

TOM 67 №6 2021
2021 VOL. 67 ISS. 6

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 2019 **0,937**

КОНТАКТЫ РЕДАКЦИИ:

Адрес: 117036, Россия, Москва ул. Дм. Ульянова, 11
ЭФГБУ НМИЦ Эндокринологии МЗ РФ
E-mail: probl@endojournals.ru
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 Гриворонский 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 23.11.2021 г.
Подписано в печать 28.12.2021 г.
Формат 60X90/8
Печать офсетная
Усл. печ. лист 8. Тираж 2500 экз.
Отпечатано с готовых диапозитивов

Зарегистрирован в Министерстве печати и информации РФ
Per. № 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 67, №6

Ноябрь-Декабрь

2021

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)

ЗАВЕДУЮЩАЯ РЕДАКЦИЕЙ

ШЕРЕМЕТЬЕВА Е.В., к.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. (Суиндон, Уилтшир, Англия, 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 Н.Р.Н., 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. 67 Issue 6 November-December 2021

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 (Yokohama City, Kanagawa, 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. (Freiburg, 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)
VAKS V.V., PhD (Swindon, Wiltshire, England, 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		TABLE OF CONTENTS	
ЮБИЛЕЙ		JUBILEE GREETINGS	
К ЮБИЛЕЮ АКАДЕМИКА РАН ГАЛИНЫ АФАНАСЬЕВНЫ МЕЛЬНИЧЕНКО		ON THE ANNIVERSARY OF GALINA A. MELNICHENKO, ACADEMICIAN OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES	
ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ, ДОРОГАЯ ВАЛЕНТИНА АЛЕКСАНДРОВНА!		CONGRATULATIONS ON YOUR ANNIVERSARY, DEAR VALENTINA ALEXANDROVNA!	
РЕДАКЦИОННАЯ СТАТЬЯ		EDITORIAL	
Е.А. Пигарова, С.Ю. Воротникова КАДРОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ И СТРАТЕГИИ ИХ РЕШЕНИЯ		Pigarova E.A., Vorotnikova S.Y. HUMAN RESOURCES PROBLEMS OF THE ENDOCRINOLOGICAL SERVICE AND STRATEGIES FOR THEIR SOLUTION	
О.Ю. Реброва, В.К. Федяева, В.А. Аксенов НА ПУТИ К НАДЛЕЖАЩЕЙ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ. ВАЛИДИЗИРОВАННЫЙ ВОПРОСНИК CORSTAN ДЛЯ ОЦЕНКИ КОРРЕКТНОСТИ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ		Rebrova O.Y., Fediaeva V.K., Aksenov V.A. TOWARDS GOOD STATISTICAL PRACTICE. CORSTAN VALIDATED QUESTIONNAIRE FOR ASSESSING THE CORRECTNESS OF STATISTICAL ANALYSIS IN MEDICAL RESEARCH	
КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ		CLINICAL ENDOCRINOLOGY	
А.А. Малыгина, Ж.Е. Белая, А.Г. Никитин, Ф.А. Кошкин, И.И. Ситкин, А.М. Лапшина, П.М. Хандаева, А.С. Луценко, Д.А. Трухина, Г.А. Мельниченко ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ, ОТТЕКАЮЩЕЙ ОТ ГИПОФИЗА, У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ИЦЕНКО-КУШИНГА И АКТГ-ЭКТОПИРОВАННЫМ СИНДРОМОМ		Malygina A.A., Belaya Z.E., Nikitin A.G., Koshkin P.A., Sitkin I.I., Lapshina A.M., Khandaeva P.M., Lutsenko A.S., Trukhina D.A., Melnichenko G.A. DIFFERENCES IN PLASMA MIRNA LEVELS IN INFERIOR PETROSAL SINUS SAMPLES OF PATIENTS WITH ACTH-DEPENDENT CUSHING'S SYNDROME	
Е.Е. Бибик, А.К. Еремкина, О.А. Князева, Н.Г. Мокрышева СПОРАДИЧЕСКИЙ ПЕРВИЧНЫЙ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИЕЙ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ		Bibik E.E., Eremkina A.K., Knyazeva O.A., Mokrysheva N.G. SPORADIC PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM WITH MULTIPLE PARATHYROID ADENOMAS	
М.А. Дудина, С.А. Догадин, А.А. Савченко, В.Д. Беленюк ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГРЕЙВСА ПРИ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ ТИАМАЗОЛОМ		Dudina M.A., Dogadin S.A., Savchenko A.A., Belenyuk V.D. T-LYMPHOCYTES PHENOTYPIC COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH GRAVES' DISEASE UNDERGOING CONSERVATIVE THERAPY WITH THIAMAZOLE	
Д.А. Трухина, Е.О. Мамедова, А.М. Лапшина, Е.В. Васильев, А.Н. Тюльпаков, Ж.Е. Белая МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АДЕНОМ ГИПОФИЗА В РАМКАХ ФЕНОКОПИЙ СИНДРОМА МНОЖЕСТВЕННЫХ ЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЙ 1 ТИПА		Trukhina D.A., Mamedova E.O., Lapshina A.M., Vasilyev E.V., Tiulpakov A.N., Belaya Z.E. MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PITUITARY ADENOMAS IN THE PHENOCOPY OF MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 1	
М.С. Шеремета, А.А. Трухин, М.О. Корчагина ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В МЕДИЦИНЕ — ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ		Sheremeta M.S., Trukhin A.A., Korchagina M.O. THE USE OF RADIOACTIVE SUBSTANCES IN MEDICINE — HISTORY AND DEVELOPMENT PROSPECTS	
И.С. Маганева, Е.А. Пигарова, Н.В. Шульпекова, Л.К. Дзеранова, А.К. Еремкина, А.П. Милиутина, А.Ю. Жуков, А.А. Поваляева, В.П. Богданов, Л.Я. Рожинская, Н.Г. Мокрышева ОЦЕНКА ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА И МЕТАБОЛИТОВ ВИТАМИНА D У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗОМ НА ФОНЕ БОЛЮСНОЙ ТЕРАПИИ КОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛОМ		Maganeva I.S., Pigarova E.A., Shulpekova N.V., Dzeranova L.K., Eremkina A.K., Miliutina A.P., Povaliaeva A.A., Zhukov A.Y., Bogdanov V.P., Rozhinskaya L.Y., Mokrysheva N.G. VITAMIN D METABOLITE AND CALCIUM PHOSPHORUS METABOLISM IN IN PATIENTS WITH PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM ON THE BACKGROUND OF BOLUS THERAPY WITH COLECALCIFEROL	
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ		EXPERIMENTAL ENDOCRINOLOGY	
О.В. Глазова, М.В. Воронцова, Л.В. Шевкова, Н. Сакр, Н.А. Онянов, С.А. Казиахметова, П.Ю. Волчков ГЕННАЯ И КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЙ НАДПОЧЕЧНИКОВ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ		Glazova O.V., Vorontsova M.V., Sakr N., Shevkova L.V., Onyanov N.A., Kaziakhmedova S.A., Volchkov P.Y. GENE AND CELL THERAPY OF ADRENAL PATHOLOGY: ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS	
О.В. Глазова, М.В. Воронцова, Л.В. Шевкова, Н. Сакр, Н.А. Онянов, С.А. Казиахмедова, П.Ю. Волчков СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ: ОСНОВНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ		Glazova O.V., Vorontsova M.V., Shevkova L.V., Sakr N., Onyanov N.A., Kaziakhmedova S.A., Volchkov P.Y. ADRENAL GLANDS STEM CELLS: GENERAL SIGNALING PATHWAYS	
БОЛЕЗНИ КОСТНОЙ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ		BONES & ADIPOSE TISSUES DISEASES	
С.С. Шкляев, Г.А. Мельниченко, Н.Н. Велеводз, Н.А. Фалалеева, С.А. Иванов, А.Д. Каприн, Н.Г. Мокрышева АДИПОНЕКТИН: ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ГОРМОН С МНОЖЕСТВОМ ФУНКЦИЙ		Shklyayev S.S., Melnichenko G.A., Volevodz N.N., Falaleeva N.A., Ivanov S.A., Kaprin A.D., Mokrysheva N.G. ADIPONECTIN: A PLEIOTROPIC HORMONE WITH MULTIFACETED ROLES	
ДЕТСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ		PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY	
Е.Е. Петрайкина, Д.Н. Лаптев, И.Г. Воронцова, Н.А. Демидов, Ю.А. Ряполова САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 1 ТИПА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ Г. МОСКВЫ. ДАННЫЕ МОСКОВСКОГО СЕГМЕНТА ФЕДЕРАЛЬНОГО РЕГИСТРА БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2015–2020 ГГ.		Petryaykina E.E., Laptev D.N., Vorontsova I.G., Demidov N.A., Ryapolova Y.A. DIABETES MELLITUS TYPE 1 IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN MOSCOW. DATA FROM THE MOSCOW SEGMENT OF THE FEDERAL REGISTER OF DIABETIC PATIENTS 2015–2020	
ОШИБКИ		CORRIGENDUM	
Н.Ю. Калинин, А.А. Колодкина, Н.Ю. Райгородская, А.Н. Тюльпаков ОШИБКИ: КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛА 46,XY, ОБУСЛОВЛЕННЫМ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ NR5A1 [ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ. 2020;66(3):62–69. HTTPS://DOI.ORG/10.14341/PROBL12445		Kalinchenko N.Y., Kolodkina A.A., Raygorodskaya N.Y., Tiulpakov A.N. ERRATUM: CLINICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH 46,XY DSD DUE TO NR5A1 GENE MUTATIONS (PROBL ENDOKRINOL (MOSK). 2020 SEP 16;66(3):62–69. RUSSIAN. DOI: 10.14341/PROBL12445)	

К ЮБИЛЕЮ АКАДЕМИКА РАН ГАЛИНЫ АФАНАСЬЕВНЫ МЕЛЬНИЧЕНКО



Галина Афанасьевна Мельниченко — известный российский ученый-эндокринолог, один из ведущих в стране, автор и руководитель фундаментальных и прикладных исследований. Г.А. Мельниченко — один из лидеров создания методологии по организации эндокринологической службы Российской Федерации. Г.А. Мельниченко является одним из ведущих специалистов Российской Федерации по изучению заболеваний щитовидной железы, гипоталамо-гипофизарной системы, орфанных эндокринопатий, надпочечниковой патологии, синдромов множественных эндокринных неоплазий.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Галина Афанасьевна Мельниченко; эндокринолог; юбилей.

ON THE ANNIVERSARY OF GALINA A. MELNICHENKO, ACADEMICIAN OF THE RUSSIAN ACADEMY OF SCIENCES

Galina A. Melnichenko is a famous Russian scientist-endocrinologist, one of the leading in the country, author and head of fundamental and applied research. G.A. Melnichenko is one of the leaders in creating a methodology for organizing the endocrinological service of the Russian Federation. Galina Melnichenko is one of the leading specialists in the Russian Federation in the study of diseases of the thyroid gland, hypothalamic-pituitary system, orphan endocrinopathies, adrenal pathology, multiple endocrine neoplasia syndromes.

KEYWORDS: Galina A. Melnichenko; endocrinologist; anniversary.



Эндокринологическое общество 28 ноября 2021 г. отмечает юбилей замечательного ученого, академика РАН, заместителя директора по научной работе ФГБУ НМИЦ эндокринологии Минздрава России, вице-президента Российской ассоциации эндокринологов, блестящего клинициста и яркого педагога — Галины Афанасьевны Мельниченко.

Галина Афанасьевна Мельниченко — известный российский ученый-эндокринолог, один из ведущих в стране, автор и руководитель фундаментальных и прикладных исследований. Г.А. Мельниченко является одним из ведущих специалистов Российской Федерации

по изучению заболеваний щитовидной железы, гипоталамо-гипофизарной системы, орфанным эндокринопатиям, надпочечниковой патологии, синдромам множественных эндокринных неоплазий.

В 1972 г. Г.А. Мельниченко окончила лечебный факультет РГМУ (МОЛГМИ им. Н.И. Пирогова). По окончании ординатуры и аспирантуры работала младшим научным сотрудником Института экспериментальной эндокринологии и химии гормонов АМН СССР (ныне ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России). С 1979 по 1987 г. была ассистентом, а затем доцентом на кафедре внутренних болезней №1 ММА им. И.М. Сеченова (ныне Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, где в 1988 г. при 1-м лечебном факультете под руководством профессора Ивана Ивановича Дедова была создана кафедра эндокринологии). С 1992 г. Галина Афанасьевна — профессор кафедры эндокринологии ММА им. И.М. Сеченова, член-корреспондент РАМН с 2004 года, академик РАМН с 2011 года, академик РАН с 2013 года — Отделение медицинских наук. В 2002 г. Галина Афанасьевна назначена на должность директора Института клинической эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр», с 2020 г. и по настоящее время — заместитель директора Центра по науке.

Галина Афанасьевна — автор и руководитель многих фундаментальных и прикладных исследований в эндокринологии. Основные направления научной деятельности посвящены изучению проблем нейроэндокринной системы, вопросам персонифицированной диагностики и лечения заболеваний гипоталамо-гипофизарной системы, роли полиморфизма пролактина, клиническому значению его изоформ. Г.А. Мельниченко принадлежит разработка подходов к ведению пациентов с синдромом гиперпролактинемии, различными формами эндокринного бесплодия у мужчин и женщин.

Г.А. Мельниченко и ее учениками внедрены технологии диагностики и динамической стратификации папиллярного рака щитовидной железы, показания к использованию радиоактивного йода при раке щитовидной железы, развернуты широкомасштабные исследования по мониторингу йододефицитных состояний в Российской Федерации, результаты которых легли в основу Постановления правительства Российской Федерации и Национальной программы «О мерах профилактики заболеваний, связанных с дефицитом йода». Г.А. Мельниченко до настоящего времени является руководителем и научным куратором Национальной программы по скринингу, мониторингу и профилактике йододефицитных состояний в России.

Г.А. Мельниченко и ее ученикам по праву принадлежат приоритет и международное признание в области изучения функциональной системы, регулирующей половые функции у мужчин и женщин, в изучении возможности и разработке методов коррекции репродуктивных нарушений при различных эндокринопатиях, в том числе с использованием методом вспомогательных репродуктивных технологий, а также способы гормональной реабилитации мужчин и женщин в пожилом возрасте.

Академик РАН Г.А. Мельниченко — член Европейских ассоциаций по эндокринологии, эксперт ВАК Российской Федерации по терапевтическим дисциплинам, главный редактор журнала «Клиническая и экспериментальная тиреоидология», заместитель главного редактора журналов «Проблемы эндокринологии» и «Ожирение и метаболизм».

Галина Афанасьевна — автор более 800 научных публикаций, монографий, руководств, методических пособий, в том числе выдержавшего уже три издания и переведенного на ряд языков стран СНГ учебника по эндокринологии для студентов медицинских вузов,

что было отмечено премией Правительства Российской Федерации 2021 в области образования за учебник «Эндокринология».

Г.А. Мельниченко является куратором разработок более 30 клинических рекомендаций, выпущенных Российской ассоциацией эндокринологии, в том числе в соавторстве с ассоциациями онкологов, радиологов, офтальмологов и др., а также является руководителем исследований, выполняемых по грантам Российского научного фонда, РФФИ.

Галина Афанасьевна Мельниченко является членом Бюро Отделения медицинских наук РАН; членом Президиума Высшей аттестационной комиссии РФ по терапевтическим дисциплинам; почетным членом академии наук Казахстана; вице-президентом Российской ассоциации эндокринологов; членом Европейской ассоциации нейроэндокринологов, Европейской тиреоидологической ассоциации, Международной ассоциации эндокринологов (Endo-society). В 2008 г. награждена орденом почета Российской Федерации за вклад в науку. В 2011 г. академику РАН Мельниченко Г.А. присвоена первая премия Всероссийского конкурса «Призвание» в номинации «За создание нового направления в медицине».

Галина Афанасьевна — талантливый организатор, невероятно творческий человек, достойный пример для коллег и учеников. Галину Афанасьевну всегда отличают многогранность мышления, результативность в клинической деятельности, беззаветная преданность выбранной профессии и специальности, высочайший профессионализм, самоотдача, стремление к совершенству, принципиальность и дипломатичность одновременно, утонченный ум и потрясающее чувство юмора — все это мы с гордостью говорим и пишем о Вас, дорогая и глубокоуважаемая Галина Афанасьевна!

**Коллеги, ученики, читатели и редакция журнала
сердечно поздравляют Галину Афанасьевну с юбилеем,
желают здоровья и новых творческих свершений.**

Рукопись получена: 13.12.2021. Одобрена к публикации: 15.12.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ЦИТИРОВАТЬ

К юбилею академика РАН Галины Афанасьевны Мельниченко // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 4-5. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12855>

TO CITE THIS ARTICLE

On the anniversary of Galina A. Melnichenko, Academician of the Russian Academy of Sciences. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):4-5. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12855>

ПОЗДРАВЛЯЕМ С ЮБИЛЕЕМ, ДОРОГАЯ ВАЛЕНТИНА АЛЕКСАНДРОВНА!



1 декабря 2021 года — юбилей у Валентины Александровны Петерковой, профессора, академика РАН, научного руководителя Института детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, главного внештатного специалиста детского эндокринолога Минздрава России, заслуженного врача Российской Федерации.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: Валентина Александровна Петеркова; детская эндокринология; юбилей.

CONGRATULATIONS ON YOUR ANNIVERSARY, DEAR VALENTINA ALEXANDROVNA!

December 1, 2021 — the anniversary of Valentina Aleksandrovna Peterkova, professor, academician of the Russian Academy of Sciences, scientific director of the Institute of Pediatric Endocrinology of the National Research Center of Endocrinology of the Ministry of Health of Russia, chief freelance specialist of the pediatric endocrinologist of the Ministry of Health of Russia, Honored Doctor of the Russian Federation.

KEYWORDS: Valentina A. Peterkova; pediatric endocrinology; anniversary.



От всей души поздравляем с юбилеем любимого учителя, талантливого врача, великолепного педагога и профессионала высочайшего уровня!

1 декабря 2021 года — юбилей у Валентины Александровны Петерковой, профессора, академика РАН, научного руководителя Института детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, главного внештатного специалиста детского эндокринолога Минздрава России, заслуженного врача Российской Федерации.

Жизненный и профессиональный путь Валентины Александровны может служить для молодежи примером того, как стать грамотным высококвалифицированным врачом и талантливым ученым. Успешно окончив в 1966 г. лечебный факультет 2-го Московского медицинского института им. Н.И. Пирогова, Валентина Александровна Петеркова поступила в ординатуру Института педиатрии

АМН СССР, а позже, в 1969 г., в аспирантуру на кафедру детских болезней 2-го МОЛГМИ, где получила глубокую и основательную врачебную подготовку.

Проработав на кафедре детских болезней 2-го МОЛГМИ в течение 19 лет, Валентина Александровна последовательно прошла путь от ассистента до профессора кафедры, успешно защитив в 1989 г. докторскую диссертацию. Вся трудовая биография Петерковой В.А. связана с педиатрией и детской эндокринологией.

С 1990 г. профессиональная деятельность Петерковой Валентины Александровны связана с Эндокринологическим научным центром (ныне ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России). Более 30 лет Валентина Александровна возглавляет детскую клинику Эндокринологического научного центра, реорганизованную при ее активном участии в 2002 г. в Институт детской эндокринологии, научным руководителем которого она и является в настоящее время. На занимаемой должности ярко проявились великолепный организаторский талант и неординарные способности Валентины Александровны.

Валентине Александровне Петерковой удалось объединить многие научные коллективы для решения фундаментальных проблем по всем ключевым направлениям эндокринопатий детского возраста, разработке вопросов диагностики, лечения, профилактики и мониторинга различных заболеваний эндокринной системы у детей и подростков. Валентина Александровна участвовала в разработке и внедрении молекулярно-генетических методов диагностики эндокринных заболеваний у детей, создании программ медико-генетического консультирования семей, имеющих детей с сахарным диабетом, врожденной дисфункцией коры надпочечников и другими эндокринопатиями.

Фундаментальные и прикладные исследования В.А. Петерковой касаются практически всех вопросов клинической эндокринологии детского возраста. В.А. Петерковой принадлежит приоритет в изучении нарушений секреции гормона роста при различных заболеваниях эндокринной системы у детей. Под руководством

В.А. Петерковой разработаны дифференциально-диагностические алгоритмы диагностики и лечения различных форм низкоростности у детей, внедрена методика ростостимулирующей терапии при дефиците гормона роста; разработаны и внедрены принципы скрининга новорожденных на врожденный гипотиреоз и врожденную дисфункцию коры надпочечников в Российской Федерации. Важным направлением научной деятельности В.А. Петерковой является изучение вопросов диагностики и лечения различных опухолей гипоталамо-гипофизарной области в детском возрасте. В.А. Петеркова внесла большой вклад в изучение этиологии, патогенеза и профилактики сахарного диабета у детей и подростков. Большое внимание уделяет В.А. Петеркова редким заболеваниям, в том числе диагностике и лечению неонатального сахарного диабета, аутоиммунного полигландулярного синдрома 1 типа, синдрома Мак-Кьюна–Олбрайта–Брайцева, врожденного гиперинсулинизма и других.

В.А. Петеркова — главный внештатный специалист детский эндокринолог Минздрава России, работая в этом качестве, она сумела объединить региональные медицинские учреждения и научные коллективы для решения вопросов, связанных с оказанием специализированной медицинской помощи детям и подросткам с эндокринными заболеваниями, лекарственным обеспечением, санаторно-курортным лечением. Под руководством В.А. Петерковой разработаны, внедрены и регулярно актуализируются клинические рекомендации по детской эндокринологии.

В.А. Петеркова — заведующая кафедрой детской эндокринологии-диабетологии Института ВДПО ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, где ежегодно повышают свою квалификацию свыше 250 детских эндокринологов из разных регионов России. Под руководством В.А. Петерковой защищено 18 докторских и свыше 50 кандидатских диссертаций. В.А. Петеркова — автор 400 научных публикаций, в том числе 10 монографий.

В.А. Петеркова — член Европейского общества педиатров-эндокринологов (ESPE) и Европейского общества детских диабетологов (ESPAD), член правления Московского общества детских врачей и Московской городской ассоциации эндокринологов, член Президиума Правления Российской ассоциации эндокринологов.

На протяжении многих лет В.А. Петеркова возглавляла Российскую диабетическую ассоциацию (РДА) и сумела не только сплотить региональные общества пациентов с сахарным диабетом, но и сделать очень многое в повышении доступности и качества медицинской помощи пациентам с сахарным диабетом. Именно Валентина Александровна придумала проведение ежегодных Диаспартакиад для детей с сахарным диабетом 1 типа. Безусловно, все это требует ежедневной душевной отдачи и огромных физических сил.

В.А. Петеркова долгие годы была заместителем главного редактора журнала «Проблемы эндокринологии» и очень много сделала для развития и продвижения этого издания, является членом редколлегий журналов «Педиатрия», «Российский педиатрический журнал», заместителем председателя диссертационного Ученого совета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

В 2012 г. Валентина Александровна избрана членом-корреспондентом РАН, в 2016 г. — академиком РАН.

В.А. Петеркова награждена орденом «Дружбы», медалью «В память 850-летия Москвы», медалью «За заслуги перед отечественным здравоохранением».

Валентина Александровна — настоящий детский доктор, талантливый организатор и чудесный человек! Умение грамотно спланировать свой рабочий график, руководить одновременно десятками проектов, вести консультативную работу, регулярно проводить профессорские обходы и, самое главное, — за ворохом бумажных дел не забывать интересы больного ребенка и его родителей. На это способен только глубоко преданный своему делу человек!

В день Вашего юбилея примите от всех нас, Ваших учеников, коллег, друзей и благодарных пациентов и их родителей, самые искренние и душевные поздравления! Желаем Вам крепкого здоровья, неиссякаемого оптимизма, исполнения задуманного, достойных учеников, всего самого доброго!

Рукопись получена: 13.12.2021. Одобрена к публикации: 15.12.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ЦИТИРОВАТЬ

Поздравляем с юбилеем, дорогая Валентина Александровна! // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 6-7. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12856>

TO CITE THIS ARTICLE

Congratulations on your anniversary, dear Valentina Alexandrovna! *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):6-7. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12856>

КАДРОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКОЙ СЛУЖБЫ И СТРАТЕГИИ ИХ РЕШЕНИЯ



© Е.А. Пигарова*, С.Ю. Воротникова

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Эффективность системы здравоохранения во многом определяется кадровым составом и квалификацией врачей. Укомплектование персоналом медицинских организаций, в частности первичного звена, — важнейший аспект качества и доступности медицинской помощи, а также экономики в целом. Несмотря на имеющиеся кадровые проблемы эндокринологической службы, усиление роли государства в решении данного вопроса в виде долгосрочного стратегического планирования и повышения квалификации специалистов, увеличения объемов целевой подготовки врачей, а также их материальной и социальной поддержки позволяет надеяться на переход положительной динамики в уверенное разрешение кадрового кризиса.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кадровое обеспечение; эндокринология; эндокринологическая служба; организация здравоохранения.

HUMAN RESOURCES PROBLEMS OF THE ENDOCRINOLOGICAL SERVICE AND STRATEGIES FOR THEIR SOLUTION

© Ekaterina A. Pigarova*, Svetlana Y. Vorotnikova

Endocrinology research centre, Moscow, Russia

The effectiveness of the healthcare system is largely determined by the staffing and qualifications of doctors. The human resources of the health care system is a critical aspect of the quality and accessibility of healthcare and the economy as a whole. Despite the existing staffing problems of the endocrinological service, the strengthening of the role of the state in solving this issue in the form of long-term planning of staffing, approaches to targeted training and distribution of specialists, as well as their material and social support, allows us to hope for the transition of positive dynamics into a confident resolution of the personnel crisis.

KEYWORDS: human resources; endocrinology; endocrinological service; healthcare organization.

Проблемы кадрового обеспечения, особенно в сфере здравоохранения, стали намного сложнее. Укомплектование персоналом системы здравоохранения — важнейший аспект качества и доступности медицинской помощи, а также экономики в целом.

В докладе Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) на Третьем глобальном форуме по кадровым ресурсам здравоохранения («A Universal Truth: No health without a workforce» = «Всеобщая реальность: без трудовых ресурсов нет здоровья»), прошедшем в ноябре 2013 г., дан прогноз, что в 2035 г. в мире будет не хватать 12,9 млн работников здравоохранения, что практически в 2 раза выше, чем установленный дефицит в 2013 г. В докладе названы основные причины кадрового дефицита работников здравоохранения (ВОЗ): старение и их выход на пенсию, переход медицинских работников на более высокооплачиваемую работу и отсутствие специалистов, которые могли бы прийти на освободившиеся места, недостаточное число молодых людей, желающих получить или уже получивших профессию врача, рост численности населения мира, подвергающегося рискам со стороны неинфекционных заболеваний, что приводит к большей потребности в медицинской помощи, а также внутренняя и международная миграция работников здравоохранения. В настоящее время все эти причины являются высокоакту-

альными, и на их решение направлены умы и ресурсы большинства стран мира, как с высокими экономическими индексами, так и развивающихся.

Структура кадрового дефицита в различных странах представлена по-разному. Это может быть изолированный дефицит кадров в первичном звене здравоохранения (терапевты, педиатры, врачи общей практики), врачей-специалистов (например, врачей-эндокринологов) или среднего медицинского персонала (медицинские сестры, фельдшеры). При изолированном дефиците существуют возможности перераспределения нагрузки между этими звеньями с поддержкой направления кадрового дефицита. Если же дефицит кадров затрагивает все звенья, то решить вопрос с перераспределением невозможно без подготовки новых кадров и их удержания на местах, это накладывает особую ответственность на органы исполнительной власти в области здравоохранения по своевременному планированию кадрового обеспечения и мерах их поддержки.

Пандемия COVID-19 стала дополнительным мощным фактором проверки системы здравоохранения на прочность. Многие эндокринологические стационары и врачи были перепрофилированы для лечения пациентов с новой коронавирусной инфекцией, что привело к ограничению доступности плановой медицинской помощи.

Произошел также одновременный рост различных эндокринологических нарушений у пациентов с COVID-19 как вследствие самого заболевания, так и его лечения, что, безусловно, обострило проблемы кадрового дефицита эндокринологической службы.

В 2021 г., по данным Росстата, дефицит врачей по специальности «эндокринология» составил по стране в среднем 24% (1954 из 8071) и по специальности «детская эндокринология» — 38% (620 из 1651).

ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по заданию Минздрава России на регулярной основе проводит выездные мероприятия по аудиту эндокринологической службы в субъектах Российской Федерации. В ходе этих мероприятий рекомендации по улучшению кадровой ситуации в медицинских организациях регионов обсуждаются с органами исполнительной власти в сфере охраны здоровья субъектов Российской Федерации.

Основные кадровые проблемы в здравоохранении по данным анализа выездов — это не только абсолютный дефицит медицинских кадров, но и диспропорции в их составе. Выявлены невысокий профессиональный уровень различных звеньев медицинского персонала и в целом низкая мотивация специалистов, что связано с неэффективным использованием рабочего времени и неудовлетворительными условиями труда, а также слабой материально-технической базой медицинских учреждений.

Большой вклад в ликвидацию компетентностных пробелов эндокринологов и детских эндокринологов вносит ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава как учреждение, оказывающее организационно-методическое сопровождение деятельности медицинских организаций субъектов Российской Федерации по профилю. В 2020 г. на основании данных всероссийского анкетирования сотрудниками центра выделены приоритетные тематики для разработки и реализации образовательных программ повышения квалификации, включающие вопросы ведения пациентов с нейроэндокринными заболеваниями, водно-электролитными нарушениями, гиперпаратиреозом и др. В течение 2 лет в центре прошли обучение более 1000 специалистов из 74 регионов России и ближнего зарубежья.

С января 2021 г. начал функционировать информационно-образовательный портал «Эндосфера» (edu.endocrincentr.ru), который объединяет функции основной платформы проведения дистанционного обучения, агрегатора аккредитационных мероприятий, а также является транслятором обновлений позиций ведущих профессиональных сообществ, публикаций в медицинских журналах, профессиональных новостей и мнений экспертов.

Направления по решению кадрового вопроса эндокринологической службы, несомненно, заключаются в реорганизации образовательной стратегии в области эндокринологии, расчете и планировании ликвидации кадрового дефицита, аттестации профильных кафедр и их профессорско-преподавательского состава, стандартизации учебного процесса подготовки эндокринологов с внедрением современных клинических рекомендаций и новых технологий диагностики и лечения, обучении практическим и коммуникативным навыкам, формировании клинического мышления, в том числе в смоделированных условиях.

За последние 3 года отмечается положительная динамика в кадровом составе эндокринологической службы, что связано как с увеличением суммарного количества бюджетных мест, так и с внедрением целевого обучения и повышением доли целевых мест для обучения по программам подготовки кадров высшей квалификации в ординатуре в общем объеме контрольных цифр приема по профилю «эндокринология» с 67 до 83%, «детская эндокринология» — с 44 до 96%. Важный фактор — повышение мотивации и вовлеченности главных внештатных специалистов, региональных органов исполнительной власти в области здравоохранения и вузов в формировании долгосрочного плана по подготовке кадров по профилю.

Учитывая высокую потребность практического здравоохранения в эндокринологах, а также интенсивность труда данной категории врачей, целесообразным представляется перенос части функциональных обязанностей медицинских специалистов с высшим образованием на квалифицированный сестринский персонал, что наиболее актуально в области терапевтического обучения пациентов с сахарным диабетом. В связи с этим сотрудниками ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в 2021 г. разработана дополнительная профессиональная образовательная программа повышения квалификации медицинских сестер «Ведение школы для больных сахарным диабетом». Актуальность данной программы (срок обучения 72 академических часа) обусловлена необходимостью подготовки специалистов среднего медицинского звена, способных на современном уровне проводить обучение пациентов с сахарным диабетом, а также родителей детей и иных лиц, осуществляющих уход за пациентами с сахарным диабетом. Обучение является неотъемлемой частью комплекса терапевтических мероприятий при сахарном диабете, крайне необходимо для его эффективного контроля и должно продолжаться на всем протяжении заболевания.

Раннее выявление эндокринологических заболеваний — ключевой фактор для дальнейшего успешного лечения и недопущения тяжелых осложнений, в связи с чем как крайне важное оценено внедрение новой компетенции «эндокринологической настороженности» в первичное звено здравоохранения. Это было реализовано в виде разработанного электронного образовательного курса, представленного для изучения на Портале непрерывного медицинского и фармацевтического образования Минздрава России. Обучение на данном курсе прошли более 50 000 специалистов не эндокринологов, что имеет крайне важное значение при перераспределении медицинских кадровых ресурсов в условиях пандемии для сохранения качества оказания медицинской помощи пациентам с эндокринной патологией.

Таким образом, несмотря на имеющиеся кадровые проблемы эндокринологической службы, усиление роли государства в решении данного вопроса в виде долгосрочного планирования кадрового обеспечения, подходов целевого обучения и распределения специалистов, а также их материальной и социальной поддержки позволяет надеяться на переход положительной динамики в уверенное разрешение кадрового кризиса.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием 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.

Рукопись получена: 11.12.2021. Одобрена к публикации: 13.12.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Пигарова Екатерина Александровна**, д.м.н. [**Ekaterina A. Pigarova**, MD, PhD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6539-466X>; eLibrary SPIN: 6912-6331; e-mail: kpigarova@gmail.com

Воротникова Светлана Юрьевна [Svetlana Y. Vorotnikova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7470-1676>;
eLibrary SPIN: 6571-1206; e-mail: bra_svetix@list.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Пигарова Е.А., Воротникова С.Ю. Кадровые проблемы эндокринологической службы и стратегии их решения // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 8-10. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12853>

FOR CITATION

Pigarova EA, Vorotnikova SY. Human resources problems of the endocrinological service and strategies for their solution. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):8-10. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12853>

НА ПУТИ К НАДЛЕЖАЩЕЙ СТАТИСТИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ. ВАЛИДИЗИРОВАННЫЙ ВОПРОСНИК CORSTAN ДЛЯ ОЦЕНКИ КОРРЕКТНОСТИ СТАТИСТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В МЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ



© О.Ю. Реброва^{1,2,3 *}, В.К. Федяева³, В.А. Аксенов³

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

³Межрегиональная общественная организация «Общество специалистов доказательной медицины», Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. В соответствии с концепцией доказательной медицины методологическое качество исследования определяется двумя его аспектами: рисками систематических ошибок и рисками некорректности анализа данных. Минимизация обоих рисков повышает внутреннюю валидность исследования. Существуют многочисленные рекомендации и руководства по проведению статистического анализа данных в медицинских исследованиях и его представлению в публикациях, однако до настоящего времени международным сообществом не был выработан какой-либо формализованный вопросник для оценки качества статистического анализа, который был бы предназначен для рецензентов.

ЦЕЛЬ. Разработать инструмент формализованной оценки качества статистического анализа, представленного в научных медицинских публикациях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Вопросник разработан на основе многолетнего опыта авторов в области статистического анализа данных и рецензирования статистических аспектов статей и диссертаций. При разработке вопросника принимались во внимание рекомендации SAMPL, документ ICH E9 и другие рекомендации. Выполнена внутренняя валидизация вопросника, заключающаяся в проведении независимой оценки двумя экспертами 20 случайно отобранных в elibrary.ru статей о рандомизированных контролируемых испытаниях и дальнейшем статистическом анализе согласованности заключений экспертов.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Разработан вопросник CORSTAN (CORrect STatistical ANalysis), состоящий из двух частей: первая часть (10 вопросов) предназначена для оценки исследований любых дизайнов, вторая (8 вопросов) — для дополнительной оценки рандомизированных контролируемых испытаний. Предложена стратификация риска некорректности статистического анализа. Оценка внутренней валидности вопросника показала ее высокий уровень как в отношении согласованности оценок рецензентов по каждому из вопросов, так и в отношении оценки каждой из статей как по сумме баллов, так и по уровню риска некорректности статистического анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Использование вопросника и шкалы позволит упростить и гармонизировать статистическое рецензирование публикаций и рукописей в различных институтах — научных журналах, диссертационных советах и т.д. Вопросник также может быть полезен и авторам в процессе подготовки рукописей, он будет способствовать повышению качества не только публикаций, но и самих исследований. Мы планируем усовершенствовать вопросник по мере накопления опыта его применения.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: доказательная медицина; методологическое качество; анализ данных; статистический анализ; ошибки; вопросник; CORSTAN; валидность.

TOWARDS GOOD STATISTICAL PRACTICE. CORSTAN VALIDATED QUESTIONNAIRE FOR ASSESSING THE CORRECTNESS OF STATISTICAL ANALYSIS IN MEDICAL RESEARCH

© Olga Yu. Rebrova^{1,2,3 *}, Vlada K. Fediaeva³, Valeriy A. Aksekov³

¹The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

²Endocrinology Research Center, Moscow, Russia

³Russian Society for Evidence Based Medicine, Moscow, Russia

BACKGROUND: In evidence-based medicine, the research methodology is determined by the risks of systematic biases and incorrect data analysis. Minimizing both risks increases the internal validity of the study. There are numerous recommendations and guidelines for data analysis and reporting, but the international community has not yet developed a questionnaire for reviewers to assess the quality of statistical analysis.

AIM: To develop a tool for formalized assessment of the quality of statistical analysis presented in scientific medical publications.



MATERIALS AND METHODS: The questionnaire was developed based on the authors' decades of experience in statistical data analysis and reviewing the statistical aspects of biomedical articles and dissertations. The SAMPL guidelines, ICH E9, and other guidelines were taken into account when developing the questionnaire. Internal validation of the questionnaire was based on an independent assessment by two experts of 20 randomly selected articles on randomized controlled trials (RCTs) from elibrary.ru, and further statistical analysis of the agreement of experts' conclusions.

RESULTS: The CORSTAN (CORrect STatistical ANalysis) questionnaire was developed, which consists of two parts: the first part (10 questions) is intended for evaluating studies of any designs, while the second (following eight questions) is for additional assessment of RCTs. A stratification of the risk of incorrect statistical analysis is proposed. The evaluation of the questionnaire's internal validity showed its substantial and almost perfect agreement for each question and each article both in the sum of points and risk level.

CONCLUSION: The use of the questionnaire will simplify and harmonize the statistical review of publications and manuscripts in various institutions — scientific journals, dissertation boards, etc. The questionnaire can also be helpful for authors during preparing manuscripts; it will also help improve the quality of publications and research itself. We plan to improve the questionnaire as we gain experience in its application.

KEYWORDS: *evidence-based medicine; research integrity; data analysis; biostatistics; scale; questionnaire; CORSTAN; validity.*

ОБОСНОВАНИЕ

Под надлежащей статистической практикой (Good Statistical Practice, GSP) можно понимать систему (арсенал) принципов, методов и процедур для проведения методически и технически безупречного (корректного) статистического анализа результатов научного исследования и их публикации. Практическое ее использование требует от пользователя обширных знаний и навыков.

В соответствии с концепцией доказательной медицины методологическое качество исследования определяется двумя его аспектами:

- рисками систематических ошибок;
- рисками некорректности анализа данных.

Оба риска мы предложили оценивать как низкие, средние или высокие, какие бы системы оценок и шкалы при этом ни использовались, и делать на основании этих оценок совокупное заключение о методологическом качестве исследования [1].

Риск систематических ошибок оценивается по-разному для исследований разных дизайнов. Нами (Ребровой О.Ю. и соавт.) ранее были предложены переводы на русский язык ряда опросников для оценки риска систематических ошибок в исследованиях следующих дизайнов: рандомизированные контролируемые испытания (РКИ) (вопросник Кокрановского сотрудничества Risk-of-Bias), метаанализ (вопросник AMSTAR), сетевой метаанализ (вопросник ISPOR), когортные исследования и исследования «случай-контроль» (вопросник Newcastle-Ottawa), одномоментные исследования диагностических тестов (вопросник QUADAS).

В отношении статистического анализа по-прежнему отмечается существенная обеспокоенность его качеством, и за последние 20 лет в этом отношении мало что изменилось [2]. При рецензировании статей оценка статистического анализа если и выполняется, то рецензентами предметной области (subject reviewer) в рамках своих рецензий. Их знания, к сожалению, обычно совершенно недостаточны для статистического рецензирования.

Существуют рекомендации SAMPL по описанию статистического анализа в статьях [3], их перевод на русский язык [4] и более структурированная версия [5], а также многочисленные чек-листы, предназначенные как для

авторов, так и для рецензентов, например [6, 7], однако до настоящего времени международным сообществом не выработан какой-либо *формализованный вопросник* для оценки качества статистического анализа, предназначенный для рецензентов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработать инструмент формализованной оценки качества статистического анализа, представленного в научных медицинских публикациях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Вопросник разработан на основе многолетнего опыта авторов в области статистического анализа данных и рецензирования статистических аспектов статей и диссертаций. При разработке данного вопросника принимались во внимание рекомендации САМПЛ [4] и документ ICH E9 Statistical principles for clinical trials¹. Черновик вопросника был ранее включен в ведомственный документ «Методические рекомендации по оценке качества статистического анализа в клинических исследованиях» (ФГБУ «ЦЭКМП» Минздрава России, 2017), однако в настоящее время объем и все пункты этого вопросника переработаны.

Валидизация вопросника выполнялась по случайно отобранным статьям. Для этого в Научной электронной библиотеке (elibrary.ru) 05-01-2021 был выполнен поиск документов по запросу «рандомизированное» с применением следующих фильтров:

- где искать: в названии публикации;
- тип публикации: статьи в журналах;
- тематика: Медицина и здравоохранение;
- параметры: искать в публикациях, имеющих полный текст на elibrary.Ru;
- годы публикации: 2015–2020.

Получено 172 статьи, список ранжирован по умолчанию. Из них случайным образом (с применением инструмента <https://www.graphpad.com/quickcalcs/randomselect1/>) выбраны 20 статей.

¹ https://database.ich.org/sites/default/files/E9_Guideline.pdf

Оценка каждой статьи проводилась независимо двумя экспертами. Далее оценивалась внутренняя валидность вопросника следующими способами:

- а. согласованность ответов экспертов по каждому вопросу отдельно;
- б. различия суммарных баллов двух экспертов;
- в. корреляция суммарных баллов двух экспертов;
- г. согласованность уровней риска некорректности статистического анализа, оцененных двумя экспертами.

Также оценивалась корреляция суммарных баллов по вопроснику с двухлетними импакт-факторами журналов в РИНЦ на год публикации оцениваемой статьи, их ассоциация с входжением журнала в перечень Russian Science Citation Index (RSCI) и базу данных Scopus (сведения получены с веб-сайта elibrary.ru).

Для оценки согласованности заключений использовали оценку коэффициента каппа (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/kappa1/>). Интерпретацию коэффициента согласия выполняли в соответствии с [8]. Описательная статистика для сумм баллов представлена медианами и квартилями. Применялись непараметрические методы — тест Вилкоксона, двусторонний точный критерий Фишера (ТКФ₂), корреляционный анализ Спирмена. Статистический анализ выполняли в ППП Statistica v. 13 (TIBCO Software Inc., США). Пороговым уровнем значимости считали 0,05.

Для оценки надежности вопросника рассчитывали коэффициент альфа Кронбаха в пакете PASW Statistics (SPSS) v.18 (IBM, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В настоящей публикации мы представляем вопросник и шкалу для оценки риска некорректности статистического анализа (табл. 1). Вопросник разделен на две части: первая часть (вопросы №1–10) предназначена для исследований любых дизайнов, вторая (вопросы №11–18) — для дополнительной оценки РКИ. Допустимые ответы на вопросы — «Да» (1 балл), «Нет» (0 баллов). Ситуации неопределенности (условный ответ — «Неясно») следует консервативно трактовать как «Нет». Таким образом, минимальное количество баллов — ноль, максимальное — 18 (для РКИ) и 10 (для исследований других дизайнов).

Принято допущение, что «веса» вопросов равны, однако в дальнейшем это допущение предполагается пересмотреть.

Оценку риска некорректности предлагается стратифицировать следующим образом (табл. 2).

Вопросник назван нами CORSTAN (акроним от CORrect Statistical ANalysis).

В табл. 3 приведены результаты анализа согласованности оценок экспертов по каждому из вопросов. По двум вопросам (№ 6 и 8) расчет коэффициента каппа был невозможен, т.к. дисперсия ответов отсутствовала (все ответы обоих экспертов были «Нет»). По остальным вопросам наблюдалось существенное или отличное согласие.

Медианы и квартили сумм баллов 20 статей были следующими: у первого эксперта — 6,5 [4; 9,5], у второго эксперта — 6,5 [4; 9]. Статистически значимых различий оценок экспертов не выявлено ($P=0,343$, тест Вилкоксона). Корреляция оценок является сильной ($r=0,96$; 95% ДИ 0,89–0,98; $P<0,001$, тест Спирмена).

Отличным также было согласие экспертов в отнесении статей к уровням риска ($K=1$). Ни одна статья не была отнесена к низкому риску, по двум остальным уровням риска статьи распределились поровну у обоих экспертов.

Не выявлена ассоциация суммарных баллов с двухлетним импакт-фактором журнала в РИНЦ, входжением журналов в перечень RSCI (12 из 20 статей) и базу данных Scopus (10 из 20 статей). Интересно, что также не выявлена ассоциация между включенностью журналов в RSCI и Scopus (табл. 4).

Показатель надежности (альфа Кронбаха) шкалы вопросника равен 0,629.

ОБСУЖДЕНИЕ

Предложен вопросник, в котором 10 вопросов применимы для оценки исследований любых дизайнов, а 8 дополнительных вопросов — специально для оценки РКИ. Оценка внутренней валидности по 20 случайно отобранным публикациям показала ее высокий уровень как в отношении согласованности оценок рецензентов по каждому из вопросов, так и в отношении оценки каждой из статей как по сумме баллов, так и по уровню риска некорректности статистического анализа.

Следует отметить, что ни в одной статье не был определен низкий риск некорректности статистического анализа, по остальным двум уровням риска статьи распределились поровну, что свидетельствует о недостаточном качестве статистического анализа в публикуемых исследованиях. Следствием такого распределения суммарных баллов является и полученное нами невысокое значение показателя надежности шкалы. Для улучшения этого показателя требуется целенаправленное включение в анализ статей с высоким качеством статистического анализа, что было невозможно реализовать при случайном отборе статей.

Непосредственной причиной недостаточного качества статистического анализа, по нашему мнению, является отсутствие хотя бы выборочного статистического рецензирования в процессе редакционной подготовки статей к публикации. Более глубокой причиной является недостаток квалифицированных специалистов в области статистического анализа медицинских данных в отечественных исследовательских организациях и вузах.

Попытка внешней валидации вопросника показала, что качество статистического анализа в публикациях не ассоциировано с оценкой качества журнала при формировании перечня RSCI и включения в базу данных Scopus. Такой результат оказался для нас вполне ожидаемым, однако, как мы полагаем, эту ситуацию следует менять, т.к. риск некорректности результатов статистического анализа определяет методологическое качество статей, что, в свою очередь, может приводить к смещенности результатов и быть одной из важных причин разлувернувшегося в последние годы кризиса воспроизводимости в биомедицине [9–12].

