюкозы. В капиллярной крови глюкоза натощак 6,5 ммоль/л, через 2 ч после нагрузки глюкозой гликемия 11,4 ммоль/л, HbA_{1c} 7,4%. Полученные данные свидетельствовали о наличии СД2.

Данные физикального обследования в 2013 г. Рост 174 см, вес 100 кг. ИМТ 33,1 кг/м². Распределение подкожножировой клетчатки с преимущественным отложением на животе. Ритм сердечных сокращений правильный. Тоны сердца ясные. ЧСС 82 в 1 мин. АД 150/90 мм рт. ст. Живот мягкий, безболезненный, печень не увеличена.

Диагноз: СД2. Целевой уровень HbA_{1c} менее 6,5%. Ожирение 1-й степени, алиментарно-конституционального генеза. Артериальная гипертензия 1-й степени, очень высокий риск сердечно-сосудистых осложнений.

Лечение: 01.02.2013 г. назначена диета с ограничением простых углеводов и животных жиров, вилдаглиптин/метформин 50/500 мг 2 раза в день. На фоне проводимой терапии гликемия была в пределах 6,0 ммоль/л натощак и 7,5–8 ммоль/л через 2 ч после еды. Проводилось обучение пациента особенностям питания при СД2 т. За 6 мес HbA_{1c} снизился на 1,0% (с 7,4 до 6,4%), вес — на 4 кг. Пациент был удовлетворен результатами лечения.

До августа 2018 г. HbA_{1c} был в пределах 6,4–6,5% (табл. 5), затем с учетом хороших показателей гликемии и HbA_{1c} пациент был переведен на метформин 1000 мг 2 раза в день. В 2019 г. HbA_{1c} увеличился до 7,0 % (табл. 5).

Особенности клинической ситуации. Пациенту с относительно небольшим повышением HbA_{1c} (7,4%) и уровня гликемии (6,8 ммоль/л) сразу назначена патогенетическая комбинированная сахароснижающая терапия вилдаглиптин/метформин (50/500 мг 2 раза в день). Достигнут хороший гликемический контроль: уровень гликемии снизился до 5,9–6,0 ммоль/л, целевой уровень HbA_{1c} (6,4–6,5%) сохранялся на протяжении 5 лет. Однако

Таблица 5. Параметры, отражающие состояние пациента в динамике.

Год наблюдения	Вес, кг	ИМТ, кг/м ²	HbA_{1c} , %	Креатинин, мкмоль/л
2013	100	33,1	7,4	82,2
2014	96	31,7	6,4	82,0
2015	96,8	32,05	6,3	83,1
2016	96,0	31,7	6,5	83,0
2017	96,0	31,7	6,4	83,0
2018	95,8	31,7	6,5	79,0
2019	96,8	32,05	7,0	81,0
2020	98,8	32,7	7,1	84,5

в дальнейшем пациент переведен на монотерапию метформином, что привело к ухудшению гликемического контроля (HbA_{1c} повысился до 7,1% и стал выше целевого уровня на 0,6%) (табл. 5), что впоследствии повышает риск развития поздних осложнений СД.

ОБСУЖДЕНИЕ

Реальная распространенность микрососудистых осложнений и диабетической нейропатии, скорее всего, гораздо больше заявленной в регистре, так как часто начальные стадии осложнений не диагностируются и не регистрируются [16]. Распространенность конечных стадий поздних осложнений СД2 (слепоты, ХПН, ампутации нижних конечностей) более соответствует данным регистра, и на основании информации из регистра о распространенности конечных стадий осложнений в различных подгруппах пациентов можно выделить дополнительные риски их развития. Данные нашего анализа свидетельствуют о большем риске развития конечных стадий поздних осложнений при дебюте СД2 до 40 лет.

Фактором риска прогрессирования микрососудистых осложнений является плохой гликемический контроль. У пациентов, заболевших в молодом возрасте, необходимо с самого начала назначить терапию, максимально способствующую длительному поддержанию гликемического контроля.

Риск развития макрососудистых осложнений увеличивается уже при небольшом повышении гликемии [17]. Поэтому при впервые выявленном СД2, когда еще нет тяжелых ССЗ, целесообразно назначить сахароснижающую терапию, способную длительно поддерживать показатели гликемии и HbA_{1c} в целевых значениях. Особенно это важно у пациентов, заболевших СД2 в молодом возрасте, так как, по последним данным, продолжительность жизни больных с диагнозом СД2, установленным ранее 40 лет, до 12 лет меньше, чем у лиц без СД2. В то время как в целом у пациентов с СД2 продолжительность жизни меньше, чем у лиц без диабета, до 6 лет [18].

В связи с этим представляют интерес данные о вариантах назначения сахароснижающих препаратов в реальной клинической практике, представленные в регистре больных СД.

Структура сахароснижающей терапии, по данным регистра СД Московской области, отражает современные

тренды в лечении СД2. Во всех странах наиболее часто назначаемым препаратом в лечении СД2 является метформин. В то же время в ряде стран на втором месте в структуре назначений находятся иДПП-4. Так, по информации, полученной из электронной базы данных рецептов в Греции, метформин назначается в 77,4%, а иДПП-4 — в 44,8% [19]. В качестве второго препарата, добавленного к метформину, все чаще используются препараты иДПП-4 и ингибиторы натрийглюкозного котранспортера 2 (иНГЛТ-2), причем наиболее частой комбинацией является назначение метформина и иДПП-4 [20]. В Великобритании в 2017 г. для интенсификации лечения новые рецепты на иДПП-4 были выписаны в 42%, на иНГЛТ-2 — в 22% [21]. Таким образом, в большинстве стран явно прослеживается тренд на активное применение новых классов сахароснижающих препаратов в составе комбинированной терапии для лечения пациентов с СД2.