Надеемся, что использование вопросника и шкалы позволит упростить и гармонизировать статистическое рецензирование публикаций и рукописей в различных институтах — научных журналах, диссертационных советах и т.д. С учетом того, что статистическое рецензирование в большинстве случаев выполняется не специалистами, а рецензентами предметной области, вопросник

Таблица 1. Вопросник CORSTAN для оценки риска некорректности статистического анализа в исследованиях по публикациям о них

№	Вопросы и пояснения к ответам
1	Использован ли валидизированный статистический пакет?
Да (1 балл)	Использован валидизированный статистический пакет (SAS, Stata, Statistica, SPSS или др.) или онлайн-калькулятор (со ссылкой на источник)
Нет (0 баллов)	Использованы невалидизированные статистические пакеты (например, собственные разработки) или не приведена информация об используемом программном обеспечении
2	Указан ли пороговый уровень статистической значимости?
Да	Указан, или статистические гипотезы не проверялись
Нет	Не указан
3	Отсутствуют ли ошибки в описательной статистике количественных и качественных признаков?
Да	Ошибки не выявлены
Нет	Нет, например: • неясно, какие именно параметры распределений приведены • для признаков с неизвестным видом распределения приведены среднее и среднее квадратическое отклонение M (SD) • в качестве меры рассеяния приведена стандартная ошибка среднего (SEM, m) • есть ошибки в представлении абсолютных или относительных частот
4	Адекватны ли использованные статистические методы задачам и данным?
Да	Адекватны задачам и данным
Нет	Неадекватны задачам и/или данным или недостаточно информации для оценки
5	Отсутствуют ли ошибки в применении статистических методов?
Да	Ошибки не выявлены
Нет	Выявлены ошибки, например, при проверке гипотез, расчете доверительных интервалов, применении методов, требующих выполнения допущений; невозможно оценить
6	Является ли описание результатов статистического анализа достаточно полным?
Да	Да, является
Нет	Нет, не является, например: • не указаны использованные статистические тесты • не приведена информация о наличии/отсутствии пропусков в данных • не указано число наблюдений в таблицах или на рисунках • недостаточно полно описаны результаты многомерного анализа или анализа времени до события
7	Приведены ли точные рассчитанные уровни статистической значимости p (как минимум два значащих разряда), а не неравенства?
Да	Приведены точные рассчитанные уровни статистической значимости p , или приведены неравенства для не критического диапазона ($p > 0,05$), или проверка статистических гипотез не выполнялась
Нет	Не приведены
8	Применен ли способ преодоления проблемы множественных сравнений?
Да	Применен (например, описано применение поправки для порогового уровня значимости, применены <i>post hoc</i> тесты, применен иерархический подход к проверке гипотез), или проблема множественных сравнений отсутствует
Нет	Не применены или лишь упомянуты способы преодоления проблемы множественных сравнений
9	Приведены ли доверительные интервалы для основных результатов исследования?
Да	Приведены (в РКИ — хотя бы для первичного исхода)
Нет	Не приведены
10	Корректна ли интерпретация результатов статистического анализа в формулировке выводов?
Да	Корректна
Нет	Некорректна или невозможно оценить

Далее только для РКИ

11	Ясна ли проверяемая гипотеза?
Да	Да, например: - явно сформулирована проверяемая гипотеза (превосходства, не меньшей эффективности, эквивалентности) - в исследовании изучали эффективность вмешательства в сравнении с плацебо или отсутствием изучаемого вмешательства, что предполагает проверку гипотезы превосходства - проверяемая гипотеза понятна из способа расчета необходимого объема выборки
Нет	Нет информации
12	Описан ли расчет необходимого объема выборки?
Да	Да, приведена полная информация
Нет	Информация недостаточно полная или отсутствует
13	Если тестируют гипотезу превосходства, то анализировали ли данные пациентов по намерению лечить (intention to treat)? Если тестируют гипотезу не меньшей эффективности или эквивалентности, то анализировали ли данные пациентов, закончивших наблюдение (per protocol)?
Да	Выполнено ли хотя бы одно из следующих условий: - проанализированы данные пациентов по намерению лечить или данные пациентов, получивших хотя бы одну дозу вмешательства (при тестировании гипотезы превосходства) - количество анализируемых пациентов по первичному исходу совпадает с количеством пациентов, распределенных по группам (при тестировании гипотезы превосходства) - проанализированы данные пациентов, которые получили полный курс вмешательства в соответствии с протоколом (при тестировании гипотез не меньшей эффективности или эквивалентности) - количество анализируемых пациентов было меньше, чем количество пациентов, распределенных по группам (при тестировании гипотез не меньшей эффективности или эквивалентности) - для первичного исхода применялся анализ времени до события
Нет	Нет информации об использованном наборе данных или гипотеза не ясна
14	Указан ли метод заполнения пропусков по выбывшим пациентам в анализе набора данных по намерению лечить (ITT)?
Да	Указан метод заполнения пропусков или пропусков не было или анализ ITT не проводился
Нет	Нет информации о пропусках или способе их заполнения
15	Приведены ли частоты и причины выбывания из групп?
Да	Приведены или нет выбывания
Нет	Частоты и/или причины выбывания из групп не приведены или неизвестно, было ли выбывание
16	Приведены ли описательная статистика и результаты статистического сравнения исходных характеристик групп?
Да	Приведены описательная статистика исходных характеристик групп и результаты сопоставления исходных характеристик групп (в виде рассчитанных уровней статистической значимости p) по всем или хотя бы основным характеристикам групп
Нет	Не приведена описательная статистика исходных характеристик групп или исходные характеристики групп не сопоставлены (не приведены рассчитанные уровни статистической значимости p)
17	Проведен ли анализ влияния вмешивающихся факторов (конфаундеров) на величину эффекта?
Да	Анализ проведен или конфаундеры при сопоставлении исходных характеристик групп не выявлены
Нет	Анализ не проведен или не приведены доказательства отсутствия конфаундеров
18	Приведены ли показатели относительного и абсолютного размера эффекта и их доверительные интервалы хотя бы для первичного исхода?
Да	Приведены
Нет	Не приведены

Таблица 2. Стратификация риска некорректности статистического анализа по сумме баллов вопросника CORSTAN

Уровень риска	РКИ	Исследования других дизайнов
Низкий	13–18 баллов	8–10 баллов
Средний	7–12 баллов	5–7 баллов
Высокий	0–6 баллов	0–4 балла

Таблица 3. Согласованность оценок экспертов

№ вопроса	Каппа	Интерпретация согласия по [15]
1	1	Отличное согласие
2	1	Отличное согласие
3	1	Отличное согласие
4	1	Отличное согласие
5	0,780	Существенное согласие
6	Оценка невозможна (все ответы «Нет»)	
7	1	Отличное согласие
8	Оценка невозможна (все ответы «Нет»)	
9	0,765	Существенное согласие
10	0,800	Существенное согласие
11	1	Отличное согласие
12	1	Отличное согласие
13	0,875	Отличное согласие
14	0,794	Существенное согласие
15	0,765	Существенное согласие
16	1	Отличное согласие
17	0,875	Отличное согласие
18	0,886	Отличное согласие

Таблица 4. Включенность в RSCI и Scopus журналов, в которых опубликованы 20 проанализированных статей

RSCI	Scopus	
	не включен	включен
Не включен	5	3
Включен	5	7
P=0,650, ТКФ ₂		

может быть полезен и им. Конечно, непосредственное использование вопросника неспециалистами может оказаться сложным (в частности, по пунктам 3–6, 10), поэтому мы полагаем, что будет целесообразным проведение тренингов для рецензентов по использованию вопросника, что будет также способствовать более широкому его применению.

Вопросник также может быть полезным и действенным инструментом для выявления и профилактики негативных последствий применения неадекватных статистических процедур и методов. Его использование в процессе предпубликационной активности авторов,

рецензентов и редакторов научных изданий будет способствовать повышению качества не только публикаций, но и самих исследований. Вопросник будет усовершенствоваться по мере накопления опыта его применения.

Ограничения исследования

Ограничениями работы следует считать малый объем выборки, валидизацию вопросника только по РКИ (т.е. длинной версии вопросника) и только авторами вопросника, неудачу внешней валидизации вопросника (отметим, что внешняя валидизация была вспомогательной задачей).

Направления дальнейших исследований

Планируется продолжить валидизацию вопросника по РКИ с привлечением внешних экспертов, а также выполнить валидизацию короткой версии вопросника по исследованиям других дизайнов. Также в перспективе возможно уточнение формулировок вопросника, приписывание неравных весов вопросам. Как и другие подобные инструменты, вопросник будет усовершенствоваться, будут выпускаться новые его версии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложен вопросник из 18 пунктов, предназначенный для оценки представления процедуры и результатов статистического анализа в публикациях о медицинских исследованиях любых дизайнов. Часть вопросов специально предназначена для оценки РКИ. Вопросник имеет высокую внутреннюю валидность и может быть использован как рецензентами, так и авторами при подготовке рукописей.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

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

Участие авторов. Реброва О.Ю. — разработка концепции и дизайна исследования, получение и анализ данных, интерпретация результатов, написание статьи; Федяева В.К. — разработка дизайна исследования, интерпретация результатов, редактирование статьи; Аксенов В.А. — получение данных, интерпретация результатов, редактирование статьи. 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.

Благодарности. Авторы признательны к.б.н. Н.Н. Хромову-Борисову и к.т.н. В.П. Леонову за обсуждение вопросника и ценные замечания.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Реброва О.Ю. О принципах экспертизы методологического качества оригинальных медицинских исследований // *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. — 2014. — Т. 4. — №18. — С. 15-18. [Rebrova OYu. On principles of assessment of medical research methodological quality. *Medical Technologies. Assessment and Choice*. 2014;4:15-18 (In Russ.)].
2. Hardwicke TE, Goodman SN. How often do leading biomedical journals use statistical experts to evaluate statistical methods? The results of a survey. *PLoS One*. 2020;15(10):e0239598. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0239598>
3. Lang TA, Altman DG. Basic statistical reporting for articles published in Biomedical Journals: The "Statistical Analyses and Methods in the Published Literature" or the SAMPL Guidelines. *Int J Nurs Stud*. 2015;52(1):5-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijnurstu.2014.09.006>
4. Ланг Т., Альтман Д. Основы описания статистического анализа в статьях, публикуемых в биомедицинских журналах. Руководство «Статистический анализ и методы в публикуемой литературе (САМПЛ)» // *Медицинские технологии. Оценка и выбор*. — 2014. — Т. 1. — №15. — С. 11-16. [Lang T, Altman D. Basic statistical reporting for articles published in clinical medical journals: the SAMPL Guidelines (Translation into Russian). *Medical Technologies. Assessment and Choice*. 2014;1(15):11-16. (In Russ.)].
5. Indrayan A. Reporting of Basic Statistical Methods in Biomedical Journals: Improved SAMPL Guidelines. *Indian Pediatr*. 2020;57(1):43-48. doi: <https://doi.org/10.1007/s13312-020-1702-4>
6. Petroveci M. The role of statistical reviewer in biomedical scientific journal. *Biochem Medica*. 2009;19(3):223-230. doi: <https://doi.org/10.11613/BM.2009.020>
7. Greenwood DC, Freeman JV. How to spot a statistical problem: advice for a non-statistical reviewer. *BMC Med*. 2015;13(1):270. doi: <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0510-5>
8. Landis JR, Koch GG. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics*. 1977;33(1):159-174. doi: <https://doi.org/10.2307/2529310>
9. Hanin L. Why statistical inference from clinical trials is likely to generate false and irreproducible results. *BMC Med Res Methodol*. 2017;17(1):127. doi: <https://doi.org/10.1186/s12874-017-0399-0>
10. Turkiewicz A, Luta G, Hughes HV, Ranstam J. Statistical mistakes and how to avoid them — lessons learned from the reproducibility crisis. *Osteoarthritis Cartil*. 2018;26(11):1409-1411. doi: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2018.07.017>
11. Bishop D. Rein in the four horsemen of irreproducibility. *Nature*. 2019;568(7753):435-435. doi: <https://doi.org/10.1038/d41586-019-01307-2>
12. Gosselin R. Statistical Analysis Must Improve to Address the Reproducibility Crisis: The ACCESS to Transparent Statistics (ACTS) Call to Action. *BioEssays*. 2020;42(1):1900189. doi: <https://doi.org/10.1002/bies.201900189>

Рукопись получена: 06.08.2021. Одобрена к публикации: 19.10.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Реброва Ольга Юрьевна**, д.м.н., с.н.с. [Olga Yu. Rebrova, PhD]; адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1 [address: 1 Ostrovityanova str., Moscow, Russian Federation, 117997]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6733-0958>; eLibrary SPIN: 7360-3254; e-mail: o.yu.rebrova@gmail.com

Федяева Влада Константиновна [Vlada K. Fediaeva]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7730-1237>; eLibrary SPIN: 7202-4371; e-mail: vlada.fediaeva@gmail.com

Аксёнов Валерий Алексеевич, к.м.н. [Valeriy A. Aksenov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2468-0613>; eLibrary SPIN: 1128-3353; e-mail: v_aksenov@bk.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Реброва О.Ю., Федяева В.К., Аксенов В.А. На пути к надлежащей статистической практике. Валидизированный вопросник CORSTAN для оценки корректности статистического анализа в медицинских исследованиях // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 11-17. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12797>

TO CITE THIS ARTICLE

Rebrova OY, Fediaeva VK, Aksenov VA. Towards Good Statistical Practice. CORSTAN Validated Questionnaire for Assessing the Correctness of Statistical Analysis in Medical Research. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):11-17. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12797>

ЭКСПРЕССИИ МИКРОРНК В ПЛАЗМЕ КРОВИ, ОТТЕКАЮЩЕЙ ОТ ГИПОФИЗА, У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ИЦЕНКО–КУШИНГА И АКТГ-ЭКТОПИРОВАННЫМ СИНДРОМОМ



© А.А. Малыгина^{1*}, Ж.Е. Белая¹, А.Г. Никитин², Ф.А. Кошкин³, И.И. Ситкин¹, А.М. Лапшина¹, П.М. Хандаева¹, А.С. Луценко¹, Д.А. Трухина¹, Г.А. Мельниченко¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Научно-исследовательский институт пульмонологии, Москва, Россия

³Медико-генетический центр «Геномед», Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. За последние десятилетия микроРНК зарекомендовали себя как новые маркеры для целого ряда заболеваний. Определение специфичной панели микроРНК, отличающей пациентов с болезнью Иценко–Кушинга (БИК) и АКТГ-эктопированным синдромом (АКТГ-ЭС; АКТГ — адrenoкортикотропный гормон), смогло бы значительно упростить диагностику.

ЦЕЛЬ. Выявить циркулирующие микроРНК, отличающиеся у пациентов с БИК и АКТГ-ЭС в плазме крови, оттекающей от гипофиза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Выполнено одноцентровое одномоментное выборочное исследование случай-контроль. Включены 24 пациента с АКТГ-зависимым эндогенным гиперкортицизмом (ЭГ), которым требовалось проведение селективного забора крови из нижних каменистых синусов (НКС). Из них 12 пациентов с БИК (м=2, ж=10), возрастная медиана 46,5 [33,8; 53,5] года, и 12 пациентов с АКТГ-ЭС (м=4, ж=8), возрастная медиана 54 [38,75; 60,75] года. Образцы плазмы крови из НКС были получены до введения стимуляционного агента, центрифугированы и заморожены при температуре -80°C. Выделение микроРНК из плазмы крови проводили с помощью miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции компании-производителя на автоматической станции QIAcube (Qiagen, Германия). Концентрацию суммарной РНК в водном растворе оценивали на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare, США). Библиотеки были подготовлены с помощью QIAseq miRNA Library Kit согласно стандартным протоколам производителя. Экспрессию микроРНК исследовали с помощью секвенирования на Illumina NextSeq 500 (Illumina NextSeq 500, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ. Обнаружены 108 дифференциально экспрессирующихся микроРНК ($p < 0,05$) после поправки на множественность сравнений. МикроРНК разделены на три группы — группа 1 с числом прочтений более 10 в обеих группах сравнения, группа 2 — с числом прочтений менее 10 в одной из групп, группа 3 — с числом прочтений менее 10 в обеих группах. Для верификации методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (RT-qPCR) планируется использовать следующие микроРНК: miR-383-3p, miR-4290 и miR-6717-5p, экспрессия которых была повышена у пациентов с БИК по сравнению с пациентами из группы АКТГ-ЭС в 46,36 ($p=0,01$), 6,84 ($p=0,036$) и в 4,49 раза ($p=0,031$) соответственно, miR-1203, miR-1229-3p, miR-639, экспрессия которых была снижена у пациентов с БИК в 36,74 ($p=0,013$), 78,3 ($p=0,003$), 73,22 раза ($p=0,002$) соответственно, а также miR-302c-3p, экспрессия которой была повышена у пациентов с БИК в 92,69 раза ($p=0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В ходе исследования был значительно расширен список микроРНК-кандидатов для диагностики АКТГ-зависимых форм ЭГ. Необходима валидизация полученных микроРНК в периферической крови на расширенной выборке пациентов методом RT-qPCR.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Иценко–Кушинга; АКТГ-эктопированный синдром; микроРНК; NGS; аденома гипофиза.

DIFFERENCES IN PLASMA MIRNA LEVELS IN INFERIOR PETROSAL SINUS SAMPLES OF PATIENTS WITH ACTH-DEPENDENT CUSHING'S SYNDROME

© Anastasia A. Malygina^{1*}, Zhanna E. Belaya¹, Alexey G. Nikitin², Philipp A. Koshkin³, Ivan I. Sitkin¹, Anastasia M. Lapshina¹, Patimat M. Khandaeva¹, Alexander S. Lutsenko¹, Diana A. Trukhina¹, Galina A. Melnichenko¹

¹The National Medical Research Center for Endocrinology, Moscow, Russia

²Pulmonology Scientific Research Institute under FMBA of Russia, Moscow, Russia

³Center of medical genetics «Genomed», Moscow, Russia

BACKGROUND: For the last decades microRNAs (miR) have proven themselves as novel biomarkers for various types of diseases. Identification of specific circulating microRNA panel that differ patient with Cushing's disease (CD) and ectopic ACTH syndrome (EAS) could improve the diagnostic procedure.



AIM: to evaluate the differences in miR levels in plasma samples drained from inferior petrosal sinuses in patients with CD and EAS.

MATERIALS AND METHODS: single-center, case-control study: we enrolled 24 patients with ACTH-dependent Cushing's syndrome (CS) requiring bilateral inferior petrosal sinus sampling (BIPSS). Among them 12 subjects were confirmed as CD (males=2, females=10; median age 46,5 [IR 33,8;53,5]) and 12 as EAS (males=4, females=8, median age 54 [IR 38,75;60,75]). BIPSS was performed through a percutaneous bilateral approach. Once catheters were properly placed, blood samples were withdrawn simultaneously from each petrosal sinus and a peripheral vein. Plasma samples from both sinuses were centrifuged and then stored at -80 C. MiRNA isolation from plasma was carried out by an miRNeasy Plasma/Serum Kit (Qiagen, Germany) on the automatic QIAcube station according to the manufacturer protocol. To prevent degradation, we added 1 unit of RiboLock Rnase Inhibitor (Thermo Fisher Scientific, USA) per 1 μ L of RNA solution. The concentration of total RNA in the aqueous solution was evaluated on a NanoVue Plus spectrophotometer (GE Healthcare, USA). The libraries were prepared by the QIAseq miRNA Library Kit following the manufacturer standard protocols. MiR expression was then analyzed by sequencing on Illumina NextSeq 500 (Illumina, USA).

RESULTS: 108 miRNAs were differently expressed ($p < 0,05$) in inferior petrosal sinus samples of patients with CD vs EAS. We divided these miRNAs into 3 groups based on the significance of the results. The first group consisted of samples with the highest levels of detected miR in both groups. Four miRNAs were included: miR-1203 was downregulated in CD vs EAS — 36.74 ($p=0,013$), and three other were upregulated in CD vs EAS: miR-383-3p 46.36 ($p=0,01$), miR-4290 6.84 ($p=0,036$), miR-6717-5p 4.49 ($p=0,031$). This miRs will be validated in larger cohorts using RT-qPCR.

CONCLUSION: Plasma miR levels differ in inferior petrosal samples taken from patients with CD vs EAS. These miRs need to be validated by different methods and in peripheral plasma samples in order to be used as potentially non-invasive biomarkers to differentiate ACTH-dependent CS.

KEYWORDS: Cushing's disease; ectopic ACTH syndrome; microRNA; NGS.

ОБОСНОВАНИЕ

Болезнь Иценко–Кушинга (БИК) — тяжелое нейроэндокринное заболевание, сопровождающееся развитием серьезных инвалидизирующих осложнений и повышенной смертностью [1]. БИК является наиболее частой причиной эндогенного гиперкортицизма (ЭГ) (до 70–80% случаев) [2], характеризуется гиперкортизолемией, развившейся вследствие гиперпродукции адренокортикотропного гормона (АКТГ) кортикотропиномой гипофиза [3]. Женщины болеют чаще мужчин в соотношении 3–4:1 [4]. Другой АКТГ-зависимой формой ЭГ является АКТГ-эктопированный синдром (АКТГ-ЭС) (5–10%) [5], когда симптомокомплекс гиперкортицизма развивается вследствие паранеопластического синдрома и источник гиперпродукции АКТГ находится в других органах и тканях — в легких, тимусе, щитовидной железе, поджелудочной железе, толстом кишечнике и др. [6]. При этом приблизительно в 19% случаев АКТГ-ЭС локализовать опухоль не удается [7]. АКТГ-ЭС одинаково распространен как среди мужчин, так и среди женщин [7]. Клиническая картина БИК и АКТГ-ЭС обусловлена в первую очередь проявлениями хронической гиперкортизолемии и характеризуется перераспределением подкожножировой клетчатки, повышением артериального давления, нарушением углеводного обмена, образованием характерных багровых стрий на поверхности передней брюшной стенки, груди, плеч, матронизмом, мышечной слабостью, патологическими переломами костей скелета, ломкостью капилляров (приводящей к легкому образованию кровоизлияний, экхимозов и петехий), нарушением менструальной функции у женщин, снижением потенции у мужчин [8, 9]. Несмотря на то что причины гиперпродукции АКТГ разные и тактики лечения, соответственно, тоже, установить диагноз по сумме клинических проявлений и комплекса лабораторно-инструментальных исследований не всегда

представляется возможным. В связи с этим ряд пациентов за все годы активного лечения АКТГ-зависимого ЭГ проходили через заведомо неэффективные вмешательства на гипофизе в виде трансфеноидальной аденомэктомии или радиохирургии [10]. Причинами этого являются несовершенство имеющихся в арсенале врача методов лабораторной диагностики, отсутствие высокочувствительных тестов для дифференциальной диагностики АКТГ-зависимых форм ЭГ [11]. Несмотря на то что разрабатываются неинвазивные алгоритмы дифференциальной диагностики из имеющихся тестов и проб, золотым стандартом остается селективный забор крови из нижних каменистых синусов (НКС) [12, 13]. Ценность селективного забора крови из НКС неоспорима, однако данная процедура инвазивна и требует оснащенной рентген-операционной и высокой квалификации сосудистого хирурга. Чувствительность и специфичность селективного забора крови варьируют в пределах 88–100 и 67–100 соответственно [14]. Такая разница в показателях эффективности частично объясняется разной методологией проведения процедуры (наличие/отсутствие стимулирующего агента) и опытом хирургов. Критически важным этапом, влияющим на ценность результата всей процедуры, является правильное позиционирование катетеров в НКС, для подтверждения чего предложено использовать определение градиента пролактина до введения стимулирующего агента [15]. Тем не менее такой контроль проводится не всегда, отчего повышаются шансы ошибочного заключения. К наиболее частым побочным эффектам относится гематома в области венепункции, тем не менее зарегистрированы случаи и более серьезных осложнений, таких как перфорации бедренной вены, формирование артериовенозной фистулы, тромбоз глубоких вен, тромбоэмболии легочной артерии и даже случай летального исхода в результате тромбоза кавернозного синуса [16]. Учитывая трудоемкость селективного забора, для улучшения дифференциальной

диагностики АКТГ-зависимого ЭГ необходимы более доступные и неинвазивные методы.

МикроРНК — класс малых (~23 нуклеотида) некодирующих молекул РНК, играющих важную роль в посттранскрипционной регуляции генов через связывание с матричной РНК (мРНК). Как правило, связь микроРНК с мРНК приводит к ее деградации или препятствует считыванию белок-кодирующей последовательности [17]. Первые микроРНК были открыты более 20 лет назад, однако прошло более 10 лет, прежде чем эти молекулы из биологии начали «приходить» в медицинские исследования [18–22]. Будучи достаточно стабильными циркулирующими молекулами, концентрацию которых можно измерить в разных биологических жидкостях, микроРНК могут служить надежными онкомаркерами [23]. В 2002 г. было впервые описано влияние измененного уровня экспрессии конкретных микроРНК на развитие онкологического заболевания — сниженный уровень экспрессии miR-15 и miR-16, возникающий при делеции 13q14.3, приводит к развитию хронического лимфолейкоза [24]. Далее последовал целый ряд исследований по поиску изменений в экспрессии микроРНК, характерных для различных неоплазий, и на данный момент найдены специфические изменения профилей микроРНК при раке простаты [25], молочной железы [26], шейки матки [27], легких [28] и др.

В 2015 г. на базе ФГБУ ЭНЦ Минздрава России было выполнено исследование уровня экспрессии ранее описанных в литературе микроРНК в плазме крови пациентов с АКТГ-зависимым ЭГ [29]. В исследовании участвовал 41 пациент с АКТГ-зависимым ЭГ (n=28 БИК, n=13 АКТГ-ЭС) и 11 человек из группы контроля. У всех участников выполнен забор плазмы крови натощак, проведен анализ 21 микроРНК (miR-10b-5p, miR-129-5p, miR-133a-5p, miR-141-3p, miR-143-3p, miR-145-5p, miR-150-3p, miR-15a-5p, miR-16-5p, miR-146a-5p, miR-185-3p, miR-191-5p, miR-203a-5p, miR-210-5p, miR-211-5p, miR-31-5p, miR-409-3p, miR-409-5p, miR-431-5p, miR-488-3p, miR-7g-5p) методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (RT-qPCR). Статистически значимая разница уровня экспрессии между пациентами с БИК и АКТГ-ЭС была обнаружена по уровням miR-16-5p [45,04 (95% доверительный интервал (ДИ) 28,77–61,31) у пациентов с БИК vs. 5,26 (95% ДИ 2,65–7,87) в группе АКТГ-ЭС, $p<0,001$; $q=0,001$], miR-145-5p [0,097 (95% ДИ 0,027–0,167) у пациентов с БИК vs. неопределяемый уровень у пациентов с АКТГ-ЭС, $p=0,008$; $q=0,087$] и miR-7g-5p [1,842 (95% ДИ 1,283–2,400) у пациентов в БИК vs. 0,847 (95% ДИ 0,187–1,507) в группе АКТГ-ЭС, $p=0,02$; $q=0,14$]. Таким образом, было выявлено 3 микроРНК, статистически значимо отличающихся у пациентов с БИК и АКТГ-ЭС, при этом наибольшие различия показала miR-16-5p, уровень экспрессии которой отличался не только между пациентами с разным генезом АКТГ-зависимого ЭГ, но также между пациентами с разными формами АКТГ-зависимого ЭГ и здоровыми добровольцами.

Планировалось провести анализ экспрессии микроРНК в крови, оттекающей от гипофиза, у пациентов с разными формами АКТГ-зависимого гиперкортицизма методом высокопроизводительного секвенирования в целях выявления большего количества микроРНК, потенциально пригодных для формирования панели для дифференциальной диагностики АКТГ-зависимых форм ЭГ.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Выявить различно экспрессирующиеся циркулирующие микроРНК в плазме крови из НКС у пациентов с БИК и АКТГ-ЭС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Исследование проведено на базе отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Высокопроизводительное секвенирование выполнено на базе лаборатории «Геномед». Выделение микроРНК и биоинформатический анализ полученных данных выполнены на базе ФГБУ «НИИ пульмонологии» ФМБА России.

Время исследования. Набор пациентов осуществлялся с сентября 2017 г. по май 2019 г.

Изучаемые популяции

В исследование были включены пациенты с подтвержденным диагнозом АКТГ-зависимого гиперкортицизма, поступившие в отделение нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России для проведения селективного забора крови из НКС.

Критерии включения: АКТГ-зависимый гиперкортицизм, подтвержденный на основании критериев, установленных действующими клиническими рекомендациями по диагностике БИК; аденома гипофиза менее 6 мм в диаметре, или отсутствие визуализации аденомы по данным МРТ, или неэффективная трансфеноидальная аденомэктомия в анамнезе при отсутствии данных гистологического исследования послеоперационного материала.

Критерии исключения: возраст моложе 18 лет, прием препаратов, снижающих уровень кортизола, тяжелые системные заболевания, беременность, множественные метастатические поражения у пациентов с АКТГ-ЭС.

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое одномоментное выборочное исследование случай-контроль.

Описание медицинского вмешательства (для интервенционных исследований)

Всем пациентам выполнена процедура селективного забора крови из НКС. Доступ осуществлялся через бедренную вену, через которую под рентгенологическим контролем после установки интродьюсеров 4F и 5F проводились многоцелевые катетеры 4F, которые устанавливались в правом и левом НКС. До введения стимуляционного агента осуществлялся забор плазмы крови из НКС в пробирки с этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА). Далее проводились двукратное центрифугирование образцов (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов (A-4-81, Ф-4-81-MTP/Flex, FA-45-30-11 и F-45-48-PCR)) на скорости 3000 оборотов в минуту в течение 15 мин при температуре +5°C, забор плазмы и замораживание материала при температуре -80 °C до дальнейшего анализа.

Методы

Перед проведением селективного забора крови из НКС все пациенты проходили лабораторное обследование для подтверждения активности гиперкортицизма:

выполнялись анализ слюны на кортизол в 23:00 на автоматическом анализаторе Cobas e601 фирмы F. Hoffmann-LaRocheLtd (каталожный № 11875116 122), используя метод электрохемилюминесцентного анализа (ЭХЛА) (точка разделения 9,4 нмоль/л) [30], сбор суточной мочи с определением свободного кортизола иммунохемилюминесцентным методом на аппарате Vitros ECi с предварительной экстракцией диэтиловым эфиром (референсный интервал 60–413 нмоль/сут), малая проба с 1 мг дексаметазона (точка разделения более 50 нмоль/л), для оценки генеза ЭГ выполнялся анализ крови на АКТГ утром (референсный интервал 7–66 пг/мл), значение кортизола утром, равное или более 10 пг/мл, указывало на центральный генез ЭГ. Для оценки циркадного ритма выработки АКТГ оценивался его уровень в 23:00 (референсный интервал 0–30 пг/мл). Исследование уровней кортизола и АКТГ плазмы крови выполнено на электрохемилюминесцентных анализаторах фирмы Roche (Elecys 2010; Cobas e601) стандартными наборами фирмы F. Hoffmann-La Roche Ltd.

Всем пациентам была выполнена МРТ гипофиза в целях поиска аденомы на магнитно-резонансном томографе Magnetom Harmony (Siemens, Германия) с введением контрастного вещества по показаниям.

Выделение микроРНК из плазмы крови проводили с помощью miRNeasy Serum/Plasma Kit (Qiagen, Германия) согласно инструкции компании-производителя на автоматической станции QIAcube (Qiagen, Германия). Для предотвращения деградации в выделенную РНК добавляли 1 ед. RiboLock RNase Inhibitor (Thermo Fisher Scientific, США) на 1 мкл раствора нуклеиновых кислот. Концентрацию суммарной РНК в водном растворе оценивали на спектрофотометре NanoVue Plus (GE Healthcare, Великобритания). Для дальнейшей работы отбирали образцы с концентрацией суммарной РНК в водном растворе не ниже 5 нг/мкл. Экспрессию микроРНК анализировали с помощью секвенирования на Illumina NextSeq 500 (Illumina NextSeq 500, США). Библиотеки были подготовлены с помощью QIAseq miRNA Library Kit в соответствии со стандартными протоколами производителя. Контроль качества библиотек выполнялся на Lab Chip GX. Биоинформационная обработка была следующей: адаптеры удалялись с помощью Cutadapt; полученные файлы FASTQ были затем картированы на геном человека (сборка GRCh37) с помощью bowtie2. FastQC использовался в качестве инструмента для визуализации различных измерений контроля качества. Для каждого образца последовательности аннотировались с использованием баз данных человеческих пре-микроРНК

и зрелых микроРНК, предоставленных в miRBase (<http://microrna.sanger.ac.uk/sequences/>) с помощью SeqBuster. TargetScan, Diana-TarBase v8 и mirPath v.3, были использованы для предсказания мишеней. Платформа miRNet использовалась для анализа взаимодействия микроРНК и их генов-мишеней.

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался ввиду редкости заболевания. Основные количественные характеристики пациентов представлены в виде медианы и интерквартильного размаха. Сравнение описательных параметров пациентов с БИК и АКТГ-ЭС выполнено с использованием непарных двусторонних t-тестов. Для сравнения качественных параметров двух независимых групп использован точный критерий Фишера. Статистически значимым считалось значение $p < 0,05$. Аналитическая статистика выполнена с помощью статистического пакета SPSS 23.0. Биоинформатический анализ данных секвенирования выполнен при помощи пакета DESeq2.

Этическая экспертиза

Проведение исследования было одобрено комитетом по этике ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (протокол №1 от 25.01.2017 г.) в рамках темы «Постгеномные технологии и неинвазивные методы в диагностике эндогенного гиперкортицизма и его АКТГ-зависимых форм».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объекты (участники) исследования

В исследование включены 12 пациентов с диагнозом БИК и 12 пациентов с диагнозом АКТГ-ЭС. Исходные характеристики участников исследования сведены в таблице 1. В группе пациентов с БИКу 3 (25%) не было выявлено аденомы гипофиза по данным МРТ, у 9 пациентов (75%) по данным МРТ было выявлено образование гипофиза менее 6 мм, в связи с чем и был выполнен селективный забор крови из НКС. В когорте пациентов с АКТГ-ЭС у 7 пациентов (58,3%) была обнаружена нейроэндокринная опухоль (НЭО) легкого, у 1 пациента (8,3%) — НЭО правого надпочечника, у 1 пациента (8,3%) — НЭО поджелудочной железы, у 3 пациентов (24,9%) источник эктопической продукции АКТГ не идентифицирован. Окончательный диагноз устанавливался на основании клинической и лабораторной ремиссии после операции, а также по данным иммуногистохимического (ИГХ)

Таблица 1. Сравнительная характеристика участников исследования

Параметры	БИК	АКТГ-ЭС	P
Количество	12	12	
Возраст, годы	46,5 [33,8; 53,5]	54 [38,75; 60,75]	0,343
Пол (м/ж)	2/10	4/8	0,515
ИМТ, кг/м ²	30,7 [29,8; 36,2]	33,4 [24,6; 41,4]	0,987
АКТГ крови в 23:00, пг/мл	51,3 [35; 73,9]	112,8 [66,3; 193,7]	0,007

БИК — болезнь Иценко-Кушинга, АКТГ-ЭС — АКТГ-эктопированный синдром, ИМТ — индекс массы тела, АКТГ — адренокортикотропный гормон, P — уровень значимости, n — количество пациентов, м — мужчины, ж — женщины.

Таблица 2. Результаты иммуногистохимического исследования послеоперационного материала пациентов с болезнью Иценко–Кушинга

№	ИГХ
1	ПГК
2	РГК
3	РГК
4	РГК
5	ПГК
6	ПГК
7	При дорезке с блока в срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, импрегнацией серебром и ИГХ с антителами к АКТГ опухолевой ткани не обнаружено.

ПГК — плотногранулированная кортикотропинома, РГК — редкогранулированная кортикотропинома.

исследования послеоперационного материала. Пациенты, у которых в результате селективного забора крови из НКС был подтвержден центральный генез ЭГ, были направлены на нейрохирургическое лечение в отделение нейрохирургии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. У 11 из 12 пациентов зарегистрирована послеоперационная ремиссия, у 1 пациентки после выполнения повторной транссфеноидальной аденомэктомии ремиссии достигнуто не было, учитывая тяжесть состояния было принято решение о проведении двусторонней адреналэктомии. ИГХ-исследование было выполнено на 7 образцах послеоперационного материала: в 3 случаях выявлена плотногранулированная кортикотропинома, еще в 3 случаях — редкогранулированная кортикотропинома, в одном случае опухолевой ткани выявлено не было (табл. 2).

Основные результаты исследования

Были обнаружены 108 дифференциально экспрессирующихся микроРНК с уровнем значимости $<0,05$ после поправки на множественность сравнений. По достоверности обнаруженных различий микроРНК разделены на три группы — группа 1 с числом прочтений более 10 в обеих группах сравнения (табл. 3), группа 2 с числом прочтений менее 10 в одной из групп, группа 3 с числом прочтений менее 10 в обеих группах (табл. 4 и 5). Для групп 2 и 3 из-за низкой представленности микроРНК потребуется большее количество образцов в группах при валидации обнаруженных изменений с помощью

Таблица 3. МикроРНК с числом прочтений более 10 для обеих групп сравнения (группа 1)

микроРНК	Изменение экспрессии	Уровень значимости p
hsa-miR-1203	-36,74	0,013
hsa-miR-383-3p	46,36	0,01
hsa-miR-4290	6,84	0,036
hsa-miR-6717-5p	4,49	0,031

В столбце «Изменение экспрессии» указано, во сколько раз экспрессия микроРНК больше или меньше (в случае отрицательного значения) у пациентов с БИК по сравнению с пациентами с АКТГ-ЭС.

Таблица 4. МикроРНК с числом прочтений менее 10 в одной из групп (группа 2)

микроРНК	Изменение экспрессии	Уровень значимости p
miR-1185-2-3p	26,23	0,038
miR-1229-3p	-78,3	0,003
miR-1238-5p	22,61	0,05
miR-1265	85,85	0,003
miR-1267	31,39	0,012
miR-1294	-21,65	0,036
miR-138-5p	30,44	0,005
miR-15b-3p	-14,29	0,036
miR-2114-3p	23,7	0,044
miR-2116-5p	35,37	0,022
miR-302c-3p	92,69	0,001
miR-31-5p	30,89	0,029
miR-3145-5p	32,13	0,027
miR-335-5p	36,81	0,012
miR-3683	-49,02	0,007
miR-3692-3p	-33,5	0,015
miR-376b-5p	32,52	0,021
miR-3928-3p	44,64	0,002
miR-3939	11,06	0,04
miR-4287	-43,19	0,013
miR-4427	-20,01	0,019
miR-4470	-60,35	0,005
miR-4476	24,31	0,042
miR-4516	11,34	0,045
miR-4632-3p	-42,63	0,011
miR-4693-5p	176,66	0,0001
miR-4752	72,89	0,006
miR-4771	24,24	0,036
miR-4792	33,77	0,014
miR-4804-5p	106,51	0,001
miR-504-5p	28,22	0,027
miR-505-5p	-48,24	0,004
miR-5100	56,83	0,001
miR-519e-5p	96,19	0,001
miR-521	-34,78	0,014
miR-532-5p	79,29	0,002
miR-548ay-3p	98,87	0,001
miR-548w	93,25	0,001
miR-555	23,77	0,044
miR-5584-3p	90,89	0,001
miR-5702	168,27	8,268
miR-613	-22,19	0,048
miR-639	-73,22	0,002
miR-6508-5p	50,38	0,009
miR-6735-5p	80,64	0,002
miR-6739-5p	28,9	0,014
miR-6784-5p	58,52	0,006
miR-6790-3p	-19,75	0,032
miR-6796-5p	23,64	0,008
miR-6802-5p	16,47	0,017
miR-6808-5p	-17,86	0,032
miR-6866-5p	116,55	0,001
miR-6879-5p	16,16	0,025
miR-6881-3p	44,87	0,001
miR-6881-5p	13,84	0,029
miR-7110-3p	36,64	0,012
miR-7111-3p	113,64	0,001
miR-7975	71,63	0,003
miR-8073	-25,49	0,033
miR-8088	20,53	0,049
miR-877-3p	-9,97	0,049
miR-877-5p	-20,45	0,048
miR-888-3p	31,28	0,028

Таблица 5. МикроРНК с числом прочтений менее 10 в обеих группах (группа 3)

микроРНК	Изменение экспрессии	Уровень значимости p
miR-1228-3p	66,25	0,003
miR-1252-5p	-24,28	0,029
miR-145-5p	32,67	0,026
miR-16-1-3p	32,67	0,026
miR-21-3p	22,34	0,048
miR-212-5p	26,89	0,036
miR-296-5p	33,91	0,019
miR-298	60,3	0,004
miR-29b-1-5p	42,09	0,013
miR-3125	-33,83	0,009
miR-3202	28,24	0,033
miR-331-5p	23,23	0,039
miR-3922-5p	27,93	0,034
miR-4481	54,11	0,005
miR-4498	26,22	0,038
miR-4645-3p	28,43	0,033
miR-4685-3p	38,67	0,005
miR-4762-3p	65,2	0,004
miR-4773	-27,69	0,029
miR-5003-5p	21,42	0,027
miR-5007-3p	17,35	0,05
miR-513b-5p	29,34	0,031
miR-5583-5p	-21,76	0,049
miR-5586-5p	39,09	0,015
miR-5699-3p	48,2	0,01
miR-6507-3p	13,95	0,036
miR-6726-5p	24,48	0,042
miR-6733-5p	27,86	0,034
miR-6739-3p	23,53	0,045
miR-6755-5p	22,5	0,048
miR-6792-5p	21,92	0,034
miR-6805-3p	26,72	0,03
miR-6815-5p	28,28	0,033
miR-6828-3p	29,92	0,03
miR-6846-3p	32,55	0,026
miR-6869-3p	27,96	0,028
miR-6878-3p	59,79	0,003
miR-718	29,96	0,019
miR-8063	21,82	0,044
miR-921	29,28	0,026
miR-93-3p	22,17	0,049

RT-qPCR. Тепловая карта экспрессии 108 микроРНК в группе пациентов с БИК по сравнению с АКГ-ЭС представлена на рис. 1.

Для дальнейшей верификации методом RT-qPCR планируется использовать следующие наиболее отличающиеся по профилю экспрессии между 2 группами микроРНК: miR-383-3p, miR-4290 и miR-6717-5p, экспрессия которых была повышена в группе пациентов с БИК по сравнению с пациентами из группы АКГ-ЭС в 46,36 ($p=0,01$), 6,84 ($p=0,03$) и 4,49 раза ($p=0,03$) соответственно, miR-1203, miR-1229-3p, miR-639, уровень экспрессии которых был снижен у пациентов с БИК по сравнению с пациентами из группы АКГ-ЭС в 36,74 ($p=0,01$), 78,3 ($p=0,003$), 73,22 раза ($p=0,002$) соответственно, а также miR-302c-3p, уровень экспрессии которой был повышен в группе пациентов с БИК по сравнению с АКГ-ЭС в 92,69 раза ($p=0,001$).

Проведенный с помощью mirNet 2.0 [31] анализ показал, что обнаруженные микроРНК регулируют транскрипционные факторы и гены-онкосупрессоры (рис. 2). Значительная часть дифференциально экспрессирующихся микроРНК, которые мы обнаружили на первом этапе исследования, связана преимущественно с процессами онкогенеза и различными сигнальными путями, а также процессами передачи сигналов с помощью фокальных контактов. Значительное снижение экспрессии онкосупрессорных miR-302c-3p и miR-383-3p в АКГ-ЭС может являться следствием происходящих в организме опухолевых процессов.

Нежелательные явления

За время проведения исследования нежелательные события не фиксировались.

ОБСУЖДЕНИЕ

Сопоставление с другими публикациями

В данном исследовании мы продолжаем поиск различающихся по профилю экспрессии микроРНК у пациентов с БИК и АКГ-ЭС. Забор крови, оттекающей от гипофиза, осуществлялся непосредственно в ходе проведения селективного забора крови из НКС. Нам удалось выявить порядка 108 микроРНК, которые различно экспрессировались в плазме крови, оттекающей от гипофиза, у пациентов с АКГ-секретирующей аденомой (БИК) по сравнению со здоровым гипофизом у пациентов с АКГ-ЭС.

Спустя сравнительно небольшое время после открытия микроРНК их начали изучать в отношении диагностики и дифференциальной диагностики образований гипофиза. Первая публикация результатов исследования относится к 2005 г., когда были впервые описаны изменения микроРНК в ткани аденом гипофиза на основании исследования 10 образцов соматотропином и 10 пролактином методом нозерн блоттинга. Была выявлена гипоксипрессия miR-15a и miR16-1 в тканях аденом по сравнению с тканью здорового гипофиза [32–34]. По данным нашего исследования, miR-16-1-3p значится в группе 3 с числом прочтений менее 10 в обеих группах сравнения, при этом экспрессия данной микроРНК была в 32,7 раза выше у пациентов с БИК по сравнению с группой пациентов с АКГ-ЭС ($p=0,03$). В 2009 г. были опубликованы первые

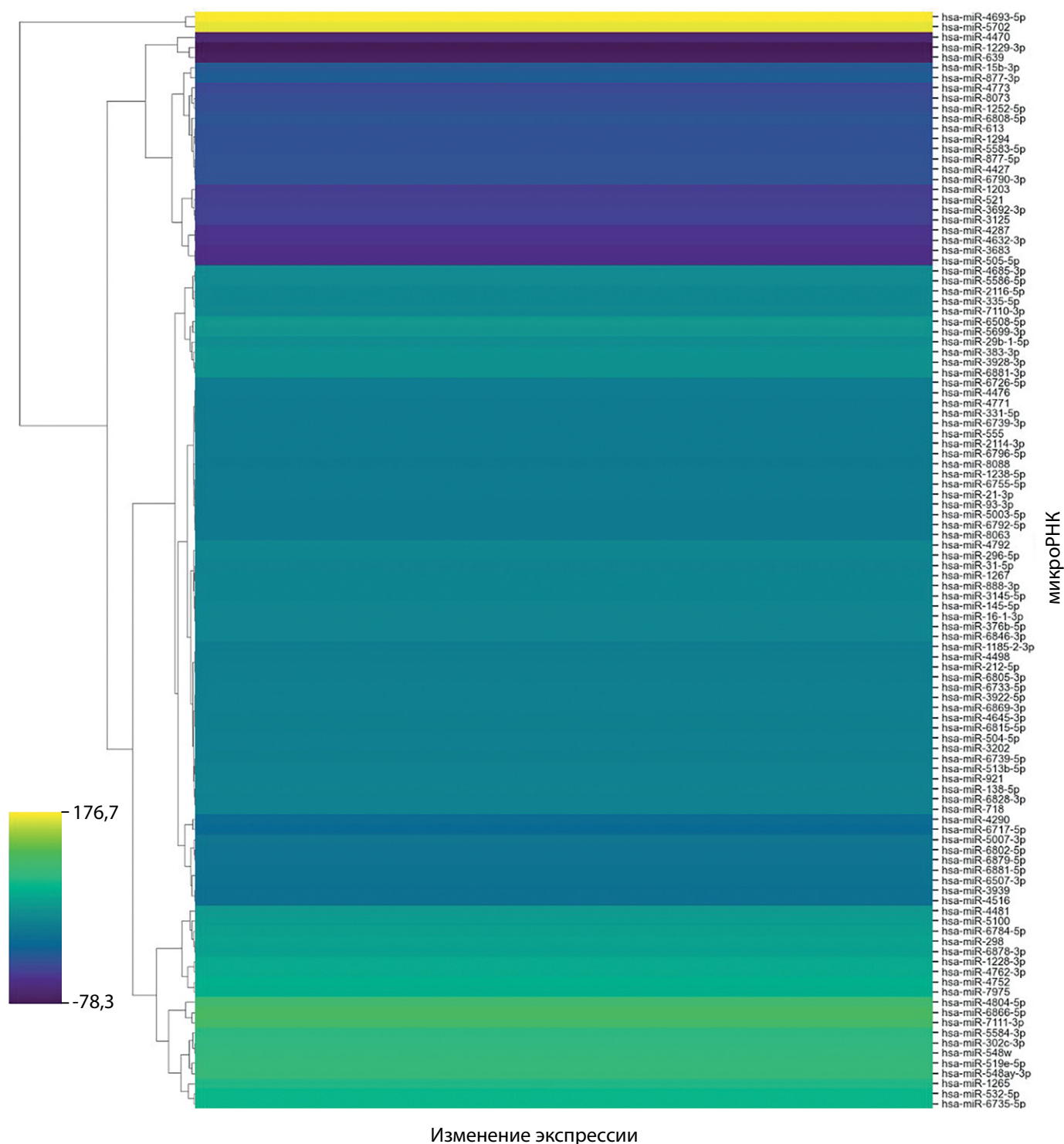


Рисунок 1. Тепловая карта экспрессии 108 микроРНК в группе пациентов с болезнью Иценко–Кушинга относительно пациентов с АКТГ-эктопированным синдромом. Синий цвет соответствует низкому уровню экспрессии, желтый — высокому.