Клинические примеры, описанные на основании данных по двум пациентам с СД2, имеющихся в базе регистра СД Московской области и амбулаторных картах, подтверждают преимущества ранней комбинированной терапии у пациентов с небольшой длительностью СД2. Так, в первом примере раннее назначение вилдаглиптина 50 мг × 2 р/д в сочетании с метформином 850 × 2 р/д пациентке, имеющей исходно умеренное повышение уровня HbA_{1c} (7,3%), позволило достичь целевого уровня HbA_{1c} (6,4%) в 1-й год лечения и стойко удерживать его на протяжении 6 лет без набора массы тела и развития гипогликемий, а также сохранить высокую приверженность к данному типу терапии. Второй клинический пример демонстрирует быстрый клинический эффект — снижение HbA_{1c} до целевого уровня за 6 мес, отсутствие гипогликемий, других нежелательных побочных явлений, положительную динамику веса. Хорошая переносимость комбинации предполагает возможность длительного лечения, позволяющего сохранять адекватный гликемический и метаболический контроль. Замену комбинированного препарата на монотерапию препаратом метформина следует считать нецелесообразной, что подтверждается нарастанием веса пациента и уровня HbA_{1c} .

Ограничением данного исследования является ретроспективность проанализированных данных.

Резюме основного результата исследования

Данные реальной клинической практики показывают, что достаточно большой процент пациентов с СД2 находится на монотерапии ПНИР, и она длительно не пересматривается. По данным регистра СД Московской области 45,15% используют монотерапию ПНИР и только 29,12% — двойную и 4,74% — тройную комбинации.

При впервые выявленном СД2 монотерапия ПНИР назначается еще большему проценту пациентов с СД2.

Обсуждение основного результата исследования

Данные клинических исследований убедительно доказывают преимущества комбинированной терапии ПНИР у пациентов с СД2. Ранняя комбинированная терапия пациентов с недавно диагностированным СД2 и не получавших ранее сахароснижающие препараты позволяет воздействовать на несколько звеньев патогенеза

неза диабета, обеспечивает более длительный гликемический контроль и позволяет предотвратить или отсрочить наступление поздних сосудистых осложнений СД2 и сокращение ожидаемой продолжительности жизни. Данные клинического исследования VERIFY указывают на преимущества раннего назначения комбинации метформина и вилдаглиптина. Преимущества раннего назначения других представителей группы иДПП-4 в комбинации с метформином отсутствуют. Вилдаглиптин является высокоселективным иДПП-4, обеспечивающим стабильную физиологическую концентрацию глюкагоноподобного пептида 1 и глюкозозависимого инсулинотропного пептида в крови. Благодаря этому вилдаглиптин вызывает повышение чувствительности к глюкозе β -клеток поджелудочной железы при гипергликемии и α -клеток при гипогликемии, что оптимизирует глюкозозависимую секрецию инсулина и глюкагона, стабилизирует как постпрандиальную и межпрандиальную, так и ночную гликемию и снижает риск гипогликемий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Недостаточный гликемический контроль является мощным фактором прогрессирования осложнений, поэтому пациентам с СД2 целесообразно с самого начала назначать терапию, максимально способствующую длительному поддержанию гликемического контроля. Особенно это важно для пациентов, заболевших СД2 в относительно молодом возрасте. По данным регистра СД МО, при дебюте СД2 до 40 лет наблюдается более высокий риск развития конечных стадий поздних осложнений. Представленные клинические примеры демонстрируют преимущества раннего назначения комбинации вилдаглиптина и метформина пациентам с СД2, заболевшим в молодом возрасте.

Назначение комбинации метформина и вилдаглиптина пациентам при установлении диагноза СД2 и с небольшой длительностью СД2 позволяет:

- добиться более длительного поддержания гликемического контроля без повышения риска гипогликемии и набора массы тела;
- отсрочить необходимость инсулинотерапии;
- обеспечить высокую приверженность лечению.

Для других представителей группы иДПП-4 пока не получены доказательства преимущества их назначения в комбинации с метформином в качестве старта у пациентов с небольшим повышением уровня HbA_{1c} .

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках выполнения Госзадания НИР в ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Мисникова И.В. — концепция и дизайн исследования и статьи, анализ литературы, написание и редактирование текста статьи; Ковалева Ю.А. — анализ базы данных, написание текста статьи, оформление таблиц и рисунков; Губкина В.А. — описание клинических случаев, написание и оформление текста статьи.

Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Varghese RT, Dalla Man C, Sharma A, et al. Mechanisms Underlying the Pathogenesis of Isolated Impaired Glucose Tolerance in Humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(12):4816-4824. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1998>
- Tentolouris N, Eleftheriadou I. Diabetes mellitus doubles the risk of type 2 cardiorenal syndrome: results from the NHANES trial. *Hell J Cardiol*. 2017;58(5):348-349. doi: <https://doi.org/10.1016/j.hjc.2017.11.013>
- Arnold SV, Kosiborod M, Wang J, et al. Burden of cardio-renal-metabolic conditions in adults with type 2 diabetes within the Diabetes Collaborative Registry. *Diabetes, Obes Metab*. 2018;20(8):2000-2003. doi: <https://doi.org/10.1111/dom.13303>
- Bailey CJ, Day C. Treatment of type 2 diabetes: future approaches. *Br Med Bull*. 2018;126(1):123-137.
- Шестакова Е.А. Возможности ранней комбинированной терапии сахарного диабета 2-го типа // *Проблемы эндокринологии*. 2015. — Т. 51. — №5. — С. 56-59. [Shestakova EA. Possible benefits of early combination therapy of type 2 diabetes. *Problems of Endocrinology* — 2015;61(5):56-59. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201561556-59>
- Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS). Group UKPDS 34. *Lancet*. 1998;352:854-865; 352:837-853.
- Saisho Y. Changing the Concept of Type 2 Diabetes: Beta Cell Workload Hypothesis Revisited. *Endocrine, Metab Immune Disord — Drug Targets*. 2019;19(2):121-127. doi: <https://doi.org/10.2174/1871530318666180821161825>
- Lyu X, Zhu X, Zhao B, et al. Effects of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors on beta-cell function and insulin resistance in type 2 diabetes: meta-analysis of randomized controlled trials. *Sci Rep*. 2017;7(1):44865. doi: <https://doi.org/10.1038/srep44865>
- Pratley RE, Schweizer A, Rosenstock J, et al. Robust improvements in fasting and prandial measures of β -cell function with vildagliptin in drug-naïve patients: analysis of pooled vildagliptin monotherapy database. *Diabetes, Obes Metab*. 2008;10(10):931-938. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2007.00835.x>
- Алгоритмы специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / Под редакцией И.И. Дедова, М.В. Шестаковой, А.Ю. Майорова. 9-й выпуск (дополненный) // *Сахарный диабет*. — 2019 — Т. 22. — № 151. — С. 1-144. [Standards of specialized diabetes care. Edited by Dedov II, Shestakova MV, Mayorov AY. 9th edition. *Diabetes mellitus*. 2019;22(151):1-144. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM22151>
- Buse JB, Wexler DJ, Tsapas A, et al. 2019 update to: Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2018. A consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetologia*. 2020;63(2):221-228. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-019-05039-w>
- Matthews DR, Paldanius PM, Proot P, Chiang Y, Stumvoll M, Del Prato S. Glycaemic durability of an early combination therapy with vildagliptin and metformin versus sequential metformin monotherapy in newly diagnosed type 2 diabetes (VERIFY): a 5-year, multicentre, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2019;394(10208):1519-1529. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)32131-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)32131-2)
- Paldanius PM, Ivaska KK, Hovi P, et al. Poster presented at 56th Virtual Annual Meeting EASD; 2020; Sep 21-25.
- Lebovitz H. Importance of early insulin secretion. *Diabetes rev*. 1999;7:139-153.
- Rombopoulos G, Hatzikou M, Athanasiadis A, Elisaf M. Treatment Compliance with Fixed-Dose Combination of Vildagliptin/Metformin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus Inadequately Controlled with Metformin Monotherapy: A 24-Week Observational Study. *Int J Endocrinol*. 2015;2015(11):1-5. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/251485>
- Сунцов Ю.И., Болотская Л.Л., Маслова О.В., и др. Эпидемиология сахарного диабета и прогноз его распространенности в Российской Федерации // *Сахарный диабет*. — 2011. — №1. — С. 15-18. [Suntsov Yul, Bolotskaya LL, Maslova OV. Epidemiology of diabetes mellitus and prognosis of its prevalence in the Russian Federation. *Diabetes mellitus*. 2011;1:15-18. (In Russ.)].
- Huang D, Refaat M, Mohammedi K, et al. Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes. *Biomed Res Int*. 2017;2017:1-9. doi: <https://doi.org/10.1155/2017/7839101>
- Sattar N, Rawshani A, Franzén S, et al. Age at Diagnosis of Type 2 Diabetes Mellitus and Associations With Cardiovascular and Mortality Risks. *Circulation*. 2019;139(19):2228-2237. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.037885>
- Liatis S, Dafoulas GE, Kani C, et al. The prevalence and treatment patterns of diabetes in the Greek population based on real-world data from the nation-wide prescription database. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016;118:162-167. doi: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2016.06.018>
- Kim J, Park S, Kim H, Je NK. National trends in metformin-based combination therapy of oral hypoglycaemic agents for type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Pharmacol*. 2019;75(12):1723-1730. doi: <https://doi.org/10.1007/s00228-019-02751-9>
- Wilkinson S, Douglas I, Stirnadel-Farrant H, et al. Changing use of antidiabetic drugs in the UK: trends in prescribing 2000–2017. *BMJ Open*. 2018;8(7):e022768. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-022768>

Рукопись получена: 29.11.2020. Одобрена к публикации: 15.12.2020. Опубликовано online: 17.12.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Мисникова Инна Владимировна**, д.м.н., в.н.с., профессор кафедры эндокринологии ФУВ ГБУЗ МО МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского [Inna V. Misnikova MD, PhD]; адрес: Россия, 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2 [address: 61/2 Schepkina street, 129110 Moscow, Russia]; <http://orcid.org/0000-0003-1668-8711>; eLibrary SPIN: 3614-3011; e-mail: inna-misnikova@mail.ru

Ковалева Юлия Александровна, к.м.н. [Yulia A. Kovaleva, Candidate of medical Sciences]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-7327-2486>; eLibrary SPIN: 2645-1293; e-mail: yulia.kovaleva@mail.ru

Губкина Валерия Алексеевна, к.м.н. [Valeriya A. Gubkina, Candidate of medical Sciences]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7813-8013>; eLibrary SPIN: 6032-6269; e-mail: gubkina@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Мисникова И.В., Ковалева Ю.А., Губкина В.А. Ранняя интенсификация сахароснижающей терапии: уроки VERIFY и реальная клиническая практика на примере данных регистра СД Московской области // *Проблемы эндокринологии*. — 2020. — Т. 66. — №5. — С. 86–95. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12696>

FOR CITATION

Misnikova IV, Kovaleva YA, Gubkina VA. Early intensification of glucose-lowering therapy: VERIFY lessons and real clinical practice on the example of the Moscow region register data *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):86-95. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12696>

ВИТАМИН D И РЕПРОДУКТИВНОЕ ЗДОРОВЬЕ

© И.В. Горелова¹, П.В. Попова^{1,2*}, М.В. Рулёв¹¹Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Институт перинатологии и педиатрии, Москва, Россия²Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия

Недостаточность и дефицит витамина D у женщин с бесплодием встречаются чаще, чем в популяции. Однако мы до сих пор не знаем точных механизмов участия витамина D в регуляции репродуктивной функции. Целью данного исследования является анализ современных литературных данных о роли витамина D в регуляции репродуктивной функции и его влиянии на результаты использования вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) при лечении бесплодия.

Был проведен поиск литературных источников, опубликованных в базе данных NSBI PubMed, Medline и др. с глубиной поиска до 20 лет. Было изучено 135 источников по данной теме, из которых 54 были включены в анализ. В обзоре представлены данные, полученные в работах на животных, *in vitro* и в клинических исследованиях. Так, отсутствие витамина D приводило в резкому снижению фертильности как у самок, так и самцов крыс и мышей за счет развития гипокальциемии. Работы, проведенные *in vitro*, описывают его участие в рецептивной трансформации эндометрия и в формировании иммунного ответа во время имплантации эмбриона. При этом клинические исследования часто показывают противоречивые результаты. У мужчин не получено однозначных данных о влиянии уровня витамина D на показатели спермограммы, но продемонстрировано снижение частоты наступления беременности при индукции овуляции в парах, где у мужчины было выявлено дефицитное состояние. Метаанализ, опубликованный в 2017 г., показал снижение частоты наступления беременности и родов в результате применения ВРТ у женщин с низким уровнем витамина D. При этом авторам не удалось установить, связано ли это с действием витамина D на качество ооцита или на эндометрий. Возможно, что его влияние на фертильность реализуется не при всех формах бесплодия. Например, при ановуляторном бесплодии, обусловленном синдромом поликистозных яичников, дефицит витамина D оказывает негативное влияние на частоту наступления беременности как в циклах стимуляции овуляции, так и при применении ВРТ, а его восполнение может приводить к повышению частоты наступления беременности. При идиопатическом бесплодии такой связи выявлено не было.