результаты исследования экспрессии микроРНК в тканях кортикотропином при сравнении со здоровой тканью гипофиза [35]. При анализе данных 14 пациентов с БИК методом RT-qPCR в реальном времени было выявлено снижение уровня экспрессии let-7a, miR-15a, miR-16, miR-21, miR-141, miR-143, miR-145 и miR-150. По данным нашего исследования, miR-145-5p находится в группе 3 с количеством прочтений менее 10 в обеих группах сравнения, и уровень ее экспрессии был увеличен в группе пациентов с БИК в 32,7 раза ($p=0,03$), что подтверждает данные, полученные в пилотном исследовании [29], где уровень экспрессии miR-145-5p был также повышен в группе па-

циентов с БИК. В исследовании, опубликованном в 2010 г., было выявлено повышение экспрессии miR-122 и miR-493 в тканях АКТГ-продуцирующих карцином гипофиза при сравнении с тканью кортикотропином и здоровым гипофизом, что потенциально делает их маркерами злокачественности образования [36]. В 2021 г. была опубликована работа, в которой было выполнено сравнение профилей экспрессии микроРНК у пациентов с БИК, кортикостеромой надпочечника и здоровым контролем. Были проведены высокопроизводительное секвенирование образцов сыворотки пациентов, а также валидизация полученных микроРНК методом количественной ПЦР. Выявлено,

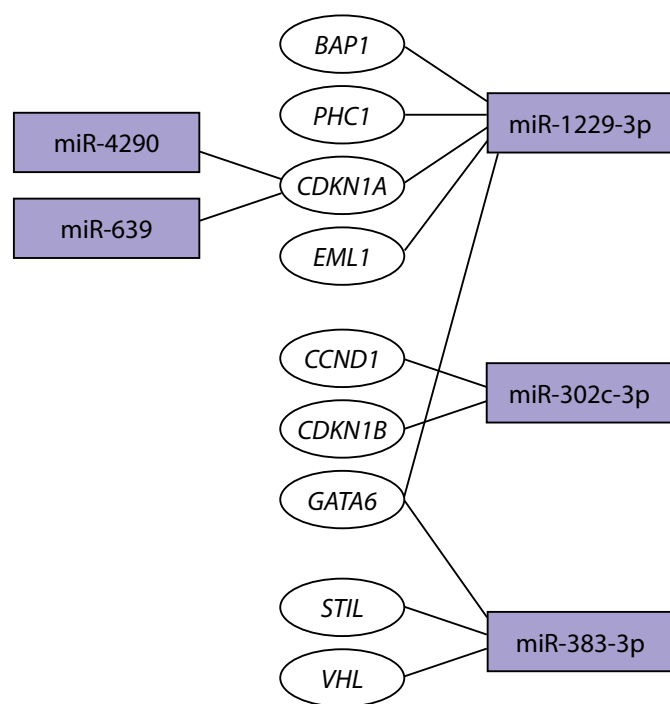


Рисунок 2. Карта взаимодействия микроРНК с генами-мишенями [30].

что miR-182-5p значительно отличалась у пациентов с БИК по сравнению с кортикостеромой надпочечника и группой контроля [37]. В исследовании B. Lu и соавт. изучались взаимосвязь miR-16 и тенденции аденом гипофиза к инвазии в прилежащие ткани и усиленному росту. Снижение уровня экспрессии miR-16 было ассоциировано с более интенсивным ростом и склонностью к инвазии опухоли, предположительно через усиление выработки васкулярного эндотелиального фактора роста (VEGF2) через VEGFR2/p38/NF-κB сигнальный путь [38]. В исследовании W. Renjie и соавт. также выделяется роль miR-16 в подавлении миграции, пролиферации и инвазии клеток опухолей гипофиза наравне с miR-15a и miR-132, мишенью которых является Sox5 [39]. По данным F. Garbicz и соавт., экспрессии miR-93-3p, miR-25-3p, miR-93-5p и miR-106b-5p, кодируемые в 13м интроне гена *MCM7*, были значительно повышены в тканях инвазивных АКТГ-секретирующих аденом гипофиза, что делает данную панель потенциальным маркером инвазивного характера роста аденомы и фактором риска послеоперационных рецидивов и отсутствия ремиссии у пациентов после нейрохирургического вмешательства по поводу БИК [40].

При помощи базы данных TargetScan был выполнен анализ возможных генов-мишеней выявленных нами микроРНК (табл. 6). В TargetScan оценивается вероятность взаимодействия микроРНК и гена-мишени при помощи

Таблица 6. Некоторые возможные мишени микроРНК по данным базы TargetScan

Общее количество генов-мишеней	miR-383-3p	miR-4290	miR-639	miR-6717-5p	miR-1203	miR-1229-3p
	5483	3978	814	642	1058	4005
<i>USP8</i>	-0,18					
<i>PRKAR1A</i>		-0,01				-0,09
<i>CABLES1</i>	-0,07	0		-0,01		0
<i>ZNF264</i>	-0,07	-0,07				-0,09
<i>GATA6</i>	-0,03	-0,12				-0,01
<i>CDKN1A</i>	-0,14	-0,14	-0,39			
<i>CDKN1B</i>		-0,46				
<i>TSC1</i>					-0,29	-0,07
<i>SSTR2</i>						0
<i>SSTR3</i>	-0,02	-0,48				
<i>SSTR5</i>	-0,01	-0,32				
<i>TP53</i>					-0,13	
<i>VHL</i>	-0,33					-0,29
<i>SDHC</i>	-0,14					-0,22
<i>MAX</i>		-0,17			-0,59	
<i>TMEM127</i>	-0,03				-0,13	
<i>SOX4</i>		-0,23			-0,3	

В таблице представлено значение индекса cumulative weighted context++ score: значения ранжируются от -3 до 1, при этом, чем ближе значение к -3, тем больше вероятность связывания.

индекса cumulative weighted context++ score на основании 14 показателей вероятности связывания, при этом чем ближе значение к -3, тем больше вероятность воздействия определенной микроРНК на ген. В первую очередь был выполнен поиск связи выявленных микроРНК с описанными в литературе генами, изменения в которых были выявлены у пациентов с БИК и АКГ-ЭС [41, 42]. Следует отметить, что в базе данных TargetScan не содержится информации о miR-302с-3р. В результате поиска среди возможных мишеней числится *USP8* (miR-383-3р), кодирующий убиквитин-специфическую протеазу 8. По разным данным, от 31 до 61% всех соматических мутаций, обнаруженных

в кортикотропинах, приходится на активирующие мутации гена *USP8* [42]. При таких мутациях предотвращается деградация рецепторов к эпидермальному фактору роста (EGF) и стимулируется синтез POMC. Выявлена зависимость данного вида мутации от развития микроаденом гипофиза с высокой АКГ-секретирующей активностью и склонностью к рецидивированию [43]. На момент написания данной статьи из всех исследованных генетических механизмов формирования кортикотропином мутация гена *USP8* является одной из наиболее изученных и доказанных [44]. Описания других возможных генов-мишеней представлены в таблице 7.

Таблица 7. Характеристика возможных генов-мишеней [41–43, 55]

Ген	Описание
<i>CDKN1A</i>	Кодирует ингибитор циклинзависимых киназ, является регулятором клеточного цикла, играет ключевую роль в ответе клетки на повреждение ДНК
<i>GATA6</i>	Кодирует фактор регуляции транскрипции, является онкосупрессором, снижение экспрессии приводит к усилению пролиферации клеток
<i>ZNF264</i>	Кодирует фактор регуляции транскрипции
<i>USP8</i>	Кодирует убиквитин-специфическую протеазу 8. Регулирует содержание внутриклеточных рецепторов EGF в кортикотрофах и влияет на синтез POMC. Активирующая мутация <i>USP8</i> является наиболее часто встречающейся в кортикотропинах
<i>PRKAR1A</i>	Ген регуляторной субъединицы I-альфа. Инактивирующая мутация гена <i>PRKAR1A</i> клинически проявляется формированием Карни-комплекса. Описано всего два случая формирования кортикотропином при Карни-комплексе, гораздо чаще встречается первичная пигментная nodулярная надпочечниковая дисплазия с развитием синдрома Кушинга
<i>CABLES1</i>	<i>CABLES1</i> повышает экспрессию p27, который, в свою очередь, блокирует клеточную пролиферацию за счет угнетения рецепторов к эпидермальному фактору роста (EGF). Инактивирующая мутация потенциально приводит к онкогенному эффекту
<i>CDKN1B</i>	Кодирует ингибитор циклинзависимой киназы 1B p27, являющейся регулятором клеточного цикла (онкосупрессор). Герминальные мутации встречаются у 2% пациентов с синдромом, подобным синдрому множественных эндокринных неоплазий
<i>TSC1</i>	Инактивирующая мутация данного гена приводит к формированию туберозного склероза, для которого кортикотропиномы не специфичны, но тем не менее описаны в литературе
<i>SSTR2</i>	Рецепторы соматостатина 2 подтипа
<i>SSTR3</i>	Рецепторы соматостатина 3 подтипа
<i>SSTR5</i>	Рецепторы соматостатина 5 подтипа
<i>TP53</i>	Кодирует один из ключевых опухолевых супрессоров (t53). Мутации данного гена встречаются при неоплазиях разного генеза
<i>VHL</i>	Герминальная инактивирующая мутация приводит к формированию болезни фон Гиппеля–Линдау (VHL-синдром), при котором возможно формирование феохромоцитом и нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, в том числе с секрецией АКГ и развитием АКГ-ЭС
<i>SDHC</i>	Мутации данного гена клинически могут проявляться феохромоцитомой и параганглиомой
<i>MAX</i>	Кодирует онкопротеин, участвующий в регуляции клеточного цикла. Клинически мутации в данном гене также могут проявляться феохромоцитомой и параганглиомой
<i>TMEM127</i>	Кодирует трансмембранный протеин 127. Клинически мутации данного гена также описаны при развитии наследственных феохромоцитом и параганглиом
<i>SOX4</i>	Представитель семейства транскрипционных факторов, играющих ключевую роль в эмбриональном развитии гипофиза. Гиперэкспрессия гена <i>SOX4</i> обнаружена более чем в 20 видах неоплазий, данные многочисленных исследований приводят к выводу, что <i>SOX4</i> является онкогеном

Далее рассмотрим опубликованные данные касательно выявленных в нашем исследовании микроРНК при других новообразованиях и заболеваниях. В 2018 г. было опубликовано исследование влияния высокого уровня экспрессии длинной некодирующей РНК (lcrRNA) HOXC13-AS на высокие показатели клеточной миграции и пролиферации в тканях назофарингеальных карцином [45]. В ходе исследования было выявлено, что HOXC13-AS оказывает онкогенное влияние, воздействуя на ось miR-383-3p/HMGA2, а именно снижая уровень экспрессии miR-383-3p и усиливая экспрессию HMGA2. Ранее было выявлено, что miR-383 может играть онкосупрессорную роль в культурах клеток рака молочной железы, подавляя экспрессию Gadd45g (growth arrest and DNA-damage-inducible 45 gamma) [46]. Подавление экспрессии miR-4290 длинной некодирующей РНК DLX6-AS1 связано с ростом клеток рака желудка и обеспечением анаэробного гликолиза по данным исследования Y. Qian [47]. В исследовании 2020 г. отмечено, что высокий уровень экспрессии miR-1229-3p в клетках аденокарциномы желудка и плазме крови пациентов ассоциирован с резистентностью к химиотерапии, в первую очередь к 5-фторурацилу, и потенциально может использоваться при выборе дальнейшей тактики ведения пациентов [48]. В другом исследовании было выявлено, что miR-1229-3p участвует в оси взаимодействия с интегрином-бета 8 (ITGB8), и при ее подавлении кольцевой РНК circ_0037655 наблюдается рост клеток глиомы и увеличивается риск метастазирования [49]. Повышенный уровень экспрессии miR-639 ассоциирован с более тяжелой стадией назофарингеальной карциномы и непосредственно влияет на пролиферацию и миграцию клеток [50]. Изменения в экспрессии miR-639 также выявлены в ткани карцином щитовидной железы: в тканях опухоли уровень экспрессии miR-639 был значительно повышен, ассоциирован с клеточной пролиферацией, предположительно действуя на *CDKN1A* [51]. Тем не менее, по данным исследования G. Xiao и соавт., miR-639, вероятно, служит онкосупрессором, и ее уровень значительно подавлен в ткани рака печени, в первую очередь посредством гиперметилирования ее промоторного участка гена [52]. В исследовании S. Hamada-Tsutsumi выявлено противовирусное действие miR-302c-3p на вирус гепатита В, что делает ее потенциальным терапевтическим агентом [53]. В другом исследовании показано, что данная микроРНК является одним из возможных биомаркеров цирроза печени и гепатобилиарной карциномы в исходе гепатита С: уровень ее экспрессии в плазме крови был значительно повышен в указанных группах пациентов по сравнению с группой контроля [54].

Клиническая значимость результатов

Обнаружение панели дифференциально экспрессирующихся микроРНК в периферической крови пациентов с БИК и АКТГ-ЭС смогло бы значительно упростить процесс дифференциальной диагностики АКТГ-зависимых форм ЭГ, убрав необходимость проведения такой инвазивной, дорогостоящей и высокотехнологической процедуры, как селективный забор крови из НКС. Полученные нами данные станут основой для дальнейшей валидации наиболее отличающихся между группами микроРНК на расширенной выборке пациентов с использованием метода RT-qPCR.

Ограничения исследования

К ограничениям исследования можно отнести малую выборку пациентов и отсутствие группы контроля. Тем не менее следует отметить, что наибольший интерес для нас представляет выявление микроРНК, отличающихся между группами пациентов с БИК и АКТГ-ЭС, так как планируемая в перспективе специфическая панель микроРНК будет использоваться в случаях уже подтвержденного АКТГ-зависимого гиперкортицизма для дифференциальной диагностики. Также следует отметить, что в нашем исследовании мы изучали микроРНК в материале крови от гипофиза, в дальнейших исследованиях необходима валидизация на образцах периферической крови.

Направления дальнейших исследований

Для подтверждения практической значимости микроРНК для дифференциальной диагностики заболеваний, тем более таких редких, как БИК и АКТГ-ЭС, необходимо проводить дополнительные исследования на широкой выборке пациентов. Таким образом, следующим шагом исследования должна стать валидизация полученных данных в периферической крови на расширенной выборке пациентов методом RT-qPCR.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном исследовании мы продолжили поиск циркулирующих микроРНК, отличающихся между пациентами с БИК и АКТГ-ЭС. По результатам был значительно расширен список микроРНК, потенциально пригодных для формирования панели для малоинвазивной дифференциальной диагностики АКТГ-зависимых форм ЭГ, в первую очередь за счет miR-383-3p, miR-1229-3p, miR-1203, miR-639, miR-4290, miR-6717-5p, miR-302c-3p. Разработка подобной панели значительно упростила бы диагностику тех противоречивых случаев, когда при подтвержденном ЭГ и высоком уровне АКТГ крови не удается обнаружить аденому гипофиза по данным МРТ или ее размеры не превышают 6 мм. Использование более простого и доступного по сравнению с селективным забором крови из НКС метода дифференциальной диагностики позволило бы избежать возможных диагностических ошибок, в том числе проведения заведомо неэффективного нейрохирургического вмешательства пациентам с АКТГ-ЭС.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено за счет средств гранта РНФ № 19-15-00398.

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

Участие авторов. Белая Ж.Е., Мельниченко Г.А., Малыгина А.А. — концепция и научное руководство исследованием; Малыгина А.А., Ситкин И.И., Хандаева П.М., Трухина Д.А. — сбор материала; Никитин А.Г., Кошкин Ф.А. — выделение РНК и анализ экспрессии микроРНК; Никитин А.Г., Малыгина А.А. — статистическая обработка данных; Малыгина А.А. — написание основного текста рукописи; Белая Ж.Е., Никитин А.Г., Мельниченко Г.А., Луценко А.С., Лапшина А.М. — редактирование текста рукописи. Все авторы внесли значимый вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Pivonello R, De Martino M, De Leo M, et al. Cushing's disease: the burden of illness. *Endocrine*. 2016;56(1):10-18. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-016-0984-8>
- Lonser R, Nieman L, Oldfield E. Cushing's disease: pathobiology, diagnosis, and management. *J Neurosurg*. 2017;126(2):404-417. doi: <https://doi.org/10.3171/2016.1.jns152119>
- Nieman LK, Biller BM, Findling JW, et al. The diagnosis of Cushing's syndrome: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 2008;93:1526-1540. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-0125>
- Sharma ST, Nieman LK, Feelders RA. Cushing's syndrome: Epidemiology and developments in disease management. *Clin Epidemiol*. 2015;7:281-293. doi: <https://doi.org/10.2147/CLEP.S44336>
- Lacroix A, Feelders R, Stratakis C, Nieman L. Cushing's syndrome. *The Lancet*. 2015;386(9996):913-927. doi: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)61375-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)61375-1)
- Young J, Haissaguerre M, Viera-Pinto O, et al. Management of endocrine disease: Cushing's syndrome due to ectopic ACTH secretion: an expert operational opinion. *Eur J Endocrinol*. 2020;182(4):R29-R58. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-19-0877>
- Ilias I, Torpy D, Pacak K, et al. Cushing's Syndrome Due to Ectopic Corticotropin Secretion: Twenty Years' Experience at the National Institutes of Health. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(8):4955-4962. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2004-2527>
- Ситкин И.И., Малыгина А.А., Белая Ж.Е., и др. Значение селективного забора крови из нижних каменных синусов для дифференциальной диагностики АКТГ-зависимого гиперкортицизма // *Эндокринная хирургия*. — 2018. — Т. 12. — №2. — С. 89-95. [Sitkin II, Malygina AA, Belaya ZE, et al. Inferior petrosal sinus sampling in differential diagnosis of ACTH-dependent hypercortisolism. *Endocr Surg*. 2018;12(2):89-95. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/serg9752>
- Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Драгунова Н.В., и др. Метаболические осложнения эндогенного гиперкортицизма. Выбор пациентов для скрининга // *Ожирение и метаболизм*. — 2013. — Т. 10. — № 1. — С. 26-31. [Belaya ZE, Rozhinskaya LY, Dragunova NV, et al. Metabolic complications of endogenous Cushing: patient selection for screening. *Obesity and metabolism*. 2013;10(1):26-31. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/2071-8713-5068>
- Мельниченко Г.А., Дедов И.И., Белая Ж.Е., и др. Болезнь Иценко-Кушинга: клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы лечения // *Проблемы Эндокринологии*. — 2015. — Т. 61. — №2. — С. 55-77. [Melnichenko GA, Dedov II, Belaya ZE, et al. Cushing's disease: the clinical features, diagnostics, differential diagnostics, and methods of treatment. *Problems of Endocrinology*. 2015;61(2):55-77. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201561255-77>
- Barbot M, Tremontino L, Zilio M, et al. Second-line tests in the differential diagnosis of ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Pituitary*. 2016;19(5):488-495. doi: <https://doi.org/10.1007/s11102-016-0729-y>
- Reimondo G, Paccotti P, Minetto M, et al. The corticotrophin-releasing hormone test is the most reliable noninvasive method to differentiate pituitary from ectopic ACTH secretion in Cushing's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2003;58(6):718-724. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2003.01776.x>
- Frete C, Corcuff J-B, Kuhn E, et al. Non-invasive Diagnostic Strategy in ACTH-dependent Cushing's Syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(10):3273-3284. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa409>
- Zampetti B, Grossrubatscher E, Dalino Ciaramella P, et al. Bilateral inferior petrosal sinus sampling. *Endocr Connect*. 2016;5(4):R12-R25. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-16-0029>
- Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А., и др. Роль градиента пролактина и АКТГ/пролактин-нормализованного отношения для повышения чувствительности и специфичности селективного забора крови из нижних каменных синусов для дифференциальной диагностики АКТГ-зависимого гиперкортицизма // *Проблемы Эндокринологии*. — 2013. — Т. 59. — №4. — С. 3-10. [Belaia ZE, Rozhinskaya LI, Mel'nichenko GA, et al. The role of prolactin gradient and normalized ACTH/prolactin ratio in the improvement of sensitivity and specificity of selective blood sampling from inferior petrosal sinuses for differential diagnostics of ACTH-dependent hypercorticism. *Problems of Endocrinology*. 2013;59(4):3-10. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl20135943-10>
- Losa M, Allora A, Panni P, et al. Bilateral inferior petrosal sinus sampling in adrenocorticotropin-dependent hypercortisolism: always, never, or sometimes? *J Endocrinol Invest*. 2019;42(8):997-1000. doi: <https://doi.org/10.1007/s40618-019-1006-5>
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell*. 2009;136(2):215-233. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.01.002>
- Belaya Z, Grebennikova T, Melnichenko G, et al. Effects of active acromegaly on bone mRNA and microRNA expression patterns. *Eur J Endocrinol*. 2018;178(4):353-364. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-17-0772>
- Belaya ZE, Grebennikova TA, Melnichenko GA, et al. Effects of endogenous hypercortisolism on bone mRNA and microRNA expression in humans. *Osteoporos Int*. 2018;29(1):211-221. doi: <https://doi.org/10.1007/s00198-017-4241-7>
- Луценко А.С., Белая Ж.Е., Пржиляковская Е.Г., и др. Экспрессия циркулирующих микроРНК в плазме у пациентов с акромегалией // *Проблемы эндокринологии*. — 2019. — Т. 65. — №5. — С. 311-318. [Lutsenko AS, Belaya ZE, Przhialkovskaya EG, et al. Expression of plasma microRNA in patients with acromegaly. *Problems of Endocrinology*. 2019;65(5):311-318. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl10263>
- Луценко А.С., Белая Ж.Е., Пржиляковская Е.Г., Мельниченко Г.А. МикроРНК и их значение в патогенезе СТГ-продуцирующих аденом гипофиза // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2017. — Т. 72. — №4. — С. 290-298. [Lutsenko AS, Belaya ZE, Przhialkovskaya EG, et al. MicroRNA: role in gh-secreting pituitary adenoma pathogenesis. *Ann Russ Acad Med Sci*. 2017;72(4):290-298. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.15690/vramn856>
- Аушев В.Н. МикроРНК: малые молекулы с большим значением // *Клиническая онкогематология*. — 2015. — Т. 8. — №1 — С. 1-12. [Aushev VN. MikroRNK: malye molekuly s bol'shim znacheniem. *Klinicheskaya onkogematologiya*. 2015;8(1):1-12. (In Russ.)].
- Hanahan D, Weinberg R. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*. 2011;144(5):646-674. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Calin GA, Dumitru CD, Shimizu M, et al. Nonlinear partial differential equations and applications: Frequent deletions and down-regulation of micro-RNA genes miR15 and miR16 at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci*. 2002;99(24):15524-15529. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.242606799>
- Pashaei E, Pashaei E, Ahmady M, et al. Meta-analysis of miRNA expression profiles for prostate cancer recurrence following radical prostatectomy. *PLoS One*. 2017;12(6):e0179543. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179543>
- Adhami M, Haghdoust AA, Sadeghi B, et al. Candidate miRNAs in human breast cancer biomarkers: a systematic review. *Breast Cancer*. 2018;25:198-205. doi: <https://doi.org/10.1007/s12282-017-0814-803>
- Pardini B, De Maria D, Francavilla A, et al. MicroRNAs as markers of progression in cervical cancer: a systematic review. *BMC Cancer*. 2018;18(1):696. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-018-4590-4>
- Shao C, Yang F, Qin Z, et al. The value of miR-155 as a biomarker for the diagnosis and prognosis of lung cancer: a systematic review with meta-analysis. *BMC Cancer*. 2019;19(1):1103. doi: <https://doi.org/10.1186/s12885-019-6297-6>
- Belaya Z, Khandaeva P, Nonn L, et al. Circulating Plasma microRNA to Differentiate Cushing's Disease From Ectopic ACTH Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:331. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00331>
- Белая Ж.Е., Малыгина А.А., Гребенникова Т.А., и др. Диагностические возможности исследования кортизола слюны в ходе малой пробы с дексаметазоном // *Ожирение и метаболизм*. — 2020. — Т. 17. — № 1. — С. 13-21. [Belaya ZE, Malygina AA, Grebennikova TA, et al. Diagnostic value of salivary cortisol in 1-mg dexamethasone suppression test. *Obe Metab*. 2020;17(1):13-21. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/omet10117>
- Chang L, Zhou G, Soufan O, Xia J. miRNet 2.0: network-based visual analytics for miRNA functional analysis and systems biology. *Nucleic Acids Res*. 2020;48(W1):W244-W251. doi: <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa467>
- Bottoni A, Zatelli MC, Ferracin M, et al. Identification of differentially expressed microRNAs by microarray: a possible role for microRNA genes in pituitary adenomas. *J Cell Physiol*. 2007;210(2):370-377. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.208321>
- Bottoni A, Piccin D, Tagliati F, et al. miR-15a and miR-16-1 down-regulation in pituitary adenomas. *J Cell Physiol*. 2005;204(1):280-285. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.20282>

34. Yang Z, Zhang T, Wang Q, Gao H. Overexpression of microRNA-34a Attenuates Proliferation and Induces Apoptosis in Pituitary Adenoma Cells via SOX7. *Molecular Therapy - Oncolytics*. 2018;10:40-47. doi: <https://doi.org/10.1016/j.omto.2018.07.001>
35. Amaral F, Torres N, Saggiaro F, et al. MicroRNAs Differentially Expressed in ACTH-Secreting Pituitary Tumors. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(1):320-323. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1451>
36. Stilling G, Sun Z, Zhang S et al. MicroRNA expression in ACTH-producing pituitary tumors: up-regulation of microRNA-122 and -493 in pituitary carcinomas. *Endocrine*. 2010;38(1):67-75. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-010-9346-0>
37. Vetrivel S, Zhang R, Engel M, et al. Circulating microRNA Expression in Cushing's Syndrome. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021;12. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.620012>
38. Lu B, Liu G, Yu F, et al. MicroRNA-16/VEGFR2/p38/NF- κ B signaling pathway regulates cell growth of human pituitary neoplasms. *Oncol Rep*. 2018. doi: <https://doi.org/10.3892/or.2018.6227>
39. Renjie W, Haqian L. MiR-132, miR-15a and miR-16 synergistically inhibit pituitary tumor cell proliferation, invasion and migration by targeting Sox5. *Cancer Lett*. 2015;356(2):568-578. doi: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2014.10.003>
40. Garbicz F, Mehlich D, Rak B et al. Increased expression of the microRNA 106b~25 cluster and its host gene MCM7 in corticotroph pituitary adenomas is associated with tumor invasion and Crooke's cell morphology. *Pituitary*. 2017;20(4):450-463. doi: <https://doi.org/10.1007/s11102-017-0805-y>
41. Hernández-Ramírez L, Stratakis C. Genetics of Cushing's Syndrome. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2018;47(2):275-297. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jeccl.2018.02.007>
42. Albani A, Theodoropoulou M, Reincke M. Genetics of Cushing's disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2018;88(1):3-12. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.13457>
43. Янар Э.А., Маказан Н.В., Орлова Е.М., Карева М.А. Молекулярно-генетические основы болезни Иценко–Кушинга у детей и перспективы таргетной терапии // *Проблемы Эндокринологии*. — 2020. — Т. 66. — №6. — С. 39-49. [Yanar EA, Makazan NV, Orlova EM, Kareva MA. Genetic basis of Cushing's disease in children and targeted therapeutic future perspectives. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(6):39-49. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12676>
44. Neou M, Villa C, Armignacco R, et al. Pangenomic Classification of Pituitary Neuroendocrine Tumors. *Cancer Cell*. 2020;37(1):123-134. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ccell.2019.11.002>
45. Gao C, Lu W, Lou W, et al. Long noncoding RNA HOXC13-AS positively affects cell proliferation and invasion in nasopharyngeal carcinoma via modulating miR-383-3p/HMGA2 axis. *J Cell Physiol*. 2018;234(8):12809-12820. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.27915>
46. Zhao L, Gu H, Chang J et al. MicroRNA-383 Regulates the Apoptosis of Tumor Cells through Targeting Gadd45g. *PLoS One*. 2014;9(11):e110472. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110472>
47. Qian Y, Song W, Wu X et al. DLX6 Antisense RNA 1 Modulates Glucose Metabolism and Cell Growth in Gastric Cancer by Targeting microRNA-4290. *Dig Dis Sci*. 2020;66(2):460-473. doi: <https://doi.org/10.1007/s10620-020-06223-4>
48. Nishibeppu K, Komatsu S, Imamura T, et al. Plasma microRNA profiles: identification of miR-1229-3p as a novel chemoresistant and prognostic biomarker in gastric cancer. *Sci Rep*. 2020;10(1):3161. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59939-8>
49. Zou W, Cao Y, Cheng K, et al. Downregulation of circ_0037655 impedes glioma formation and metastasis via the regulation of miR-1229-3p/ITGB8 axis. *Open Life Sciences*. 2021;16(1):442-454. doi: <https://doi.org/10.1515/biol-2021-0048>
50. Wang Y, Yin Y, Zhou H, Cao Y. miR639 is associated with advanced cancer stages and promotes proliferation and migration of nasopharyngeal carcinoma. *Oncol Lett*. 2018. doi: <https://doi.org/10.3892/ol.2018.9512>
51. Lei S, Shen F, Chen J, et al. MiR-639 promoted cell proliferation and cell cycle in human thyroid cancer by suppressing CDKN1A expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;84:1834-1840. doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.10.087>
52. Xiao J, Liu Y, Wu F, et al. miR-639 Expression Is Silenced by DNMT3A-Mediated Hypermethylation and Functions as a Tumor Suppressor in Liver Cancer Cells. *Molecular Therapy*. 2020;28(2):587-598. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jymthe.2019.11.021>
53. Hamada-Tsutsumi S, Naito Y, Sato S, et al. The antiviral effects of human microRNA miR-302c-3p against hepatitis B virus infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2019;49(8):1060-1070. doi: <https://doi.org/10.1111/apt.15197>
54. Oksuz Z, Serin M, Kaplan E, et al. Serum microRNAs; miR-30c-5p, miR-223-3p, miR-302c-3p and miR-17-5p could be used as novel non-invasive biomarkers for HCV-positive cirrhosis and hepatocellular carcinoma. *Mol Biol Rep*. 2014;42(3):713-720. doi: <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3819-9>
55. Moreno C. SOX4: The unappreciated oncogene. *Semin Cancer Biol*. 2020;67:57-64. doi: <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2019.08.027>

Рукопись получена: 14.09.2021. Одобрена к публикации: 12.11.2021. Опубликовано online: 21.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

* **Малыгина Анастасия Андреевна [Anastasia A. Malygina, MD]**; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4567-2412>; eLibrary SPIN: 8990-8260; e-mail: malygina.aa@gmail.com

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

Никитин Алексей Георгиевич, к.б.н. [Alexey G. Nikitin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9762-3383>;
eLibrary SPIN: 3367-0680; e-mail: avialn@gmail.com

Кошкин Филипп Александрович, к.б.н. [Philipp A. Koshkin, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9512-9277>;
eLibrary SPIN: 5627-2121; e-mail: philipkoshkin@gmail.com

Ситкин Иван Иванович, к.м.н. [Ivan I. Sitkin, MD, PhD]; e-mail: sitkin_ivan@rambler.ru;
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2175-3170>; eLibrary SPIN: 9779-3780

Лапшина Анастасия Михайловна, к.м.н. [Anastasia M. Lapshina, MD, PhD];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4353-6705>; eLibrary SPIN: 1582-5033; e-mail: nottoforget@yandex.ru

Хандаева Патимат Магомедовна [Patimat M. Khandaeva, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6993-5096>;
eLibrary SPIN: 6950-5200; e-mail: pati_khandaeva@mail.ru

Луценко Александр Сергеевич [Alexander S. Lutsenko, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9314-7831>;
eLibrary SPIN: 4037-1030; e-mail: some91@mail.ru

Трухина Диана Аршалуйсовна, клинический ординатор [Diana A. Trukhina, MD];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1359-8297>; eLibrary SPIN: 5618-8971; email: diadavtyan@gmail.com

Мельниченко Галина Афанасьевна, д.м.н., профессор, академик РАН [Galina A. Melnichenko, MD, PhD, professor];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5634-7877>; eLibrary SPIN: 8615-0038; email: teofrast2000@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Малыгина А.А., Белая Ж.Е., Никитин А.Г., Кошкин Ф.А., Ситкин И.И., Лапшина А.М., Хандаева П.М., Луценко А.С., Трухина Д.А., Мельниченко Г.А. Экспрессии микроРНК в плазме крови, оттекающей от гипофиза, у пациентов с болезнью Иценко-Кушинга и АКТГ-эктопированным синдромом // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 18-30. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12817>

TO CITE THIS ARTICLE

Malygina AA, Belaya ZE., Nikitin AG, Koshkin FA, Sitkin II, Lapshina AM, Khandaeva PM, Lutsenko AS, Trukhina DA, Melnichenko GA. Differences in plasma miRNA levels in inferior petrosal sinus samples of patients with ACTH-dependent Cushing's syndrome. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(7):18-30. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12817>

СПОРАДИЧЕСКИЙ ПЕРВИЧНЫЙ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗ С МНОЖЕСТВЕННОЙ ТРАНСФОРМАЦИЕЙ ОКОЛОЩИТОВИДНЫХ ЖЕЛЕЗ



© Е.Е. Бибик^{1*}, А.К. Еремкина¹, О.А. Князева², Н.Г. Мокрышева¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии Минздрава России, Москва, Россия

²Общество с ограниченной ответственностью «Альтамед+», Одинцово, Россия

Полигланулярное поражение околощитовидных желез (ОЩЖ) при первичном гиперпаратиреозе (ПГПТ) может быть спорадическим или развиваться в рамках наследственных синдромов, манифестируя в молодом возрасте. Представлено описание тяжелой спорадической формы ПГПТ с крупными новообразованиями ОЩЖ у молодой пациентки. Клинические данные позволяли заподозрить синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа или карциномы ОЩЖ, однако мутации *CDKN*, *CDC73*, *MEN1* были исключены. Пациентке выполнено удаление трех выявленных опухолей: доброкачественных аденом левых ОЩЖ и гиперплазии правой ОЩЖ. Послеоперационная гипокальциемия и тяжелый синдром голодных костей потребовали назначения препаратов витамина D, карбоната кальция. Однако через год после операции подтвержден «мягкий» рецидив заболевания. С учетом отказа пациентки от повторной операции и значительного улучшения состояния органов-мишеней продолжено активное наблюдение. Пациентка нуждается в дальнейшем тщательном динамическом контроле специалистами с целью своевременного выявления показаний к повторному хирургическому лечению для улучшения качества и увеличения продолжительности жизни.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: первичный гиперпаратиреоз; гиперкальциемия; множественные аденомы; околощитовидные железы; синдром множественных эндокринных неоплазий; рак околощитовидных желез.

SPORADIC PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM WITH MULTIPLE PARATHYROID ADENOMAS

© Ekaterina E. Bibik^{1*}, Anna K. Eremkina¹, Olga A. Knyazeva², Natalia G. Mokrysheva¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²“Altamed plus”, Odintsovo, Russia

Multiple lesions of the parathyroid glands (PTG) in primary hyperparathyroidism (PHPT) can be sporadic or develop as part of hereditary syndromes, manifesting at young age. There the description of a severe sporadic PHPT with big parathyroid neoplasms in the young patient is presented. Clinical data made it possible to suspect MEN-1 syndrome or parathyroid carcinomas; however, mutations *CDKN*, *CDC73*, *MEN1* were excluded. The patient underwent removal of three identified tumors: benign adenomas of the left PTG and hyperplasia of the right one. Postoperative hypocalcemia and severe hungry bone syndrome required the administration of vitamin D and calcium carbonate preparations. However, a year after the operation, a «mild» recurrent disease was confirmed. Taking into account the patient's refusal to reoperation and a significant improvement of the target organs state, active observation was continued. The patient needs further careful dynamic monitoring by specialists in order to timely identify indications for repeated surgical treatment to improve the life quality and span.

KEYWORDS: primary hyperparathyroidism; hypercalcemia; multiple adenomas; parathyroid glands; multiple endocrine neoplasia syndrome; parathyroid cancer.

АКТУАЛЬНОСТЬ

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) является относительно распространенным эндокринным заболеванием, характеризующимся верхненормальным или повышенным уровнем кальция сыворотки крови вследствие избыточной продукции паратиреоидного гормона (ПТГ) патологически измененными околощитовидными железами (ОЩЖ). ПГПТ в 80–85% случаев обусловлен солитарной аденомой, в 10–15% случаев — гиперплазией или множественными аденомами нескольких или всех ОЩЖ (полигланулярное поражение), в 1–5% — карциномой ОЩЖ [1]. Примерно в 5–10% случаев ПГПТ развивается в рамках генетически детерминированных синдромов, чаще в составе множественной эндокринной неоплазии

1 типа (МЭН-1), реже — множественной эндокринной неоплазии 2 и 4 типов (МЭН-2, МЭН-4), семейного изолированного гиперпаратиреоза и синдрома гиперпаратиреоза с опухолью нижней челюсти (НПТ-ЖТ) [1]. Несмотря на то что для наследственной формы ПГПТ, ассоциированной с герминальными мутациями, характерны синхронные или метасинхронные патологические изменения ОЩЖ, в клинической практике случаи полигланулярного поражения чаще носят спорадический характер. По данным литературы, распространенность множественного поражения ОЩЖ при спорадическом ПГПТ варьирует от 7 до 33% наблюдений. В представленных исследованиях в морфологической структуре преобладают гиперплазии нескольких или всех ОЩЖ, реже регистрируются аденомы двух или крайне редко — трех желез [2, 3].



ПГПТ встречается во всех возрастных группах, в том числе у детей и подростков, однако наибольшую распространенность он имеет у женщин в постменопаузальном периоде. Развитие ПГПТ у лиц молодого возраста подозрительно в отношении наследственных форм заболевания, что требует расширенного лабораторно-инструментального обследования для своевременной постановки диагноза. В настоящий момент открыт вопрос о необходимости рутинного молекулярно-генетического скрининга среди всех молодых пациентов с ПГПТ [4, 5]. Вероятность выявить специфическую генетическую причину ПГПТ выше при наименьшем возрасте дебюта заболевания, однако рекомендаций о генетическом скрининге в возрасте до 30, 35 или 40 лет не сформулировано [6]. Тем не менее отдельно можно выделить группу пациентов с ПГПТ моложе 40 лет с сочетанным полигландулярным поражением ОЩЖ как наиболее подозрительную в отношении синдрома МЭН-1, даже несмотря на отсутствиеотягощенного семейного анамнеза. Результаты пилотных исследований российской популяции свидетельствуют о смещении возраста манифестации заболевания на 3-ю декаду жизни, в связи с чем рекомендуемый возрастной порог для проведения генетического исследования составляет 40 лет [1].

Мы представляем случай рецидивирующего течения ПГПТ у молодой пациентки с множественным поражением ОЩЖ в отсутствие мутаций генов, ассоциированных с наследственными причинами заболевания.

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Пациентка С., 34 лет, впервые стала отмечать постоянные боли и слабость в ногах после перенесенного перелома основной фаланги V пальца правой стопы в 2017 г. При рентгеновской денситометрии было выявлено снижение показателя минеральной плотности кости (МПК) в поясничном отделе позвоночника (L1–L4) до -2,6 SD по Z-критерию. Кроме того, обнаружены повышение концентрации паратиреоидного гормона (ПТГ) до 242 пг/мл и недостаточность витамина D (26 нг/мл),

уровень кальциемии не определялся. Пациентке назначена терапия альфакальцидолом в дозе 1 мкг/сут, однако в связи с развитием почечной колики через 1 мес лечения препарат был отменен. В последующем отмечалось прогрессирующее ухудшение самочувствия пациентки в виде нарастания общей слабости, интенсивных болей в спине и нижних конечностях, разрушения зубов. При дополнительном обследовании впервые выявлена гиперкальциемия (кальций ионизированный 1,62 ммоль/л) и диагностирован ПГПТ. С целью топической диагностики по месту жительства выполнена планарная сцинтиграфия, по результатам которой зафиксировано два очага гиперфиксации радиофармпрепарата (РФП) с тенденцией к слиянию на уровне нижнего полюса левой доли щитовидной железы.

Осенью 2018 г. (спустя год после первых проявлений заболевания) пациентка госпитализирована в отделение патологии ОЩЖ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России с вышеуказанными жалобами.

Результаты физикального, лабораторного и инструментального исследования

При осмотре отмечено нормостеническое телосложение (вес 72 кг, рост 172 см, индекс массы тела 24,3 кг/м²), обращали на себя внимание костный выступ в проекции грудинно-ключичного сочленения справа, деструкция и деформация зубов, ярко выраженный тревожный синдром с высоко-нормальными показателями гемодинамики (ЧСС 80 в минуту, АД 135–150/80–90 мм рт. ст.). При лабораторном обследовании зафиксированы значимое повышение концентрации кальция крови и ПТГ, гиперкальциурия. С целью коррекции гиперкальциемии был назначен цинакальцет с титрацией дозы до 60 мг в сутки, регидратационная терапия, однако значимого эффекта не наблюдалось: сохранялось значимое повышение уровня альбумин-скорректированного кальция крови (табл. 1). Тем не менее для профилактики прогрессирования гиперкальциемии было принято решение о продолжении терапии цинакальцетом 30 мг в сутки.

Таблица 1. Основные биохимические и гормональные показатели пациентки С.

Показатель/Дата	Референсные значения	2018 г.			2019 г.	2020 г.	
		при поступлении	через 6 сут	через 11 сут	ранний п/опер период	при поступлении	через 7 сут
Кальций ион., ммоль/л	1,03–1,29	1,38	1,42	1,41	1,14	-	-
Альбумин-скоррект. кальций, ммоль/л	2,15–2,55	3	3,1	3	-	2,4	2,57
ПТГ, пг/мл	16–65	403,7	466	-	57,11	80,25	113
Фосфор, ммоль/л	0,74–1,52	0,53	-	-	-	0,81	-
СКФ (ЕРЛ), мл/мин/1,73 м ²		120	-	122	-	115	-
Кальций в суточной моче, ммоль/сут	2,5–8,0	-	10,9	-	-	6,57	-

Примечание. ПТГ — паратиреоидный гормон; СКФ — скорость клубочковой фильтрации.

Таблица 2. Показатели рентгеновской денситометрии при динамическом наблюдении пациентки С.

Отдел скелета, Z-критерий/дата	2018 г.	2020 г.	Динамика МПК
L1–L4, SD	-2,8	-2,7	+8,3%
L4, SD	-3,4	-2,9	
Femur Neck, SD	-1,9	-1,8	+3,5%
Total Hip, SD	-1,5	-1,3	
Radius 33%, SD	-4,2	-4,6	-10%
Radius Total, SD	-4,9	-5,5	

Примечание. МПК — минеральная плотность кости.

По данным рентгеновской денситометрии подтверждено снижение МПК относительно возраста до уровня остеопороза во всех отделах скелета (табл. 2). При рентгенографии выявлены начальная компрессия L1-позвонка (5% потери высоты) и компрессионный перелом Th12-позвонка (22% потери высоты), уплотнение стенок брюшного и грудного отделов аорты, при мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) — микролиты в обеих почках, а также образования мягкотканной плотности на уровне рукоятки и тела грудины до 11,2×11,7×10,7 мм, с четкими, склерозированными контурами и неравномерным истончением кортикального слоя, что расценено как «бурые» опухоли — проявления фиброзно-кистозного остеоита.

В рамках первого этапа топической диагностики проведено ультразвуковое исследование (УЗИ). Слева за нижней третью щитовидной железы визуализировано образование пониженной эхогенности с ровными контурами 7,2×2,6×1,3 см, распространяющееся вниз и за грудинно, до дуги аорты, охватывающее общую сонную артерию. С учетом крупных размеров опухоли, значимых изменений лабораторных показателей и тяжести течения заболевания, нельзя было исключить злокачественный характер патологии. В качестве дополнительных инструментальных методов проведены сцинтиграфия с однофотонной эмиссионной компью-

терной томографией (ОФЭКТ/КТ), МСКТ шеи с контрастным усилением и диффузионная магнитно-резонансная томография (МРТ). В результате выявлены 3 образования ОЩЖ, два из которых более 3 см в диаметре: левая верхняя 1,5×1,2×3,9 см, атипично расположенная левая нижняя 2,7×2,2×5,9 см; правая нижняя 0,7×0,4×1,6 см (рис. 1–3).