Таким образом, роль витамина D в патогенезе бесплодия требует дальнейшего изучения, так же как и возможности терапии с целью повышения эффективности методов лечения бесплодия и программ ВРТ.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: витамин D; бесплодие; вспомогательные репродуктивные технологии; синдром поликистозных яичников.

VITAMIN D AND REPRODUCTIVE HEALTH

© Inga V. Gorelova¹, Polina V. Popova^{1,2*}, Maxim V. Rulev¹¹Almazov National Medical Research Centre, Institute of Perinatology and Pediatrics, Moscow, Russia²St Petersburg Pavlov State Medical University, Saint-Petersburg, Russia

Vitamin D insufficiency and deficiency in women with infertility is more common than in the population. However, we still do not know the exact mechanisms for the participation of vitamin D in the regulation of reproductive function. The purpose of this study is to analyze actual literature data on the role of vitamin D in the regulation of reproductive system and its influence on using of assisted reproductive technologies for the treatment of infertility. A search was carried out for literary sources published in the NSBI database PubMed, Medline, and others with a search depth of up to 20 years. 135 sources on this topic were studied, of which 54 were included in the analysis. The review presents data obtained in animal studies, *in vitro* and in clinical studies. Thus, the absence of vitamin D resulted in a dramatical decrease in fertility in both female and male rats and mice, due to the development of hypocalcemia. *In vitro* studies describe its involvement in the receptive transformation of the endometrium and in the regulation of the immune response during embryo implantation. However, clinical studies often show conflicting results. There is no unequivocal data on the effect of vitamin D levels on spermogram parameters, but a decrease in the pregnancy rate was shown when ovulation was induced in pairs, where a vitamin D deficiency was revealed in men. A meta-analysis published in 2017 showed a decrease in the pregnancy and live birth rate in women with low levels of vitamin D after the use of assisted reproductive technologies (ART). It was not possible to establish whether this decrease depends on oocyte quality or endometrium. There is an opportunity that the effect of vitamin D deficiency on

fertility will not come with all forms of infertility. For example, in women with anovulation due to polycystic ovary syndrome, vitamin D deficiency is demonstrated to decrease pregnancy rate in ovulation induction cycles and in ART. Such relationship was not found in women with unexplained infertility.

Thus, the role of vitamin D in the pathogenesis of infertility requires further study, as well as the possibilities of therapy in order to increase the effectiveness of infertility treatment methods and assisted reproductive technology programs.

KEYWORDS: *vitamin D; infertility; assisted reproductive technologies; polycystic ovary syndrome.*

ВВЕДЕНИЕ

Рецепторы к витамину D обнаружены во всех органах репродуктивной системы как у женщин, так и у мужчин. На основании имеющихся данных складывается впечатление о том, что он участвует во многих процессах регуляции фертильности: от синтеза половых гормонов (в частности, прогестерона) до имплантации эмбриона. Роль витамина D активно изучается при гинекологических заболеваниях, оказывающих влияние на наступление беременности: это синдром поликистозных яичников (СПКЯ), эндометриоз, первичная недостаточность яичников, миома матки и онкологические заболевания. Однако на сегодняшний день мы не можем сделать однозначных выводов о связи уровня витамина D с бесплодием и эффективностью его лечения [1]. Далее представлен обзор исследований, изучающих участие витамина D в формировании женского и мужского бесплодия, а также его влияние на эффективность лечения, в том числе с помощью вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ).

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ современных литературных данных о роли витамина D в регуляции репродуктивной функции и его влиянии на результаты использования ВРТ при лечении бесплодия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен поиск литературных источников, опубликованных в базе данных NSBI PubMed, Medline и др. с глубиной поиска до 20 лет. Было проанализировано 135 источников по данной теме, из которых 54 были включены в данный обзор. Для расширения поиска использовались ссылки из некоторых статей.

ВИТАМИН D И РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ ЖЕНЩИН

Недостаточность и дефицит витамина D встречаются у 60% взрослых [2]. Среди пациенток с бесплодием были получены еще более значимые цифры: в итальянском исследовании низкие уровни витамина D были описаны у 77,4% женщин [3], в немецком — у 81,3% и 98,2% в зависимости от центра [4]. Точные механизмы участия витамина D в реализации репродуктивной функции остаются не до конца изученными. Большинство имеющихся на сегодняшний день данных было получено в исследованиях на животных и *in vitro*.

В экспериментах на животных была продемонстрирована четкая связь между недостаточностью витамина D и фертильностью. У мышей с его нулевым уровнем

репродуктивная функция была снижена на 75% [5]. Аналогичные результаты были получены на крысах, причем выраженность нарушения фертильности не была связана с уровнем недостаточности витамина D [6]. Витамин D принимает участие в регуляции функции гипоталамуса и секреции гонадотропин-рилизинг-гормона у мышей в период полового созревания [7]. Его уровень коррелировал с активностью ароматазы и синтезом прогестерона [8]. Наиболее вероятным механизмом снижения репродуктивной функции у животных можно считать гипокальциемию, поскольку после восполнения дефицита кальция фертильность у крыс восстанавливалась в полном объеме [8, 9]. В исследованиях на приматах было продемонстрировано участие активного метаболита витамина D в фолликулогенезе. В присутствии витамина D улучшались выживаемость и рост антральных фолликулов, созревание яйцеклетки и продукция эстрогенов [10]. Также было показано, что материнский дефицит витамина D может оказывать негативное влияние на репродуктивную функцию потомства. Так, у мышей, рожденных от матерей с дефицитом витамина D, была выше частота олигоовуляции, что подтверждает его участие в фетальном программировании формирования гипоталамо-гипофизарной системы [11].

В исследованиях *in vitro* была выявлена связь между уровнем витамина D и синтезом гормонов: прогестерона, эстрогена, эстрадиола, инсулиноподобного фактора роста-1 и антимюллерова гормона (АМГ) [12]. Рецепторы к витамину D выявлены в эндометрии во всех фазах менструального цикла и на ранних сроках беременности. Участие витамина D в процессе имплантации активно изучается в исследованиях *in vitro*: по имеющимся данным, он повышает экспрессию остеопонтина и фактора NOXA10, участвующих в формировании рецептивного эндометрия. Под действием витамина D происходит сдвиг иммунной реакции в эндометрии в сторону преобладания противовоспалительных цитокинов, что также является необходимым условием для наступления беременности [1, 13].

Однако в популяционных исследованиях была продемонстрирована связь витамина D только с уровнем тестостерона у женщин. Концентрации фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), лютеинизирующего гормона (ЛГ), АМГ (кроме женщин старшего репродуктивного возраста), а также количество антральных фолликулов (КАФ) от уровня витамина D не зависели [12]. При этом опубликованы данные, описывающие назначение 50 000 МЕ витамина D в неделю молодым здоровым женщинам и пациенткам с бесплодием, что приводило к повышению у них уровня АМГ [14, 15].

Кроме прямого действия на половые гормоны и имплантацию эмбриона, влияние уровня витамина D на репродуктивную функцию у женщин может быть

реализовано через его участие в патогенезе таких заболеваний, как СПКЯ, эндометриоз и первичная недостаточность яичников.

Роль витамина D активно изучается при СПКЯ, который является одной из основных причин ановуляторного бесплодия [12]. В одних исследованиях была отмечена связь между развитием инсулинорезистентности у таких пациентов и низким уровнем витамина D [16–19], в то время как в других исследованиях уровень витамина D не различался у здоровых женщин и пациенток с СПКЯ [20]. Было предложено несколько теорий, объясняющих возможное влияние витамина D на патогенез заболевания [1, 21]. Согласно первой из них, витамин D участвует в регуляции внутриклеточного и внеклеточного обмена кальция, который, в свою очередь, может оказывать влияние на работу рецептора инсулина [22, 23, 24]. Согласно второй теории, витамин D оказывает непосредственное стимулирующее влияние на инсулиновый рецептор [24, 25]. Также витамин D обладает противовоспалительным эффектом, что может играть роль при развитии хронического воспаления в патогенезе СПКЯ [26, 27]. Его влияние на патогенез развития ановуляции при СПКЯ может быть реализовано через провоспалительные факторы — конечные продукты гликирования, уровень которых повышен как при СПКЯ, так и дефиците витамина D [28].

Витамин D может принимать участие в развитии гиперандрогенемии. В двух исследованиях была продемонстрирована связь его уровня с глобулином, связывающим половые стероиды [29], и уровнем тестостерона [30]. Назначение препаратов витамина D оказывает благоприятный эффект на коррекцию симптомов СПКЯ. Согласно данным метаанализа, опубликованного Fang Fang в 2017 г., применение препаратов витамина D приводит к улучшению фолликулогенеза и восстановлению овуляции даже в монорежиме (относительный риск (ОР) 2,34; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,39–3,92). Добавление витамина D к терапии метформинном повышает его эффективность в восстановлении регулярного менструального цикла (ОР 1,85; 95% ДИ 1,01–3,39) [31].

Другой значимой причиной женского бесплодия является эндометриоз. Исследования, посвященные изучению роли витамина D при эндометриозе, показали противоречивые результаты. Данные, полученные в одних работах, говорят о повышении риска развития заболевания на 24% у женщин с дефицитом витамина D [32]. У пациенток с тяжелыми формами заболевания отмечался более низкий уровень витамина D, чем у пациенток с легкими формами или отсутствием заболевания [33]. Другие авторы не нашли связи между уровнем витамина D и развитием болезни [34–37] и даже отметили более высокий уровень витамина D у пациенток с эндометриозом [38]. Были проведены исследования по изучению роли рецепторов к витамину D и витамин-D-связывающего протеина, однако их результаты не позволяют сделать однозначных выводов и требуют дальнейшего изучения. То же касается данных о лечебном эффекте витамина D, но первые результаты свидетельствуют о благоприятном эффекте препаратов на выраженность болевого синдрома и эндометриозидные гетеротопии [39]. Исследований, посвященных лечебному эффекту препаратов витамина D при бесплодии, ассоциированном с эндометриозом, на данный момент не опубликовано.

ВИТАМИН D И РЕПРОДУКТИВНАЯ ФУНКЦИЯ МУЖЧИН

В исследованиях на животных у мужских особей были получены аналогичные результаты: при отсутствии витамина D фертильность мышей-самцов снижалась на 73%, а при восполнении дефицита — восстанавливалась в полном объеме. Дефицит витамина D у животных приводит к нарушениям созревания семявыводящих протоков, уменьшению веса яичек и концентрации сперматозоидов [12].

При изучении связи между уровнем витамина D и качеством спермы у мужчин были получены противоречивые результаты. В работе Ramlau-Hansen С.Н. и соавт. было продемонстрировано, что показатели спермограммы у здоровых мужчин с дефицитом витамина D оставались в пределах референсных значений, а при уровне 25-гидроксивитамина D выше 37,6 нг/мл даже отмечалось снижение концентрации сперматозоидов и содержания нормальных форм [40]. В то же время в датском исследовании под руководством Blomberg Jensen М. было выявлено, что при низком уровне витамина D чаще регистрировалось снижение подвижности сперматозоидов, при этом концентрация сперматозоидов и гормональные показатели оставались в пределах нормальных значений [41]. В более позднем исследовании того же автора у пациентов с мужским бесплодием и недостаточностью витамина D отмечалось снижение количества подвижных форм сперматозоидов, уровня глобулина, связывающего половые стероиды, и соотношения тестостерона и эстрадиола [42]. Аналогичные результаты были получены в работах других авторов [43, 44].

Недостаток витамина D у мужчин негативно сказывался на частоте наступления беременности при индукции овуляции с использованием гонадотропинов. В пилотном исследовании Tartagni М. частота наступления беременности и живорождения были достоверно выше в группе пациентов, в которой у мужчин уровень витамина D находился в пределах нормальных значений (выше 30 нг/мл). Показатели спермограммы при этом не различались между группами с нормальным и сниженным содержанием витамина D [45]. Достоверные данные об эффективности терапии препаратами витамина D при мужском бесплодии отсутствуют. В одном рандомизированном клиническом исследовании препараты кальция и витамина D назначались мужчинам с бесплодием и уровнем до 50 нг/мл. Была отмечена тенденция к повышению частоты наступления спонтанных беременностей, однако разница не достигла статистической достоверности [46].