Принимая во внимание молодой возраст пациентки и множественное поражение ОЩЖ, выполнен комплексный лабораторно-инструментальный скрининг классических компонентов МЭН-1 синдрома. Показатели аденокортикотропного гормона (утром 23,05 пг/мл, вечером 7,64 пг/мл), инсулиноподобного фактора роста-1 (135,8 нг/мл), пролактина (193,4 мЕд/л), тиреотропного гормона (1,7 мМЕ/л) сохранялись в пределах референсных значений. Впервые были зафиксированы лабораторные признаки эндогенного гиперкортицизма (гиперкортизолемиа на фоне сохранения ритма секреции кортизола (утром 723,5 нмоль/л, вечером 307,3 нмоль/л), повышение свободного кортизола в моче до 1220,6 нмоль/сут, в ходе ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона кортизол крови утром 72,61 нмоль/л). Кроме того, выявлено незначительное повышение концентраций метанефрина (335,75 мкг/сут) и норметанефрина (458,49 мкг/сут) в суточной моче. По данным МСКТ объемных образований в проекции

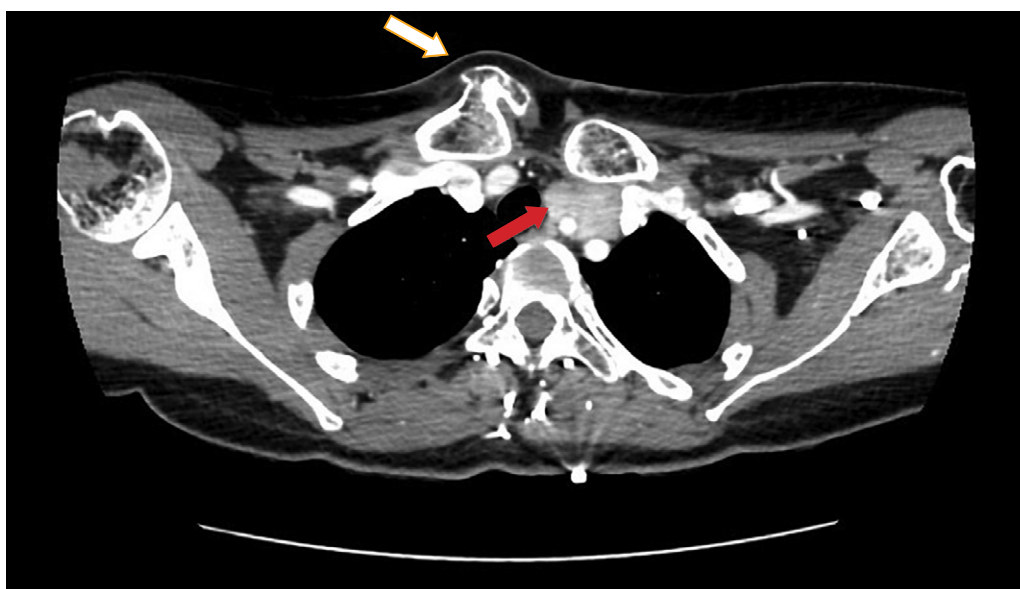


Рисунок 1. Мультиспиральная компьютерная томография шеи и верхнего средостения пациентки С. с контрастированием (белой стрелкой указана деформация правой ключицы, красной стрелкой — образование левой околощитовидной железы).

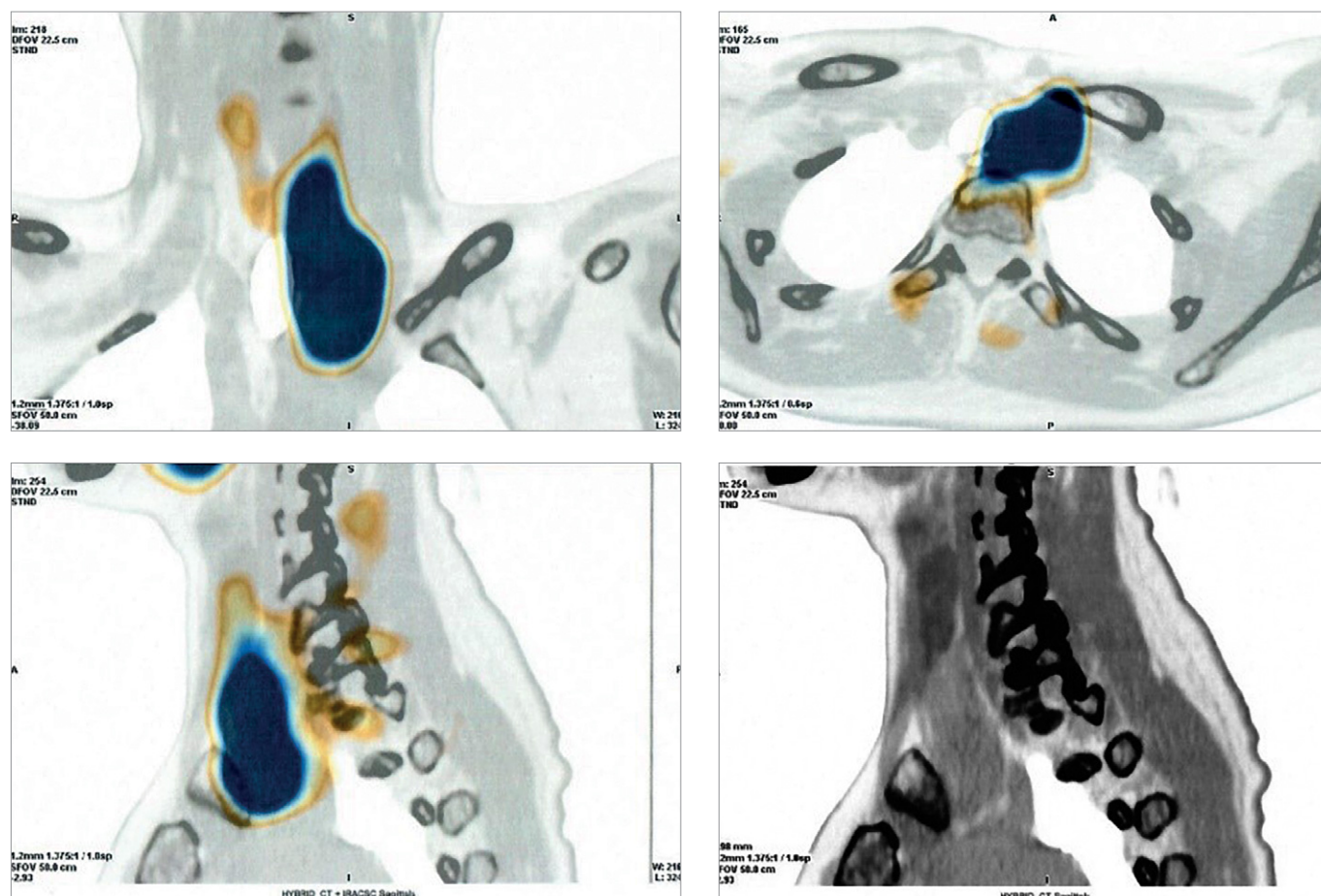


Рисунок 2. Однофотонная эмиссионная компьютерная томография пациентки С.

Позади нижней трети правой доли щитовидной железы обнаружена овоидная структура с четкими ровными контурами 4×6×15 мм, низкоинтенсивно накапливающая радиофармпрепарат (РФП). Кзади и книзу от левой доли, латеральнее пищевода, определяется овоидная структура с нечеткими, ровными контурами 8×10×38 мм, накапливающая РФП. Латеральнее нее визуализирована крупная мягкотканная структура с четкими ровными контурами 22×30×53 мм, распространяющаяся от нижнего полюса левой доли книзу до уровня дуги аорты, накапливающая РФП.

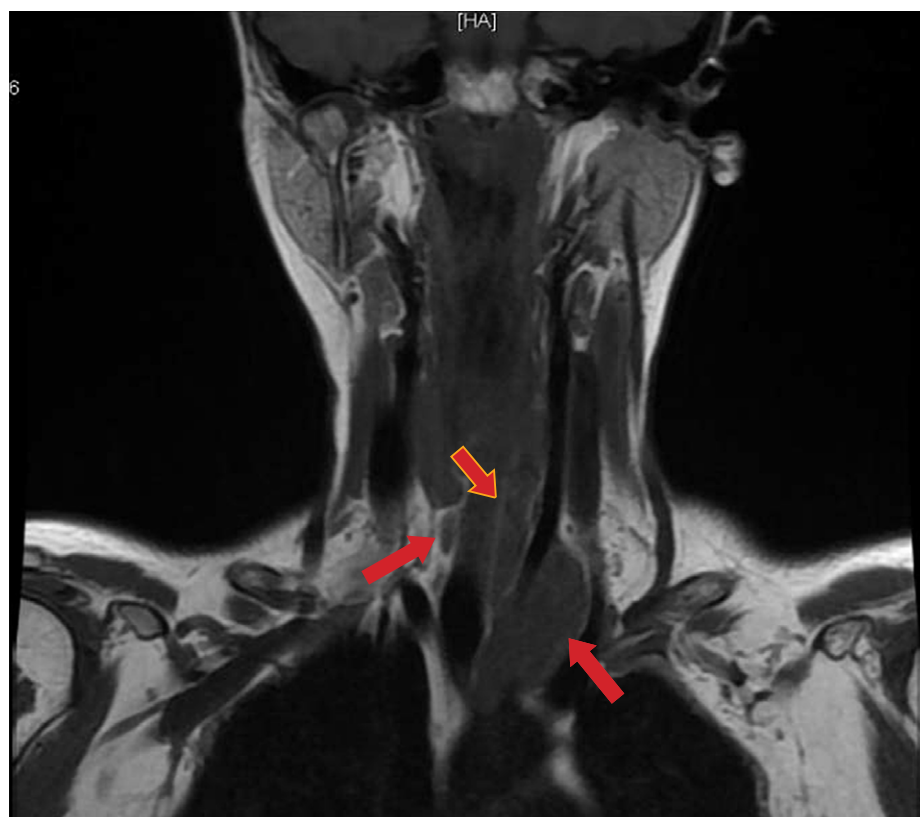


Рисунок 3. Диффузионная магнитно-резонансная томография шеи (красными стрелками указаны образования правой и левой околощитовидных желез).

Таблица 3. Показатели минерального обмена у кровных родственников пациентки С.

Показатели	Референсные значения	Отец	Мать	Сестра 1	Сестра 2
Альбумин-скоррект. кальций, ммоль/л	2,20–2,55	2,17	2,3	2,16	2,24
ПТГ, пмоль/л	1,6–6,9	5,68	4,84	4,71	3,07

Примечание. ПТГ — паратиреоидный гормон.

поджелудочной железы не визуализировалось, наблюдалась сегментарная гиперплазия обоих надпочечников. При отсутствии явных клинических признаков гиперкортицизма, изменений показателей адренокортикотропного гормона и значимой психоэмоциональной лабильности пациентки на фоне выраженной гиперкальциемии отклонения гормональных показателей расценены как функциональный гиперкортицизм вследствие болевого синдрома, развивающегося тревожно-депрессивного расстройства. Рекомендовано исследование основных параметров стероидного обмена в динамике после достижения ремиссии ПГПТ.

Проводилось обследование кровных родственников пациентки. Данных за патологические изменения фосфорно-кальциевого обмена не получено (табл. 3).

В связи с выраженной гиперкальциемией и высокой вероятностью развития гиперкальциемического криза пациентка направлена на хирургическое лечение. Однако паратиреоидэктомия была отсрочена в связи с неоднократными обострениями хронического тонзиллита и острыми инфекциями верхних дыхательных путей, требующими антибактериальной и дезинтоксикационной терапии. Пациентка оставалась на поддерживающей дозе цинакальцета 30 мг/сут. Весной 2019 г. выполнено хирургическое удаление правой нижней, левой верхней и атипично расположенной левой нижней ОЩЖ. Патоморфологическая картина соответствовала аденомам левых верхней и нижней ОЩЖ фолликулярного строения из главных клеток; правая нижняя ОЩЖ характеризовалась липоматозом и наличием участков фолликулярного строения.

В раннем послеоперационном периоде отмечена нормализация показателей кальция и ПТГ крови, назначена терапия альфакальцидолом 1,0 мкг/сут и колекальциферолом 25 000 МЕ/нед. Спустя 1 мес после хирургической операции при ухудшении общего самочувствия у пациентки выявлена значимая гипокальциемия на фоне дефицита витамина D (15,48 нг/мл), в связи с чем рекомендовано дополнительное лечение препаратами кальция 1000 мг/сут, насыщающей дозой колекальциферола (50 000 МЕ/нед в течение 2 мес с последующим переходом на поддерживающую дозу 15 000 МЕ/нед) с достижением нормокальциемии (табл. 1). Клинические признаки выраженного синдрома «голодных костей» наблюдались на протяжении года. По техническим причинам молекулярно-генетическое исследование проведено в отсроченном периоде, мутаций в генах *MEN1*, *RET*, *CDKN1B*, *CDC73* не выявлено.

При последующей госпитализации в стационар в 2020 г. на фоне отмены альфакальцидола и препаратов кальция за 1 мес до госпитализации, продолжения приема колекальциферола в дозе 2000 МЕ/сут зафиксировано умеренное повышение ПТГ на фоне нормокальциемии,

нормокальциурии (табл. 1). С целью дифференциальной диагностики гиперпаратиреоза проведена функциональная проба с альфакальцидолом 1 мкг/сут, по результатам которой через 7 дней выявлена умеренная гиперкальциемия с повышением уровня ПТГ до 113 пг/мл, свидетельствующая в пользу первичного поражения ОЩЖ и рецидива заболевания. При УЗИ обнаружено образование атипично расположенной ОЩЖ 1,8×1,1 см слева, в верхней части переднего средостения, подтвержденное результатами повторных МСКТ и скинтиграфии с ОФЭКТ/КТ в 2020 г. Опухоль располагалась между брахицефальным стволом и левой общей сонной артерией, прилегая к левому контуру трахеи и переднему контуру пищевода. При оценке состояния органов-мишеней подтвержден двусторонний микролитиаз без динамики от предыдущего исследования (справа конкременты до 0,5 см, слева — до 0,4 см). По результатам рентгенденситометрии отмечена значимая положительная динамика МПК в позвоночнике и бедренной кости при резко выраженном снижении МПК лучевой кости (табл. 2). При рентгенографии подтвержден компрессионный перелом Th12 (30% потери массы), впервые выявлен перелом L5 (25% потери массы), более вероятно произошедший в дооперационный период при невозможности своевременного проведения паратиреоидэктомии. Принимая во внимание гиперкортицизм в анамнезе, проведено повторное исследование стероидного профиля, отклонений не выявлено (кортизол вечерней слюны 2,2 нмоль/л, кортизол крови утром на фоне ночного подавляющего теста с 1 мг дексаметазона 37,2 нмоль/л). С учетом отказа пациентки от повторного хирургического вмешательства, положительной динамики состояния основных органов-мишеней, нормокальциемии и умеренного повышения ПТГ, принято решение продолжить консервативную терапию колекальциферолом (2000 МЕ/сут) под динамическим контролем лабораторных показателей минерального обмена (1 раз в 3–6 мес), общего состояния с рассмотрением хирургической реоперации в случае ухудшения самочувствия и прогрессирования осложнений заболевания.

ОБСУЖДЕНИЕ

Представленный клинический случай описывает изолированный ПГПТ с множественным поражением ОЩЖ у молодой пациентки. При характерном сочетании клинических признаков наследственных эндокринных синдромов в первую очередь был проведен диагностический скрининг компонентов синдрома МЭН-1 [7]. Комплексное лабораторно-инструментальное обследование позволило исключить у женщины патологии гипофиза, поджелудочной железы, надпочечников. Дополнительный скрининг нарушений фосфорно-кальциевого обмена

у кровных родственников первой линии, а также результаты молекулярно-генетического анализа самой пациентки исключили известные наследственные варианты ПГПТ. Несколько похожих случаев пациентов молодого и среднего возраста было описано ранее в литературе [3, 8].

По результатам зарубежных работ, каждый пятый больной ПГПТ может иметь несколько образований ОЩЖ. Основным патоморфологическим субстратом такой формы патологии является гиперплазия всех или 2–3 желез, развивающаяся синхронно или асинхронно. Также встречаются множественные аденомы ОЩЖ, которые, в отличие от солитарных, более вероятно являются поликлональными и представляют собой разные заболевания [2]. В тоже время в крупном американском исследовании с включением 384 пациентов со спорадическим ПГПТ у 7% были обнаружены аденомы двух ОЩЖ, причем преимущественное поражение обеих верхних желез ($p=0,008$), возможно, свидетельствует о первоначальной гиперплазии ОЩЖ, происходящих из четвертого жаберного кармана, а не об отдельных неопластических трансформациях [9]. Особенностью нашей пациентки С., согласно результатам послеоперационного гистологического исследования, является наличие двух крупных аденом слева в сочетании с гиперплазией третьей ОЩЖ с противоположной стороны.

Поиск как лабораторно-инструментальных, так и клинических предикторов множественного поражения ОЩЖ до настоящего времени не дал однозначных результатов. Комбинированная топическая диагностика может способствовать дооперационному выявлению всех образований или навести на мысль о множественном поражении. Так, отрицательные или дискордантные результаты визуализирующих методов имеют высокую прогностическую ценность в отношении полигландулярной формы заболевания [10]. Интраоперационный мониторинг ПТГ в 20–45% случаев не позволяет обнаружить множественные опухоли и дать объективную оценку радикальности хирургического лечения [11]. Выявленное на предоперационном этапе поражение нескольких ОЩЖ является показанием к двусторонней ревизии шеи. Некоторые хирурги в качестве маркера гиперфункции используют размеры ОЩЖ, что основано на успешной нормализации параметров и низкой частоте рецидивов, достигнутых при удалении всех визуально увеличенных желез во время операции [12]. Полагают, если диагноз ПГПТ не вызывает сомнений, персистирующее или рецидивирующее течение более вероятно связано с гиперплазиями ОЩЖ [2]. В нашем примере расширенная топическая диагностика позволила на дооперационном этапе определить локализацию патологических образований, однако труднодоступность расположения одного из них (близкое прилегание крупных артерий) препятствовала радикальному лечению заболевания.

Помимо множественного поражения ОЩЖ, для пациентки С. были характерны крупные размеры образований (до 4–6 см слева, до 1,6 см справа в наибольшем измерении) и тяжесть течения заболевания (рефрактерная к консервативной терапии гиперкальциемия, выраженное повышение ПТГ, множественные костно-висцеральные осложнения), что не исключало злокачественный характер патологии. Предоперационная диагностика карцином ОЩЖ затруднена из-за отсутствия специфических клинических и лабораторных маркеров, за исклю-

чением случаев с первоначальным выявлением отдаленных метастазов или появлением охриплости голоса в результате инвазивного роста опухоли с поражением гортанного нерва [13]. Перспективным, но труднодоступным методом является определение мутаций в гене *CDC73*, которые присутствуют у более чем 75% больных со злокачественными образованиями. Свыше 30% таких пациентов имеют герминативную мутацию *CDC73* с высоким риском развития ПГПТ с опухолью челюсти [14]. Гистологический диагноз карциномы ОЩЖ также представляет собой сложную задачу, особенно в случаях повреждения капсулы образования ОЩЖ, и, кроме того, зависит от опыта врача-морфолога [15]. Злокачественная патология чаще устанавливается ретроспективно при возникновении рецидива первичной опухоли или появлении метастазов. Предоперационный диагноз карциномы ОЩЖ, основанный на сочетании клинико-лабораторных особенностей и интраоперационной картине, в ряде случаев позволяет провести радикальное хирургическое лечение [13, 15]. Аналогично нашему, недавно было опубликовано описание пожилой пациентки с большим пальпируемым образованием ОЩЖ (5,0×2,5×2,5 см), подозрительным в отношении злокачественного поражения. У женщины наблюдалась значимая гиперкальциемия (кальций ионизированный 1,45 ммоль/л) при повышении ПТГ до 1629 пг/мл, однако при патоморфологическом исследовании подтверждена аденома ОЩЖ [16]. В свою очередь, японскими специалистами продемонстрирован уникальный случай тяжелого ПГПТ (кальций крови составил 14,8 мг/дл, или 3,69 ммоль/л, а ПТГ — 1039 пг/мл) с множественным поражением ОЩЖ, при котором одно из образований представляло собой карциному [17].

У пациентов с выраженными костными осложнениями ПГПТ в послеоперационном периоде, как правило, наблюдается гипокальциемия, требующая своевременного назначения препаратов кальция и активного метаболита витамина D [7]. Так называемый «синдром голодных костей» у нашей пациентки с фиброзно-кистозным оститом на фоне диффузного снижения МПК сопровождался снижением концентрации сывороточного кальция до 1,67 ммоль/л вследствие его усиленного поглощения костной тканью и оссальгиями на протяжении длительного времени. Несмотря на это, через год после хирургического лечения у пациентки С. отмечена значимая положительная динамика МПК в осевых отделах скелета. По данным различных источников, прирост МПК за первые 1–4 года после успешной паратиреоидэктомии составляет от 6 до 84% [18]. Продолжительность консервативной терапии препаратами кальция и витамина D определяется клинической симптоматикой и тяжестью поражения скелета и часто достигает 12 мес и более [19]. С учетом нерадикально проведенного хирургического лечения и подтвержденного наличия остаточной ткани аденомы ОЩЖ наша пациентка через год прекратила прием карбоната кальция и альфакальцидола и продолжает лечение колекальциферолом под динамическим наблюдением эндокринолога. Такие пациенты нуждаются в регулярном лабораторном (не реже 1 раза в 3–6 мес) и инструментальном (не реже 1 раза в 6–12 мес) контроле состояния органов-мишеней (УЗИ почек, определение СКФ, рентгеновская денситометрия осевых отделов

скелета и лучевой кости) с целью своевременного выявления показаний к повторному хирургическому лечению.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Спорадический ПГПТ с полигланулярным поражением у лиц молодого возраста встречается редко, что требует проведения расширенного лабораторно-инструментального обследования, в том числе скрининга других возможных компонентов наследственных МЭН-синдромов. Крупные аденомы ОЩЖ могут имитировать карциномы по тяжести течения ПГПТ и дооперационным морфологическим характеристикам образований. Полноценная предоперационная топическая диагностика с применением нескольких визуализирующих методов способствует проведению радикального хирургического лечения, однако персистирующее течение и рецидивы заболевания нередки. Такие пациенты нуждаются в дальнейшем тщательном динамическом контроле специалистами с целью своевременного выявления показаний к повторному хирургическому лечению для улучшения качества и увеличения продолжительности жизни.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование проведено при финансовой поддержке Министерства здравоохранения Российской Федерации в рамках выполнения государственного задания «Оптимизация Российского электронного реестра пациентов с первичным гиперпаратиреозом» № НИОКТР 121030100032-7.

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

Участие авторов. Еремкина А.К. — анализ клинических и литературных данных, написание и редактирование статьи; Бибики Е.Е. — получение, анализ и интерпретация клинических данных, написание и редактирование статьи; Князева О.А. — написание статьи, анализ литературных данных; Мокрышева Н.Г. — анализ клинических данных, редактирование статьи. 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.

Согласие пациента. Пациент добровольно подписал информированное согласие на публикацию персональной медицинской информации в обезличенной форме в данном журнале.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Мамедова Е.О., Мокрышева Н.Г., Рожинская Л.Я. Особенности первичного гиперпаратиреоза у пациентов молодого возраста // *Проблемы Эндокринологии*. — 2018. — Т. 64. — №3. — С. 163-169. [Mamedova EO, Mokrysheva NG, Rozhinskaya LYa. Characteristics of primary hyperparathyroidism in young patients. *Problems of endocrinology*. 2018;64(3):163-169. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl9399>
2. Barczyński M, Bränström R, Dionigi G, Mihai R. Sporadic multiple parathyroid gland disease—a consensus report of the European Society of Endocrine Surgeons (ESES). *Langenbeck's Arch Surg*. 2015;400(8):887-905. doi: <https://doi.org/10.1007/s00423-015-1348-1>
3. Venkatachala S, Kumar SR, Premkumar S. Double adenoma of the parathyroid: reinforcing the existence of this entity. *Indian J Pathol Microbiol*. 2013;56(3):328-329. doi: <https://doi.org/10.4103/0377-4929.120420>
4. Cupisti K, Raffel A, Dotzenrath C, et al. Primary Hyperparathyroidism in the Young Age Group: Particularities of Diagnostic and Therapeutic Schemes. *World J Surg*. 2004;28(11):1153-1156. doi: <https://doi.org/10.1007/s00268-004-7671-2>
5. Paunovic I, Zivaljevic V, Stojanovic R, et al. Primary hyperparathyroidism in children and young adults—a single institution experience. *Acta Chir Belg*. 2013;113(1):35-39. doi: <https://doi.org/10.1080/00015458.2013.11680882>
6. Lou I, Schneider DF, Sippel RS, et al. The changing pattern of diagnosing primary hyperparathyroidism in young patients. *Am J Surg*. 2017;213(1):146-150. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2016.03.019>
7. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Первичный гиперпаратиреоз» 2020. [Klinicheskie rekomendacii Ministerstva zdorovoohranenija Rossijskoj Federacii "Pervichnyj giperparatireoz" of 2020. (In Russ.)] Доступно по: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/88_4. Ссылка активна на 14.08.2021
8. Ромаш А.В., Терман Е.А. Клинический случай первичного гиперпаратиреоза с множественными аденомами // *Инновационная медицина Кубани*. — 2018. — Т. 2. — №10. — С. 57-61. [Romash AV, Terman EA. Clinical case of initial hyperparathyroidism with multiple adenomas. *Innovative Medicine of Kuban*. 2018;2(10):57-61. (In Russ.)]. Доступно по: <https://inovmed.elpub.ru/jour/article/view/143>. Ссылка активна на 14.08.2021
9. Bergson EJ, Heller KS. The clinical significance and anatomic distribution of parathyroid double adenomas. *J Am Coll Surg*. 2004;198(2):185-189. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jamcollsurg.2003.09.012>
10. Sebag F, Hubbard JGH, Maweja S, et al. Negative preoperative localization studies are highly predictive of multiglandular disease in sporadic primary hyperparathyroidism. *Surgery*. 2003;134(6):1032-1038. doi: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2003.07.021>
11. Ильичева Е.А., Берсенов Г.А., Жаркая А.В., и др. Результаты хирургического лечения гиперпаратиреоза с множественным поражением околощитовидных желёз // *Acta Biomedica Scientifica*. — 2020. — Т. 5. — №4. — С. 90-97. [Ilyicheva EA, Bersenev GA, Zharkaya AV, et al. Multiglandular Parathyroid Disease: the Results of Surgical Treatment. *Acta Biomedica Scientifica*. 2020;5(4):90-97. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2020-5.4.13>
12. Kebebew E, Hwang J, Reiff E, et al. Predictors of single-gland vs multigland parathyroid disease in primary hyperparathyroidism: a simple and accurate scoring model. *Arch Surg*. 2006;141(8):777-782. doi: <https://doi.org/10.1001/archsurg.141.8.777>
13. Betea D, Potorac I, Beckers A. Parathyroid carcinoma: Challenges in diagnosis and treatment. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2015;76(2):169-177. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ando.2015.03.003>
14. Cardoso L, Stevenson M, Thakker RV. Molecular genetics of syndromic and non-syndromic forms of parathyroid carcinoma. *Hum Mutat*. 2017;38(12):1621-1648. doi: <https://doi.org/10.1002/humu.23337>
15. Воронкова И.А., Мокрышева Н.Г., Казанцева И.А., Гуревич Л.Е. Клинико-морфологическая характеристика рака околощитовидной железы // *Архив патологии*. — 2018. — Т. 80. — № 4. — С. 65-72. [Voronkova IA, Mokrysheva NG, Kazantseva IA, Gurevich LE. Clinical and morphological characteristics of parathyroid carcinoma. *Arkh Patol*. 2018;80(4):65-72. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.17116/patol201880465>
16. Mantzoros I, Kyriakidou D, Galanos-Demiris K, et al. A Rare Case of Primary Hyperparathyroidism Caused by a Giant Solitary Parathyroid Adenoma. *Am J Case Rep*. 2018;19:1334-1337. doi: <https://doi.org/10.12659/AJCR.911452>
17. Takenobu M, Moritani S, Kawamoto K, et al. Parathyroid carcinoma coexisting with multiple parathyroid adenomas: a case report. *Endocr J*. 2020;67(9):963-967. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0139>
18. Петрушин А.Л., Нехорошкова Т.В. Проявление первичного гиперпаратиреоза со стороны костной системы // *РМЖ*. — 2019. — Т. 27. — №8-1. — С. 21-26. [Petrushin AL, Nekhoroshkova TV. Primary hyperparathyroidism manifestation in the skeletal system. *RMJ*. 2019;8(1):21-26. (In Russ.)]. Доступно по: https://www.rmj.ru/articles/endokrinologiya/Proyavlenie_pervichnogo_giperparatireoza_so_storony_kostnoy_sistemy/. Ссылка активна на 14.08.2021
19. Farese S. The hungry bone syndrome—an update. *Ther Umsch*. 2007;64(5):277-280. doi: <https://doi.org/10.1024/0040-5930.64.5.277>

Рукопись получена: 14.08.2021. Одобрена к публикации: 17.11.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Бибик Екатерина Евгеньевна [Ekaterina E. Bibik, MD]**; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; телефон: 8(485)500-00-63; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5952-5846>; eLibrary SPIN: 8522-9466; e-mail: bibikaterina@mail.ru

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

Князева Ольга Александровна [Olga A. Knyazeva, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-6332-4665>; eLibrary SPIN: 8204-0804; e-mail: kotenok-9f@mail.ru

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

ЦИТИРОВАТЬ

Бибик Е.Е., Еремкина А.К., Князева О.А., Мокрышева Н.Г. Спорадический первичный гиперпаратиреоз с множественной трансформацией околощитовидных желез // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 31-38. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12798>

TO CITE THIS ARTICLE

Bibik EE, Eremkina AK, Knyazeva OA, Mokrysheva NG. Sporadic primary hyperparathyroidism with multiple parathyroid adenomas. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):31-38. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12798>

ФЕНОТИПИЧЕСКИЙ СОСТАВ Т-ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С БОЛЕЗНЬЮ ГРЕЙВСА ПРИ КОНСЕРВАТИВНОЙ ТЕРАПИИ ТИАМАЗОЛОМ



© М.А. Дудина^{1,2*}, С.А. Догадин^{1,2}, А.А. Савченко^{1,3}, В.Д. Беленюк³

¹Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск, Россия

²Краевая клиническая больница, Красноярск, Россия

³Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук, обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера», Красноярск, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Эффективный контроль аутоиммунного воспаления при болезни Грейвса предопределяет необходимость изучения дисфункции хелперных и цитотоксических Т-лимфоцитов, а также степени активации регуляторных Т-клеток при тиреостатической терапии болезни Грейвса, что позволит уточнить иммуномодулирующие эффекты длительной консервативной терапии тиамазолом и определить мишени для разработки современной таргетной терапии.

ЦЕЛЬ. Изучить фенотипический состав Т-лимфоцитов периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса для оценки направленности иммунного ответа в зависимости от длительности медикаментозного эутиреоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Проведено одноцентровое одномоментное когортное сплошное открытое контролируемое исследование с оценкой фенотипического состава Т-клеток в периферической крови у женщин с болезнью Грейвса. Методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции с применением моноклональных антител были исследованы особенности фенотипа Т-лимфоцитов в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза при консервативной терапии тиамазолом.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В исследование включены 135 женщин с верифицированным диагнозом болезни Грейвса, средний возраст $43,09 \pm 12,81$ года, из них 120 (88,91%) — с рецидивом заболевания и 15 (11,09%) — с впервые выявленным гипертиреозом. Установлено повышение процентного содержания активированных Т-хелперов ($CD3^+CD4^+CD25^+$) у больных болезнью Грейвса с продолжительностью медикаментозного эутиреоза от 5 до 8 мес и от 9 до 12 мес соответственно, $Me=0,94$ (0,48–1,45; $p=0,020$) и $Me=0,95$ (0,41–1,80; $p=0,025$), у лиц контрольной группы — $Me=0,12$ (0,03–0,68). Установлено повышение количества регуляторных Т-лимфоцитов ($CD4^+CD25^+CD127^{Low}$) как в группе больных с продолжительностью медикаментозного эутиреоза от 5 до 8 мес ($Me=3,01$ (1,88–4,47); $p=0,024$), так и у пациентов с длительностью медикаментозного эутиреоза от 9 до 12 мес ($Me=5,52$ (2,77–11,61); $p<0,001$) в сравнении с показателями группы контроля ($Me=1,81$ (0,91–2,82)). Уровень регуляторных Т-клеток в периферической крови пациентов с болезнью Грейвса с продолжительностью медикаментозного эутиреоза более 12 мес снижается, но сохраняется повышенным относительно контроля.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. У пациентов с болезнью Грейвса с продолжительностью медикаментозного эутиреоза от 5 до 8 мес и от 9 до 12 мес повышается популяция регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом $CD4^+CD25^+CD127^{Low}$. Количество активированных Т-хелперов с фенотипом $CD3^+CD4^+CD25^+$ сохраняется повышенным независимо от продолжительности медикаментозного эутиреоза. У пациентов с болезнью Грейвса с продолжительностью медикаментозного эутиреоза более 12 мес сохраняется компенсаторное повышение регуляторных Т-лимфоцитов, а общее количество Т-хелперов восстанавливается до уровня контроля.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: болезнь Грейвса; Т-регуляторные клетки; активированные Т-хелперы; иммуномодулирующие эффекты тиреостатических препаратов; таргетная терапия.

T-LYMPHOCYTES PHENOTYPIC COMPOSITION OF PERIPHERAL BLOOD IN PATIENTS WITH GRAVES' DISEASE UNDERGOING CONSERVATIVE THERAPY WITH THIAMAZOLE

© Margarita A. Dudina^{1,2*}, Sergey A. Dogadin^{1,2}, Andrei A. Savchenko³, Vasily D. Belenyuk³

¹Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russia

²Krasnoyarsk regional clinical hospital, Krasnoyarsk, Russia

³Federal Research Center «Krasnoyarsk Science Center» of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Scientific Research Institute of medical problems of the North, Laboratory of Molecular and Cell physiology and pathology, Krasnoyarsk, Russia



BACKGROUND: Effective control of autoimmune inflammation in Graves' disease determines necessity to study the T helper (Th) and cytotoxic T-lymphocytes dysfunction, as well as the level of regulatory T-cells (Treg) activation in patients with Graves' disease on thyrostatic medication, which will clarify the immunomodulatory effects of long-term thiamazole treatment serve as targets for more specific therapies.

AIM: To study the phenotypic composition of T-lymphocytes in the peripheral blood of patients with Graves' disease to assess the direction of immune response depending on thiamazole-induced euthyroidism duration.

MATERIALS AND METHODS: A single-center, cohort, continuous, open-label, controlled trial was conducted to assess the phenotypic composition of T-lymphocytes in peripheral blood in women with Graves' disease on long-term thiamazole treatment. The phenotypic composition of T-lymphocytes was determined by flow cytometry using direct immunofluorescence with conjugated FITC monoclonal antibodies depending on the duration of thiamazole-induced euthyroidism of long-term thiamazole treatment.

RESULTS: The study included 135 women with Graves' disease, mean age 43.09 ± 12.81 years, 120 (88.91%) with a relapse of the disease and 15 (11.09%) with newly diagnosed hyperthyroidism. An increase of activated $CD3^+CD4^+CD25^+$ was found in patients with Graves' disease with a duration of thiamazole-induced euthyroidism 5–8 months and 9–12 months, respectively, $Me=0.94$ (0.48–1.45), $p=0.020$ and $Me=0.95$ (0.41–1.80), $p=0.025$, in control group — $Me=0.12$ (0.03–0.68). Compared to the control an increase of $CD4^+CD25^+CD127^{Low}$ (Treg) was found in patients with a duration of thiamazole-induced euthyroidism 5–8 and 9–12 months. The content of Treg in peripheral blood in Graves' disease patients with a duration of thiamazole-induced euthyroidism more than 12 months decreases, but remains elevated relative to the control.

CONCLUSION: In patients with Graves' disease with a duration of thiamazole-induced euthyroidism 5–8 months and 9–12 months the level of Treg has been increased. The increase of activated Th ($CD3^+CD4^+CD25^+$) persists independently of thiamazole-induced euthyroidism. In patients with Graves' disease with a duration of thiamazole-induced euthyroidism for more than 12 months, there is a compensatory increase in regulatory T-lymphocyte, and the total number of T-helpers is restored to the control.

KEYWORDS: Graves' disease; regulatory T-cells; activated T-helpers; immunomodulatory effects of thiamazole; targeting therapies.

ОБОСНОВАНИЕ

Болезнь Грейвса характеризуется развитием тиреотоксикоза, вызванного циркуляцией антител к рецептору тиреотропного гормона (рТТГ), которые усиливают индуцируемую интерфероном-гамма (ИФН- γ) экспрессию молекул 2-го класса гистосовместимости (HLA-DR) и презентацию тиреоидных антигенов, способствуя дальнейшей активации Т-хелперов (Th), что клинически может проявляться как стимуляцией, так и ингибированием функции щитовидной железы [1]. В последнее время изменился характер течения гипертиреоза аутоиммунного генеза. Отмечаются выраженное ускорение манифестации заболевания у предрасположенных лиц, резкое снижение количества пациентов с ремиссией тиреотоксикоза и ее продолжительностью на фоне консервативной терапии тиреостатиками [2].

Механизм иммуносупрессивного действия тиреостатических препаратов остается предметом споров, несмотря на многочисленные утверждения о том, что тионамиды напрямую ингибируют йодирование тиреоглобулина, что может повлиять на презентацию антигенов тиреоцитами, а также препятствуют экспрессии в тиреоцитах таких молекул, как интерлейкин-1 (IL-1), интерлейкин-6 (IL-6), простагландин E2 и белок теплового шока [3]. Однако в ряде клинических исследований у пациентов с болезнью Грейвса отмечаются снижение активации $CD4^+$ Т-лимфоцитов и повышение количества $CD8^+$ цитотоксических Т-лимфоцитов, а также понижение уровня растворимых рецепторов IL-2, что определяется достижением стойкого медикаментозного эутиреоза при длительной тионамидной терапии метимазолом [4, 5].

В настоящее время имеются предположения о том, что Т-хелперный иммунный ответ 1-го типа (Th1) преобладает в иммунопатогенезе болезни Грейвса во время активной фазы гипертиреоза, в которой хемокины Th1 и их рецептор CXCR3 играют ключевую роль [6]. Эти нарушения считаются результатом первичного нарушения иммунорегуляции, при которой дисфункция щитовидной железы обуславливается агрессией сохранивших активность Th1- и Th2-лимфоцитов против специфических антигенов клеток-мишеней. Остаются до сих пор неизвестными влияния тиреостатической терапии на дефект недостаточной активации регуляторных Т-клеток и формирование супрессорных механизмов в иммунной системе при болезни Грейвса, что не только определяет степень дисфункции тиреоид-специфических хелперных Т-лимфоцитов, но и может непосредственно индуцировать переход от доминирования Th2- к доминированию Th1-иммунного ответа в клиническом течении заболевания.

В связи с этим эффективный контроль аутоиммунного воспаления при болезни Грейвса предопределяет необходимость уточнения иммунологических критериев прогрессирования заболевания на фоне тиреостатической терапии для разработки современной стратегии таргетной терапии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить фенотипический состав Т-лимфоцитов периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса для оценки направленности иммунного ответа в зависимости от длительности медикаментозного эутиреоза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Исследование проводилось на базе эндокринологического центра КГБУЗ «Краевая клиническая больница» (г. Красноярск).

Время исследования. Наблюдение пациентов осуществлялось с 9 апреля 2016 г. по 10 апреля 2021 г.

Исследуемые популяции (одна или несколько)

Изучались две популяции: пациенты с болезнью Грейвса и здоровые индивиды (контроль).

Популяция «пациенты с болезнью Грейвса»

Критерии включения: женский пол, возраст от 18 до 65 лет, лабораторно подтвержденная болезнь Грейвса, стойкий медикаментозный эутиреоз, индуцированный непрерывным приемом тиамазола.

Популяция «контроль»

Критерии включения: женский пол, возраст от 18 до 65 лет, отсутствиеотягощенного анамнеза по заболеваниям щитовидной железы у обследуемой пациентки и кровных родственников, отсутствие структурных изменений по данным ультразвукового исследования (УЗИ) щитовидной железы.

Критерии исключения: узловой/многоузловой токсический зоб, беременность, лактация, эндокринная офтальмопатия, рецидив гипертиреоза после лечения болезни Грейвса радиоактивным йодом, наличие инфекционных и аллергических заболеваний, новообразования, системные заболевания соединительной ткани, другие заболевания органов эндокринной системы, острые респираторные и вирусные инфекции, а также введение профилактических прививок в течение 2 мес, предшествующих иммунологическому и гормональному анализу.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

В основу формирования подгрупп пациентов с болезнью Грейвса была положена концепция иммуномодулирующего эффекта тиреостатической терапии при условии стойкого медикаментозного эутиреоза, индуцированного непрерывным приемом тиамазола, использовавшегося по стандартному протоколу консервативного лечения болезни Грейвса [7]. Выбор сроков для клинко-иммунологического обследования пациентов с болезнью Грейвса базировался на стабильности достигнутого медикаментозного эутиреоза. Стойкая нормализация гормонов щитовидной железы включала, в том числе, стабилизацию уровня ТТГ в пределах нормального референсного диапазона. Предварительный анализ показал, что сроки поддержания состояния стойкого медикаментозного эутиреоза на фоне непрерывного приема тиамазола у обследуемых пациентов с болезнью Грейвса варьируют от 5 до 12 мес и более. В связи с этим пациентки со стойким медикаментозным эутиреозом при болезни Грейвса были разделены на репрезентативные подгруппы внутри указанного периода наблюдения, а также с учетом рекомендуе-

мых сроков консервативного лечения заболевания согласно национальным клиническим рекомендациям. Изучаемая популяция пациентов с болезнью Грейвса была разделена на три группы: первая — продолжительность медикаментозного эутиреоза от 5 до 8 мес, вторая — продолжительность медикаментозного эутиреоза от 9 до 12 мес, третья — продолжительность медикаментозного эутиреоза более 12 мес.

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое одномоментное когортное сплющенное открытое контролируемое исследование с ретроспективным анализом данных с участием пациентов с лабораторно подтвержденной болезнью Грейвса.

Методы

Клинические методы обследования на момент рандомизации включали объективный осмотр, пальпацию щитовидной железы, клинко-лабораторную оценку тиреоидного статуса и титра антител к рТТГ в сыворотке крови. Изучение клинко-anamнестических данных обследуемых пациентов с впервые выявленным или рецидивирующим течением заболевания проводилось с использованием медицинской документации (амбулаторные карты, форма № 025/у-04; истории болезней стационарного больного, форма № 003/у).

При этом оценивали хронологию развития заболевания с уточнением времени от момента манифестации гипертиреоза, верификации диагноза болезни Грейвса и инициации тиреостатической терапии, дозу тиамазола, гормональные показатели, титр антител к рТТГ исходно и на фоне медикаментозного лечения, а также продолжительность тиреостатической терапии. Методом хемилюминесцентного иммуноанализа на микрочастицах на автоматическом анализаторе Architecti1000sr (Abbott Diagnostics, США) определяли уровень ТТГ и свободного тироксина (св.Т4) в сыворотке крови, указанные референсные диапазоны соответственно 0,4–4,0 мЕд/л и 9,01–19,05 пмоль/л. Определение свободного трийодтиронина (св.Т3) в сыворотке крови осуществляли методом энзим-связанного иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «ДС-ИФА-ТИРОИД-Т3свободный» (ООО «НПО «Диагностические системы», Россия), референсный интервал 2,14–6,42 пмоль/л. Уровень антител к рТТГ оценивался методом ИФА при помощи стандартного набора Medizym T.R.A. (Medipan Diagnostica, Германия), рекомендованная точка разделения (cut-off) — 1,5 мЕд/л («серая» зона 1–1,5 мЕд/л). Уровень антител к тиреоидной пероксидазе (ТПО) оценивался методом ИФА при помощи соответствующего набора «АТ-ТПОХема-Медика» (Россия), референсный интервал <35 мЕд/л. Определение размеров, объема и структуры щитовидной железы проводилось на основании УЗИ на аппарате Aloka 3500 (Hitachi, Япония) с использованием линейного датчика с частотой 7,5 МГц.

Исследование фенотипа Т-лимфоцитов проводили методом проточной цитометрии с использованием прямой иммунофлуоресценции с применением моноклональных антител (Beckman Coulter, США), меченных FITC (fluoresceinisothiocyanate), PE (phycoerythrin), ECD

(phycoerythrin-TexasRed-X), PC5 (phycoerythrin-cyanin 5), PC7 (phycoerythrin-cyanin 7) и APC (allophycocyanin) в следующей панели: CD45-FITC/CD127-PE/CD3-ECD/CD25-PC5/CD4-PC7/CD8-APC. Анализ окрашенных клеток проводили на проточном цитофлуориметре Navios (Beckman Coulter, USA) Центра коллективного пользования КНЦ СО РАН. Обработку полученных цитофлуориметрических результатов осуществляли с помощью программ Navios Software v. 1.2 и Kaluza v. 2.1.1 (Beckman Coulter, USA). В каждой пробе анализировали не менее 50 000 лимфоцитов.

Статистический анализ

Описание полученных данных производили с помощью подсчета медианы (Me) и квартильного размаха в виде 1 и 3 квартилей (Q_1 – Q_3), а также в виде средних арифметических значений и стандартных отклонений от среднего ($M \pm SD$) в случае нормального распределения показателей. Для определения характера распределения полученных данных использовали критерий Шапиро–Уилка. Достоверность различий между исследуемыми показателями оценивали по непараметрическому критерию Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Для исследования силы взаимосвязей показателей вычислялся коэффициент ранговой корреляции по Спирмену (Spearman rank R). Статистический анализ осуществляли в пакете прикладных программ Statistica 8.0 (StatSoft Inc., 2007).

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом КГБУЗ «Краевая клиническая больница» от 07 апреля 2016 г. (выписка из протокола № 124) и ФБОУ ВО «КрасГМУ» от 9 ноября 2016 г. (выписка из протокола № 72/2016).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование были включены 135 женщин с верифицированным диагнозом болезни Грейвса, средний возраст $43,14 \pm 12,84$ года, из них 120 (88,9%) — с рецидивом заболевания и 15 (11,1%) — с впервые выявленным гипертиреозом. В качестве контроля обследованы 85 неродственных, практически здоровых женщин.

Все обследованные пациенты с болезнью Грейвса наблюдались в исследовательском центре с дебюта заболевания. При ретроспективном анализе показателей тиреоидного статуса в дебюте заболевания было установлено, что у обследованных пациентов с болезнью Грейвса I и II групп был диагностирован субклинический или манифестный гипертиреоз соответственно, $ТТГ = 0,07$ мЕд/л ($0,03$ – $0,39$), $св.Т3 = 5,92$ пмоль/л ($4,61$ – $6,41$), $св.Т4 = 17,33$ пмоль/л ($12,19$ – $18,77$) и $ТТГ = 0,05$ мЕд/л ($0,01$ – $0,37$), $св.Т3 = 6,51$ пмоль/л ($4,31$ – $7,43$), $св.Т4 = 21,52$ пмоль/л ($19,11$ – $36,77$). У большинства пациентов III группы показатели тиреоидного статуса в дебюте заболевания соответствовали субклиническому гипертиреозу: $ТТГ = 0,03$ мЕд/л ($0,09$ – $0,36$), $св.Т3 = 5,12$ пмоль/л ($3,92$ – $6,31$), $св.Т4 = 16,41$ пмоль/л ($12,88$ – $18,78$). При ретроспективном сравнительном анализе исходных показателей тиреоидного статуса и уровня антител к рТТГ подгрупп пациентов с болезнью Грейвса, в дальнейшем обследованных в зависимости от продолжительности медика-

ментозного эутиреоза, статистически значимых различий не выявлено.

Независимо от продолжительности медикаментозного эутиреоза в периферической крови обследуемых пациентов с болезнью Грейвса в дебюте заболевания был повышен относительный уровень Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$), в том числе активированных ($CD3^+CD4^+CD25^+$) соответственно, $Me = 66,42\%$ ($44,23$ – $74,61$), $p = 0,011$ и $Me = 5,51\%$ ($4,12$ – $6,73$), $p = 0,013$. Процентное количество регуляторных $CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$ -клеток в крови у всех обследуемых пациентов на момент манифестации болезни Грейвса было снижено — $Me = 1,21\%$ ($0,92$ – $1,81$), $p = 0,021$.