ВИТАМИН D И ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ РЕПРОДУКТИВНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ

В 2017 г. был опубликован метаанализ, посвященный изучению роли недостатка витамина D на результаты применения ВРТ. В него было включено 11 исследований, в которые вошли 2052 женщины. Недостаток витамина D отмечался у 45,3% (95% ДИ 42,4–48,5%) женщин, дефицит — у 34,6% (95% ДИ 32,0–37,4%). У женщин с нормальным уровнем витамина D беременность наступала в 1,46 раза чаще (95% ДИ 1,05–2,02). Результаты родов были описаны только в 7 исследованиях, при их анализе было показано, что частота живорождения при нормальном уровне витамина D была выше в 1,33 раза

(95% ДИ 1,08–1,65%). Частота невынашивания беременности не различалась между двумя группами [47]. Аналогичные результаты были получены и в российской популяции, демонстрирующие связь между уровнем витамина D и частотой наступления беременности в циклах ВРТ [48].

Влияние витамина D на результаты программ ВРТ может быть связано с несколькими факторами: качество ооцита, состояние эндометрия или общее здоровье организма. Так, было показано, что концентрация витамина D в фолликулярной жидкости коррелирует с его концентрацией в сыворотке крови [1]. Однако при оценке количества зрелых ооцитов, частоты оплодотворения и получения эмбрионов топ-качества не удалось выявить зависимости этих параметров качества ооцита от уровня витамина D [49]. На сегодняшний день имеется больше данных о влиянии витамина D на рецептивность эндометрия [1]. Общеизвестной моделью для изучения влияния фактора на рецептивность эндометрия в программах ВРТ являются циклы переноса криоконсервированных эмбрионов, полученных с использованием донорских ооцитов. В исследовании, опубликованное Rudick B.J. в 2014 г., было включено 99 женщин, которым планировался перенос эмбриона с использованием донорских ооцитов. Авторы показали, что у реципиентов с достаточным уровнем витамина D (более 30 нг/мл) частота наступления беременности оказалась выше, чем в группах с недостаточностью или дефицитом [50]. Однако аналогичное исследование Fabris A. (2014 г.) не выявило связи между уровнем витамина D у реципиентов и частотой наступления беременности [23]. В метаанализе эти исследования были объединены в одну группу, но частота наступлений беременности оказалось одинаковой у женщин с нормальным и низким уровнем витамина D. Авторы признают, что отсутствие связи может быть обусловлено недостаточным количеством пациентов в выборке (366 человек) и различиями в методах отбора пациентов. Например, в работе Fabris A. были исключены из исследования пациентки с СПКЯ и наружным генитальным эндометриозом III–IV стадии, что могло повлиять на результаты анализа [51].

Противоречивые результаты исследований могут быть связаны с тем, что уровень витамина D наиболее значим у пациенток с определенными причинами бесплодия. В исследовании Butts S.F. было показано, что уровень витамина D не оказывал влияния на результаты индукции овуляции у женщин с бесплодием неясного генеза. При этом во второй ветви исследования, куда были включены только пациентки с СПКЯ, частота живорождения была

ниже на 37% у женщин с низким уровнем витамина D [52]. Аналогичные результаты были получены при дополнительном анализе эффективности индукции овуляции в работе Pal L. и соавт. [53]. Частота овуляции и шансы на рождение живого ребенка были напрямую связаны с уровнем витамина D: у пациенток с уровнем витамина D более 38 нг/мл частота родов была выше в 4 раза (ОР 4,5, 95% ДИ 1,27–15,72) [53]. Вероятно, эта зависимость сохраняется и в циклах ВРТ: рандомизированное клиническое исследование, опубликованное в 2019 г., показало, что у пациенток с СПКЯ частота наступления беременности была значительно ниже при дефиците витамина D. Также авторы отметили снижение частоты оплодотворения и получения эмбрионов. При этом в группе женщин, которые исходно имели дефицит, но получали лечебную дозу витамина D, были отмечены нормализация его уровня в сыворотке крови, повышение количества эмбрионов, пригодных для переноса, числа эмбрионов топ-качества, а также частоты наступления беременности [54].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Витамин D участвует в работе репродуктивной системы как у женщин, так и у мужчин. Недостаточность и дефицит витамина у пациенток с бесплодием встречаются чаще, чем в популяции. Его низкий уровень влияет на частоту наступления беременности и родов в циклах стимуляции овуляции и при применении ВРТ. Возможные механизмы этого негативного влияния могут быть связаны с качеством ооцита (особенно у пациенток с СПКЯ) или рецептивностью эндометрия. Дальнейшие исследования требуются для изучения конкретных механизмов участия витамина D в патогенезе бесплодия, а также возможности восполнения его дефицита с точки зрения повышения эффективности методов лечения бесплодия, в том числе с применением ВРТ.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Рукопись подготовлена на личные средства авторов.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Участие авторов. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Fichera M, Török P, Tesarik J et al. Vitamin D, reproductive disorders and assisted reproduction: evidences and perspectives. *Int J Food Sci Nutr.* 2020;71(3):276–285. doi: 10.1080/09637486.2019.1661978
2. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord.* 2017;18(2):153–165. doi: 10.1007/s11154-017-9424-1
3. Pagliardini L, Vigano P, Molgora M et al. High Prevalence of Vitamin D Deficiency in Infertile Women Referring for Assisted Reproduction. *Nutrients.* 2015;7:9972–84. doi: 10.3390/nu7125516
4. Dressler N, Chandra A, Aguirre Dávila L et al. BMI and season are associated with vitamin D deficiency in women with impaired fertility: a two-centre analysis. *Arch Gynecol Obstet.* 2016;293:907–14. doi: 10.1007/s00404-015-3950-4
5. Halloran BP, DeLuca HF. Effect of vitamin D deficiency on fertility and reproductive capacity in the female rat. *J Nutr.* 1980;110:1573–80
6. Kwiecinski GG, Petrie GI, DeLuca HF. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 restores fertility of vitamin D- deficient female rats. *Am J Physiol.* 1989;256:E483–87
7. Bhattarai P, Bhattarai JP, Kim MS, Han SK. Non-genomic action of vitamin D3 on N-methyl-D-aspartate and kainate receptor-mediated actions in juvenile gonadotrophin-releasing hormone neurons. *Reprod Fertil Dev.* 2017;29(6):1231–1238. doi: 10.1071/RD15357
8. Kinuta K, Tanaka H, Moriwake T. et al. Vitamin D is an important factor in estrogen biosynthesis of both female and male gonads. *Endocrinology.* 2000;141:1317–24.

9. Johnson LE, DeLuca HF. Vitamin D receptor null mutant mice fed high levels of calcium are fertile. *J Nutr*. 2001;131:1787-91.
10. Xu J, Lawson MS, Xu F, et al. Vitamin D3 Regulates Follicular Development and Intrafollicular Vitamin D Biosynthesis and Signaling in the Primate Ovary. *Front Physiol*. 2018;9:1600. Published 2018 Nov 14. doi: 10.3389/fphys.2018.01600
11. Nicholas C, Davis J, Fisher T, Segal T, Petti M, Sun Y, Wolfe A, Neal-Perry G. Maternal Vitamin D Deficiency Programs Reproductive Dysfunction in Female Mice Offspring Through Adverse Effects on the Neuroendocrine Axis. *Endocrinology*. 2016;157:1535-45.
12. Chen Y, Zhi X. Roles of Vitamin D in Reproductive Systems and assisted Reproductive Technology. *Endocrinology*. 2020;161(4). pii: bqaa023. doi: 10.1210/edocr/bqaa023
13. Cermisoni GC, Alteri A, Corti L, et al. Vitamin D and Endometrium: A Systematic Review of a Neglected Area of Research. *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2320. Published 2018 Aug 8. doi: 10.3390/ijms19082320
14. Dennis NA, Houghton LA, Pankhurst M et al. Acute Supplementation with High Dose Vitamin D3 Increases Serum Anti-Mullerian Hormone in Young Women. *Nutrients*. 2017;9(7):719. doi: 10.3390/nu9070719
15. Naderi Z, Kashanian M, Chenari L, Sheikhsari N. Evaluating the effects of administration of 25-hydroxyvitamin D supplement on serum anti-mullerian hormone (AMH) levels in infertile women. *Gynecol Endocrinol*. 2018;34(5):409-412. doi: 10.1080/09513590.2017.1410785
16. Wehr E, Pilz S, Schweighofer N et al. Association of hypovitaminosis D with metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol*. 2009 Oct;161(4):575-82. doi: 10.1530/EJE-09-0432
17. Li HW, Brereton RE, Anderson RA et al. Vitamin D deficiency is common and associated with metabolic risk factors in patients with polycystic ovary syndrome. *Metabolism*. 2011 Oct;60(10):1475-81. doi: 10.1016/j.metabol.2011.03.002
18. Ngo DT, Chan WP, Rajendran S et al. Determinants of insulin responsiveness in young women: Impact of polycystic ovarian syndrome, nitric oxide, and vitamin D. *Nitric Oxide*. 2011 Oct 30;25(3):326-30. doi: 10.1016/j.niox.2011.06.005
19. Krul-Poel YHM, Koenders PP, Steegers-Theunissen RP et al. Vitamin D and metabolic disturbances in polycystic ovary syndrome (PCOS): A cross-sectional study. *PLoS One*. 2018;13(12):e0204748. Published 2018 Dec 4. doi: 10.1371/journal.pone.0204748
20. Arslan E, Gorkem U, Togrul C. Is There a Relationship Between Vitamin D Deficiency Status and PCOS in Infertile Women? *Geburtshilfe Frauenheilkd*. 2019;79(7):723-730. doi: 10.1055/a-0871-6831
21. Trummer C, Pilz S, Schwetz V et al. Vitamin D, PCOS and androgens in men: a systematic review. *Endocr Connect*. 2018;7(3):R95-R113. doi: 10.1530/EC-18-0009
22. Milner RD, Hales CN. The role of calcium and magnesium in insulin secretion from rabbit pancreas studied in vitro. *Diabetologia*. 1967;3(1):47-9. doi: 10.1007/BF01269910.
23. Pittas AG, Lau J, Hu FB et al. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(6):2017-29. doi: 10.1210/jc.2007-0298
24. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility: a systematic review. *Eur J Endocrinol*. 2012;166(5):765-778.
25. Maestro B, Molero S, Bajo S et al. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Cell Biochem Funct*;20(3):227-32. doi: 10.1002/cbf.951
26. Kassi E, Adamopoulos C, Basdra EK et al. Role of vitamin D in atherosclerosis. *Circulation*. 2013;128(23):2517-31. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.113.002654
27. Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD et al. The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev*. 2012;33(3):456-92. doi: 10.1210/er.2012-1000
28. Merhi Z. Crosstalk between advanced glycation end products and vitamin D: A compelling paradigm for the treatment of ovarian dysfunction in PCOS. *Mol Cell Endocrinol*. 2019;479:20-26. doi: 10.1016/j.mce.2018.08.010
29. Hahn S, Haselhorst U, Tan S, Quadbeck B, Schmidt M, Roesler S, Kimmig R, Mann K, Janssen OE. Low serum 25-hydroxyvitamin D concentrations are associated with insulin resistance and obesity in women with polycystic ovary syndrome. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2006;114(10):577-83. doi: 10.1055/s-2006-948308
30. Yildizhan R, Kurdoglu M, Adali E et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentrations in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome. *Arch Gynecol Obstet*. 2009;280(4):559-563. doi: 10.1007/s00404-009-0958-7
31. Fang F, Ni K, Cai Y et al. Effect of vitamin D supplementation on polycystic ovary syndrome: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Complement Ther Clin Pract*. 2017;26:53-60. doi: 10.1016/j.ctcp.2016.11.008
32. Harris HR, Chavarro JE, Malspeis S et al. Dairy-food, calcium, magnesium, and vitamin D intake and endometriosis: a prospective cohort study. *Am J Epidemiol*. 2013;177(5): 420-30. doi: 10.1093/aje/kws247
33. Miyashita M, Koga K, Izumi G et al. Effects of 1,25-Dihydroxy Vitamin D3 on Endometriosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(6):2371-9. doi: 10.1210/jc.2016-1515
34. Ciavattini A, Serri M, Delli Carpini G et al. Ovarian endometriosis and vitamin D serum levels. *Gynecol Endocrinol*. 2017;33(2):164-7. doi: 10.1080/09513590.2016.1239254
35. Hartwell D, Rødbro P, Jensen SB et al. Vitamin D metabolites—relation to age, menopause and endometriosis. *Scand J Clin Lab Invest*. 1990;50(2):115-21. doi: 10.3109/00365519009089142
36. Agic A, Xu H, Altgassen C et al. Relative expression of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor, vitamin D 1 alpha-hydroxylase, vitamin D 24-hydroxylase, and vitamin D 25-hydroxylase in endometriosis and gynecologic cancers. *Reprod Sci*. 2007;14(5):486-97. doi:10.1177/1933719107304565
37. Borkowski J, Gmyrek GB, Madej JP et al. Serum and peritoneal evaluation of vitamin D-binding protein in women with endometriosis. *Postepy Hig Med Dosw*. 2008;62:103-9.
38. Somigliana E, Panina-Bordignon P, Murone S et al. Vitamin D reserve is higher in women with endometriosis. *Hum Reprod*. 2007;22(8):2273-8. doi: 10.1093/humrep/dem142
39. Giampaolino P, Della Corte L, Foreste V et al. Is there a Relationship Between Vitamin D and Endometriosis? An Overview of the Literature. *Curr Pharm Des*. 2019;25(22):2421-2427. doi: 10.2174/1381612825666190722095401
40. Ramlau-Hansen CH, Moeller UK et al. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertil Steril*. 2011;95:1000-04
41. Blomberg JM, Bjerrum PJ, Jessen TE et al. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. *Hum Reprod*. 2011;26:1307-17. doi: 10.1093/humrep/der059
42. Blomberg Jensen M, Gerner Lawaetz J, Andersson A, et al. Vitamin D deficiency and low ionized calcium are linked with semen quality and sex steroid levels in infertile men. *Hum Reprod*. 2016;31:1875-85. doi: 10.1093/humrep/dew152
43. Abbasihormozi S, Kouhkan A, Alizadeh AR et al. Association of vitamin D status with semen quality and reproductive hormones in Iranian subfertile men. *Andrology-US*. 2017;5:113-18. doi: 10.1111/andr.12280
44. Tirabassi G, Cutini M, Muscogiuri G et al. Association between vitamin D and sperm parameters: Clinical evidence. *Endocrine*. 2017;58:194-98. doi: 10.1007/s12020-016-1198-9
45. Tartagni M, Matteo M, Baldini D et al. Males with low serum levels of vitamin D have lower pregnancy rates when ovulation induction and timed intercourse are used as a treatment for infertile couples: results from a pilot study. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015; 21(13):127. doi: 10.1186/s12958-015-0126-9
46. Blomberg Jensen M, Lawaetz JG, Petersen JH et al. Effects of Vitamin D Supplementation on Semen Quality, Reproductive Hormones, and Live Birth Rate: A Randomized Clinical Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2018;103(3):870-881. doi: 10.1210/jc.2017-01656
47. Chu J, Gallos I, Tobias A et al. Vitamin D and assisted reproductive treatment outcome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2018;33(1):65-80. doi: 10.1093/humrep/dex326
48. Наими З.М.С., Калинина Е.А., Донников А.Е. и др. Ассоциация уровня витамина D в крови с исходами программ вспомогательных репродуктивных технологий // Акушерство и гинекология. — 2016. — № 8. — С. 93–98. [Naimi Z.M.S., Kalinina E.A., Donnikov A.E., Alieva K.U. Association of blood vitamin D levels with the outcomes of assisted reproductive technology programs. *Akusherstvo i ginekologiya/Obstetrics and Gynecology*. 2016;8:93-98. (in Russ.)]. doi: 10.18565/aig.2016.8.93-98
49. Polyzos NP, Anckaert E, Guzman L et al. Vitamin D deficiency and pregnancy rates in women undergoing single embryo, blastocyst stage, transfer (SET) for IVF/ICSI. *Hum Reprod*. 2014;29(9):2032-40. doi: 10.1093/humrep/deu156