Клинико-гормональная характеристика обследуемых пациентов с болезнью Грейвса на момент включения в настоящее исследование представлена в таблице 1.

На момент клинико-иммунологического обследования у всех пациентов был достигнут индуцированный тиамазолом медикаментозный эутиреоз, что подтверждалось при объективном осмотре и соответствующими показателями тиреоидного статуса. Все обследуемые пациенты с болезнью Грейвса имели положительный титр антител к рТТГ, причем величина вышеуказанного маркера не различалась в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза. При этом максимальная продолжительность приема тиамазола в III группе больных составила 36 мес.

При исследовании фенотипа Т-лимфоцитов было обнаружено, что у пациентов с болезнью Грейвса абсолютное и относительное содержание Т-клеток ($CD3^+$) в периферической крови не изменялось в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза и соответствовало контрольным значениям (табл. 2).

При сравнительном анализе фенотипического состава Т-лимфоцитов периферической крови в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза наиболее выраженные изменения обнаружены в увеличении содержания Т-клеток с фенотипом $CD3^+CD25^+$, несущих маркер ранней активации. С увеличением интервала времени нахождения пациентов с болезнью Грейвса в состоянии медикаментозного эутиреоза количество активированных Т-лимфоцитов ($CD3^+CD25^+$) последовательно повышалось. Относительное количество Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) у пациенток с болезнью Грейвса и медикаментозным эутиреозом в течение 5–8 мес было увеличено в сравнении с контрольным диапазоном. При увеличении продолжительности медикаментозного эутиреоза уровень $CD3^+CD4^+$ -клеток стал соответствовать контрольным значениям. А при длительности эутиреоза более 12 мес содержание Т-хелперов было значительно ниже, чем в I группе. Уровень цитотоксических Т-лимфоцитов ($CD3^+CD8^+$) был значительно ниже контрольных значений как в группе пациентов с продолжительностью медикаментозного эутиреоза 5–8 мес, так и 9–12 мес, тогда как в III группе больных (эутиреоз более 12 мес) содержание цитотоксических Т-клеток соответствовало контрольному диапазону. Относительное количество активированных Т-хелперов ($CD3^+CD4^+CD25^+$) было повышено у пациентов с продолжительностью медикаментозного эутиреоза в течение 5–8 и 9–12 мес и еще более возрастало в группе больных с продолжительностью медикаментозного эутиреоза более 12 мес.

Таблица 1. Клинико-гормональная характеристика пациентов с болезнью Грейвса по группам, Ме (Q_1 – Q_3)

Показатели	Контроль	Пациенты с болезнью Грейвса		
	n=85	Группа I Медикамент. эутиреоз 5–8 мес n=41	Группа II Медикамент. эутиреоз 9–12 мес n=69	Группа III Медикамент. эутиреоз >12 мес n=25
	1	2	3	4
Возраст, лет (M±SD)	41,02±12,11	43,91±13,76	42,94±12,24	42,43±13,09
Продолжительность приема тиамазола, мес	–	7,0 (6,0–8,0)	11,0 (10,0–12,0)	16,0 (14,0–24,0)
Доза тиамазола, мг	–	10,0 (10–20)	10,0 (10–20)	10,0 (10–15)
Тиреотропный гормон, мЕд/л	1,13 (0,86–1,51)	0,78 (0,41–2,11) $p_1 < 0,001$	1,09 (0,55–3,43) $p_1 < 0,001$	1,91 (0,57–5,31) $p_1 = 0,004$
Св.Т3, пмоль/л	4,07 (2,61–5,53)	5,31 (3,83–6,31) $p_1 < 0,001$	4,73 (3,82–5,93) $p_1 < 0,001$	2,24 (2,93–5,12) $p_1 = 0,027$
Св.Т4, пмоль/л	14,10 (12,28–15,80)	13,07 (10,49–16,91) $p_1 < 0,001$	12,83 (10,19–16,97) $p_1 < 0,001$	15,57 (11,83–17,43) $p_1 = 0,022$ $p_3 = 0,030$
Антитела к рТТГ, мЕд/л	0,24 (0,18–0,43)	15,03 (9,45–21,04) $p_1 < 0,001$	15,27 (9,45–21,45) $p_1 < 0,001$	15,62 (9,32–24,52) $p_1 < 0,001$
Антитела к ТПО, мЕд/л	1,00 (0,00–3,00)	223,21 (13,01–563,11) $p_1 < 0,001$	227,21 (29,13–695,51) $p_1 < 0,001$	632,00 (78,00–1186,00) $p_1 = 0,003$
Объем щитовидной железы, мл	9,91 (9,41–12,63)	29,19 (20,41–45,32) $p_1 < 0,001$	32,21 (20,51–49,88) $p_1 < 0,001$	27,36 (16,65–50,61) $p_1 < 0,001$

Примечание. p_1 — статистически значимые различия с контрольными величинами; p_2 — статистически значимые различия с показателями пациентов I-й группы; p_3 — статистически значимые различия с показателями пациентов II-й группы; св.Т4 — свободный тироксин; св.Т3 — свободный трийодтиронин; рТТГ — рецептор тиреотропного гормона; ТПО — тиреоидная пероксидаза.

У пациентов I группы процентное содержание в крови Т-клеток с фенотипом CD3⁺CD8⁺CD25⁺ соответствовало контрольным значениям, а в III группе их уровень был значительно выше контрольного. В то же время в III группе (эутиреоз более 12 мес) количество активированных Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺CD25⁺) было значительно выше как относительно контрольных значений, так и по сравнению с данными, выявляемыми у пациентов I и II групп (продолжительность эутиреоза 5–8 и 9–12 мес).

Относительное количество Т-регуляторных клеток (CD3⁺CD4⁺CD127^{Low}CD25^{High}) в периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса в сравнении с контрольным диапазоном было повышено независимо от продолжительности медикаментозного эутиреоза. Однако у больных с продолжительностью эутиреоза более 12 мес наблюдалось снижение содержания Т-регуляторных клеток относительно уровня, выявленного при медикаментозном эутиреозе продолжительностью 9–12 мес.

Таблица 2. Фенотипический состав Т-лимфоцитов в периферической крови пациентов с болезнью Грейвса (Ме, (Q1–Q3))

Показатели	Контроль	Пациенты с болезнью Грейвса		
	n=85	Группа I Медикамент. эутиреоз 5–8 мес n=41	Группа II Медикамент. эутиреоз 9–12 мес n=69	Группа III Медикамент. эутиреоз >12 мес n=25
		1	2	3
CD3 ⁺ , 10 ⁹ /л	1,51 (1,19–1,65)	2,00 (1,14–2,52)	1,59 (1,17–2,03)	1,81 (0,63–2,29)
CD3 ⁺ , %	72,0 (68,31–76,12)	77,6 (69,21–84,62)	74,41 (66,81–78,41)	70,95 (58,91–75,49)
CD3 ⁺ CD25 ⁺ , %	0,21 (0,03–1,70)	1,18 (0,33–3,07) p ₁ =0,045	1,41 (0,66–2,52) p ₁ =0,040 p ₂ =0,027	2,67 (1,74–4,02) p ₁ <0,001 p ₂ =0,038 p ₃ =0,043
CD3 ⁺ CD4 ⁺ , %	41,4 (37,8–46,2)	52,7 (38,4–55,4) p ₁ =0,031	49,7 (39,9–54,4)	40,1 (34,4–48,3) p ₂ =0,042
CD3 ⁺ CD8 ⁺ , %	30,1 (26,2–35,1)	25,2 (21,5–26,2) p ₁ =0,014	22,3 (20,1–28,7) p ₁ <0,001	29,3 (18,3–36,3)
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD25 ⁺ , %	0,12 (0,03–0,68)	0,94 (0,48–1,45) p ₁ =0,020	0,95 (0,41–1,80) p ₁ =0,025	1,65 (0,78–2,97) p ₁ <0,001 p ₂ =0,036 p ₃ =0,038
CD3 ⁺ CD8 ⁺ CD25 ⁺ , %	0,06 (0,03–0,17)	0,31 (0,03–1,05)	0,33 (0,12–0,94) p ₁ =0,045	0,99 (0,52–1,88) p ₁ <0,001 p ₂ =0,043 p ₃ =0,032
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD127 ^{Low} CD25 ^{High} , %	1,81 (0,91–2,82)	3,01 (1,88–4,47) p ₁ =0,024	5,52 (2,77–11,61) p ₁ <0,001	3,21 (1,04–4,30) p ₁ =0,048 p ₃ =0,039

Примечание. p₁ — статистически значимые различия с контрольными величинами; p₂ — статистически значимые различия с показателями пациентов I группы; p₃ — статистически значимые различия с показателями пациентов II-й группы.

ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность тиреостатической терапии в индукции и поддержании ремиссии болезни Грейвса определяется уровнем экспрессии рТТГ, за счет которых реализуется механизм дальнейшей презентации тиреоидных антигенов и увеличения количества активированных Т-хелперов [8]. Длительная тиреостатическая терапия приводит к снижению титра циркулирующих антител к рТТГ, выраженности лимфоцитарной инфильтрации щитовидной железы, уменьшению антигенной презентации на поверхности фолликулярных клеток и развитию медикаментозного эутиреоза [9]. Однако наблюдение за пациентками с болезнью Грейвса, длительно принимающими тиамазол, показало, что уровень антител к рТТГ остается положительным на любой стадии процесса, независимо от продолжительности тиреостатической

терапии, наличия гипертиреоза или медикаментозного эутиреоза, а также не связан с изменениями фенотипического состава Т-лимфоцитов.

Причем необходимо отметить, что у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза меняется именно фенотипический состав Т-лимфоцитов, в то время как процентное и абсолютное количество общих Т-клеток в крови остается постоянным и не отличается от контрольных показателей. В то же время у обследованных больных с разной продолжительностью медикаментозного эутиреоза наблюдается определенная динамика изменения относительного количества Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺) и цитотоксических Т-клеток (CD3⁺CD8⁺). Так, если у пациентов с продолжительностью медикаментозного эутиреоза в течение 5–8 мес в крови выявляются повышенный (относительно контрольных значений) уровень Т-хелперов

и сниженное количество цитотоксических Т-лимфоцитов, то у больных с продолжительностью медикаментозного эутиреоза 9–12 мес содержание Т-хелперов нормализуется, тогда как количество цитотоксических Т-клеток остается пониженным. При стойком медикаментозном эутиреозе более 12 мес у пациентов с болезнью Грейвса в крови наблюдаются еще более пониженный уровень (относительно исходного, но в диапазоне контрольных значений) Т-хелперов и нормализация количества цитотоксических Т-клеток. Необходимо отметить, что именно в составе субпопуляции Т-хелперов находится фракция Т-регуляторных клеток, которая реализует функции супрессии иммунного ответа [10].

Отмечено, что при болезни Грейвса снижена функциональная активность или количество Т-регуляторных клеток [1, 6]. В настоящем исследовании показано, что уже при поддержании стойкого медикаментозного эутиреоза в течение 5–8 мес наблюдается иммуномодулирующий эффект консервативной терапии тиамазолом, заключающийся в выраженном увеличении количества Т-регуляторных клеток. При большей длительности медикаментозного эутиреоза (9–12 мес) содержание данной фракции Т-лимфоцитов достигает максимума, тогда как при дальнейшем увеличении длительности медикаментозного эутиреоза (более 12 мес) их количество в крови снова снижается, но сохраняется компенсаторное повышение относительно контроля. Повышение доли регуляторных Т-лимфоцитов ($CD3^+CD4^+CD127^{low}CD25^{high}$) в периферической крови у больных с продолжительностью медикаментозного эутиреоза более 12 мес свидетельствует о том, что длительное лечение тиамазолом способствует однонаправленным изменениям: развитию медикаментозного эутиреоза и частичному восстановлению супрессорного потенциала регуляторных Т-лимфоцитов. Можно предположить, что высокий уровень Т-регуляторных клеток у пациентов с болезнью Грейвса, независимо от стойкости медикаментозного эутиреоза, является компенсаторной иммунной реакцией, направленной на преодоление дефекта резистентности к супрессорному действию регуляторных Т-лимфоцитов, необходимых на любой стадии процесса постоянной антигензависимой активации Т-хелперов при болезни Грейвса.

Кроме оценки субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от длительности медикаментозного эутиреоза, также было исследовано содержание активированных Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. В качестве активационного маркера был исследован CD25. Молекула CD25 представляет собой гликопротеин, являющийся низкоаффинным рецептором к интерлейкину-2 и экспрессирующийся на Т-регуляторных клетках, активированных Т-хелперах и цитотоксических Т-лимфоцитах [11]. Количество активированных Т-хелперов ($CD3^+CD4^+CD25^+$) повышено уже в I группе больных (эутиреоз в течение 5–8 мес). Максимальный уровень Т-клеток с данным фенотипом выявляется во II группе (эутиреоз длительностью более 12 мес). Содержание активированных цитотоксических Т-клеток ($CD3^+CD8^+CD25^+$) повышается у больных II группы (эутиреоз 9–12 мес) и также достигает максимума в III группе пациентов (эутиреоидное состояние в течение более 12 мес) консервативного лечения тиамазолом.

Таким образом, у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза меняется фенотипический состав Т-лимфоцитов, но при сохранении абсолютного и процентного содержания общих Т-клеток в периферической крови. Причем изменения фенотипа Т-лимфоцитов при медикаментозном эутиреозе разной продолжительности нельзя однозначно характеризовать как иммуносупрессивные. У больных с наибольшей продолжительностью медикаментозного эутиреоза (более 12 мес) нормализуется количество Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Но в то же время у всех обследуемых пациентов с болезнью Грейвса сохраняются характерные изменения начала иммунной реакции с ослаблением супрессии активированных Т-хелперов, не зависящие от дозы и продолжительности медикаментозного эутиреоза. Вероятно, при болезни Грейвса супрессия Т-хелперов ослабляется в такой степени, что они в присутствии антигена выходят из-под контроля и активируются.

Следует подчеркнуть, что активированные Т-хелперы прямо влияют на тиреоциты, продуцируя цитокины, стимулируют цитотоксические клетки, что приводит к повреждению тиреоидной ткани, а также усиливают продукцию плазматическими клетками тиреоидных аутоантител, которые вносят дополнительный вклад в поддержание аутоиммунного воспаления [12]. Тем не менее у пациентов с болезнью Грейвса и продолжительностью медикаментозного эутиреоза от 9 до 12 мес и более общее число Т-хелперов ($CD3^+CD4^+$) в периферической крови соответствует контрольным значениям, что свидетельствует о частичном подавлении чрезмерной активации хелперных Т-клеток вместе с увеличением продолжительности времени нахождения пациентов с болезнью Грейвса в состоянии медикаментозного эутиреоза при консервативном лечении тиамазолом.

В ранее проведенных нами исследованиях было показано, что у пациентов с болезнью Грейвса, непрерывно получающих тиамазол от 12 до 18 мес, содержание Т-хелперов с фенотипами $CD3^+CD4^+$ и $CD3^+CD4^+CD25^+$ в периферической крови и ткани щитовидной железы соответствует контрольным значениям, а пониженное относительное число регуляторных Т-лимфоцитов в периферической крови соответствует их уровню в ткани щитовидной железы [13]. В то же время при более продолжительном периоде сохранения состояния медикаментозного эутиреоза в крови увеличивается содержание активированных Т-хелперов и цитотоксических Т-лимфоцитов. Подобный результат изменения фенотипического состава Т-клеток при тиреостатической терапии болезни Грейвса можно объяснить тем, что индуцированная тиамазолом клиничко-лабораторная ремиссия болезни Грейвса способствует развитию адаптивных изменений в системе иммунитета уже на раннем этапе лечения заболевания, но не сопровождается полной иммунологической ремиссией. Отсутствие взаимосвязей между показателями тиреоидного статуса, уровнем антител к рТТГ и содержанием хелперных и регуляторных Т-лимфоцитов может быть связано с перекрестными интра-тиреоидными антигенными стимулами, существованием различных вариантов сплайсинга рТТГ, индуцированной тиамазолом смены титра

преобладающих блокирующих или стимулирующих антител к рТТГ и соответствующей трансформацией аутоиммунной реакции [2, 3].

Таким образом, длительная консервативная терапия тиамазолом способствует повышению уровня регуляторных Т-лимфоцитов у пациентов с болезнью Грейвса, но не влияет на органоспецифические и генерализованные нарушения их супрессорной функции, причем эти нарушения не зависят от продолжительности эутиреоидного состояния, титра антител к рТТГ и, вероятно, могут поддерживать, и усиливать патологический процесс.

Сопоставление с другими публикациями

Результаты нашего исследования согласуются с работами авторов, которым удалось показать, что влияние высоких доз тиреостатиков на ряд иммунологических параметров не отличается от действия низких доз этих лекарственных средств, а основным фактором, от которого зависят иммунологические показатели, является гипертиреоз [14]. Такое влияние тиреостатических препаратов на клетки щитовидной железы, нормализующее ее функцию и восстанавливающее эутиреоз, не объясняет механизм персистенции иммунной реакции, хотя и препятствует стимулирующему действию ТТГ. В нескольких исследованиях сообщалось, что фенотипический состав лимфоцитов периферической крови отражает аутоиммунитет в щитовидной железе как выражение генерализованной активации иммунной системы у пациентов с гипертиреозом аутоиммунного генеза [8, 15]. Позднее было показано, что тиреоидные антигены активируют цитотоксические Т-клетки ($CD3^+CD8^+$) пациентов с болезнью Грейвса значительно слабее, чем соответствующие клетки здоровых доноров [6]. Кроме того, в более ранних работах сообщалось, что антиген рТТГ гораздо слабее активирует $CD3^+CD8^+$ -клетки пациентов с болезнью Грейвса, чем $CD3^+CD8^+$ -лимфоциты здоровых лиц, больных хроническим аутоиммунным тиреоидитом, нетоксическим зобом и сахарным диабетом 1 типа [16].

Сохраняющиеся изменения в фенотипическом составе Т-лимфоцитов, несмотря на поддержание эутиреоидного состояния при лечении тиамазолом более 12 мес, которые были показаны в настоящем исследовании, позволяют утверждать, что высокий уровень $CD3^+CD4^+CD25^+$ в периферической крови пациентов с болезнью Грейвса может способствовать миграции Th1-клеток из периферической крови в пораженную щитовидную железу. Что, в свою очередь, приводит к усилению презентации тиреоидных антигенов, способствуя дальнейшей активации Т-хелперов. При этом субпопуляция $CD3^+CD4^+$ может быть источником продукции ИФН- γ , который является негативным регулятором гемопоэза и отражает преобладание Th1-, а не Th2-типа иммунного ответа в начальной фазе болезни Грейвса [12]. Полученные данные существенно дополняют результаты исследования соотношения хемокинов CXCR3/CCR4, указывающего на баланс Th1/Th2, в котором было показано значительное снижение вышеуказанного соотношения после лечения метимазолом по сравнению с исходным уровнем, причем соотношение было значительно ниже на 24-й, чем на 12-й неделе лечения [17]. Авторы делают вывод о том, что при лечении тиреостатическими препаратами происходит постепенный переход от доминиро-

вания Th1 к доминированию Th2 иммунного ответа. Ряд современных данных указывает на первичный дефект в снижении количества и функции неспецифических регуляторных Т-лимфоцитов в гипертиреоидной фазе болезни Грейвса, преодоление которого происходит по мере развития медикаментозного эутиреоза и нормализации соотношения Th1/Th2.

Многие авторы подчеркивают, что в основе рецидива гипертиреоза при болезни Грейвса лежит частичное сохранение нарушенной генерализованной и антигенспецифичной супрессорной функции регуляторных Т-лимфоцитов, которая не зависит от гипер-, гипо- или эутиреоидного состояния больных [5, 18]. Более раннее сравнительное исследование с использованием иммуногистохимии аспиратов щитовидной железы пациентов с болезнью Грейвса и образцов здоровой ткани показало, что антитиреоидные препараты могут усиливать экспрессию Fas-лиганда (FasL) на мембране тиреоцитов с последующей активацией Fas-индуцированного апоптоза этих клеток [19]. Причем было обнаружено, что обработанные в условиях *in vitro* метимазолом тиреоциты индуцировали FasL-зависимый апоптоз в культивируемых лимфоцитах, в то время как обработка метимазолом лимфоцитов, выращенных в отсутствие тиреоцитов, не оказывала такого эффекта. Таким образом, FasL высоко экспрессируется в фолликулярных клетках щитовидной железы у пациентов с болезнью Грейвса, получающих тиреостатические препараты, и может способствовать прямому иммуномодулирующему эффекту тионамидов.

Современные представления свидетельствуют о том, что система Fas-FasL является наиболее изученной системой активации гибели клеток в ходе терминации иммунного ответа, а дисрегуляция рецептор-опосредованного апоптоза играет ключевую роль в иммунопатогенезе болезни Грейвса [20]. Настоящее исследование существенно дополняет представления о развитии адаптивного иммунитета при болезни Грейвса на фоне медикаментозного лечения тиамазолом. Было показано, что при приеме тиамазола пациентами с болезнью Грейвса повышение числа Т-клеток, несущих маркер ранней активации ($CD25^+$), наблюдается уже в 1-й фазе терапии и может отражать потенциальный механизм генерализованной иммунологической толерантности тиреоцитов от атаки Т-лимфоцитами. Этот факт приводит к утверждению важной роли Fas-опосредованного апоптоза не только интратиреоидных лимфоцитов, но и периферических аутореактивных Т-лимфоцитов при болезни Грейвса.

Клиническая значимость результатов

Выявленные закономерности в изменении фенотипического состава Т-лимфоцитов периферической крови на фоне тиреостатической терапии свидетельствуют о возможных иммуномодулирующих эффектах длительной терапии тиамазолом на систему адаптивного иммунитета при болезни Грейвса. Полученные результаты позволяют выделить субпопуляцию Т-регуляторных клеток ($CD3^+CD4^+CD127^{Low}CD25^{High}$) не только как мишень для этиотропной терапии супрессорного дефекта иммунной системы, но и в качестве возможного маркера иммунологической ремиссии заболевания перед завершением курса длительной тиреостатической терапии в клинической практике.

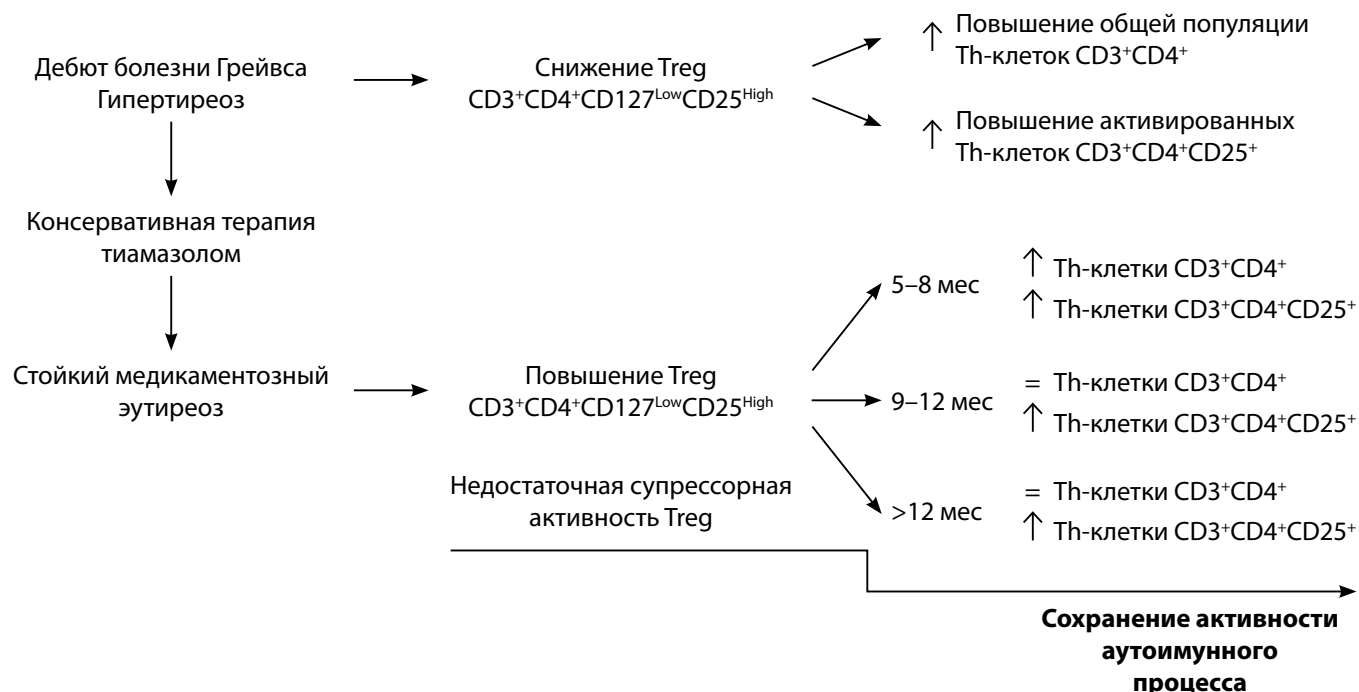


Рис. 1. Изменение соотношения Th и Treg в периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза при консервативной терапии тиамазолом.

Примечание. Стрелками указаны изменения относительно контрольных значений. "=" — соответствие контрольному диапазону.

Ограничения исследования

К возможным ограничениям настоящего исследования популяции пациентов с болезнью Грейвса можно отнести иммуногенетические аспекты уже имеющихся нарушений в иммунной системе, а также генетические аномалии тиреоцитов. Клиническая значимость иммуномодулирующего эффекта тиамазола может быть смещена в зависимости от силы дефекта антигеноспецифической иммуносупрессии в сочетании с неспецифическим влиянием факторов внешней среды в каждом конкретном случае заболевания.

Направления дальнейших исследований

Необходимы дополнительные иммуногенетические исследования для персонализированного стратегического планирования длительной консервативной терапии тиамазолом в зависимости от ассоциации экспрессии HLA-DR и специфического дефекта иммунорегуляции, обусловленного аномалией генов, кодирующих антигенпрезентирующие молекулы. Перспективными представляются исследования по изучению хемилюминесцентной активности и внутриклеточного метаболизма клеток иммунной системы в аспекте ингибирования образования свободных кислородных радикалов при длительной тиреостатической терапии, которые не только дополняют фундаментальные аспекты состояния клеточноопосредованного иммунитета при болезни Грейвса, но и помогут определить терапевтические мишени для этиотропной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено клинико-иммунологическое обследование пациентов с болезнью Грейвса в зависимости от продолжительности стойкого медикаментозного эутиреоза.

Охарактеризованы изменения в фенотипическом составе Т-лимфоцитов периферической крови с учетом компенсации гипертиреоза и уровня антител к рТТГ. Установлены механизмы адаптационных изменений в иммунной системе больных болезнью Грейвса при длительной тиреостатической терапии, независимо от титра циркулирующих антител к рТТГ и продолжительности эутиреоидного состояния. В зависимости от продолжительности медикаментозного эутиреоза растет популяция регуляторных Т-лимфоцитов с фенотипом $CD3^{+}CD4^{+}CD127^{Low}CD25^{High}$ как в группе больных со стойким медикаментозным эутиреозом от 5 до 8 мес, так и у пациентов с длительностью эутиреоза от 9 до 12 мес. Повышение количества активированных Т-хелперов с фенотипом $CD3^{+}CD4^{+}CD25^{+}$ сохраняется у пациентов с длительностью медикаментозного эутиреоза более года. При болезни Грейвса с продолжительностью медикаментозного эутиреоза более 12 мес отмечается компенсаторное повышение регуляторных Т-лимфоцитов, а общее количество Т-хелперов восстанавливается до уровня контроля. Количество Treg в периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса повышается с увеличением длительности медикаментозного эутиреоза, но, несмотря на увеличение регуляторных Т-лимфоцитов, процент активированных Th-клеток остается высоким независимо от продолжительности эутиреоидного состояния при консервативном лечении тиамазолом (рис. 1).

Выявленные изменения в фенотипическом составе Т-лимфоцитов при длительном лечении тиамазолом демонстрируют необходимость разработки таргетной терапии, направленной на восстановление дефекта неспецифических и антигеноспецифических регуляторных Т-лимфоцитов, вследствие которого супрессорная функция регуляторных Т-клеток при болезни Грейвса активируется в меньшей степени.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Согласие пациентов. Все исследования выполнены с информированного согласия испытуемых и в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Источники финансирования. Исследование выполнялось на базе лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии

Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр Сибирского отделения Российской академии наук», обособленное подразделение «НИИ медицинских проблем Севера».

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием 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

- Geng L, Yang J, Tang X, et al. SLAM/SAP Decreased Follicular Regulatory T Cells in Patients with Graves' Disease. *J Immunol Res* [Internet]. 2021 Apr [cited 2021 Apr 19]: [about 11 p.]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8079219/pdf/JIR2021-5548463.pdf>
- García-Mayor RV, Álvarez-Vázquez P, Fluiter E, et al. Long-term remission following antithyroid drug withdrawal in patients with Graves' hyperthyroidism: parameters with prognostic value. *Endocrine*. 2019;63(2):316-322. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-018-1785-z>
- Yu W, Wu N, Li L, et al. Side effects of PTU and MMI in the treatment of hyperthyroidism: a systematic review and meta-analysis. *Endocr Pract*. 2020;26(2):207-217. doi: <https://doi.org/10.4158/EP-2019-0221>
- Park S, Song E, Oh HS, et al. When should antithyroid drug therapy to reduce the relapse rate of hyperthyroidism in Graves' disease be discontinued? *Endocrine*. 2019;65(2):348-356. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-019-01987-w>
- Park SY, Kim BH, Kim M, et al. The longer the antithyroid drug is used, the lower the relapse rate in Graves' disease: a retrospective multicenter cohort study in Korea. *Endocrine* [Internet]. 2021 Apr [cited 2021 Apr 15]: [about 8p.]. Available from: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s12020-021-02725-x.pdf>
- Chen Z, Liu Y, Hu S, Zhang M, et al. Decreased Treg Cell and TCR Expansion Are Involved in Long-Lasting Graves' Disease. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2021 Apr [cited 2021 Apr 12]: [about 12p.]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2021.632492/full>
- <https://rae-org.ru/> [Интернет]. Российская Ассоциация Эндокринологов. Доступно по: https://rae-org.ru/system/files/documents/pdf/kr_versiya_3.0_fin_otredaktirovan_16.05.2021g.pdf. Ссылка активна на 16.05.2021.
- De Leo S, Lee SY, Braverman LE. Hyperthyroidism. *Lancet*. 2016;388(10047):906-918. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00278-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00278-6)
- Shyamasunder AH, Abraham P. Measuring TSH receptor antibody to influence treatment choices in Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2017;86(5):652-657. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.13327>
- Zhang X, Olsen N, Zheng SG. The progress and prospect of regulatory T cells in autoimmune diseases. *J Autoimmun*. 2020;111:102-461. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102461>
- Granito A, Muratori L, Lalanne C, et al. Hepatocellular carcinoma in viral and autoimmune liver diseases: Role of CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells in the immune microenvironment. *World J Gastroenterol*. 2021;27(22):2994-3009. doi: <https://doi.org/10.3748/wjg.v27.i22.2994>
- Li Q, Wang B, Mu K, et al. The pathogenesis of thyroid autoimmune diseases: New T lymphocytes — Cytokines circuits beyond the Th1–Th2 paradigm. *J Cell Physiol*. 2019;234(3):2204-2216. doi: <https://doi.org/10.1002/jcp.27180>
- Савченко А.А., Дудина М.А., Борисов А.Г., и др. Влияние хелперных и регуляторных Т-клеток на фенотипический состав В-лимфоцитов крови и щитовидной железы при болезни Грейвса. // *Медицинская иммунология*. — 2018. — Т. 20. — №3. — С. 431-438. [Savchenko AA, Dudina MA, Borisov AG, et al. Effects of helper and regulatory cells on phenotypic composition of blood B lymphocytes and thyroid gland in Graves' disease. *Meditsinskaya Immunologiya*. 2018;20(3):431-438. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.15789/1563-0625-2018-3-431-438>
- Langenstein C, Schork D, Badenhop K, et al. Relapse prediction in Graves' disease: Towards mathematical modeling of clinical, immune and genetic markers. *Rev Endocr Metab Disord*. 2016;17(4):571-581. doi: <https://doi.org/10.1007/s11154-016-9386-8>
- Gallo D, Piantanida E, Gallazzi M, et al. Immunological Drivers in Graves' Disease: NK Cells as a Master Switcher. *Front Endocrinol (Lausanne)* [Internet]. 2020 Jul [cited 2020 Jul 17]; 11(406): [about 10 p.]. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fendo.2020.00406/full>
- Mukuta T, Nishikawa M, Arreaza G, et al. The effect of adding a surfeit of autologous CD8+ T cells to scid mice after secondary xenografts of Graves' thyroid tissue. *Thyroid*. 1996;6(5):429-436. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.1996.6.429>
- Inukai Y, Momobayashi A, Sugawara N, et al. Changes in expression of T-helper (Th) 1- and Th2-associated chemokine receptors on peripheral blood lymphocytes and plasma concentrations of their ligands, interferon-inducible protein-10 and thymus and activation-regulated chemokine, after antithyroid drug administration in hyperthyroid patients with Graves' disease. *Eur J Endocrinol*. 2007;156(6):623-630. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-07-0019>
- Werner SC, Ingbar SH. *Treatment of Thyrotoxicosis*. In: Braverman LE, Utiger RD, editors. *The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. P. 665-675.
- Mitsiades N, Poulaki V, Tseleni-Balafouta S, et al. Fas ligand expression in thyroid follicular cells from patients with thionamide-treated Graves' disease. *Thyroid*. 2000;10(7):527-532. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.2000.10.527>
- Ferrari SM, Fallahi P, Elia G, et al. Novel therapies for thyroid autoimmune diseases: An update. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2020;34(1):101-366. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101366>

Рукопись получена: 03.09.2021. Одобрена к публикации: 09.11.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

*Дудина Маргарита Андреевна, к.м.н. [Margarita A. Dudina, MD, PhD]; адрес: 660022, Россия, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1 [address: 1 Zeleznyaka street, 660022 Krasnoyarsk, Russia];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2776-927X>; eLibrary SPIN: 4854-1926; e-mail: margo85_@bk.ru

Догадин Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор [Sergey A. Dogadin, MD, PhD, Professor];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1709-466X>; eLibrary SPIN: 4803-3756; e-mail: sadogadin@gmail.com

Савченко Андрей Анатольевич, д.м.н., профессор [Andrei A. Savchenko, MD, PhD, Professor];

ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-5829-672X>; eLibrary SPIN: 3132-8260; e-mail: aasavchenko@yandex.ru

Беленюк Василий Дмитриевич [Vasiliy D. Belenyuk, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2848-0846>;

eLibrary SPIN: 6195-6630; e-mail: dyh.88@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Дудина М.А., Догадин С.А., Савченко А.А., Беленюк В.Д. Фенотипический состав Т-лимфоцитов периферической крови у пациентов с болезнью Грейвса при длительной тиреостатической терапии тиамазолом // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 39-49. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12812>

TO CITE THIS ARTICLE

Dudina MA, Dogadin SA, Savchenko AA, Belenyuk VD. T-lymphocytes phenotypic composition of peripheral blood in patients with Graves' disease undergoing conservative therapy with thiamazole. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):39-49. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12812>

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АДЕНОМ ГИПОФИЗА В РАМКАХ ФЕНОКОПИЙ СИНДРОМА МНОЖЕСТВЕННЫХ ЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЙ 1 ТИПА



© Д.А. Трухина^{1*}, Е.О. Мамедова¹, А.М. Лапшина¹, Е.В. Васильев¹, А.Н. Тюльпаков^{1,2}, Ж.Е. Белая¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН 1) — это редкое аутосомно-доминантное заболевание, обусловленное мутациями в гене *MEN1*, кодирующем белок менин. В случае выявления у пациента фенотипа МЭН 1 при отсутствии мутаций в гене *MEN1* состояние расценивается как фенокопия данного синдрома. Хотя в понимании функции менина был достигнут значительный прогресс, его значение в онкогенезе эндокринных желез все еще выясняется. Благодаря ключевой роли этого гена в физиологических и патологических процессах оценка экспрессии менина может дать ценную информацию.

ЦЕЛЬ. Определить, имеются ли какие-либо различия в экспрессии менина в тканях аденом гипофиза (АГ) у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН 1 и генетически подтвержденным МЭН 1 по сравнению с их спорадическими формами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Проведено одномоментное одноцентровое исследование: иммуногистохимическая (ИГХ) оценка экспрессии менина и типа секреции опухолей гипофиза пациентов с генетически подтвержденным МЭН 1 (гМЭН 1), фенокопиями МЭН 1 (фМЭН 1) и спорадической акромегалией (СА), оперированных в 2008–2020 гг. ИГХ-исследование выполнено при использовании антител к менину, пролактину, соматотропному, аденокортикотропному, фолликулостимулирующему, тиреотропному гормонам, Pit-1, T-box, ERA на заранее подготовленных срезах толщиной 3–4 мкм.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В исследование было включено 35 образцов опухолей гипофиза: гМЭН 1 — 9 образцов, фМЭН 1 — 12, СА — 14. Пациенты трех групп были сопоставимы по полу, размерам АГ, приему лекарственных препаратов. Группа гМЭН 1 отличалась от фМЭН 1 и СА по возрасту ($p=0,0005$).

У пациентов с гМЭН 1 экспрессия менина варьировала от отсутствия окрашивания (5/9) до интенсивного окрашивания цитоплазмы. В группе фМЭН 1 в основном присутствовала цитоплазматическая экспрессия менина (11/12). В группе СА окраска отсутствовала в 1 случае, ядерная экспрессия была выявлена в 6/14 случаев.

Группа фМЭН 1 показала значительно большую цитоплазматическую экспрессию менина, чем в группе гМЭН 1 ($p=0,006$). Группа гМЭН 1 также отличалась от группы СА по экспрессии менина ($p=0,012$). Статистически значимых различий между группами фМЭН 1 и СА выявлено не было ($p=0,049$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. По результатам исследования оценки экспрессии менина выявлено, что экспрессия в целом сохранена в АГ у фМЭН 1 и СА, хотя и с разной локализацией в структуре клетки (ядро и/или цитоплазма). В то же время экспрессия менина сильно варьирует в АГ у пациентов с гМЭН 1. По полученным данным можно предположить, что патогенез АГ при фМЭН 1 и СА может иметь сходство, однако, по всей видимости, имеются факторы, способствующие появлению нескольких опухолей эндокринных желез у одного человека с фМЭН 1. Для понимания процесса необходимо дальнейшее исследование ассоциированных с МЭН 1 генов, эпигенетических факторов, сигнальных путей, в которых участвует менин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: менин, синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа; фенокопия; аденома гипофиза; гистология.

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PITUITARY ADENOMAS IN THE PHENOCOPY OF MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 1

© Diana A. Trukhina^{1*}, Elizaveta O. Mamedova¹, Anastasia M. Lapshina¹, Evgeny V. Vasilyev¹, Anatoly N. Tiulpakov^{1,2}, Zhanna E. Belaya¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

BACKGROUND: Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1) is a rare autosomal dominant disorder caused by mutations in the *MEN1* gene, which encodes the menin protein. If a patient has the MEN 1 phenotype in the absence of mutations in the *MEN1* gene, the condition is classified as a phenocopy of this syndrome. Although significant progress has been made in understanding the function of menin, its role in the oncogenesis of the endocrine glands is still being elucidated. Due to its key role in physiological and pathological processes, the assessment of the menin expression can provide valuable information.



AIM: to determine whether there are any differences in the expression of menin in the pituitary adenomas (PA) in patients with phenocopy of MEN 1 (phMEN 1) and genetically confirmed MEN 1 (gMEN 1) compared with their sporadic forms.

MATERIALS AND METHODS: immunohistochemical assessment of the menin expression was carried out in PA of patients with gMEN 1, phMEN 1 and sporadic acromegaly (SA), surgically treated in 2008–2020. IHC was performed using antibodies to menin, PRL, GH, ACTH, FSH, TSH, Pit-1, T-box, ERA on previously prepared histological section.

RESULTS: The study included 35 samples of PA: gMEN 1 — 9 samples, phMEN 1 — 12 (somatotropinomas + PHPT); CA — 14 samples. The patients were comparable by gender, adenoma size, and drug intake. The gMEN 1 group differed from phMEN 1 and SA by age ($p = 0.0005$).

In patients with gMEN 1, the expression of menin varied from no staining (5/9) to intense cytoplasm staining. Cytoplasmic expression of menin was mainly present (11/12) in the phMEN 1. In the SA group, there was no staining in 1 case; nuclear expression was detected in 6/14 cases.

The phMEN 1 group showed significantly higher cytoplasmic expression of menin than the gMEN 1 group ($p = 0.006$). The gMEN 1 group also differed from the SA group ($p = 0.012$). There were no statistically significant differences between the phMEN 1 and SA groups ($p = 0.049$).

CONCLUSION: It was revealed that the menin expression, in general, is retained in phMEN 1 and SA groups, although with different localization in the cell structure (nucleus and / or cytoplasm). At the same time, the expression of menin varies greatly in patients with gMEN 1. According to the data obtained, it can be assumed that the pathogenesis of PA in phMEN 1 and SA may have similarities; however, there could be factors contributing to the appearance of several tumors of the endocrine glands in one person with phMEN 1. To understand this process, it is necessary to further study the genes associated with MEN 1, epigenetic factors, signaling pathways in which menin is involved.

KEYWORDS: *menin; multiple endocrine neoplasia type 1; phenocopy; pituitary adenoma; histology.*

ВВЕДЕНИЕ

Аденомы гипофиза (АГ) — это доброкачественные опухоли передней доли гипофиза, составляющие до 10% всех внутричерепных опухолей и встречающиеся в 15–20% случаев по данным аутопсии или в качестве рентгенологических находок [1]. АГ бывают как спорадическими (95%), так и в рамках наследственных синдромов (5%), таких как семейные изолированные аденомы гипофиза (FIPA), синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН 1), X-сцепленный акрогигантизм, синдром ЗР и др. [2, 3].

Синдром МЭН 1 — это редкое аутосомно-доминантное заболевание, обусловленное мутациями в гене *MEN1*, кодирующем белок менин. У пациентов с синдромом МЭН 1 АГ встречаются примерно в 40% всех случаев [4]. Большинство АГ при синдроме МЭН 1 представлены пролактин-секретирующими (42–62%) или гормонально-неактивными опухолями (15–42%); АГ, секретирующие гормон роста и адренокортикотропный гормон (АКТГ), встречаются реже (6,5–9 и 3–4% случаев соответственно) [5]. АГ также имеют более высокую вероятность сочетанной секреции нескольких гормонов, считаются более агрессивными и более резистентными к проводимому лечению. Соматические мутации гена *MEN1* редко можно обнаружить в спорадических опухолях гипофиза [6].

В 10–30% семейных случаев МЭН 1 и 60–80% спорадических случаев синдрома мутации в гене *MEN1* не выявляются, что может быть связано с крупными делециями данного гена, мутациями в промоторе или других нетранслируемых областях, которые обычно не анализируются в «рутинных» генетических исследованиях [7]. В случае выявления у пациента фенотипа МЭН 1 при отсутствии мутаций в гене *MEN1* состояние расценивается как фенокопия данного синдрома. Наиболее часто при фенокопиях МЭН 1 имеется сочетание АГ (чаще — соматотропиномы) и опухоли околощитовидной железы (приводящей к развитию первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ)). Причина сочетания нескольких

эндокринных МЭН 1-ассоциированных опухолей у таких пациентов остается неизвестной. Как возможные причины могут быть рассмотрены мутации в других, еще не установленных генах, эпигенетические изменения, а также случайное сочетание нескольких опухолей у одного пациента [8, 9].

Ген *MEN1* локализован на длинном плече хромосомы 11q13 и кодирует многофункциональный белок менин [10]. Менин выполняет интегральные ядерные функции, поскольку он напрямую взаимодействует с ДНК (независимым от последовательности образом) и с белками, ответственными за транскрипцию (активацию или супрессию), передачу сигналов клетки, регуляцию репарации ДНК и структурную целостность клетки [11]. В качестве опухолевого супрессора менин, как было выявлено, связывает транскрипционный фактор AP-1 JunD и взаимодействует со SMAD3, каноническим эффектором пути TGF- β , ингибируя рост клеток [12, 11]. Важная роль менина в ядре подчеркивается в исследованиях на мышах *in vivo*, которые показали, что менин регулирует рост клеток, уменьшая экспрессию ингибиторов циклин-зависимой киназы p18^{Ink4c} и p27^{Kip1}, чтобы снизить активность циклин-зависимой киназы 2 и ограничить пролиферацию клеток [13, 14].

Хотя в понимании функции менина был достигнут значительный прогресс, его роль в онкогенезе эндокринных желез все еще выясняется. Благодаря своей ключевой роли в физиологических и патологических процессах оценка менина может дать ценную информацию в опухолеобразовании эндокринных желез, в том числе и аденом гипофиза. Были проведены работы, в которых оценивалась экспрессия менина в АГ. В 2002 г. С. Wrocklage и соавт. исследовали экспрессию менина в 11 спорадических опухолях гипофиза и 4 нормальных гипофизах с помощью антител к менину и выявили большую экспрессию менина в опухолевых тканях, чем в нормальных тканях [15]. М. Theodoropoulou и соавт. проанализировали экспрессию менина в 7 нормальных гипофизах и 68 спорадических АГ. В гипофизах без опухоли была обнаружена выраженная ядерная

экспрессия менина; в спорадических АГ экспрессия менина была различной, при этом высокий процент случаев демонстрировал значительное снижение экспрессии менина по сравнению с нормальным гипофизом; в случае пролактин-продуцирующей карциномы экспрессия менина отсутствовала [16]. К. Kooball и соавт. исследовали экспрессию менина в семье с мутацией в гене *MEN1* в нетранслируемой области 5'UTR. При анализе белковых лизатов, полученных из трансформированных вирусом Эпштейна–Барр лимфобластоидных клеток, выделенных от пациентов с МЭН 1 и относительно здоровых индивидуумов, ученые выявили снижение экспрессии менина у всех в семье с мутацией по сравнению с двумя здоровыми родственниками и двумя неродственными нормальными контролями [17].

Учитывая отсутствие исследований в группах фенокопий синдрома МЭН 1, в данной работе мы решили выяснить, существуют ли какие-либо различия в экспрессии менина в тканях АГ у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 (фМЭН 1) и генетически подтвержденным МЭН 1 (гМЭН 1) по сравнению с их спорадическими формами. Знание того, является ли экспрессия менина одинаковой или отличной между группами, может дать представление о роли менина в онкогенезе АГ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Проведено наблюдательное одномоментное одноцентровое исследование.

Место и время проведения исследования

Исследование проводилось в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Были использованы образцы тканей гипофиза пациентов, оперированных с 2008 по 2020 гг.

Критерии соответствия

Критерии включения: образцы тканей АГ, полученных в ходе трансназальной трансфеноидальной аденомэктомии пациентов с гМЭН 1, фМЭН 1, со спорадической акромегалией (СА).

Критерии исключения: злокачественные новообразования, лучевая терапия, отсутствие генетического тестирования у пациентов с фенотипом МЭН 1.

Способ формирования выборки: выборки были сформированы путем сплошного включения наблюдений. Предварительного расчета выборки не проводилось. Пациенты были разделены на 3 группы: набор в первые две группы определялся результатом генетического исследования, 3-я группа представляла собой СА, куда были включены пациенты с соматотропиномами и отсутствием других эндокринных или неэндокринных образований.

Генетическое тестирование

Генетическое тестирование было проведено всем пациентам с фенотипом синдрома МЭН. Секвенирование было проведено по Сэнгеру и методом высокопроизводительного параллельного секвенирования (next-generation sequencing — NGS) панели генов-кандидатов (*MEN1*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*, *AIP*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *PRKAR1A*, *GNAS*, *PRKCA*, *POU1F1*, *CASR*, *CDC73*). При отсутствии мутации в гене *MEN1* про-

веден MLPA (метод мультиплексной амплификации лигированных зондов) для обнаружения крупных делеций/дупликаций кодирующей области *MEN1*. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным методом (набор Pure Link, Genomic DNA Mini Kit, Life Technologies, США). Подготовка библиотек проводилась в соответствии с рекомендациями производителей. Секвенирование осуществлялось на Illumina MiSeq (Illumina, США). Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась с помощью программных модулей Genome Analysis Toolkit (GATK) ver. 4.1.2.0 (Broad Institute, Cambridge, MA, USA). Для аннотирования вариантов нуклеотидной последовательности использовалась программа ANNOVAR (<http://annovar.openbioinformatics.org>). Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности проводилась согласно международным и российским рекомендациям [18, 19].

В группу фМЭН 1 включались пациенты при отсутствии выявления мутации во всех вышеперечисленных генах. В группе СА генетическое тестирование не проводилось ввиду отсутствия клинических показаний для проведения исследования.

Иммуногистохимическое исследование

С парафиновых блоков образцов тканей опухолей гипофиза, полученных в ходе трансназальной трансфеноидальной аденомэктомии, были изготовлены срезы толщиной 3–4 мкм, которые наносили на адгезивные стекла (Menzel GmbH&Co KG, Германия). Депарафинирование, демаскировка антигенов проводились при помощи высоко- и низко pH-буферов (Leica). Антитела (АТ), используемые для определения типа секреции АГ и экспрессии менина: АТ к менину (Abcam ab2605), которые связывались с частью С-конца менина человека; АТ к пролактину, соматотропному, адренкортикотропному, фолликулостимулирующему, тиреотропному гормонам (Dako), Pit-1, T-box (Novus Bio), ERA (Abcam).

При оценке экспрессии менина использовалась 4-балльная система оценки: отсутствие окраски обозначалось как 0; цитоплазматическая окраска в зависимости от степени выраженности окрашивания обозначалась как ц1 (слабая), ц2 (средняя), ц3 (сильная); ядерная окраска в зависимости от степени выраженности окрашивания обозначалась как я1, я2, я3 соответственно.

Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен на заседании локального этического комитета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России от 10 марта 2021 г. (протокол №4).

Статистический анализ

Для статистической обработки материала использовались программы Statistica 13.3 (StatSoft США), IBM SPSS 23. Данные описательной статистики представлены в виде медианы, а также 25-го и 75-го перцентилей. Для описания качественных данных рассчитывали абсолютные (n) и относительные значения (%). Нормальность распределения проверялась критерием Шапиро–Уилка. Связь между количественными показателями устанавливали, используя непараметрический метод Краскела–Уоллиса ANOVA, с поправкой на множественные сравнения Бонферрони ($p < 0,017$). Для анализа связей между

категориальными переменными использовали критерий χ -квадрат Пирсона и точный критерий Фишера. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика пациентов

В исследование было включено 35 образцов опухолей гипофиза. В группу гМЭН 1 вошли 9 образцов, в группу фМЭН 1 — 12; в группу СА — 14 образцов.

Пациенты трех групп были сопоставимы по полу, размерам АГ, приему лекарственных препаратов. Группа гМЭН 1 отличалась от фМЭН 1 и СА по возрасту ($p = 0,0005$): пациенты в этой группе были моложе на момент проведения трансназальной транссфеноидальной аденомэктомии (табл. 1).

АГ в группе гМЭН 1 представлены 3 кортикотропиномами, 2 соматотропиномами, 1 молчащей гонадотропиномой, 1 пролактиномой; две опухоли секретируют несколько гормонов: АКТГ-ПРЛ и ТТГ-ПРЛ. ПГПТ диагностирован

у 8 из 9 пациентов. Более подробно компоненты синдрома МЭН 1 в группе гМЭН 1 представлены в таблице 2.

В группе фМЭН 1 все АГ являлись соматотропиномами: 5 — редкогранулированных соматотропином (РГС), 7 — плотногранулированных соматотропином (ПГС). У всех пациентов группы фМЭН 1 был установлен диагноз ПГПТ (паратормон 104,85 пг/мл [91,63; 165,85]; кальций, скорректированный по альбумину, 2,71 ммоль/л [2,61; 2,78]). У 3 пациентов, кроме поражения гипофиза и околощитовидных желез, были выявлены другие образования (табл. 3).

В группе СА по данным гистологической характеристики АГ были разделены на 5 РГС и 9 ПГС. У пациентов не было обнаружено других эндокринных и неэндокринных заболеваний. Уровень кальция, скорректированного по альбумину, равнялся 2,41 ммоль/л [2,36; 2,45].

Экспрессия менина по данным ИГХ-исследования

Результаты окрашивания на менин и сравнение результатов оценки экспрессии менина между тремя группами представлены в таблице 4. В качестве

Таблица 1. Клинические характеристики исследуемых групп

Показатель	гМЭН 1 (1) n=9	фМЭН 1 (2) n=12	СА (3) n=14	р-критерий
Возраст на момент проведения операции, лет	36 [27; 47]	59 [56; 65]	56 [53; 62]	0,0005 $p_{1-2} = 0,0005$ $p_{2-3} = 1,00$ $p_{1-3} = 0,0067$
Пол, жен., n (%)	10 (71,4)	10 (83,3)	6 (66,6)	0,65
Размер аденомы, микро, %	4 (44,4)	3 (25)	6 (42,8)	0,56
Прием лекарственных препаратов:				
- аналоги соматостатина, n (%)	—	5 (41,7)	4 (28,6)	0,02
- агонисты дофаминовых рецепторов, n (%)	5 (55,6)	—	2 (14,3)	

Таблица 2. Характеристика пациентов в группе генетически подтвержденного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа

№	Возраст на момент проведения операции; пол	Образования	Гистологическая характеристика АГ
1	36; ж	Соматотропинома; гиперплазия левого надпочечника; ГН НЭО ПЖЖ; ПГПТ; образование правой молочной железы	ПГС
2	27; ж	Кортикотропинома; ПГПТ; ГН НЭО ПЖЖ	ПГК
3	47; ж	Кортикопролактинома; ПГПТ; гастринома; ГН НЭО ПЖЖ; объемное образование правого яичника	Двойная кортико- и пролактинома
4	20; м	Кортикотропинома	ПГК
5	57; м	Соматотропинома; ПГПТ	ПГС
6	37; ж	Кортикотропинома; ПГПТ; двусторонняя гиперплазия надпочечников	ПГК
7	33; ж	Пролактинома; ПГПТ	ПГП
8	13; м	Тиреопролактинома; ПГПТ	Полигормональная Pit1 позитивная опухоль гипофиза (ТТГ+ПРЛ)
9	49; ж	Гонадотропинома; ПГПТ; менингиомы правой лобно-теменной области	Молчащая гонадотропинома

Примечания: ПГС — плотногранулированная соматотропинома; ПГК — плотногранулированная кортикотропинома; ПГП — плотногранулированная пролактинома; ПГПТ — первичный гиперпаратиреоз; ГН НЭО ПЖЖ — гормонально-неактивная нейроэндокринная опухоль поджелудочной железы.

Таблица 3. Характеристика пациентов с множественными образованиями в группе фенокопий синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа

№	Возраст на момент проведения операции; пол	Образования	Гистологическая характеристика АГ
1	59, ж	Соматотропинома; ПГПТ; ГНО надпочечника; ГН НЭО ПЖЖ, нейрофиброма правого забрюшинного пространства; гемангиомы лобной кости; ThXI позвоночника	ПГС
2	68, ж	Соматотропинома; ПГПТ; ГНО обоих надпочечников; аденокарцинома правой почки	ПГС
3	72, ж	Соматотропинома; ПГПТ; кистозное образование головки ПЖЖ; кисты обеих почек, печени; гиперплазия обоих надпочечников	ПГС

Примечания: ПГС — плотногранулированная соматотропинома; ПГК — плотногранулированная кортикотропинома; ПГП — плотногранулированная пролактинома; ПГПТ — первичный гиперпаратиреоз; ГН НЭО ПЖЖ — гормонально-неактивная нейроэндокринная опухоль поджелудочной железы; ГНО — гормонально-неактивное образование.

Таблица 4. Результаты окрашивания на менин в группах фенокопиями, генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа и спорадической акромегалией, СА.

Окраска/Группы	гМЭН 1 (1) n=9	фМЭН 1 (2) n=12	СА (3) n=14	р-критерий
Ядерная	0	1 (с)	6 (с-3; ср-3)	0,001
Цитоплазматическая	4 (с-3; ср-1)	11 (с-1; ср-7; сл-3)	7 (ср)	$p_{1-2}=0,006$ $p_{1-3}=0,012$
Отсутствие	5	0	1	$p_{2-3}=0,049$

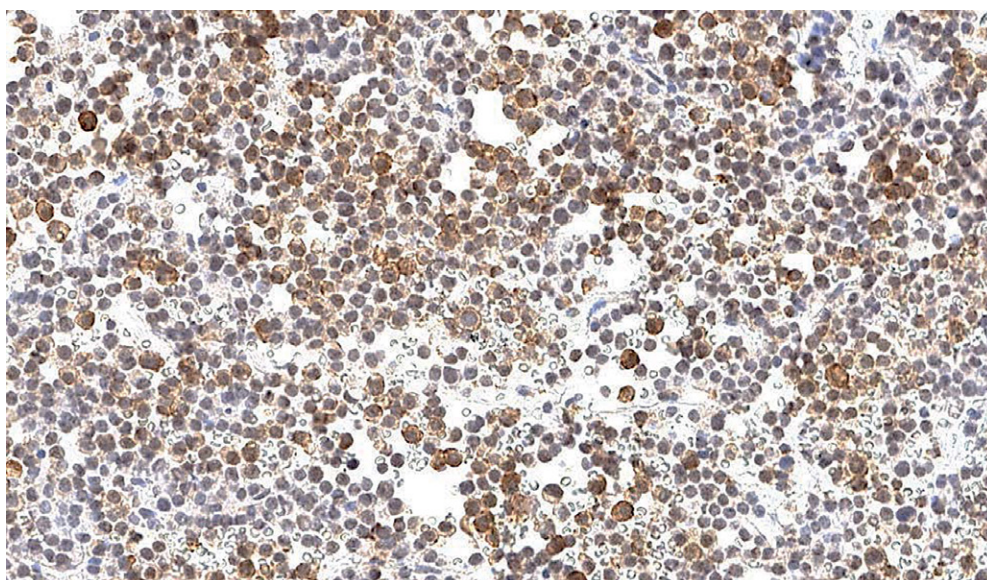
Примечания: с — слабая; ср — средняя; сл — сильная.

положительного контроля в работу были взяты образцы ткани нормального гипофиза, полученные на аутопсии и после оперативного вмешательства без признаков патологии. Также использовалась ткань нормальной поджелудочной железы (ПЖЖ) после оперативного вмешательства по поводу нейроэндокринной опухоли (НЭО) ПЖЖ. В ткани гипофиза обнаружена цитоплазматическая экспрессия менина; в эндокринной части ткани ПЖЖ (островки Лангерганса) — ядерная экспрессия.

Группа фМЭН 1 показала значительно большую цитоплазматическую экспрессию менина (рис. 1), чем в группе гМЭН 1 ($p=0,006$). Группа гМЭН 1 также отличалась

от группы СА по экспрессии менина: ядерной окраски в группе 1 не было выявлено ни в одном случае (рис. 2), обнаруженная цитоплазматическая экспрессия менина в 3 образцах была слабой степени выраженности, в одном — средней ($p=0,012$) (рис. 3).

Статистически значимых различий между группами фМЭН 1 и СА выявлено не было ($p=0,049$). Хотя между этими двумя группами не было обнаружено различий, интересно, что в группе фМЭН 1 только в одном случае была выявлена слабая ядерная экспрессия менина, тогда как в группе СА ядерная экспрессия была выявлена в 6 случаях (3 только в ядре, 3 и в ядре, и в цитоплазме) (рис. 4).

**Рисунок 1.** Цитоплазматическая экспрессия менина в образце ткани аденомы гипофиза у пациента с фенокопией синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа, x200.

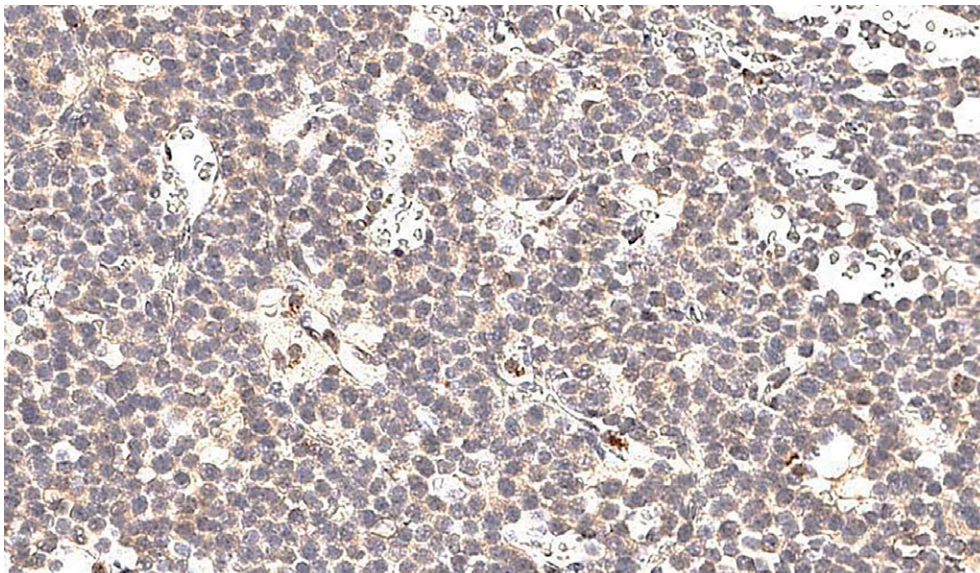


Рисунок 2. Отсутствие экспрессии менина и в ядре, и в цитоплазме в образце ткани аденомы гипофиза у пациента с генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа, x200.

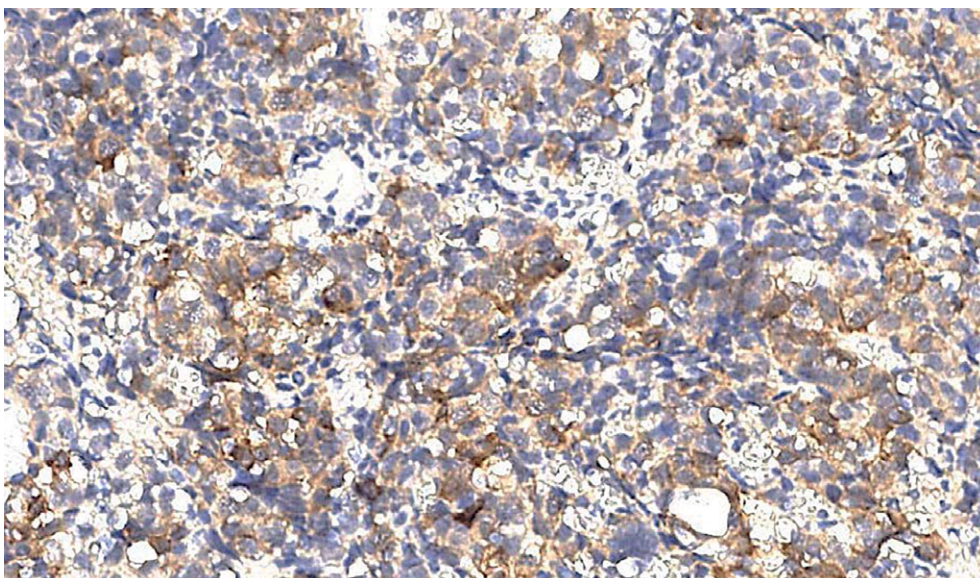


Рисунок 3. Слабая цитоплазматическая экспрессия менина в образце ткани аденомы гипофиза у пациента с генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа, x200.

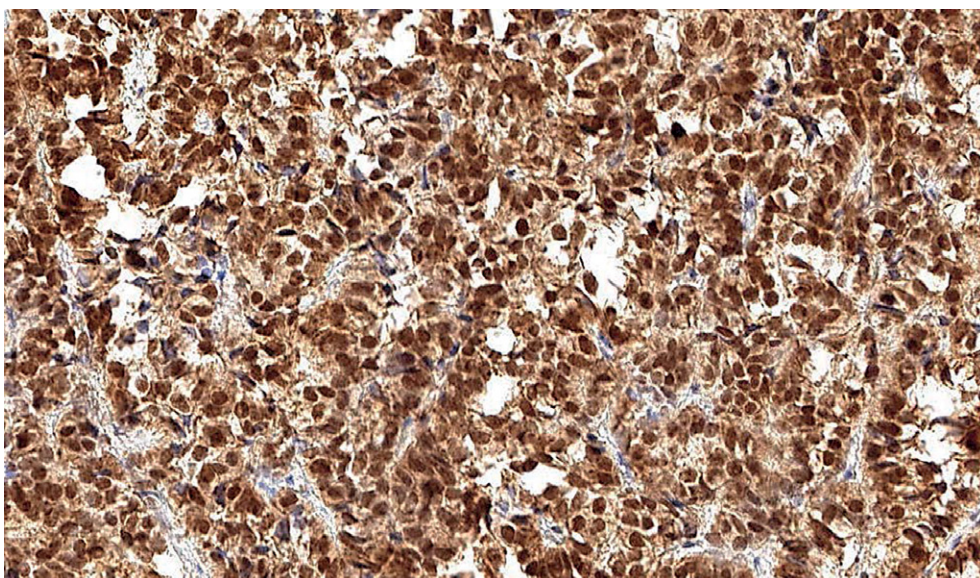


Рисунок 4. Ядерная и цитоплазматическая экспрессия менина в образце ткани аденомы гипофиза у пациента со спорадической акромегалией.

ОБСУЖДЕНИЕ

В нашем исследовании по оценке экспрессии менина в тканях АГ в группах с гМЭН 1 и его фенотипами по сравнению с группой СА в большинстве случаев экспрессия менина отсутствовала в группе с гМЭН 1 (5/9), однако мы также выявили отсутствие экспрессии в 1 случае в группе СА. Цитоплазматическая экспрессия менина, преимущественно слабой степени интенсивности, выявлена в 4 образцах в группе гМЭН 1 и в 7 образцах в группе фМЭН 1; по данным некоторых исследований, экспрессия менина может наблюдаться и при наличии мутаций в гене *MEN1* [20, 21]. А. Sonoda, и соавт. в своей работе исследовали клинико-патологические особенности и экспрессию менина в НЭО ПЖЖ. Ими были проанализированы 7 НЭО ПЖЖ, ассоциированных с мутацией в гене *MEN1*, и 70 спорадических НЭО ПЖЖ. В 6/7 НЭО ПЖЖ с МЭН 1 отсутствовала ядерная экспрессия менина, в 2 — была выявлена цитоплазматическая экспрессия; в 21 спорадических НЭО ПЖЖ также отсутствовала ядерная экспрессия менина, что, по мнению авторов, могло быть, вероятно, связано с включением образцов с мутациями в гене *MEN1* [20]. Вероятнее всего, в нашей работе отсутствие экспрессии в одном случае группы СА может быть также ввиду возможной соматической мутации в *MEN1* или эпигенетических изменений.

V. Corbo и соавт. в своем исследовании изучали генетические характеристики и экспрессию менина в 169 спорадических НЭО ПЖЖ. Исследователи выявили ядерную экспрессию и слабую цитоплазматическую экспрессию менина в нормальных тканях ПЖЖ, тогда как в 80% НЭО экспрессия была аномальной (135/140 — цитоплазматическая; 111/140 — ядерная; 5/140 — отсутствие экспрессии). В 27 НЭО ПЖЖ выявлена мутация в *MEN1* (25 соматических и 2 герминальных мутации); в 5 НЭО ПЖЖ отсутствовала экспрессия менина в ядре, и в цитоплазме. Авторы отметили, что в половине случаев с отсутствием ядерной экспрессии менина и в трети случаев со слабой ядерной экспрессией и умеренной или интенсивной цитоплазматической экспрессией имелись мутации в *MEN1*. Они предположили, что некоторые из мутаций вызывают преждевременную блокировку транскрипции, образуя патологический белок, который накапливается в цитоплазме из-за отсутствия по крайней мере одного из сигналов ядерной локализации менина. Мутации, не приводящие к образованию патологического белка, также могут частично влиять на ядерный транспорт, возможно, вызывая неполный процессинг белка или препятствуя взаимодействию менина с другими белками, что может объяснить обилие цитоплазматической экспрессии менина, наблюдаемого при наличии мутации в *MEN1* [21]. Гипотеза была подтверждена вестерн-блоттингом, демонстрирующим экспрессию менина в опухолях с мутациями в гене *MEN1*.

Y. Cao и соавт. продемонстрировали *in vitro*, что менин способен перемещаться между ядром и цитоплазмой посредством ядерных экспортных сигналов. Что еще более интересно, менин напрямую взаимодействует с β -катенином (Wnt/ β -катенин сигнальный путь) и при сверхэкспрессии менина предотвращает накопление в ядре β -катенина, выводя белок за пределы ядра. Они продемонстрировали, что мутации в доменах, ответственных

за ядерные экспортные сигналы, могут нарушать экспортную функцию менина. Эти и результаты других исследований предполагают, что патологические состояния, затрагивающие функции менина, могут изменять клеточную локализацию его интерактора (например, β -катенина) и позволяют сделать предположение о том, что аномальная экспрессия менина может возникнуть в случае каких-либо изменений со стороны его интерактора (например, опухоли могут накапливать другие мутации, которые способны изменять экспрессию интерактора) [22–24].

В регуляции экспрессии менина принимают участие и другие сигнальные пути. Соматостатин усиливает экспрессию менина посредством подавления рецептора SSTR2A цАМФ-РКА сигнального пути [24]. Кратковременная стимуляция глюкозой подавляет экспрессию менина посредством фосфорилирования и ингибирования фактора транскрипции FOXO1 через сигнальный путь PI_3K/Akt [25], а K-Ras подавляет экспрессию менина, способствуя связыванию DNMT1 с промотором гена *MEN1* и увеличивая метилирование ДНК, тогда как менин ингибирует Ras-опосредованную передачу сигналов [26]. Эпигенетическая регуляция экспрессии менина также может происходить посредством микро-РНК, например, при связывании miR-24-1 с 3'-нетранслируемой областью (3'-UTR) мРНК менина подавляется его экспрессия [27, 28]. Кроме того, имеются посттрансляционные модификации менина, включая сумоилирование по лизину 591, фосфорилирование по серину 394 и быструю деградацию с помощью убиквитин-протеасомного пути [11].

Как упоминалось ранее, мутации в других ассоциированных генах способствуют изменению экспрессии менина. K. Lines и соавт. в своем исследовании оценили потенциальную роль генетических модификаторов в развитии опухолей у взрослых мышей *Men1^{+/-}*, так как определение таких модификаторов может обеспечить лучшее понимание функции менина и его молекулярных взаимодействий в эндокринных опухолях, а также предоставить инструмент для прогнозирования появления опухолей у пациентов с мутациями в гене *MEN1* и новые мишени как для моно-, так и для комбинированной терапии. В общей сложности были изучены 275 мышей *Men1^{+/-}* в возрасте 5–26 мес конгенных штаммов C57BL/6 и 129S6/SvEv. Исследователи выявили, что опухоли гипофиза и надпочечников развивались раньше у самцов C57BL/6 и самок 129S6/SvEv соответственно, а опухоли поджелудочной железы и яичек развивались раньше у самцов 129S6/SvEv. По данным ИГХ-исследования во всех опухолях отсутствовала экспрессия менина. При анализе последовательности всего генома мышей 129S6/SvEv и C57BL 6 *Men1^{+/-}* выявили >54 000 различных вариантов модификаторов в >300 генах. Выявленные гены (*Kras*, *Wnt2b*, *Il3ra* и *Tnfrsf10a*) связаны с сигнальными путями, участвующими в опухолеобразовании, и потенциально могут быть модификаторами *MEN1*, поскольку менин подавляет MAPK-управляемую пролиферацию KRAS, контролирует передачу сигналов wnt посредством взаимодействия с β -катенином, регулирует экспрессию интерлейкинов и способствует ФНО- α апоптозу за счет активации каспазы 8 [29].

Также обращает на себя внимание, что аутопсийный гипофиз и нормальная ткань гипофиза в поле зрения АГ,

полученные после операции, имели только цитоплазматическую экспрессию. Самая слабая экспрессия была обнаружена в нормальных гипофизах. По данным исследований, это может быть результатом посмертной деградации белка в ядре [16].

Наша работа имела некоторые ограничения: исследование было ретроспективным с малым количеством образцов в выборке ввиду редко встречающихся патологий. Также существует небольшая вероятность того, что пациенты с мутациями в гене *MEN1* могли быть включены в спорадическую группу. Для полного понимания картины необходимы дальнейшие исследования с определением соматических мутаций и потерей гетерозиготности гена *MEN1*, а также исследование эпигенетических факторов, сигнальных путей, в которых участвует менин.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам исследования оценки экспрессии менина в образцах тканей АГ в группах с гМЭН 1, фМЭН 1 и СА было выявлено, что экспрессия менина в целом сохранена в АГ у фМЭН 1 и спорадических соматотропинах, хотя и с разной локализацией в структуре клетки (ядро и/или цитоплазма). В то же время экспрес-

сия менина сильно варьирует в АГ у пациентов с истинным синдромом МЭН 1. По полученным данным можно предположить, что патогенез АГ при фМЭН 1 и СА может иметь сходства, однако при фМЭН 1, по всей видимости, имеются факторы, которые способствуют возникновению нескольких опухолей эндокринных желез у одного человека. Для понимания процесса необходимо дальнейшее исследование ассоциированных с МЭН 1 генов, эпигенетических факторов, сигнальных путей, в которых участвует менин.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках гранта Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых — кандидатов наук № МК-1100.2020.7 «Морфологические и молекулярно-генетические особенности аденом гипофиза в рамках феохромоцитомы множественных эндокринных неоплазий 1 типа».

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. Lim CT, Korbonits MK. Update on the clinicopathology of pituitary adenomas. *Endocr Pract.* 2018;24(5):473-488. doi: <https://doi.org/10.4158/EP-2018-0034>
2. Daly AF, Rixhon M, Adam C, et al. High prevalence of pituitary adenomas: a cross-sectional study in the province of Liege, Belgium. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(12):4769-4775. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2006-1668>
3. Tatsi C, Stratakis CA. The Genetics of Pituitary Adenomas. *J Clin Med.* 2019;9(1):30. doi: <https://doi.org/10.3390/jcm9010030>
4. Giusti F, Cianferotti L, Boaretto F, et al. Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1: institution, management, and data analysis of a nationwide multicenter patient database. *Endocrine.* 2017;58(2):349-359. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-017-1234-4>
5. de Laat JM, Dekkers OM, Pieterman CR, et al. Long-Term Natural Course of Pituitary Tumors in Patients With MEN1: Results From the DutchMEN1 Study Group (DMSC). *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(9):3288-3296. doi: <https://doi.org/10.1210/JC.2015-2015>
6. Karhu A, Aaltonen LA. Susceptibility to pituitary neoplasia related to MEN-1, CDKN1B and AIP mutations: an update. *Hum Mol Genet.* 2007;16(R1):R73-R79. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm036>
7. Falchetti A. Genetics of multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome: what's new and what's old. *F1000Research.* 2017;6:73. doi: <https://doi.org/10.12688/f1000research.7230.1>
8. Thakker RV, Newey PJ, Walls GV, et al. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(9):2990-3011. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1230>
9. Nachtigall LB, Guarda FJ, Lines KE, et al. Clinical MEN-1 Among a Large Cohort of Patients With Acromegaly. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020;105(6):e2271-e2281. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa142>
10. Larsson C, Skogseid B, Oberg K, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1 gene maps to chromosome 11 and is lost in insulinoma. *Nature.* 1988;332(6159):85-87. doi: <https://doi.org/10.1038/332085a0>
11. Matkar S, Thiel A, Hua X. Menin: a scaffold protein that controls gene expression and cell signaling. *Trends Biochem Sci.* 2013;38(8):394-402. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2013.05.005>
12. Kaji H, Canaff L, Lebrun JJ, et al. Inactivation of menin, a Smad3-interacting protein, blocks transforming growth factor type beta signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2001;98(7):3837-3842. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.061358098>
13. Franklin DS, Godfrey VL, O'Brien DA, et al. Functional collaboration between different cyclin-dependent kinase inhibitors suppresses tumor growth with distinct tissue specificity. *Mol Cell Biol.* 2000;20(16):6147-6158. doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.20.16.6147-6158.2000>
14. Schnepf RW, Chen YX, Wang H, et al. Mutation of tumor suppressor gene Men1 acutely enhances proliferation of pancreatic islet cells. *Cancer Res.* 2006;66(11):5707-5715. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-4518>
15. Wrocklage C, Gold H, Hackl W, et al. Increased menin expression in sporadic pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002;56(5):589-594. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.2002.01516.x>
16. Theodoropoulou M, Cavallari I, Barzon L, et al. Differential expression of menin in sporadic pituitary adenomas. *Endocr Relat Cancer.* 2004;11(2):333-344. doi: <https://doi.org/10.1677/erc.0.0110333>
17. Kooball KG, Boon H, Cranston T, et al. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1) 5'UTR Deletion, in MEN1 Family, Decreases Menin Expression. *J Bone Miner Res.* 2021;36(1):100-109. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4156>
18. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405-423. doi: <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
19. Рыжкова О.П., Кардымон О.Л., Прохорчук Е.Б., и др. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) (редакция 2018, версия 2) // *Медицинская генетика*. — 2019. — Т. 18. — №2. — С. 3-23. [Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, et al. Guidelines for the interpretation of massive parallel sequencing variants (update 2018, v2). *Medical genetics.* 2019;18(2):3-24. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>
20. Sonoda A, Yamashita YI, Kondo T, et al. Clinicopathological features and menin expression of pancreatic neuroendocrine neoplasm associated with multiple endocrine neoplasia type 1. *J Hepatobiliary Pancreat Sci.* 2020;27(12):984-991. doi: <https://doi.org/10.1002/jhbp.739>
21. Corbo V, Dalai I, Scardon M, et al. MEN1 in pancreatic endocrine tumors: analysis of gene and protein status in 169 sporadic neoplasms reveals alterations in the vast majority of cases. *Endocr Relat Cancer.* 2010;17(3):771-783. doi: <https://doi.org/10.1677/ERC-10-0028>

22. Cao Y, Liu R, Jiang X, et al. Nuclear-cytoplasmic shuttling of menin regulates nuclear translocation of {beta}-catenin. *Mol Cell Biol*. 2009;29(20):5477-5487. doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.00335-09>
23. Kim B, Song TY, Jung KY, et al. Direct interaction of menin leads to ubiquitin-proteasomal degradation of {beta}-catenin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;492(1):128-134. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.08.011>
24. Mensah-Osman E, Zavros Y, Merchant JL. Somatostatin stimulates menin gene expression by inhibiting protein kinase A. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2008;295(4):G843-G854. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00607.2007>
25. Zhang H, Li W, Wang Q, et al. Glucose-mediated repression of menin promotes pancreatic {beta}-cell proliferation. *Endocrinology*. 2012;153(2):602-611. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2011-1460>
26. Wu Y, Feng ZJ, Gao SB, et al. Interplay between menin and K-Ras in regulating lung adenocarcinoma. *J Biol Chem*. 2012;287(47):40003-40011. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.382416>
27. Мамедова Е.О., Димитрова Д.А., Белая Ж.Е., и др. Роль некодирующих РНК в патогенезе синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа // *Проблемы Эндокринологии*. — 2020. — Т. 66. — №2. — С. 4-12. [Mamedova EO, Dimitrova DA, Belaya ZhE, et al. The role of non-coding RNAs in the pathogenesis of multiple endocrine neoplasia syndrome type 1. *Problems of Endocrinology*. 2020;66(2):4-12. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12413>
28. Luzi E, Marini F, Giusti F, et al. The negative feedback-loop between the oncomir Mir-24-1 and menin modulates the Men1 tumorigenesis by mimicking the «Knudson's second hit». *PLoS One*. 2012;7(6):e39767. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0039767>
29. Lines KE, Javid M, Reed AAC, et al. Genetic background influences tumour development in heterozygous Men1 knockout mice. *Endocr Connect*. 2020;9(5):426-437. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-20-0103>

Рукопись получена: 13.09.2021. Одобрена к публикации: 25.10.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Трухина Диана Аршалуйсовна** [Diana A. Trukhina, MD]; адрес: Россия, 117036, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1359-8297>; eLibrary SPIN: 5618-8971; e-mail: diadavtyan@gmail.com

Мамедова Елизавета Октаевна, к.м.н. [Elizaveta O. Mamedova, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-9783-3599>; eLibrary SPIN: 3904-6017; e-mail: lilybet@mail.ru

Лапшина Анастасия Михайловна, к.м.н. [Anastasia M. Lapshina, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4353-6705>; eLibrary SPIN: 1582-5033; e-mail: nottoforget@yandex.ru

Васильев Евгений Витальевич, к.б.н. [Evgeny V. Vasilyev, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3780-3758>; eLibrary SPIN: 5767-1569; e-mail: vas-evg@yandex.ru

Тюльпаков Анатолий Николаевич, д.м.н. [Anatoly N. Tiulpakov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8500-4841>; eLibrary SPIN: 8396-1798; e-mail: anatolytiulpakov@gmail.com

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

ЦИТИРОВАТЬ

Трухина Д.А., Мамедова Е.О., Лапшина А.М., Васильев Е.В., Тюльпаков А.Н., Белая Ж.Е. Морфологические характеристики аденом гипофиза в рамках фенокопий синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 50-58. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12815>

TO CITE THIS ARTICLE

Trukhina DA, Mamedova EO, Lapshina AM, Vasilyev EV, Tiulpakov AN, Belaya ZE. Morphological characteristics of pituitary adenomas in the phenocopy of multiple endocrine neoplasia type 1. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):50-58. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12815>

ПРИМЕНЕНИЕ РАДИОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В МЕДИЦИНЕ — ИСТОРИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ



© М.С. Шеремета¹, А.А. Трухин¹, М.О. Корчагина^{2*}

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Ядерная медицина (ЯМ) — медицинская специальность, использующая радионуклиды (радиоактивные «трейсеры») и ионизирующее излучение с диагностико-терапевтической (тераностической) целью. ЯМ возникла и развивается на стыке физики, химии и клинической медицины. Излучение, испускаемое радиоактивными изотопами, может состоять из γ -лучей, β - и α -частиц или их комбинации. Выбор радиоизотопа для медицинских целей осуществляется в соответствии со следующими требованиями: низкая радиотоксичность, подходящий тип радиоактивного излучения, энергия и период полураспада (от нескольких минут до нескольких часов и дней), а также удобное для регистрации γ -излучение. Радионуклид входит в состав радиофармацевтического лекарственного препарата (РФЛП) и выполняет роль его маркера. РФЛП накапливается в анатомических структурах, становится переносчиком координированной информации от пациента к γ -камере или другому медицинскому прибору и отражает динамику процессов, протекающих в исследуемом органе. В 2021 г. ЯМ отмечает 80-летний юбилей. Траектория развития ЯМ объединяет современные методы радиотераностики, включая прикладные геномные и постгеномные технологии.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: ядерная медицина, радиоактивные изотопы йода, ионизирующее излучение, радиоiodтерапия, щитовидная железа, тиреотоксикоз, рак щитовидной железы.

THE USE OF RADIOACTIVE SUBSTANCES IN MEDICINE — HISTORY AND DEVELOPMENT PROSPECTS

© Marina S. Sheremeta¹, Alexey A. Trukhin¹, Maria O. Korchagina^{2*}

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Nuclear medicine (NM) is a medical specialty that uses radionuclides (radioactive tracers) and ionising radiation for diagnostic and therapeutic (theranostic) purposes. Nuclear medicine arose and developed at the intersection of physics, chemistry and clinical medicine. The radiation emitted by radioisotopes can consist of gamma-, beta- and alpha emission, or its combination. Radioisotope of choice for medical purposes should have further requirements: low radiotoxicity, suitable type of radiation, energy and half-life (several minutes to several hours and days), and also convenient detection of gamma ray radiation. The radionuclide is part of radiopharmaceutical (RP) and acts as its indicator. RP accumulates in morphological structures, becomes a carrier of coordinated information from patient to gamma camera or other equipment and reflects the dynamics of processes occurring in the examined organ.

In 2021 NM celebrates its 80th anniversary. The trajectory of NM combines modern methods of radiotheranostics and applied genomic and post-genomic technologies.

KEYWORDS: nuclear medicine, iodine radioisotopes, ionizing radiation, radioiodine therapy, thyroid gland, thyrotoxicosis, thyroid cancer.

ВВЕДЕНИЕ

Фундаментальные исследования, проведенные в ядерной физике в 1920–1940-х гг., положили начало радиационной и ЯМ. Период зарождения ЯМ располагается между открытием искусственной радиоактивности в 1934 г. и производством радионуклидов Oak Ridge National Laboratory, США, в 1940 г. для их использования в медицинских целях. Потребовалось немало усилий, прежде чем применение радиоактивности стало безопасным и эффективным.

Один из первых искусственно полученных радиоизотопов, используемых в медицине вот уже 80 лет, — изотоп ^{131}I . Его выделяют в форме йодида натрия (NaI) из продуктов распада урана или нейтронной бомбардировки

теллура-130 в ядерном реакторе. Изотоп ^{131}I излучает β - и γ -лучи, период полураспада — 8,02 дня (рис. 1) [1].

Новая медицинская парадигма, тераностика, использует один многофункциональный агент для терапии и диагностики, достигая максимального персонализированного терапевтического ответа, а также улучшая долгосрочный прогноз и снижая дозозависимую токсичность. Термин «тераностика» образован путем слияния слов «терапия» и «диагностика». Он был введен в 2002 г. американским консультантом John Funkhouser, главным исполнительным директором PharmaNetics [2]. Один из первых тераностических агентов, радиоактивный йод, использован при заболеваниях щитовидной железы (ЩЖ) в 1940-х гг., а в 1950 г. американским врачом Benedict Cassen проведена первая визуализация



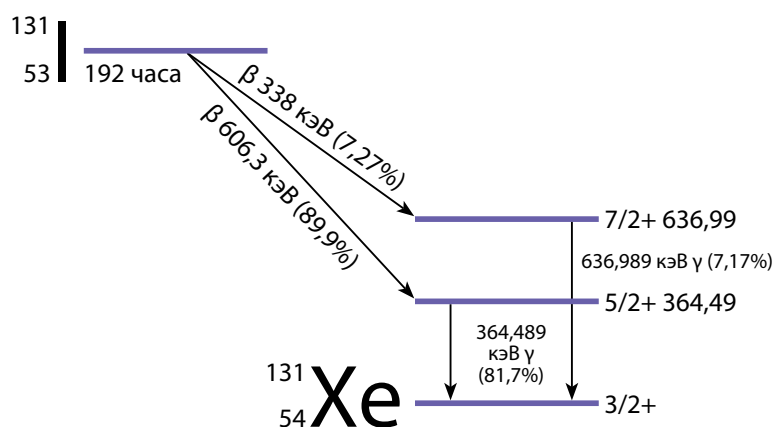


Рисунок 1. Схема распада ^{131}I . Изотоп ^{131}I распадается в стабильный ^{131}Xe (131-Ксенон) в два этапа, при этом γ -распад следует сразу после β -распада. Основная энергия γ -излучения равна 364 кэВ (89,9%), β -излучения — 606 кэВ (81,7%). С меньшим выходом наблюдается γ -излучение с энергией 637 кэВ (7,2%), β -излучение с энергией 338 кэВ (7,3%).

щитовидной железы (ЩЖ) с использованием прямолинейного сканера после введения в организм радиоактивного йода [3].

ЙОД: РОЛЬ, МЕТАБОЛИЗМ

Основную роль в метаболизме йода в организме играет ЩЖ. Йод — важный микроэлемент, необходимый для синтеза гормонов ЩЖ, тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3). Йод составляет 65 и 59% массы Т4 и Т3 соответственно [4]. Выработка и секреция гормонов ЩЖ регулируются тиреотропным гормоном (ТТГ) передней доли гипофиза.

В организме здорового взрослого человека содержится 15–20 мг йода, из них 70–80% находится в ЩЖ. В основном йод поступает в организм с пищей, при этом наиболее богатые йодом продукты — это йодированная соль, молочные продукты, некоторые виды хлеба, морские водоросли и морепродукты. При хроническом дефиците йода его содержание в ЩЖ может снизиться до менее чем 20 мкг. В районах с достаточным потреблением йода ЩЖ взрослого человека захватывает около 60 мкг йода в день, чтобы сбалансировать потери и поддерживать синтез Т4 и Т3 [4].

После всасывания йод выводится из основного кровотока главным образом ЩЖ и почками. Поглощение йода ЩЖ обеспечивается Na^+/I^- -симпортером, описанным S. Kaminsky и соавт. в 1993 г. [5]. Na^+/I^- -симпортер располагается на базолатеральной мембране клеток ЩЖ. Перенос йодида из циркулирующей крови внутрь тиреоцита происходит по градиенту концентрации, который образуется Na^+/K^+ -АТФазой и примерно в 30–50 раз превышает концентрацию в плазме, обеспечивая поступление достаточного количества йода для синтеза тиреоидных гормонов [4, 6].

ТТГ регулирует транспорт йода в ЩЖ, стимулируя транскрипцию Na^+/I^- -симпортера и способствуя его правильному встраиванию в плазматическую мембрану. При диете с низким содержанием йода ТТГ стимулирует экспрессию Na^+/I^- -симпортера и отвечает за изменение его субклеточной локализации.

Существует механизм, обеспечивающий нормальное функционирование ЩЖ при избытке йода. Когда в орга-

низм человека с нормальной функцией ЩЖ поступает большое количество йода, происходит транзитное снижение синтеза тиреоидных гормонов в течение примерно 48 ч. Избыток йода блокирует его органификацию и образование Т3, Т4 [7]. Этот процесс, описанный в 1948 г., называется эффектом Вольфа–Чайкова [8]. Предполагается, что эффект Вольфа–Чайкова связан с негативной посттрансляционной регуляцией Na^+/I^- -симпортера йодидами [9]. В ответ на введение больших количеств йода уменьшается высвобождение тиреоидных гормонов из ЩЖ с компенсаторным увеличением уровня ТТГ. Со временем синтез тиреоидных гормонов восстанавливается. Феномен «ускользания» от эффекта Вольфа–Чайкова является адаптационным процессом, он не зависит от ТТГ и связан со снижением содержания йода внутри ЩЖ. Наиболее вероятный механизм развития этого явления — снижение активности Na^+/I^- -симпортера, приводящее к уменьшению поступления микроэлемента в тиреоциты. Когда уровень йода в ЩЖ становится ниже значений, поддерживающих эффект Вольфа–Чайкова, процесс органификации восстанавливается, а вместе с ним нормализуется функция ЩЖ [7].

Считалось, что йодид пересекает апикальную мембрану под действием электрохимического градиента, однако исследования показали, что ТТГ стимулирует перенос йодида через апикальную мембрану специфическим транспортером — пендрином. Пендлин принадлежит к семейству SLC26A и кодируется геном SLC26A4. Он присутствует в апикальной мембране фолликулярных клеток [4].

В просвете фолликулов йодид окисляется и включается в тиреоглобулин (ТГ) тиреоидной пероксидазой — ферментом, локализованным в микросомальной фракции фолликулярных клеток ЩЖ. Этот процесс называется органификацией и приводит к образованию 3-монойодтирозина и 3,5-дийодтирозина. После тирозольные остатки сближаются друг с другом и конденсируются, образуя йодтиронины — тиреоидные гормоны. Йодированный ТГ хранится в просвете фолликула в густой жидкости, которая называется коллоидом и выводится посредством эндоцитоза или микропиноцитоза с последующим протеолитическим расщеплением в лизосомах и высвобождением Т3 и Т4 в кровоток [10].

ТЕРАПИЯ РАДИОАКТИВНЫМ ЙОДОМ — ПРИМЕР УСПЕШНОЙ ИСТОРИИ ЯДЕРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Современное представление о применении радиоактивности основано на знаниях физических и радиобиологических свойств изотопов, применении концепции тераностики с возможностью достижения максимально эффективного и безопасного лечения. Мультидисциплинарная работа команды врачей, физиков и радиохимиков началась более 80 лет назад. Потребовалось много усилий, прежде чем радиойодтерапия (РИТ) стала стандартным радикальным методом лечения доброкачественных и злокачественных заболеваний ЩЖ.

Первые открытия

Эру применения ионизирующих излучений отсчитывают с 1895 г., когда немецкий физик Wilhelm Conrad Röntgen в экспериментах с трубкой Крукса открыл рентгеновское излучение. Шесть лет спустя — в 1901 г. — за это открытие Röntgen получил первую в истории Нобелевскую премию по физике.

В 1896 г. Jules Henri Poincaré, французский ученый широкого профиля, на заседании Парижской Академии высказал предположение, что рентгеновское излучение связано с флуоресценцией и, возможно, всегда возникает в люминесцирующих веществах, поэтому катодной трубки для получения рентгеновских лучей не требуется.

В этом же году данную гипотезу проверил французский физик Antoine Henri Becquerel [1]. Он использовал фотографическое действие через черную бумагу активированных солнечным светом кристаллов соли урана. На первом этапе эксперимент подтвердил гипотезу H. Poincaré, но вскоре A. Becquerel обнаружил, что урановая соль без воздействия солнечного света способна испускать излучение, проходящее через черную бумагу.

Незадолго до этого открытия, в 1895 г., признана роль йода как предшественника гормонов ЩЖ. Немецкий химик Eugen Baumann пролил концентрированную азотную кислоту на образец ЩЖ и увидел пурпурные испарения, поднимающиеся над ней. Так стало известно, что стабильный йод¹ присутствует в тканях ЩЖ [4].

Прежде чем радиоактивные изотопы (РИ) йода заняли свое почетное место в истории ЯМ, были изучены свойства таких радиоэлементов, как уран, торий, радий, полоний, актиний. Большой вклад в изучение радиоактивности внесли польская и французская ученая-экспериментатор Marie Curie и ее муж — французский физик Pierre Curie. В 1903 г. Шведская королевская академия наук присудила Нобелевскую премию по физике A. Becquerel и супругам Curie «за выдающиеся заслуги в совместных исследованиях явлений радиации» [14].