50. Rudick BJ, Ingles SA, Chung K et al. Influence of vitamin D levels on in vitro fertilization outcomes in donor-recipient cycles. *Fertil Steril*. 2014;101(2):447-52. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.10.008
51. Fabris A, Pacheco A, Cruz M et al. Impact of circulating levels of total and bioavailable serum vitamin D on pregnancy rate in egg donation recipients. *Fertil Steril*. 2014;102(6):1608-12. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.08.030
52. Butts SF, Seifer DB, Koelper N et al. Vitamin D Deficiency Is Associated With Poor Ovarian Stimulation Outcome in PCOS but Not Unexplained Infertility. *Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(2):369-378. doi: 10.1210/jc.2018-00750
53. Pal L, Zhang H, Williams J et al. Vitamin D Status Relates to Reproductive Outcome in Women With Polycystic Ovary Syndrome: Secondary Analysis of a Multicenter Randomized Controlled Trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(8):3027-35. doi: 10.1210/jc.2015
54. Zhao J, Liu S, Wang Y et al. Vitamin D improves in-vitro fertilization outcomes in infertile women with polycystic ovary syndrome and insulin resistance. *Minerva Med*. 2019;110(3):199-208. doi: 10.23736/S0026-4806.18.05946-3

Рукопись получена: 05.06.2020. Одобрена к публикации: 03.10.2020. Опубликовано online: 23.10.2020.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Попова Полина Викторовна**, к.м.н. [**Polina V. Popova**, MD]; адрес: Россия, 197341 Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2 [address: 2 Akkuratova street, 197341 St. Petersburg, Russia]; ORCID: 0000-0002-3697-7791; eLibrary SPIN: 1150-3432; e-mail: pvpopova@yandex.ru

Горелова Инга Вадимовна, к.м.н. [Inga V. Gorelova, MD]; ORCID: 0000-0002-6098-1491; eLibrary SPIN: 1207-5705; e-mail: ingavgorelova@gmail.com

Рулёв Максим Викторович, к.м.н. [Maxim V. Rulev, MD]; e-mail: maxrul@mail.ru; ORCID: 0000-0002-7906-4634; eLibrary SPIN: 2001-0577

ЦИТИРОВАТЬ

Горелова И.В., Попова П.В., Рулев М.В. Витамин D и репродуктивное здоровье // *Проблемы эндокринологии*. — 2020. — Т.66. — №5. — С. 96–101. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12468>

FOR CITATION

Gorelova IV, Popova PV, Rulev MV. Vitamin D and Reproductive Health. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(5):96–101. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12468>