¹ Йод был открыт в 1811 г. французским химиком Bernard Courtois. Ученый извлек йод из пепла морских водорослей. Joseph Gay-Lussac, французский химик и физик, признал, что в ходе эксперимента Courtois получил новый элемент, и назвал его *iodes* — в переводе с греческого значит фиолетовый. В 1914 г. американскому биохимику Edward Calvin Kendall удалось выделить в кристаллической форме «соединение, содержащее йод, которое присутствует в щитовидной железе». Впоследствии оно было названо тироксином [11]. Позже, в 1917 г., обнаружено, что ЩЖ захватывает йод из крови [12]. Несмотря на эти открытия, физиология ЩЖ оставалась тайной еще несколько десятилетий — до того момента, когда впервые с терапевтической целью были использованы изотопы йода [13].

В 1923 г., в то время как будущий врач и отец тераностики Saul Hertz учился в Гарвардской медицинской школе, венгерский химик György de Hevesy создал принципы использования радиоактивных веществ для изучения биологических процессов. Позднее, в 1934 г., итальянский физик Enrico Fermi путем облучения альфа-частицами алюминиевой фольги синтезировал 22 новых радиоактивных изотопа, среди которых были изотопы йода [13, 15].

В 1931 г. Saul Hertz был принят на работу в Клинику щитовидной железы и Лабораторию метаболизма Массачусетской больницы общего профиля (MGH). Ранее Saul Hertz являлся волонтером, а впоследствии стал заведующим Клиникой щитовидной железы [16].

Karl Compton: «Что физика может сделать для биологии и медицины»

Saul Hertz знал, что йод легко поглощается ЩЖ и некоторые химические элементы можно сделать радиоактивными, но о работах Enrico Fermi ему было неизвестно. В 1936 г. Karl Compton, американский физик и президент Массачусетского технологического института (MIT), выступил на обеде в Вандербильт холле с докладом «Что физика может сделать для биологии и медицины», что послужило исторической точкой в зарождении исследования РИ йода [17, 18]. Karl Compton был старшим братом Arthur Compton, физика, который в 1923 г. открыл явление рассеяния электромагнитного излучения на свободных электронах (известное как «эффект Комптона»). Возможно, в своем докладе Karl Compton затронул открытие явления искусственной радиоактивности, сделанное французскими физиками Frederic и Irene Joliot-Curie в 1934 г. [17].

Группа клиницистов и ученых, присутствовавших на обеде, вдохновилась выступлением Karl Compton и захотела больше узнать о радиоактивном йоде. Saul Hertz поинтересовался: «Можно ли искусственным путем сделать йод радиоактивным?» Несколько лет он изучал роль йода в физиологии ЩЖ в MGH в поисках нехирургического решения проблемы тиреотоксикоза. По другим рассказам, главный врач MGH, профессор James Howard Means, в конце доклада поинтересовался фактической биодоступностью радиоактивных изотопов йода. Он также хотел понять, может ли MIT производить РИ йода искусственным путем [17].

Karl Compton не имел однозначного ответа, возможно, потому, что его лекция об искусственных радиоизотопах была инициирована в последнюю минуту Robley Evans, американским физиком из MIT [19]. Он записал вопрос Hertz и ответил ему в письме спустя месяц, 15.12.1936: «К моему сожалению, я только сейчас наткнулся на заметку, сделанную по вашему вопросу о радиоактивном йоде. Йод можно сделать радиоактивным искусственно. Он имеет период полураспада в 25 минут и испускает γ - и $\alpha\beta$ -лучи (электроны) с максимальной энергией 2,1 миллиона вольт» [20]. Период полураспада в 25 минут соответствует изотопу йода с атомной массой 128, т.е. ¹²⁸I.

Hertz ответил на письмо через 8 дней — 23.12.1936. Выдвигая свою гипотезу, он писал: «...надеюсь, что йод, который, как вы указали, можно сделать радиоактивным, будет полезным методом терапии в случаях гиперфункции щитовидной железы». Предполагается, что эта гипотеза построена на более ранних работах Howard Means

1922 г. относительно возможного лечения заболеваний ЩЖ с помощью рентгеновского излучения. Обмен письмами между Compton и Hertz — бесспорное доказательство того, что идея применения РИТ возникла именно у эндокринолога Saul Hertz.

Перспективное сотрудничество

В 1937 г. Hertz стал сотрудничать с молодым физиком и преподавателем Arthur Roberts, с которым в ходе последующих экспериментов изучал возможность применения радиоактивного йода (РЙ) для диагностики и лечения заболеваний ЩЖ.

Основываясь на работе Fermi, будущего создателя ядерного реактора, группа построила самодельный источник нейтронов, который содержал бериллий и переработанный радий (Ra-Be). Спиртовой раствор йода (^{127}I) облучался в течение 1 или 2 ч путем погружения его в источник нейтронов с целью создать преципитат радиоактивного йодида серебра (Ag^{128}I) [17].

Первые эксперименты на животных моделях включали изучение 48 кроликов², которым вводили Ag^{128}I .

Все животные выжили. Поглощение радиоактивного йода (RAIU) изучили при различных состояниях функции ЩЖ. Затем радиоактивность тканей животных измеряли с помощью счетчика Гейгера–Мюллера. Roberts использовал счетчик Гейгера–Мюллера для определения количества РИ йода, присутствующего в биологических образцах. Результаты показали, что RAIU ЩЖ происходит быстро и зависит от степени гиперплазии³.

Hertz и Roberts смогли провести исследования фармакокинетики йода, а в мае 1938 г. ими опубликована первая статья под названием «Радиоактивный йод как индикатор в изучении физиологии щитовидной железы» [21]. Исследования показали, что РЙ может использоваться для оценки функции ЩЖ.

Циклотрон и изотопы радиоактивного йода

За несколько лет до этих экспериментов американский физик Ernest Orlando Lawrence и его команда из Беркли разработали циклотрон для исследований в области ядерной физики. После открытия Joliot–Curie стало очевидно, что циклотрон можно применять для создания искусственной радиоактивности [22].

В 1938 г. американские ученые Glenn Seaborg и John Livingood получили ^{131}I путем облучения источников теллура [23]. Этот прорыв произошел после разговора Seaborg с Joseph Hamilton, профессором медицинской физики, экспериментальной медицины и радиологии. Hamilton объяснил, что короткий период полураспада ^{128}I ограничивает клиническое применение данного изотопа. Преимущество же ^{131}I в том, что он излучает как γ -, так и β -лучи: первые позволяют получать изображения

для диагностики и дозиметрии, вторые применимы для таргетной радионуклидной терапии. Данная особенность ^{131}I делает его первым естественным тераностическим радионуклидом в медицине.

Параллельно с Hertz и Roberts ученые Joseph Hamilton и Mayo Soley проводили свои эксперименты с использованием РЙ и других радиоактивных элементов [24]. К июню 1939 г. они исследовали RAIU ЩЖ человека и предположили, что можно получить динамическую картину метаболизма йода, оценив уровни поглощения и выделения йода ЩЖ⁴. Команда исследователей сообщила об отсутствии RAIU у больного со злокачественным образованием ЩЖ. В 1940 г. было подтверждено, что ЩЖ человека захватывает радиоактивный йод.

Первая оценка опытов Hertz и Roberts привела к лучшему пониманию метаболизма йода при болезни Грейвса и была представлена на заседании Американского общества клинических исследований (ASCI) в Атлантик-Сити в мае 1942 г. Joseph Hamilton также присутствовал на встрече и сообщил о своем опыте лечения РЙ (^{130}I) трех пациентов с тиреотоксикозом [26].

Первые результаты терапии радиоактивным йодом

Пациентка ED направляется в клинику доктора Hertz с тиреотоксикозом без офтальмопатии и с уровнем базального метаболизма⁵ (BMR) +30.

31 марта 1941 г. ей назначают активность 77,7 МБк смеси $^{130}\text{I}/^{131}\text{I}$, а потом дополнительные 48,1 МБк. ED становится первой пациенткой с заболеванием ЩЖ, которую лечат РИ йода. По совету James H. Means, ED получает стабильный йод вслед за дозой РЙ. После терапии BMR пациентки снижается до -7. Об этом клиническом случае было сообщено в мае 1941 г. на ежегодном собрании ASCI [18].

В течение последующих 2 лет (1941–1943 гг.) Hertz и Roberts пролечили 29 пациентов с тиреотоксикозом и после терапии вводили всем нерадиоактивный йод. Сообщалось, что 20 пациентов считались вылеченными, 9 без положительного ответа на лечение были направлены на хирургическое лечение, а при патологоанатомическом исследовании образцов ЩЖ у 6 из них выявлена инволюция. Однако эти результаты будут

⁴ Во время ранних экспериментов Hertz и Roberts, в 1938–1939 гг., допущен один просчет. Дело в том, что с радиоактивным йодом вводилось определенное количество стабильного йода. Ученые не предполагали, что стабильный йод будет конкурировать с РИ йода за поглощение ЩЖ и тем самым уменьшит проникновение РИ в ткани. В результате расчеты эффективной дозы для будущих клинических исследований были непомерно высоки и оценены в 27 750 МБк для эффективного лечения тиреотоксикоза [25].

⁵ Уровень метаболизма определяется путем измерения количества кислорода, используемого организмом за определенный промежуток времени. Если измерение производится в состоянии покоя, полученные данные будут показывать уровень базального метаболизма (BMR). Ранее измерение BMR стало одним из первых тестов оценки функции ЩЖ. У пациентов с гипопункцией ЩЖ наблюдался низкий BMR, а у пациентов с гиперфункцией ЩЖ — высокий BMR. Позднее исследования продемонстрировали зависимость BMR от уровня гормонов ЩЖ и показали, что низкий уровень гормонов ЩЖ связан с низким BMR, а высокий уровень — с высоким. Сейчас определение BMR не используют из-за сложности в проведении теста, наличия более достоверных методов исследования, а также из-за того, что BMR подвержен влиянию других факторов кроме функции ЩЖ (например, BMR растет при заболеваниях, сопровождающихся повышением температуры). Нормальный BMR колеблется от -15% до +5%, у пациентов с тиреотоксикозом BMR обычно +20% и более, а при гипотиреозе — BMR -20% и ниже.

² В 1930-х годах не существовало комитетов, регулирующих проведение экспериментов на животных. Единственным этическим стандартом являлся личный моральный кодекс исследователей.

³ Исследования на кроликах имели решающее значение: они позволили определить количество йода, которое поглощает ЩЖ. Необходимо было установить терапевтическую активность РИ йода, но в ходе эксперимента стало ясно, что 128I и то количество, которое можно произвести с помощью Ra-Be, не подходит для терапевтического применения, так как полученный изотоп имел 25-минутный период полураспада и мог использоваться только для краткосрочных экспериментов [19].

сообщены только через несколько лет — в 1946 г. Причина тому — война.

В 1943 г., в разгар Второй мировой войны, доктор Saul Hertz решил добровольно принять участие в военной службе и поступил на службу в Военно-морской флот США. Пока Hertz отсутствовал, Earl Charman, врач частной практики из MGH, работал с Evans над лечением пациентов с заболеваниями ЩЖ. На этот раз за введением радиоактивного йода не последовало введения дозы стабильного йода.

Сенсация

Hertz вернулся домой в 1945 г. Он не смог продолжить свои исследования в MGH из-за разногласий, возникших с Charman, и присоединился к докторам больницы Beth Israel.

Charman первым отправил публикацию в Журнал Американской Медицинской ассоциации (JAMA). Но она была слишком длинной, и ее вернули на доработку. В ноябре 1945-го главный редактор JAMA, американский врач Morris Fishbein, сообщил Hertz, что Клиника щитовидной железы представила рукопись по лечению РИ йода без упоминания Hertz и Roberts, что побудило Hertz быстрее закончить свою работу по РИТ.

Необычное обстоятельство — две рукописи на одну тему из одного учреждения без перекрывающегося авторства были опубликованы в одном медицинском журнале 11 мая 1946 г. Это подтверждало, что РИТ — перспективный метод лечения тиреотоксикоза [27, 28].

Изотоп ^{131}I появился в свободном доступе с 1946 г. в результате реализации манхэттенского проекта в Ок-Ридж в Теннесси [19].

Возможность исследовать метаболизм и функцию ЩЖ с помощью РИ йода использовалась для лечения доброкачественных и злокачественных заболеваний ЩЖ. В 1946 г. Hertz был принят в ASCI в качестве Young Turk за революционную работу по разработке первой терапевтической методики в медицине: использование РИ йода при заболеваниях ЩЖ [19].

Применение РИТ при злокачественных образованиях ЩЖ

Первыми исследованиями применения РИ йода при карциноме ЩЖ стали клинические работы под руководством врача-ученого Hamilton. В исследовании 1942 г. команда Hamilton ввела РИ йода 2 пациентам с тиреотоксикозом, которым впоследствии была сделана ТЭ. Патологоанатомическое исследование образца ЩЖ показало диффузное накопление РИ в злокачественных очагах железы [29].

В том же году доктора Reid и Albert S. Keston открыли ^{125}I , а позже Keston и его коллеги из Колумбийского университета сообщили о поглощении РИ (RAIU) метастазами карциномы ЩЖ [30]⁶. Результаты имели большое

значение в понимании потенциальной роли абляции остаточной ткани ЩЖ с помощью РИ.

Клиническое применение РИ для диагностики и лечения дифференцированного рака щитовидной железы (РЩЖ), проведенное в 1942 г., принадлежит американскому эндокринологу Samuel M. Seidlin, который отметил, что поглощение радиоактивного йода метастазами можно индуцировать инъекцией рекомбинантного человеческого тиреотропина или тиреоидэктомией (ТЭ) [32]. 7 декабря 1946 г. JAMA опубликовала обширный отчет Seidlin о первом успешном лечении метастатической карциномы ЩЖ с использованием РИ [33].

В 1946 г. Hertz заявил, что его исследования будут сосредоточены на «раке щитовидной железы, который является в целом к более серьезной проблеме — онкологии в целом» [19].

У одной из первых пациенток, поступивших в Королевский онкологический центр (Лондон) в 1949 г., был неоперабельный дифференцированный РЩЖ и метастазы, требующие трахеостомии. Первая диагностическая активность в 2,59 МБк ^{131}I получена. На фоне хорошего поглощения РИ удалось назначить терапевтические активности. Спустя несколько сеансов (1850, 3256, 3700, 8510 МБк) РИ, выполненных в течение 7 мес, отмечалось улучшение состояния пациентки⁷.

Клинический случай

Пациент ВВ, мужчина 51 года со злокачественным образованием ЩЖ. Из анамнеза известно: в возрасте 30 лет (командой врачей Seidlin; Montefiore Hospital, Нью-Йорк, США) пациенту выполнена тотальная ТЭ большого зоба, сопровождающегося компрессионным синдромом. Микроскопическое исследование образца ЩЖ не выявило нормальных структур, а патологоанатомический диагноз звучал как злокачественная аденома. После операции полного удаления ткани ЩЖ пациент находился в ремиссии на протяжении 15 лет, пока у него не появились классические симптомы тиреотоксикоза. Мужчина сильно похудел, жаловался на учащенное сердцебиение и тревожность. Симптомы нарастали, а в ноябре 1939 г. мужчина был направлен на хирургическое лечение из-за пульсирующей опухоли на уровне ТХII. Уровень его BMR достиг +40. Выполнена ламинэктомия ТХII и LI для эксцизионной биопсии, в результате которой выявлена метастатическая карцинома ЩЖ.

Послеоперационный период осложнился тиреотоксическим кризом. Состояние пациента ухудшалось. Команда Seidlin использовала ежедневные дозы 1–6 мл р-ра Люголя в течение почти 10 мес, блокируя органификацию йода, подавляя присоединение молекулярного йода к ТГ и образование тиреоидных гормонов ТЗ и Т4. Сначала ВВ показал симптоматическое улучшение, но к январю 1943 г. его состояние ухудшилось. Seidlin

⁶ Пациент Keston знал о костных метастазах. Доктора провели сканирование пациента утром 7.12.1941. Определив местонахождение одного метастаза, назначили терапевтическую активность РИ в размере 370 МКб. Последующее 3-недельное наблюдение показало незначительное поглощение РИ очагом поражения, демонстрируя положительный эффект от проведенной терапии. Когда в 1944 г. был опубликован отчет о вскрытии пациента, оказалось, что большая часть метастатической опухолевой ткани оказалась недифференцированной, а значит – неспособной накапливать РИ [31].

⁷ Девушке было всего 20 лет. Хирургами предпринята попытка удалить опухоль ЩЖ. Кроме опухоли ЩЖ наблюдались увеличенные твердые лимфатические узлы с обеих сторон шеи, полная обструкция трахеи и многочисленные вторичные очаги в легких. Удален один лимфатический узел, выполнена трахеостомия. Диагноз подтвержден: карцинома щитовидной железы. После курса РИТ опухолевая ткань не выявлена. Появилась возможность удалить трахеостомическую трубку. Легкие на рентгенограмме выглядели практически нормальными. Пациентка набрала вес и была здорова уже через 15 месяцев после первого приезда в больницу [34].

незамедлительно проконсультировался с Hertz, чтобы обсудить возможность использования РЙ для лечения метастазов. Организовать поставку РЙ оказалось крайне трудно. Evans запросил огромную сумму — 1800 долларов за час — и поинтересовался, сколько миллиКюри нужно доктору. «Пришлите мне за час», — ответил Seidlin. Позднее Seidlin признал, что ни у него, ни у пациента не было 1800 долларов, кроме того, он не понял, что Evans имел в виду под «миллиКюри» [19].

Первая терапевтическая активность РЙ, введенная 11 мая 1943 г., содержала 629 МБк ^{130}I . В общей сложности пациент получил 16 терапевтических активностей ^{130}I и ^{131}I . Суммарная активность составила 9945 МБк. Доктора отслеживали выделение РЙ мочой. Из-за незначительной стоимости радионуклида, генерируемого циклотроном, они извлекли и переработали РЙ из мочи пациента для повторного использования. Команда Seidlin наблюдала клиническое улучшение больного в самом начале и при каждом последующем применении РЙТ. Пациент набрал вес, боль в костях почти прошла, беспокоящее сердцебиение прекратилось, а BMR упал до -27 . Доктора были поражены результатами лечения. Клинический случай опубликован в октябрьском номере журнала LIFE в 1949 г. В статье несколько приукрасили результаты, сообщая о том, что мужчина полностью выздоровел. На самом деле спустя несколько лет пациент умер от установленной при вскрытии анапластической карциномы [19].

В 1949 г. доктор Hertz создал первое отделение ЯМ, расширив исследования с использованием радионуклидов в области онкологии [17]. В январе 1950 г. опубликована исчерпывающая глава, в которой сообщалось о применении РЙТ при карциноме ЩЖ. «В целом результаты использования РЙТ при злокачественных образованиях щитовидной железы хотя и многообещающие, но не свидетельствуют о большом проценте излечений за короткое время, в течение которого используется метод», — писал Hertz [35]. Он понимал, что потребуется время для лучшего понимания возможностей РЙТ у пациентов с раком ЩЖ. В июле 1950 г. Hertz умер в результате внезапного сердечного приступа.

В 1951 г. ^{131}I стал первым радиофармацевтическим препаратом, получившим одобрение Food and Drug Administration (FDA), который использовался для лечения заболеваний ЩЖ. Показания для применения РЙТ при злокачественных образованиях ЩЖ сформулированы в 1957 г. американским врачом William Henry Beierwaltes, пионером в использовании ЯМ: «Желательно провести РЙТ для того, чтобы закончить работу, которую начал хирург». Определена цель применения РЙТ при РЩЖ — полная абляция ткани ЩЖ [19].

РЙТ — МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ^{131}I И ЛЕЧЕНИЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩЖ

Поглощение и метаболизм радиоактивного йода ^{131}I в ткани ЩЖ идентичны стабильному йоду. При пероральном приеме ^{131}I (капсула или раствор) в виде йодид-иона всасывается из желудочно-кишечного тракта. Na^+/I^- -симпортер транспортирует йодид клетками ЩЖ через базолатеральную мембрану фолликулярных клеток. Некоторые экстракореоидные ткани (слизистая оболочка

желудка, слюнные, слезные и лактирующие молочные железы), также содержащие Na^+/I^- -симпортер, опосредованно поглощают ^{131}I через базолатеральную мембрану фолликулярных клеток.

Экспрессия белка Na^+/I^- -симпортера усилена при болезни Грейвса, что подтверждается повышенным поглощением РИ йода. При многоузловом токсическом зобе экспрессия белка Na^+/I^- -симпортера выше, чем в норме, и ниже, чем при болезни Грейвса. При раке ЩЖ экспрессия *NIS* (*SLC5A5*), как правило, снижена [6, 9].

Попадая в фолликулярные клетки ЩЖ, ^{131}I включается в состав фенольного кольца тирозильных остатков тиреоглобулина. Когда β -частицы ^{131}I высвобождаются внутри клеток ЩЖ, они проходят в среднем 0,8 мм, прежде чем их энергия полностью поглощается. β -частицы, испускаемые ^{131}I , разрушают функционирующую ткань ЩЖ. Радиобиологическое воздействие ^{131}I на ткани бывает прямым (воздействие радиации на ДНК — разрыв молекулярных связей) или косвенным. При косвенном воздействии образуются свободные радикалы, которые вступают в реакцию с макромолекулами в среде микроокружения клеток. Свободные радикалы и оксиданты взаимодействуют с молекулами ДНК, вызывая большое количество разнообразных нарушений ее структуры, обеспечивая локальную деструкцию тиреоцитов. Воздействие ионизирующего излучения приводит к генетическим повреждениям, мутациям или гибели клеток. Таким образом, ^{131}I вызывает обширное местное повреждение и некроз тканей ЩЖ. Основным эффектом РЙТ — радиационный тиреоидит. Тяжесть этого эффекта прямо пропорциональна полученной дозе [36]. Целью терапии является подавление функционального состояния клеток и нарушение способности к пролиферации [37]. Эффективная абляция тиреоидной ткани происходит через 8–16 нед с отсутствием возможности выработки тиреоидных гормонов [9, 38].

РОЛЬ Na^+/I^- -СИМПОРТЕРА В ЛЕЧЕНИИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЩЖ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ^{131}I . ЙОДРЕЗИСТЕНТНОСТЬ

РЙТ основана на способности клеток ЩЖ захватывать и накапливать ^{131}I . Свойство накопления ^{131}I может отсутствовать примерно в 10% случаев высокодифференцированного РЩЖ. В процессе дифференцировки клетки ЩЖ теряют способность накапливать ^{131}I , что делает проведение РЙТ неэффективным лечением [39]. Есть данные, что 18–25% дифференцированных карцином ЩЖ исходно лишены способности к захвату ^{131}I , а 35–50% пациентов перестают реагировать на лечение ^{131}I во время РЙТ [40].

Дисбаланс работы Na^+/I^- -симпортера, а именно снижение его экспрессии, дефекты белка Na^+/I^- -симпортера и нарушение его встраивания в плазматическую мембрану — ключевые факторы развития резистентности к РЙТ, приводящие к неэффективности лечения. Мутации в гене *NIS* и в других генах, таких как *RAS* (*KRAS*, *HRAS*, *NRAS*), *TERT* и *BRAF*, могут способствовать более низкой экспрессии мРНК и белка Na^+/I^- -симпортера, а также нарушениям его ориентации на мембране [41]. Описанные генетические альтерации ведут к снижению поглощения ^{131}I и высокому риску рецидива РЩЖ

после РИТ. Как пример, при наличии мутации в гене *BRAF* представляется возможным использование таргетных препаратов, ингибиторов RAF-киназ (дабрафениб) и MEK (траметиниб), регулирующих MAP-киназный путь. К другим молекулярным маркерам, участвующим в канцерогенезе, относятся хромосомные перестройки *RET/PTC*, *PAX8/PPARG* и мутации в генах *TP53*, *PIK3CA* и *AKT1*.

Есть как минимум два ключевых агента, контролирующих транспорт и количество Na^+/I^- -симпортера, — фактор рибозилирования АДФ 4 (ARF4) и валозин-содержащий белок (VCP). ARF4 усиливает везикулярную транспортировку Na^+/I^- -симпортера от аппарата Гольджи к плазматической мембране, а VCP, находящийся на эндоплазматическом ретикулуле и отвечающий за деградацию, регулирует протеолиз Na^+/I^- -симпортера. Известно, что экспрессия VCP повышена при агрессивных формах течения РЩЖ и у пациентов с неблагоприятным прогнозом после РИТ, а продолжительность жизни пациентов радиойодрезистентным РЩЖ, особенно при метастатическом поражении, составляет 3–5 лет [41, 42].

В экспериментах Fletcher и соавт. абляция ARF4 в NIS^+ клетках TPC-1, а также в первичных тироцитах человека привела к снижению поглощения ^{125}I от ~60% до 80%, а сверхэкспрессия ARF4 — к значительному увеличению поглощения ^{125}I . Индукция VCP в этих клетках путем транзиторной трансфекции способствовала подавлению поглощения ^{125}I . Подтверждено, что и ARF4, и VCP регулируют ориентацию Na^+/I^- -симпортера. Экзогенная экспрессия ARF4 в NIS^+ -клетках демонстрирует удвоение количества белка Na^+/I^- -симпортера на плазматической мембране, при этом сверхэкспрессия VCP приводит к его значительному снижению.

Специфических агонистов ARF4 в настоящее время не существует, но можно повлиять на Na^+/I^- -симпортер путем ингибирования VCP. Два ингибитора VCP, одобренных FDA, а именно клотримазол и эбастин, подавляют VCP-опосредованное снижение активности Na^+/I^- -симпортера (специфическое ингибирование и аллостерическая регуляция) и способствуют увеличению количества Na^+/I^- -симпортера на поверхности клеток, а также повышают поглощение РИ в моделях ЩЖ мыши и человека *in vitro* [41]. Таким образом, возможно повлиять на успех РИТ у пациентов с радиойодрезистентным РЩЖ с помощью данной группы препаратов.

К более известным таргетным препаратам, одобренным FDA и применяемым при радиойодрезистентном РЩЖ, относятся мультикиназные ингибиторы сорафениб и леватиниб [43]. Они блокируют ангиогенез в опухолевой ткани и ингибируют киназы, задействованные в онкогенных механизмах, тем самым замедляя рост опухоли.

ОБСУЖДЕНИЕ

Многолетний опыт применения радиоактивного йода, современные знания радиобиологии, тераностики и молекулярной генетики составляют основу эффективного и безопасного применения радиоактивности. Изучение фармакокинетики, сопоставление клинических предикторов течения болезни и выбранной модели расчета индивидуальной терапевтической активности позволяют персонализированно использовать

радиоизотопы. Оценка фармакодинамики как элемента радиобиологии важна при сопоставлении поглощенной дозы функционирующей ткани ЩЖ с эффектом лечения. Фармакобезопасность радионуклидной терапии основана на совершенствовании методов профилактики вторичных осложнений, снижении лучевой нагрузки и рисков отдаленных эффектов. Технологическое дозиметрическое обеспечение в перспективе позволит более детально описывать поведение йода не только в ткани ЩЖ, но и в организме в целом с учетом накопления в тропных органах. Спектрометрическое оборудование способно определить низкое содержание ^{131}I в образце крови, что позволяет проводить биодозиметрию крови с целью определения максимально допустимой терапевтической активности при проведении радиойодтерапии дифференцированного РЩЖ. Совершенствование оборудования ЯМ, способов ранней диагностики заболеваний ЩЖ и профилактики детерминированных и отсроченных клинических проявлений РИТ — ключ к дальнейшему развитию технологии персонализированной медицины.

Дозиметрическое планирование радиойодтерапии

В совместной работе американских ученых — медицинских физиков E. Quimby и L. Marinelli — представлен опыт оптимизации лечения с использованием радиоактивных веществ.

E. Quimby в 1951 г. представила сферические модели органов, необходимых для расчета поглощенных доз излучения. Наблюдения позволили сделать вывод, что захват исследуемой ткани в фиксированное время после введения сильно зависит от особенностей фармакокинетики человека.

L. Marinelli совместно с E. Quimby акцентировали внимание на важных для расчета терапевтической активности ^{131}I характеристиках фармакокинетики и физико-математического моделирования распространения элементарных частиц. Они предложили максимально простую реализацию комбинации параметров в виде формулы, учитывающей объем ЩЖ, индекс захвата ^{131}I -йода, эффективный период выведения ^{131}I и фактор накопления дозы [44]. Ученые стали основоположниками принципа ALARA (As Low As Reasonably Achievable), который был сформулирован в 1954 г. Международной Комиссией по радиологической защите. Данный принцип заключается в минимизации воздействия ионизирующего излучения при достижении эффективности радионуклидной терапии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Прошло более 80 лет с тех пор, как эндокринолог Saul Hertz впервые использовал радиоактивный йод, терапию которым на данный момент получили большое количество пациентов по всему миру.

Современные представления о радиобиологии и дозиметрии в ЯМ признают, что предложенная Hertz методика эффективна и успешно применяется.

Ученые, принимавшие участие в исследованиях в области теоретической физики и ядерного приборостроения, внесли большой вклад в развитие общих представлений о РИТ.

William Beierwaltes создал базовые принципы использования РИТ при РЩЖ, которые легли в основу современной молекулярной радиотерапевтической концепции. Сегодня основы молекулярной радиотерапевтики включены в алгоритм принятия клинических решений и выбора тактики ведения пациентов, а молекулярная радиотерапевтика становится перспективным направлением. Методы таргетной радионуклидной терапии являются основой для лечения ряда онкологических заболеваний. Будущее персонализированной ЯМ определит интеграция радиотерапевтики, мультимодальной визуализации, интраоперационной навигации и существующих/новых методов диагностики и лечения в сочетании с прикладными геномными и постгеномными технологиями.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования.

Госзадание № АААА-А20-120011790174-3 «Радиогеномные предикторы гибридной молекулярной визуализации и радионуклидной терапии эндокринных опухолей».

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.

Благодарности. Бубнову А.А. — за создание графического изображения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Al-jube W, Shaheen A, Zalloum O. Radioiodine I-131 for diagnosing and treatment of thyroid diseases. *Conf. Paper*. 2012;6.
- Jeelani S, Jagat Reddy R, Maheswaran T, et al. Theranostics: A treasured tailor for tomorrow. *J Pharm Bioallied Sci*. 2014;6(5):6. doi: <https://doi.org/10.4103/0975-7406.137249>
- Blaht W. Ben cassen and the development of the rectilinear scanner. *Semin Nucl Med*. 1996;26(3):165-170. doi: [https://doi.org/10.1016/s0001-2998\(96\)80021-3](https://doi.org/10.1016/s0001-2998(96)80021-3)
- Collins J. *Molecular, Genetic, And Nutritional Aspects Of Major And Trace Minerals*. Elsevier Science; 2016.
- Kaminsky SM, Levy O, Salvador C, et al. The Na⁺/I⁻ symporter of the thyroid gland. *Soc Gen Physiol Ser*. 1993;48:251-262.
- Джикия Е.Л., Авилон О.Н., Киселева Я.Ю., и др. Na⁺/I⁻ симпортер (Nis): структура, функции, экспрессия в норме и опухолях // *Вестник РНЦПР*. — 2018. — Т. 18. — №1. — С. 3. [Dzhikiya EL, Avilov ON, Kiseleva YaYu, et al. Sodium/iodide symporter (NIS): structure, function and role in thyroid diseases. *Vestnik RNTsRR*. 2018;18(1):3. (In Russ.)]
- Егоров А.В., Свириденко Н.Ю., Платонова Н.М. Особенности функционального состояния щитовидной железы после проведения диагностических исследований с применением йодсодержащих рентгеноконтрастных средств // *Проблемы Эндокринологии*. — 2005. — Т. 51. — №1. — С.50-52. [Yegorov AV, Sviridenko NYu, Platonova NM. Thyroid functional features after diagnostic studies with iodine-containing X-ray contrast substances. *Problems of Endocrinology*. 2005;51(1):50-52. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl200551150-52>
- Wolff J, Chaikoff I. Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *Journal of Biological Chemistry*. 1948;174(2):555-564. doi: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)57335-x](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)57335-x)
- Akbulut A, Aydinbelge F, Koca G. Radioiodine Treatment for Benign Thyroid Diseases. *Radionuclide Treatments*. 2017. doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.68575>
- Iakovou I, Giannoula E, Exadaktylou P, Papadopoulos N. RAI Therapy for Graves' Hyperthyroidism. In: *Graves' Disease*. IntechOpen; 2021. doi: <https://doi.org/10.5772/intechopen.96083>
- Kendall EC. The isolation in crystalline form of the compound containing iodine, which occurs in the thyroid. *J Am Med Assoc*. 1915;LXIV(25):2042. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.1915.02570510018005>
- Marine D, Kimball OP. The Journal of Laboratory and Clinical Medicine. October, 1917. Volume III, No. 1, Pages 40-49. The prevention of simple goiter in man. A survey of the incidence and types of thyroid enlargements in the schoolgirls of Akron (Ohio), from the 5th to the 12th grades, inclusive—the plan of prevention proposed. *Nutr Rev*. 1975;33(9):272-275. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1975.tb05112.x>
- van Isselt J.W. *Dosage assessment for radioiodine therapy in benign thyroid disorders*. Thesis University Utrecht; 2001.
- Radanyi P, Villain J. The discovery of radioactivity. *Comptes Rendus Physique*. 2017;18(9-10):544-550. doi: <https://doi.org/10.1016/j.crp.2017.10.008>
- FERMI E. Radioactivity Induced by Neutron Bombardment. *Nature*. 1934;133(3368):757-757. doi: <https://doi.org/10.1038/133757a0>
- Hertz BE, Schuller KE. Saul Hertz, MD (1905-1950): A Pioneer in the Use of Radioactive Iodine. *Endocr Pract*. 2010;16(4):713-715. doi: <https://doi.org/10.4158/EP10065.CO>
- Borges de Souza P, McCabe C. Radioiodine treatment: an historical and future perspective. *Endocr Relat Cancer*. 2021;28(10):121-124. doi: <https://doi.org/10.1530/erc-21-0037>
- Fahey FH, Grant FD, Thrall JH. Saul Hertz, MD, and the birth of radionuclide therapy. *EJNMMI Phys*. 2017;4(1):15. doi: <https://doi.org/10.1186/s40658-017-0182-7>
- Ehrhardt Jr J, Güleç S. A Review of the History of Radioactive Iodine Theranostics: The Origin of Nuclear Ontology. *Mol Imaging Radionucl Ther*. 2020;29(3):88-97. doi: <https://doi.org/10.4274/mirt.galenos.2020.83703>
- Compton K. Letter to Saul Hertz: Hertz Family Archive December 15;1936.
- Hertz S, Roberts A, Evans R. Radioactive Iodine as an Indicator in the Study of Thyroid Physiology. *Experimental Biology and Medicine*. 1938;38(4):510-513. doi: <https://doi.org/10.3181/00379727-38-9915p>
- Joliot F, Curie I. Artificial Production of a New Kind of Radio-Element. *Nature*. 1934;133(3354):201-202. doi: <https://doi.org/10.1038/133201a0>
- Livingood J, Seaborg G. Radioactive Iodine Isotopes. *Physical Review*. 1938;53(12):1015-1015. doi: <https://doi.org/10.1103/physrev.53.1015.2>
- Hamilton J. The rates of absorption of the radioactive isotopes of sodium, potassium, chlorine, bromine, and iodine in normal human subjects. *American Journal of Physiology-Legacy Content*. 1938;124(3):667-678. doi: <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1938.124.3.667>
- Sawin C, Becker D. Radioiodine and the Treatment of Hyperthyroidism: The Early History *. *Thyroid*. 1997;7(2):163-176. doi: <https://doi.org/10.1089/thy.1997.7.163>
- Proceedings of the thirty-fourth annual meeting of the American society for clinical investigation held in Atlantic city, N. J., May 4, 1942. *J Clin Invest*. 1942;21(5):619-649. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI101340>
- Hertz S, Roberts A. Radioactive iodine in the study of thyroid physiology; the use of radioactive iodine therapy in hyperthyroidism. *J Am Med Assoc*. 1946;131:81-86. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.1946.02870190005002>
- Chapman EM, Evans RD. The treatment of hyperthyroidism with radioactive iodine. *J Am Med Assoc*. 1946;131:86-91. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.1946.02870190010003>
- Hamilton J. The Use of Radioactive Tracers in Biology and Medicine. *Radiology*. 1942;39(5):541-572. doi: <https://doi.org/10.1148/39.5.541>
- Keston A, Ball R, Frantz V, Palmer W. Storage of radioactive iodine in a metastasis from thyroid carcinoma. *Science* (1979). 1942;95(2466):362-363. doi: <https://doi.org/10.1126/science.95.2466.362>
- Frantz V, Ball R, Keston A, Palmer W. Thyroid carcinoma with metastases. *Ann Surg*. 1944;119(5):668-689. doi: <https://doi.org/10.1097/0000658-194405000-00003>

32. Seidlin S, Oshry E, Yalow A. Spontaneous and experimentally induced uptake of radioactive iodine in metastases from thyroid carcinoma: a preliminary report*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1948;8(6):423-432. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-8-6-423>
33. Seidlin SM, Marinelli LD, Oshry E. Radioactive iodine therapy; effect on functioning metastases of adenocarcinoma of the thyroid. *J Am Med Assoc*. 1946;132(14):838-847. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.1946.02870490016004>
34. Smithers D. Some Varied Applications of Radioactive Isotopes to the Localisation and Treatment of Tumours. *Acta radiol*. 1951;35(1):49-61. doi: <https://doi.org/10.3109/00016925109136645>
35. Hertz S. Use of radioactive iodine in the diagnosis, study and treatment of diseases of the thyroid. *Progress in Clinical Endocrinology* 1950;65-78
36. Dobyns B, Vickery A, Maloof F, Chapman E. Functional and histologic effects of therapeutic doses of radioactive iodine on the thyroid of man*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1953;13(5):548-567. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-13-5-548>
37. Pouget J, Lozza C, Deshayes E, et al. Introduction to Radiobiology of Targeted Radionuclide Therapy. *Front Med (Lausanne)*. 2015;2. doi: <https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00012>
38. Bahn R. *Graves' Disease*. New York: Springer; 2015. 344 p.
39. Семенов Д.Ю., Борискова М.Е., Фарафонова У.В., и др. Прогностическое значение экспрессии натрий-йодного симпортера для высокодифференцированного рака щитовидной железы // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. — 2015. — Т. 11. — №1. — С. 50-58. [Semenov DYU, Boriskova ME, Farafonova UV, et al. Prognostic value of Sodium-Iodide Symporter (NIS) in differentiated thyroid cancer. *Clinical and experimental thyroidology*. 2015;11(1):50-58. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/ket2015150-58>
40. Spitzweg C, Bible K, Hofbauer L, Morris J. Advanced radioiodine-refractory differentiated thyroid cancer: the sodium iodide symporter and other emerging therapeutic targets. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014;2(10):830-842. doi: [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(14\)70051-8](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(14)70051-8)
41. Fletcher A, Read M, Thornton C, et al. Targeting Novel Sodium Iodide Symporter Interactors ADP-Ribosylation Factor 4 and Valosin-Containing Protein Enhances Radioiodine Uptake. *Cancer Res*. 2019;80(1):102-115. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-19-1957>
42. Schlumberger M, Brose M, Elisei R et al. Definition and management of radioactive iodine-refractory differentiated thyroid cancer. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*. 2014;2(5):356-358. doi: [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(13\)70215-8](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(13)70215-8)
43. Mufazalov F, Sharipova N. Current status of differentiated radioactive iodine-resistant thyroid cancer: case report of successful long-term treatment with sorafenib. *Malignant tumours*. 2015;(3):24. doi: <https://doi.org/10.18027/2224-5057-2015-3-24-33>
44. Marinelli L. Dosage determination in the use of radioactive isotopes. *Journal of Clinical Investigation*. 1949;28(6 Pt1):1271-1280. doi: <https://doi.org/10.1172/jci102194>

Рукопись получена: 29.09.2021. Одобрена к публикации: 03.10.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Корчагина Мария Олеговна [Maria O. Korchagina]**; адрес: Россия, 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8/2 [address: 8/2 Trubetskaya Street, 119991 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6954-1126>; eLibrary SPIN: 7834-5652; e-mail: mashulia96@list.ru;

Шеремета Марина Сергеевна, к.м.н. [Marina S. Sheremeta, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3785-0335>; eLibrary SPIN: 7845-2194; e-mail: marina888@yandex.ru

Трухин Алексей Андреевич [Alexey A. Trukhin]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5592-4727>; eLibrary SPIN: 4398-9536; e-mail: alexey.trukhin12@gmail.com

ЦИТИРОВАТЬ

Шеремета М.С., Трухин А.А., Корчагина М.О. Применение радиоактивных веществ в медицине — история и перспективы развития // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 59-67. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12824>

TO CITE THIS ARTICLE

Sheremeta MS, Trukhin AA, Korchagina MO. The use of radioactive substances in medicine — history and development prospects. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):59-67. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12824>

ОЦЕНКА ФОСФОРНО-КАЛЬЦИЕВОГО ОБМЕНА И МЕТАБОЛИТОВ ВИТАМИНА D У ПАЦИЕНТОВ С ПЕРВИЧНЫМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗОМ НА ФОНЕ БОЛЮСНОЙ ТЕРАПИИ КОЛЕКАЛЬЦИФЕРОЛОМ



© И.С. Маганева*, Е.А. Пигарова, Н.В. Шульпекова, Л.К. Дзеранова, А.К. Еремкина, А.П. Милютин, А.Ю. Жуков, А.А. Поваляева, В.П. Богданов, Л.Я. Рожинская, Н.Г. Мокрышева

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Дефицит (<20 нг/мл) и недостаточность (20–29 нг/мл) витамина D (25-гидроксивитамина D [25(OH)D]) часто встречаются при первичном гиперпаратиреозе (ПГПТ), но данные о метаболизме витамина D в этой популяции ограничены.

ЦЕЛЬ. Изучение метаболитов витамина D и их взаимосвязи с основными показателями фосфорно-кальциевого обмена у пациентов с верифицированным ПГПТ исходно и на фоне однократного перорального приема колекальциферола в болюсной дозе (150 000 МЕ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Проведено одноцентровое интервенционное динамическое проспективное сравнительное исследование. В исследование вошли 54 человека, распределенных по двум группам: в 1-ю группу включены 27 пациентов с подтвержденным ПГПТ, для сравнения была сформирована 2-я контрольная группа (n=27), сопоставимая по полу (p=0,062). Исследование включало 4 визита, на визите 1 выполнялись лабораторное обследование и прием болюсной дозы колекальциферола, на последующих визитах — динамическое лабораторное обследование.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Дефицит витамина D (менее 20 нг/мл) определялся у 69% пациентов с ПГПТ. В группе ПГПТ перед приемом колекальциферола наблюдалась прямая ассоциация $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ с альбумин-скорректированным и ионизированным кальцием, а также между отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ с паратиреоидным гормоном (ПТГ) и магнием. После приема болюсной дозы колекальциферола на всех визитах в группе ПГПТ уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и соотношение $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ значительно увеличивались, а $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ — снижались. При сопоставимой с контролем концентрации $25(\text{OH})\text{D}$ уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у пациентов с ПГПТ были исходно на 55% выше, а после приема 150 000 МЕ повышались к 3–7-му дню на дополнительные 23–36%, что на каждом визите было значительно выше таковых значений в группе контроля: 44, 74 и 65% на визите 2, 3 и 4 соответственно (p<0,05). Использование насыщающих доз в группе ПГПТ не приводило к значимому нарастанию гиперкальциемии и гиперкальциурии, что свидетельствует о безопасности использования данной схемы у пациентов с исходно мягкой гиперкальциемией (альбумин-скорректированный кальций <3 ммоль/л). После приема болюсной дозы колекальциферола ни у одного из участников исследования не фиксировались побочные явления.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Впервые проведена комплексная оценка метаболитов витамина D у пациентов с ПГПТ до и после использования болюсной дозы колекальциферола. Полученные результаты свидетельствуют об особенностях метаболизма витамина D при хронической избыточной секреции ПТГ, что безусловно, значимо для понимания патогенеза заболевания, и в дальнейшем эти данные могут быть использованы для разработки терапевтических схем по назначению колекальциферола в указанной популяции.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: первичный гиперпаратиреоз; 1,25-дигидроксивитамин D; паратиреоидный гормон; дефицит витамина D; колекальциферол.

VITAMIN D METABOLITE AND CALCIUM PHOSPHORUS METABOLISM IN IN PATIENTS WITH PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM ON THE BACKGROUND OF BOLUS THERAPY WITH COLECALCIFEROL

© Irina S. Maganeva, Ekaterina A. Pigarova, Nadezhda V. Shulpekova, Larisa K. Dzeranova, Anna K. Eremkina, Anastasiia P. Miliutina, Alexandra A. Povaliaeva, Artem Y. Zhukov, Viktor P. Bogdanov, Liudmila Ya. Rozhinskaya, Natalia G. Mokrysheva

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

BACKGROUND: Vitamin D (25-hydroxyvitamin D [25(OH)D]) deficiency (<20 ng/mL) and insufficiency (20–29 ng/mL) are common in primary hyperparathyroidism (PHPT), but data regarding the vitamin D metabolism in this population is limited.

AIM: The aim of this study is to estimate the vitamin D metabolites and their relationship with the main parameters of phosphorus-calcium metabolism in patients with PHPT at baseline and on the background of a single dose of cholecalciferol 150,000 IU.



MATERIALS AND METHODS: A single-center interventional, dynamic, prospective, comparative study has been carried out. The study included 54 participants, divided into two groups: the 1st group included 27 patients with confirmed PHPT, the 2nd control group ($n = 27$), matched on gender ($p = 0.062$). The study included 4 visits; the baseline laboratory examination and a bolus dose of cholecalciferol were performed at the visit 1, the subsequent visits included a dynamic laboratory examination.

RESULTS: Vitamin D deficiency (<20 ng/ml) was detected in 69% of patients with PHPT. In the PHPT group (before cholecalciferol therapy), there was a direct association of $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ with albumin-corrected and ionized calcium, as well as between the $25(\text{OH})\text{D}_3/24.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ratio with PTH and magnesium. After taking of cholecalciferol, the levels of $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and $25(\text{OH})\text{D}_3/24.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ were significantly increased, and the levels of $25(\text{OH})\text{D}_3/1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ were significantly declined at all visits among patients with PHPT. The common $25(\text{OH})\text{D}$ level was comparable to the control group, however the levels of $1.25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in patients with PHPT were 55% higher at baseline, and after taking of cholecalciferol 150,000 IU. They remained increased by 3–7 days by an additional 23–36%, significantly higher than those in the control group: 44%, 74% and 65%, at visits 2, 3 and 4, respectively ($p < 0.05$). The taking of 150,000 IU cholecalciferol in the PHPT group did not lead to a significant increase in hypercalcemia and hypercalciuria, which indicates the safety of this dose in patients with mild hypercalcemia (albumin corrected calcium <3 mmol/l). None of the study participants experienced any side effects.

CONCLUSION: The completely comprehensive assessment of vitamin D metabolites was carried out for the first time in patients with PHPT before and after using a bolus dose of cholecalciferol. The results confirmed the differences of vitamin D metabolism in chronic excessive secretion of PTH compared to control group, which is new data in the pathogenesis of the disease, and can be used to develop optimal regimens for cholecalciferol taking in this population.

KEYWORDS: primary hyperparathyroidism; 1,25-dihydroxyvitamin D; parathyroid hormone; vitamin D deficiency; cholecalciferol.

ОБОСНОВАНИЕ

При первичном гиперпаратиреозе (ПГПТ) чаще, чем в общей популяции, определяется снижение уровня витамина D, распространенность которого в разных исследованиях варьирует в пределах 60–90% [1–3]. В соответствии с действующими российскими клиническими рекомендациями по диагностике и лечению дефицита витамина D под терминами «дефицит» понимается концентрация наиболее распространенного метаболита $25(\text{OH})\text{D} < 20$ нг/мл (50 нмоль/л), «недостаточность» — от 20 до 30 нг/мл (от 50 до 75 нмоль/л), а «адекватные уровни» — равные или более 30 нг/мл (75 нмоль/л), при которых достигается подавление избыточной секреции ПТГ у большинства индивидуумов. Является ли данная концентрация витамина D целевой для пациентов с ПГПТ, остается достаточно спорным вопросом. В последней версии европейских клинических рекомендаций по ведению пациентов с бессимптомным ПГПТ рекомендуется корректировать дефицит витамина D и поддерживать более низкий оптимальный уровень $25(\text{OH})\text{D} > 20$ нг/мл (50 нмоль/л), хотя указано, что ряд экспертов предлагают все же целевыми считать значения > 30 нг/мл (75 нмоль/л) [4].

$25(\text{OH})\text{D}$ — кальцидиол, метаболит витамина D, который чаще всего используется для оценки статуса витамина в организме. Это обусловлено более длительным периодом его полужизни (2–3 нед vs 4 ч у кальцитриола ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$)) и тем, что его концентрация в крови существенно выше, чем таковая $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (примерно в 1000 раз). Большая часть $25(\text{OH})\text{D}$ прочно связана с витамин D-связывающим белком (DBP), а меньшее количество (10–15%) — с альбумином. Менее 1% циркулирующих метаболитов витамина D существует в свободной, несвязанной форме, но именно эта форма, по сути, является биологически активной [5, 6]. При ПГПТ информация по различным формам циркулирующего $25(\text{OH})\text{D}$ (количественные и качественные характеристики) ограничена.

Точные патогенетические механизмы, объясняющие взаимосвязь между ПГПТ и низким уровнем $25(\text{OH})\text{D}$, остаются не до конца понятными. Известно, что ПТГ стимулирует превращение $25(\text{OH})\text{D}$ в $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, индуцируя секрецию почечного фермента 1- α -гидроксилазы [7]. Повышенные уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ при ПГПТ, в свою очередь, могут подавлять дальнейший синтез активного витамина D из предшественников в коже и печени. Период полувыведения $25(\text{OH})\text{D}$ также может быть сокращен при ПГПТ из-за повышенной инактивации кальцидиола в неактивные метаболиты в печени [8]. С другой стороны, сам хронический дефицит витамина D рассматривается в качестве предположительного механизма для запуска гиперплазии околощитовидных желез с последующим приобретением автономной секреции ПТГ и трансформацией в аденому [9]. Имеются данные о том, что тяжесть ПГПТ возрастает при наличии сопутствующего тяжелого дефицита витамина D, так как последний ассоциирован с более высокими показателями ПТГ и кальция, увеличением массы аденомы, более низкой минеральной плотностью костей, повышенным метаболизмом костной ткани и, как следствие, риском низкоэнергетических переломов [10].

ЦЕЛЬ

Изучение метаболитов витамина D и их взаимосвязи с основными показателями фосфорно-кальциевого обмена у пациентов с верифицированным ПГПТ исходно и на фоне однократного перорального приема колекальциферола в болюсной дозе (150 000 МЕ).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Исследование проведено в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Время исследования. Набор групп и обследование выполнены в период с мая 2019 г. по октябрь 2021 г.

Изучаемые популяции (одна или несколько)

В исследование вошли 54 человека, распределенные по двум группам: в 1-ю включены 27 пациентов с подтвержденным ПГПТ, из них 4 (15%) мужчин и 23 (85%) женщины. Медиана возраста составила 57,5 года [45; 59]. Для сравнения сформирована 2-я контрольная группа ($n=27$), сопоставимая с 1-й по полу ($p=0,062$), в которых 10 (27%) мужчин и 17 (63%) женщин. Медиана возраста составила 27 лет [25; 29].

Критерии включения

Критерии включения в 1-ю группу:

- взрослые лица обоих полов от 18 до 66 лет включительно;
- подтвержденный диагноз ПГПТ, отсутствие в анамнезе хирургического лечения ПГПТ;
- уровень 25(ОН)D менее 30 нг/мл;
- подписанное информированное согласие.

Критерии включения во 2-ю группу:

- взрослые лица обоих полов от 18 до 66 лет включительно;
- уровень 25(ОН)D менее 30 нг/мл;
- подписанное информированное согласие.

Критерии исключения

Критерии исключения из 1-й группы:

- гиперкальциемия $\geq 3,0$ ммоль/л [11];
- снижение функции почек (расчетная скорость клубочковой фильтрации (СКФ) < 60 мл/мин/1,73 м²);
- прием лекарственных препаратов, которые могут быть ассоциированы с изменением уровня витамина D, на протяжении 3 мес, предшествующих исследованию: препараты витамина D, глюкокортикоиды, тиазидные диуретики, спиронолактон, антиретровирусные препараты, противогрибковые препараты, холестирамин, орлистат, противозачаточные препараты, антидепрессанты, противомикробные средства, химиотерапия, иммуносупрессанты, антагонисты H₂-рецепторов;
- ИМТ ≥ 30 кг/м²;
- наличие гранулематозного заболевания;
- синдром мальабсорбции;
- лабораторные признаки печеночной недостаточности (гипоальбуминемия);
- беременность;
- аллергия на препараты витамина D.

Критерии исключения из 2-й группы:

- вторичный гиперпаратиреоз;
- ИМТ ≥ 30 кг/м²;
- аллергия на препараты витамина D.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

Группа исследования формировалась сплошным методом.

Согласно критериям, в группу контроля был включен 131 человек. После применения критериев исключения с последующим использованием способа псев-

дорандомизации в настоящее исследование включены 27 человек.

Дизайн исследования

Проведено одноцентровое интервенционное динамическое проспективное сравнительное исследование.

Описание медицинского вмешательства (для интервенционных исследований)

На визите 0 (скрининговый) проводились:

1. сбор анамнеза (на основании медицинской документации и со слов пациента; анализировались данные анкетирования);
2. лабораторное обследование: оценка статуса витамина D;
3. включение в исследование.

На визите 1 (день 0) выполнялись:

1. лабораторное обследование (забор крови из вены, сбор разовой порции утренней мочи);
2. прием лечебной дозы препарата водного раствора колекальциферола (Аквадетрим) 150 000 МЕ перорально.

На визите 2 (день 1), 3 (день 3), 4 (день 7): повторно проводилось лабораторное обследование (забор крови из вены, сбор разовой порции утренней мочи).

Методы

Все лабораторные исследования образцов сыворотки крови и мочи проводились в клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Биохимические параметры сыворотки крови: кальций общий (РИ 2,15–2,55 ммоль/л), альбумин (РИ 34–48 г/л для женщин, 35–50 г/л для мужчин), фосфор (РИ 0,74–1,52 ммоль/л), магний (РИ 0,7–1,05 ммоль/л), креатинин (РИ 50–98 мкмоль/л для женщин, 63–110 мкмоль/л для мужчин) исследованы на автоматическом биохимическом анализаторе ARCHITECT c8000 (Abbott, США). Ионизированный кальций определялся расчетным методом (РИ 1,03–1,29 ммоль/л). Исследование интактного ПТГ крови (иПТГ) (РИ 15–65 пг/мл) проводилось на электрохемилюминесцентном анализаторе Cobas 6000 (Roche, Германия), 25(ОН)D (РИ 30–100 нг/мл) — на анализаторе Liaison XL (DiaSorin, Италия). Уровень альбумин-скорректированного кальция рассчитывался по формуле:

$$\text{общий кальций (ммоль/л)} = \text{измеренный уровень кальция сыворотки (ммоль/л)} + 0,02 \times (40 - \text{измеренный уровень альбумина (г/л)}).$$

Скорость клубочковой фильтрации (СКФ) определялась с учетом возраста и уровня креатинина сыворотки по формуле CKD-EPI 2009. Индекс массы тела (ИМТ) рассчитывался по формуле:

$$\text{ИМТ} = \text{масса тела (кг)} / \text{рост (м)}^2.$$

Биохимические параметры разовой порции мочи: кальций (РИ 1,7–5,3 ммоль/л), кальций/креатининовое соотношение (ККС) (РИ 0,1–0,8 ммоль/ммоль), фосфор/креатининовое соотношение (ФКС) (РИ 1,4–3,5 ммоль/ммоль) исследованы на автоматическом биохимическом анализаторе ARCHITECT c8000.

Оценка метаболитов витамина D

Уровни DBP в сыворотке и свободный 25(OH)D измеряли методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческих наборов — Assaypro (Миссури, США) и DAsource (ImmunoAssays S.A., Бельгия) соответственно.

Уровни метаболитов витамина D (25(OH)D₃, 1,25(OH)₂D₃ (ПИ 25–66 нг/мл), 3-epi-25(OH)D₃ (ПИ не разработан) и 24,25(OH)₂D₃ (ПИ 0,5–5,6 нг/мл)) в сыворотке крови определяли методом сверхвысокой производительности жидкостной хроматографии в сочетании с tandemной масс-спектрометрией (UPLC-MS/MS) с использованием собственного разработанного метода, обоснованного на ранее опубликованных другими исследователями группами [12–14]. ПИ для 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ — 7–23 нг/мл, D₃ (колекальциферол) — >30 пг/мл.

Образцы сыворотки для измерения DBP (ПИ 176–623 мг/л), свободного 25(OH)D и метаболитов витамина D хранились при температуре –80 °C, избегая повторных циклов замораживания-оттаивания.

Для расчета 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ (ПИ не разработан) и свободного 25(OH)D (ПИ 2,4–35 пг/мл) использовались следующие формулы:

$$25(OH)D_3/1,25(OH)_2D_3 = 25(OH)D_3 \times 1000 / 1,25(OH)_2D_3 \\ \text{Свободный } 25(OH)D = (1000 \times 25(OH)D_3) / \\ (1 + (9 \times \text{альбумин}) + (11,2 \times \text{DBP})).$$

Статистический анализ

Статистический анализ проведен в программных пакетах Statistica v.13 (StatSoft, США) и SPSS (IBM, США). Для определения соответствия распределения количественных данных нормальному закону использовался тест Шапиро–Уилка. Описательная статистика количественных показателей представлена медианами, первым и третьим квартилями в виде Me [Q1; Q3]. Сравнение двух независимых групп для количественных данных выполнялось с помощью критерия Манна–Уитни (U-тест), двух зависимых групп — с помощью критерия Вилкоксона. Для сравнения 3 и более зависимых выборок был использован критерий Фридмана. Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез принят равным 0,05.

Этическая экспертиза

Исследование (идентификатор ClinicalTrials.gov: NCT04844164) одобрено этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России 10 апреля 2019 г., протокол № 6. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Сравнительный анализ групп до приема колекальциферола

Основные параметры фосфорно-кальциевого обмена в обеих группах на различных визитах представлены в таблице 1.

При сравнении основных лабораторных показателей на визите 1 ожидаемо в группе 1 статистически значимо выше были значения иПТГ, кальция в крови и моче, ККС, ФКС (для всех $p < 0,001$), магния ($p = 0,016$) и ниже — фосфора ($p < 0,001$). Значения СКФ были достоверно ниже

в группе ПГПТ (89 мл/мин/1,73 м² [80; 99] vs 108 [102; 114], $p < 0,001$).

В исследуемой группе медиана 25(OH)D составила 17,3 нг/мл [13,7; 22,7]. Выраженный дефицит 25(OH)D (менее 10 нг/мл) был выявлен в 23% случаев ($n = 6$), дефицит 25(OH)D (от 10 до 20 нг/мл) — в 46% случаев ($n = 12$), недостаточность (> 20 –30 нг/мл) — в 30,8% ($n = 8$). Уровень 25(OH)D был достоверно ниже (7,0 нг/мл [4,9; 14,2] vs 17,9 нг/мл [13,8; 25,8], $p = 0,044$, U-тест), а уровень DBP — достоверно выше (286,5 мг/л [276,5; 333,5] vs 234,5 мг/л [195; 270], $p = 0,049$) у мужчин по сравнению с женщинами. Различий по остальным метаболитам витамина D среди мужчин и женщин не наблюдалось ($p > 0,05$).

В группе 2 медиана 25(OH)D составила 20,4 нг/мл [15,4; 24,4], выраженный дефицит 25(OH)D отмечался в 7,4% случаев ($n = 2$), дефицит 25(OH)D — в 40,8% случаев ($n = 11$), недостаточность — в 51,8% ($n = 14$). Значения 25(OH)D были сопоставимы у мужчин и женщин ($p = 0,84$), а DBP был достоверно выше у женщин (282 пг/мл [246; 391] vs 223 нг/мл [197; 259], $p = 0,035$). Различий по остальным метаболитам витамина D среди мужчин и женщин не наблюдалось ($p > 0,05$).

Нами не было выявлено различий по уровню 25(OH)D ($p = 0,253$) в группах, в том числе при формировании дополнительных подгрупп в зависимости от статуса витамина D (дефицит и недостаточность).

Группы 1 и 2 не отличались по показателям DBP, свободного 25(OH)D, 25(OH)D₃, 3-epi-25(OH)D₃, 24,25(OH)₂D₃ и D₃, однако значения 1,25(OH)₂D₃ и 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ были статистически значимо выше в группе 1: 1,25(OH)₂D₃ — 59,7 нг/мл [47,9; 70,7] vs 38,5 нг/мл [33,5; 43,3], $p < 0,001$ и 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ — 18,02 нг/мл [14,2; 30,4] vs 13,1 нг/мл [11,0; 15,4], $p < 0,001$. Соотношение 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ в группе ПГПТ было значимо ниже ($p = 0,004$).

Сравнительный анализ групп после приема колекальциферола

После приема болюсной дозы колекальциферола ни у одного из участников исследования не фиксировались побочные явления.

Подробная характеристика метаболитов витамина D на различных визитах и их сравнительный анализ между группами представлены в таблице 2. Примечательно, что на всех визитах в группе 1 значения 1,25(OH)₂D₃ и 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ были статистически значимо выше ($p < 0,05$ для всех), в то время как уровни 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ — значимо ниже ($p < 0,05$ для всех), чем у контроля.

Динамика параметров фосфорно-кальциевого обмена на различных визитах

В группе ПГПТ на фоне насыщения витамином D уровень кальция крови при сравнении с исходным значением максимально повышался на визите 3: для ионизированного и альбумин-скорректированного кальция $\Delta = 0,03$ ммоль/л ($p = 0,008$ для ионизированного кальция и $p = 0,032$ для альбумин-скорректированного кальция, рис. 1) (динамика параметров фосфорно-кальциевого обмена на различных визитах представлена в таблице 1).

Таблица 1. Параметры фосфорно-кальциевого обмена в исследуемых группах на визитах до и после перорального приема 150 000 МЕ колекальциферола (Ме [Q1; Q3])

Визиты	Группа с ПГПТ	Контрольная группа	P, U-тест
Кальций общий, ммоль/л			
1	2,71 [2,61; 2,80]	2,40 [2,34; 2,44]	<0,001
2	2,73 [2,60; 2,79]	2,43 [2,38; 2,46]	<0,001
3	2,77 [2,65; 2,85]	2,42 [2,36; 2,49]	<0,001
4	2,74 [2,63; 2,84]	2,38 [2,34; 2,42]	<0,001
Кальций ионизированный, ммоль/л			
1	1,28 [1,22; 1,31]	1,10 [1,08; 1,12]	<0,001
2	1,27 [1,23; 1,3]	1,11 [1,09; 1,14]	<0,001
3	1,295 [1,24; 1,33]	1,10 [1,08; 1,12]	<0,001
4	1,30 [1,24; 1,34]	1,11 [1,08; 1,12]	<0,001
Альбумин-скорректированный кальций, ммоль/л			
1	2,61 [2,48; 2,70]	2,29 [2,25; 2,33]	<0,001
2	2,60 [2,52; 2,71]	2,32 [2,29; 2,37]	<0,001
3	2,65 [2,55; 2,77]	2,32 [2,24; 2,38]	<0,001
4	2,64 [2,55; 2,74]	2,29 [2,23; 2,34]	<0,001
Фосфор, ммоль/л			
1	0,88 [0,80; 0,98]	1,15 [1,11; 1,27]	<0,001
2	0,89 [0,84; 1,01]	1,27 [1,18; 1,33]	<0,001
3	0,97 [0,85; 1,05]	1,31 [1,19; 1,38]	<0,001
4	0,89 [0,81; 1,00]	1,28 [1,13; 1,36]	<0,001
иПТГ, пг/мл			
1	121,40 [96,02; 167,60]	31,88 [22,21; 38,16]	<0,001
2	115,6 [93,4; 156,4]	34,30 [26,16; 41,31]	<0,001
3	120,0 [91,3; 151,7]	30,55 [24,28; 36,40]	<0,001
4	112,80 [85,56; 140,90]	29,89 [19,92; 42,92]	<0,001
Креатинин, мкмоль/л			
1	67,9 [64,9; 76,2]	70,6 [67,2; 83,3]	0,151
2	69,4 [64,8; 75,4]	73,9 [66,2; 79,4]	0,071
3	70,3 [65,6; 76,2]	70,2 [67,8; 78,9]	0,341
4	68,5 [62,3; 76,7]	72,0 [66,3; 83,3]	0,137
СКФ, мл/мин/1,73 м²			
1	89 [80; 99]	108 [102; 114]	<0,001
2	87 [82; 98]	104 [98; 114]	<0,001
3	88 [78; 94]	107 [101; 115]	<0,001
4	91 [81; 98]	107 [101; 115]	<0,001
Кальций в разовой порции мочи, ммоль/л			
1	5,61 [3,52; 7,44]	2,32 [1,26; 4,29]	<0,001
2	5,89 [4,09; 7,05]	3,76 [1,99; 5,57]	0,004
3	6,17 [3,31; 8,30]	2,60 [1,48; 3,79]	0,001
4	5,83 [4,35; 8,65]	2,58 [1,02; 5,98]	0,001
ККС, ммоль/ммоль			
1	0,64 [0,37; 1,02]	0,25 [0,13; 0,44]	<0,001
2	0,56 [0,40; 0,85]	0,37 [0,16; 0,60]	0,004
3	0,695 [0,505; 0,98]	0,27 [0,14; 0,45]	<0,001
4	0,77 [0,55; 1,01]	0,20 [0,09; 0,51]	<0,001
ФКС, ммоль/ммоль			
1	2,66 [2,27; 3,21]	1,47 [1,24; 2,78]	0,001
2	2,50 [2,16; 3,10]	1,83 [1,13; 2,33]	0,001
3	2,595 [2,29; 3,40]	1,40 [1,16; 2,30]	<0,001
4	2,895 [2,09; 3,66]	1,60 [1,19; 2,42]	<0,001

Таблица 2. Уровни метаболитов витамина D в исследуемых группах на визитах до и после перорального приема 150 000 МЕ колекальциферола (Ме [Q1; Q3])

Визиты	Группа с ПГПТ	Контрольная группа	P, U-тест
25(OH)D, нг/мл			
0	17,3 [13,7; 22,7]	20,4 [15,4; 24,4]	0,253
25(OH)D свободный, пг/мл (не связанный белком)			
1	4,74 [4,10; 6,16]	6,0 [5,0; 6,7]	0,247
2	7,46 [5,23; 11,79]	11,7 [9,44; 14,03]	0,021
3	10,44 [7,34; 14,03]	14,03 [10,70; 17,00]	0,009
4	10,33 [6,81; 13,14]	12,86 [9,91; 16,80]	0,084
DBP, мг/л (белок)			
1	257 [195; 292]	252 [210; 316]	0,487
2	239,5 [208; 290]	250 [224; 303]	0,532
3	258,5 [246; 312]	225 [202; 280]	0,013
4	270 [250; 319]	263 [215; 327]	0,651
25(OH)D₃, нг/мл			
1	22,4 [14,6; 28,8]	21,3 [14,8; 23,5]	0,413
2	35,0 [23,5; 46,6]	31,0 [23,4; 33,8]	0,306
3	40,4 [31,8; 44,9]	34,8 [31,9; 41,3]	0,420
4	38,4 [29,6; 44,5]	37,3 [32,1; 42,6]	0,922
3 еpi-25(OH)D₃, нг/мл			
1	0,88 [0,6; 1,6]	1,36 [1,00; 1,59]	0,068
2	2,45 [1,65; 3,25]	2,78 [2,50; 3,14]	0,168
3	3,62 [2,9; 4,5]	4,37 [3,83; 5,67]	0,010
4	3,02 [2,5; 3,9]	4,22 [3,33; 5,30]	0,001
1,25(OH)₂D₃, нг/мл			
1	59,7 [48; 71]	38,5 [33,5; 43,3]	<0,001
2	63,75 [54,5; 87]	44,3 [36,6; 53,6]	<0,001
3	80,4 [57; 90]	46,2 [41,0; 60,6]	<0,001
4	72,55 [55; 91]	43,9 [38,1; 52,3]	<0,001
24,25(OH)₂D₃, нг/мл			
1	1,1 [0,5; 2,1]	1,63 [1,07; 1,93]	0,210
2	1,6 [0,6; 2,35]	1,81 [1,29; 2,47]	0,223
3	2,1 [1,3; 3,0]	2,69 [2,12; 3,22]	0,058
4	2,5 [1,8; 3,3]	3,07 [2,45; 3,57]	0,023
25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃			
1	18,0 [14,2; 30,4]	13,06 [10,99; 15,38]	<0,001
2	24,1 [17,5; 42,6]	17,18 [14,45; 20,37]	0,003
3	18,7 [14,3; 25,4]	13,58 [11,46; 14,91]	<0,001
4	15,3 [12,6; 19,5]	11,82 [10,31; 13,33]	<0,001
25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃			
1	367,7 [200,0; 451,2]	517,57 [372,80; 610,39]	0,004
2	463,0 [326,5; 572,5]	675,81 [523,72; 788,80]	0,001
3	551,6 [380,1; 637,4]	708,96 [595,45; 942,92]	0,001
4	572,5 [343,5; 680,7]	828,21 [658,74; 974,77]	<0,001
D₃, пг/мл (колекальциферол)			
1	0,01 [0,01; 1,98]	0,01 [0,01; 2,04]	0,859
2	182,5 [148; 198]	226 [192; 272]	0,006
3	77,3 [69,1; 83,5]	86 [57,5; 106]	0,256
4	21,3 [17,9; 24,4]	23,5 [18,1; 29,7]	0,300

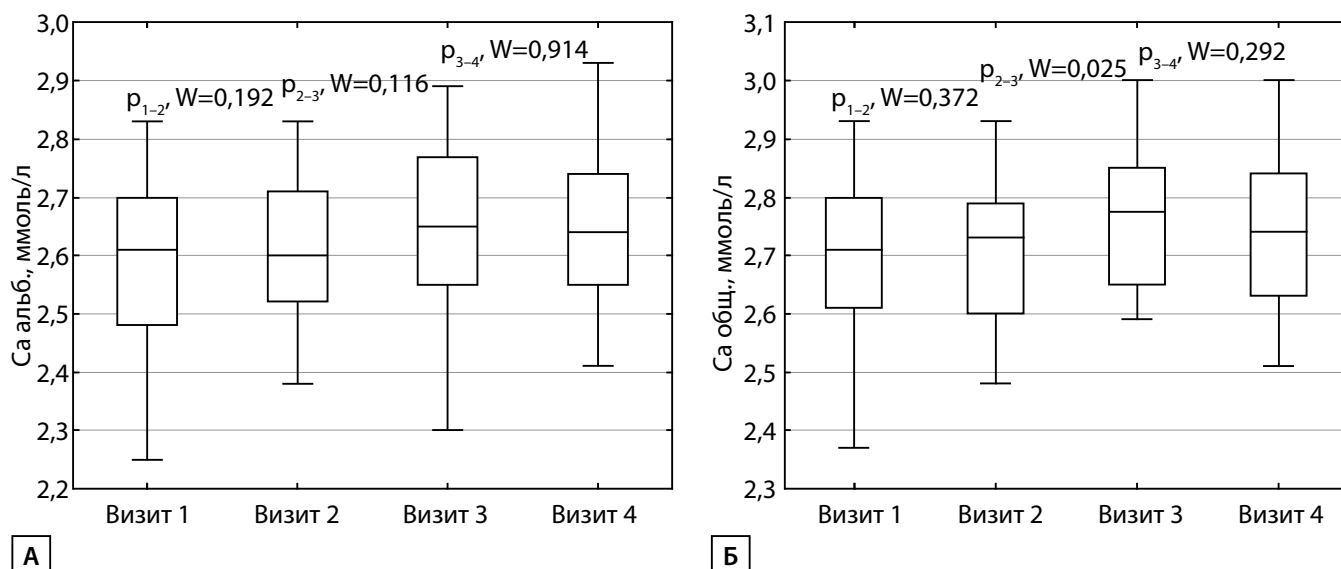


Рисунок 1. Динамика кальциемии в группе первичного гиперпаратиреоза на визитах 1–4: А — альбумин-скорректированный кальций; Б — общий кальций.

Для иПТГ отмечено снижение его уровня на визите 2 у 12 пациентов из группы 1 ($\Delta = -9,93$ пг/мл), на визите 4 — у 16 пациентов ($\Delta = -7,06$ пг/мл). В 20% случаев на визите 2 было выявлено повышение кальция в моче более 10 ммоль/л со снижением показателей, близким к исходному, на визите 4. Достоверной разницы по уровню кальциурии между визитами выявлено не было ($p=0,965$, Friedman ANOVA для группы 1 и $p=0,973$, Friedman ANOVA для группы 2).

Связь метаболитов витамина D с показателями фосфорно-кальциевого обмена на различных визитах

Группа 1.

Исходно уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ напрямую коррелировал с ионизированным кальцием ($r=0,47$; $p=0,02$), имел тенденцию к прямой корреляции с альбумин-скорректированным кальцием ($r=0,39$, $p=0,05$), а соотношение $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ — прямую связь с уровнем иПТГ, а также между $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и иПТГ ($r=0,60$; $p=0,001$) и магнием ($r=0,60$; $p=0,001$). Значения иПТГ и магния были достоверно выше при более низких концентрациях свободного $25(\text{OH})\text{D}$ ($r=-0,67$, $p=0,002$ для иПТГ и $r=-0,523$, $p=0,026$ для магния), $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ ($r=-0,46$; $p=0,02$), $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,58$; $p=0,02$) и отношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,71$, $p<0,001$ для иПТГ и $r=-0,587$, $p=0,002$ для магния). Для СКФ только на 1 визите прослеживались ассоциации с некоторыми метаболитами витамина D: выявлена прямая связь с $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,47$, $p=0,02$) и обратная связь с $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,461$, $p=0,018$).

На 2 визите ассоциации между $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ с уровнем альбумин-скорректированного кальция получено не было. Более низкие показатели $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ ассоциировались с гиперкальциемией на следующий день после приема болюсной дозы колекальциферола ($r=-0,47$, $p=0,02$ для альбумин-скорректированного кальция), а $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ — с более высоким иПТГ ($r=-0,42$, $p=0,04$).

На 3 и 4 визитах $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ напрямую коррелировал с уровнем иПТГ ($r=0,59$; $p=0,002$ и $r=0,58$; $p=0,002$ соответственно), так же, как и $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$

($r=0,44$; $p=0,026$ и $r=0,55$; $p=0,004$ соответственно). Обратная корреляция на визитах 3 и 4 наблюдалась с иПТГ у $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,57$; $p=0,003$ и $r=-0,55$; $p=0,004$).

На визитах 3 и 4 уровни ионизированного кальция обратно коррелировали с $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,55$; $p=0,004$ и $r=-0,47$; $p=0,02$ соответственно) и $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,48$; $p=0,02$ и $r=-0,40$; $p=0,04$). На визите 4 выявлена прямая взаимосвязь между ионизированным кальцием и свободным $25(\text{OH})\text{D}$ ($r=-0,50$; $p=0,03$). Фосфор сыворотки крови обратно коррелировал с $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,39$; $p=0,047$) на визите 1, и выявлена его прямая зависимость с D_3 на визите 3 ($r=0,49$; $p=0,01$). Связи метаболитов витамина D с кальциурией на всех визитах не выявлено.

Группа 2.

На визите 1, так же как и в группе ПГПТ, выявлена прямая зависимость между $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и альбумин-скорректированным кальцием ($r=0,40$; $p=0,04$), а также между отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и иПТГ ($r=0,67$, $p<0,001$). Аналогично в данной группе выявлена обратная связь иПТГ с $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ ($r=-0,61$; $p=0,001$), со свободным $25(\text{OH})\text{D}$ ($r=-0,50$; $p=0,007$), с $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,70$; $p<0,001$), с отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,56$; $p=0,002$). На визите 3 сохранялась обратная взаимосвязь иПТГ со свободным $25(\text{OH})\text{D}$ ($r=-0,40$; $p=0,04$), с $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,44$; $p=0,02$) и отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,47$; $p=0,01$).

В отличие от группы ПГПТ в контрольной группе на визите 1 была выявлена прямая зависимость между D_3 и кальцием: для ионизированного кальция $r=0,41$; $p=0,04$, для альбумин-скорректированного кальция $r=0,46$; $p=0,02$. Данная тенденция сохранилась только для ионизированного кальция на визите 2 ($r=0,45$; $p=0,02$). Также на визите 2 прямая зависимость была выявлена между фосфором со следующими показателями: $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ ($r=0,40$; $p=0,04$), $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,53$; $p=0,005$), отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,46$; $p=0,02$) и D_3 ($r=0,45$; $p=0,02$).

На визите 4 отмечалась обратная взаимосвязь кальция с $3\text{-epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$: для ионизированного кальция

$r=-0,40$; $p=0,04$, альбумин-скорректированного кальция $r=-0,39$; $p=0,04$), а также альбумин-скорректированного кальция с $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,47$; $p=0,01$) и ионизированного кальция с отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,42$; $p=0,03$). Значения альбумин-скорректированного кальция напрямую коррелировали с отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,40$; $p=0,04$). Прямая взаимосвязь с СКФ была отмечена у некоторых метаболитов витамина D на визите 4: для свободного $25(\text{OH})\text{D}$ ($r=0,43$; $p=0,02$), $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,46$; $p=0,01$) и отношения $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,382$; $p=0,050$).

Корреляция кальциурии с метаболитами витамина D была выявлена на визитах 2 и 4: после приема болюсной дозы колекальциферола на визите 2 отмечена обратная зависимость между концентрацией кальция в моче и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=-0,40$; $p=0,04$), а также положительная с соотношением $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ($r=0,44$; $p=0,02$); на визите 4 — прямая связь между кальциурией и D_3 ($r=0,49$, $p=0,01$). Отрицательная связь прослеживалась между $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и ФКс на визите 1 ($r=-0,57$; $p=0,002$) и на визите 2 ($r=-0,53$; $p=0,004$). Также на визите 2 отмечена обратная корреляция между $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и ККс ($r=-0,41$; $p=0,03$), а прямая зависимость — между $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и ККс ($r=0,44$; $p=0,02$) и между D_3 и ККс ($r=0,42$; $p=0,04$), которая сохранялась и на визите 4 ($r=0,63$; $p=0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Репрезентативность выборок

Выборка пациентов с ПГПТ в исследовании соответствует целевой популяции пациентов с этим заболеванием, что характеризуется основными показателями и их взаимосвязями. Контрольная группа сформирована сопоставимой по полу. Более молодой возраст индивидуумов группы контроля позволил нивелировать возможные возраст-ассоциированные факторы, связанные в том числе с бременем неучтенной полипрагмазии и различных хронических заболеваний. Каких-либо специфических факторов (социальных, экономических, культурных, др.), способных повлиять на внешнюю валидность выводов исследования, не отмечено.

Сопоставление с другими публикациями

ПТГ — один из основных регуляторов как фосфорно-кальциевого обмена, так и метаболизма витамина D. Многие данные свидетельствуют о том, что дефицит витамина D при ПГПТ является фактором, стимулирующим увеличение секреции ПТГ [15] и большую активность заболевания [16]. В последнее десятилетие значимо увеличилось выявление бессимптомных форм и нормокальциемических вариантов ПГПТ, что связано с повышением доступности лабораторного определения кальция и ПТГ. Поскольку пациенты с ПГПТ могут в этих случаях наблюдаться годами без хирургического вмешательства, последствия дефицита витамина D имеют особое значение [17, 18].

В нашем исследовании у 69% пациентов с ПГПТ уровень $25(\text{OH})\text{D}$ соответствовал дефициту витамина D (менее 20 нг/мл) и был достоверно ниже среди мужчин, что согласуется с данными зарубежных исследований [1–3].

Отсутствие статистических различий в исходных уровнях витамина у пациентов с ПГПТ и контроля, определенных как скрининговым иммунохемилюминесцентным методом, так и LC-MS/MS, может происходить от характерной для популяции высокой распространенности дефицита и недостаточности витамина D в Российской Федерации и является фактором преимущества для дальнейшей сравнительной оценки динамики уровней самого витамина D и его метаболитов до и после приема нагрузочной дозы колекальциферола [19]. Выдвигается гипотеза, что уровень $25(\text{OH})\text{D}$ в крови при ПГПТ не является «истинным» дефицитом витамина D, а может быть следствием ускоренной метаболической конверсии $25(\text{OH})\text{D}$ [20, 21], большей деградацией до $24,25(\text{OH})_2\text{D}$ и/или снижением циркулирующих уровней DBP [22]. По данным U.M. Kabadi и соавт., у лиц с ПГПТ уровень $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ был выше на 39–147%, чем у лиц с нормальным и низким уровнем $25(\text{OH})\text{D}$. При этом $25(\text{OH})\text{D}$ у пациентов с ПГПТ был снижен в среднем до 18 ± 3 нг/мл, но существенно не отличался от группы с дефицитом витамина D без ПГПТ (средний уровень 15 ± 2 нг/мл) [23]. В настоящем исследовании мы получили, что при одинаковом $25(\text{OH})\text{D}$ уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ у пациентов с ПГПТ были исходно на 55% выше, а после приема 150 000 МЕ они повышались к 3–7-му дню на дополнительные 23–36%, что на каждом визите было значимо выше таковых значений в группе контроля: 44, 74 и 65% на визите 2, 3 и 4 соответственно ($p<0,05$). Эти данные подтверждают наличие повышенной ПТГ-ассоциированной конверсии $25(\text{OH})\text{D}$ в $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

В исследовании L. Meng и соавт. подтверждены более низкие уровни общего $25(\text{OH})\text{D}$ при ПГПТ, что ассоциировано с более низкими концентрациями DBP ($p<0,001$). Свободный $25(\text{OH})\text{D}$ и $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ не отличались, а уровни свободного $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ были примерно на 26% выше у пациентов с ПГПТ по сравнению с контролем ($p<0,001$). Пациенты с ПГПТ продемонстрировали значительно более высокий коэффициент активации витамина D, рассчитанный как соотношение $1,25(\text{OH})_2\text{D}/25(\text{OH})\text{D}$ ($p<0,01$), хотя общее количество $25(\text{OH})\text{D}$ было ниже, чем в контроле [24]. Свободный $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ отрицательно коррелировал с уровнями DBP ($p<0,01$) и вместе с коэффициентом активации положительно коррелировал с уровнями ПТГ и кальция крови ($p<0,01$). Данные нашего исследования не позволяют подтвердить тот факт, что при ПГПТ имеют место более низкие концентрации DBP, так как не выявлено их отличий между группами. Выявленная гендерная разница в концентрации данного белка была очевидна в обеих группах нашего исследования и могла стать причиной выявленных отклонений в исследовании L. Meng и соавт. Соответственно, маловероятно, что изменение уровней DBP при ПГПТ может быть причиной выявляемых различий в базальных уровнях и метаболизме витамина D.

Половые стероиды, в частности эстрогены, стимулируют синтез DBP. Это объясняет, почему общие концентрации витамина D выше во время беременности по сравнению с небеременными, в то время как концентрации свободного витамина D остаются одинаковыми в обеих группах женщин [25]. Подтверждением этого является полученная нами разница в концентрации DBP между мужчинами и женщинами.

CYP24A1 экспрессируется в тканях, которые считаются мишенями для витамина D и ПТГ, включая почки, кишечник и кости. Транскрипция гена *CYP24A1* заметно индуцируется связыванием VDR $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ с рецептором витамина D [26]. За счет регуляции экспрессии гена *CYP24A1*, кодирующего фермент 24-гидроксилазу, создается система контроля с отрицательной обратной связью, ограничивающая эффекты $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и возможности активации $24(\text{OH})\text{D}_3$. Фермент метаболизирует $25(\text{OH})\text{D}_3$ и $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в неактивные формы $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$ [27]. Таким образом, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ регулирует свой собственный метаболизм, защищая от гиперкальциемии и ограничивая уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в клетках. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и отношение $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, отражающее активность 24-гидроксилазы, были статистически значимо выше в группе ПГПТ на всех визитах нашего исследования ($p < 0,001$).

В группе ПГПТ перед приемом колекальциферола выявлена прямая взаимосвязь $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ с альбумин-скорректированным и ионизированным кальцием, а также между отношением $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ с иПТГ и магнием. Уровни иПТГ и магния были выше при более низком свободном $25(\text{OH})\text{D}$, а также при более низких $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. По данным Q. Dai и соавт. [28], уровень магния может быть важен для оптимизации статуса $25(\text{OH})\text{D}$. Коррекция уровня магния крови значимо влияла на достигаемую концентрацию $25(\text{OH})\text{D}_3$, $25(\text{OH})\text{D}_2$ и $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в зависимости от исходных концентраций $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке крови, что было связано с повышенным образованием $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и более низкими достигаемыми уровнями $25(\text{OH})\text{D}_3$ при наличии адекватных концентраций витамина D в крови (с ~30 до 50 нг/мл), чем при уровнях не более 30 нг/мл.

После приема болюсной дозы колекальциферола на всех визитах в группе ПГПТ уровни $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $25(\text{OH})\text{D}_3/24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ значимо увеличивались, а уровни $25(\text{OH})\text{D}_3/1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ — снижались. Это отражает тот факт, что у пациентов с ПГПТ даже после коррекции уровней витамина D сохраняется особенность метаболизма витамина — повышенная активация в почках под действием 1- α -гидроксилазы и повышенная активность 24-гидроксилазы, и, таким образом, это увеличивает метаболические «траты» витамина D, снижая его уровни в крови.

Фермент 25-гидроксивитамин D_3 -3-эпимераза, находящийся в эндоплазматическом ретикулеуме ряда клеток/тканей, но не в почках, осуществляет инверсию $3\beta \rightarrow 3\alpha$, образуя метаболит 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$, из которого в дальнейшем может образовываться 3- $\text{epi-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, обладающий пониженной биологической активностью по сравнению с $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [8] вследствие редуцированной в 35–120 раз аффинности связывания с VDR и, как следствие, с ограниченной способностью стимулировать всасывание кальция в кишечнике и стимуляцией экспрессии 24-гидроксилазы. Концентрация 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ в сыворотке крови сильно варьирует — от менее 1% до 25%, в отличие от концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ со средним показателем порядка 4,75% [29] и более высокими значениями у детей — от 8,7 до 61,1% концентрации $25(\text{OH})\text{D}_3$ [30]. 3- $\text{epi-}1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, по-видимому, обладает большей метаболической стабильностью, чем $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, поэтому, несмотря на более низкую биологическую активность, он может иметь более продолжительные эффекты

in vivo, в том числе по подавлению секреции ПТГ культивируемыми паратиреоидами [31]. На основании вышеизложенного 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ является менее активным предшественником, чем $25(\text{OH})\text{D}_3$, и не отражает статус витамина D. В связи с этим эти два метаболита следует измерять отдельно, но современные методики как на основе иммуоферментных и иммунохемилюминесцентных анализов, так и LC-MS/MS имеют ряд ограничений и не всегда способны разделять эти два эпимера [32], что приводит к завышению измеряемого $25(\text{OH})\text{D}$.

Использованная в настоящем исследовании методика позволила достоверно разделить эти метаболиты. Исходные значения 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ между группами статистически не различались и составляли 4% vs 10% в группах ПГПТ и контроля соответственно, что полностью сопоставимо с ранее представленными данными G. Lensmeyer и соавт. [29]. После приема колекальциферола уровень 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ повышался в обеих группах, но на визитах 3 и 4 его уровни в крови были значимо выше в группе контроля. Динамика увеличения метаболита 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ относительно исходного уровня в группе ПГПТ составила 278–411%, а в группе контроля — 204–321%. Образование 3- $\text{epi-}25(\text{OH})\text{D}_3$ в ходе метаболизма витамина D является еще одним вариантом дополнительного расхода запасов витамина D, но, судя по полученным нами данным, не является существенным при ПГПТ.

Существует мнение, что $25(\text{OH})\text{D}$ в сыворотке крови — оптимальный биохимический маркер нутритивного статуса витамина D. Пока неясно, станет ли свободный $25(\text{OH})\text{D}$ лучшим маркером, чем общий $25(\text{OH})\text{D}$, но, по данным консенсуса [33], большинство клеток, за исключением клеток почечных канальцев, подвергается воздействию свободного, а не общего $25(\text{OH})\text{D}$, и предполагается, что именно свободный $25(\text{OH})\text{D}$ может иметь большее значение для локального производства и действия $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, лежащего в основе плеiotропных эффектов витамина D. Исходные уровни свободного $25(\text{OH})\text{D}$ не отличались у пациентов с ПГПТ и практически здоровых лиц, но после введения болюсной дозы колекальциферола отмечено их повышение в 1,6–2,3 раза, что было значимо выше в группе контроля на визитах 2 и 3. Свободный $25(\text{OH})\text{D}$ имел сильную прямую корреляцию с общим $25(\text{OH})\text{D}$ ($r=0,86$; $p < 0,0000001$) и, в отличие от общего, достоверную обратную корреляцию средней силы с иПТГ ($r=-0,43$; $p < 0,003$), но не с кальцием сыворотки крови, в т.ч. скорректированным на альбумин. Эти данные подтверждают важную роль свободной формы витамина D не только в реализации своих плеiotропных эффектов, но и в контроле секреции ПТГ в околощитовидных железах, независимо от повышения кальциемии [34].

В нашей работе также получены данные по фармакокинетике колекальциферола в исследуемые точки времени визитов. В исходной точке в обеих группах наблюдались практически неопределяемые значения колекальциферола (0,01 нг/мл), тогда как на визите 2 его концентрация значимо повышалась до 182,5 и 226 пг/мл с дальнейшим снижением до 21,3 и 23,5 пг/мл в группах ПГПТ и контроля соответственно. Профиль фармакокинетики колекальциферола свидетельствует о наличии быстрой конверсии нативного витамина в его метаболиты, что не приводит к повышению уровня колекальциферола

в крови, соответствующему принятой дозе, при этом сохраняется его значимое повышение в крови на 1-е сутки, и меньшее — на 3 и 7-е сутки.

В настоящем исследовании мы получили достоверно значимые отличия повышения уровней кальциемии на последующих визитах, не превышавших 0,05 ммоль/л от исходных значений, что, безусловно, является следствием увеличения всасывания кальция в кишечнике и его реабсорбции в почках, однако не имеет клинической значимости. В группе контроля зафиксировано аналогичное повышение кальция на 0,04 ммоль/л с пиком на визите 2. При этом уровень кальциурии при сравнении визитов в обеих группах значимо не менялся. Вопрос о схемах терапии колекальциферолом у пациентов с ПГПТ пока остается дискуссионным. По результатам метаанализа 10 наблюдательных исследований (n=340), использование данного препарата в насыщающих дозировках (до 100 000 МЕ в неделю) на этапе предоперационной подготовки сопровождалось снижением уровня иПТГ, достоверным увеличением 25(OH)D и сохранением исходных показателей сывороточного кальция и суточной кальциурии в большинстве случаев. В 2,2% случаев зарегистрировано нарастание гиперкальциемии, повлекшее за собой отмену препаратов. Рандомизированное двойное слепое исследование, посвященное оценке эффективности и безопасности назначения колекальциферола в дозе 2800 МЕ в сутки в течение 6 мес до и после операции, продемонстрировало значимое снижение уровня исходного иПТГ с достижением оптимальных значений 25(OH)D, при этом показатели кальциемии и суточной кальциурии не изменялись [11].

Клиническая значимость результатов

Впервые проведена комплексная оценка метаболизма витамина D у пациентов с ПГПТ до и после использования болюсной дозы колекальциферола. Полученные результаты, свидетельствующие об особенностях метаболизма витамина D, в условиях хронической избыточной секреции ПТГ имеют высокую значимость для понимания патогенеза заболевания, а также могут быть использованы для разработки терапевтических схем назначения колекальциферола в указанной популяции.

Ограничения исследования

Основными ограничениями исследования выступали малые объемы выборок группы пациентов и группы здорового контроля, что могло сыграть роль в отсутствии четких связей между главными показателями. Также наблюдалось смещение по возрасту группы контроля в сторону более молодых участников.

Направления дальнейших исследований

Определение прогностической ценности свободного 25(OH)D, 25(OH)D₃, 24,25(OH)₂D₃, 3-ері-25(OH)D₃ и других маркеров и метаболитов витамина D требует дальнейшего исследования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Информация по метаболитам витамина D и их взаимосвязи с основными показателями фосфорно-кальциевого обмена у пациентов с верифицированным ПГПТ

существенно ограничена, что послужило поводом для проведения настоящего исследования. В нашей работе у 69% пациентов с ПГПТ уровень 25(OH)D соответствовал дефициту витамина D (менее 20 нг/мл). В группе пациентов с ПГПТ перед приемом колекальциферола наблюдалась прямая ассоциация 1,25(OH)₂D₃ с альбумин-скорректированным и ионизированным кальцием, а также между отношением 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ с иПТГ и магнием, что позволяет предположить участие магния в достижении целевых показателей 25(OH)D. В группе ПГПТ уровни 1,25(OH)₂D₃ и соотношение 25(OH)D₃/24,25(OH)₂D₃ значимо увеличивались на всех визитах после приема болюсной дозы колекальциферола, а соотношение 25(OH)D₃/1,25(OH)₂D₃ снижалось. Это отражает тот факт, что даже после коррекции уровней витамина D у пациентов с ПГПТ сохраняется особенность метаболизма витамина — его повышенная активация в почках под действием 1-α-гидроксилазы и усиленная активность 24-гидроксилазы. Использование насыщающих доз колекальциферола в группе ПГПТ не приводило к значимому нарастанию гиперкальциемии и гиперкальциурии, что свидетельствует о безопасности использования данной схемы у пациентов с исходно мягкой гиперкальциемией (альбумин-скорректированный кальций <3 ммоль/л). Определение прогностической ценности определения уровней свободного 25(OH)D, 25(OH)D₃, 24,25(OH)₂D₃, 3-ері-25(OH)D₃ и других маркеров требует дальнейшего уточнения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено при поддержке Российского научного фонда (проект номер 19-15-00243).

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

Участие авторов. Маганева И.С. — разработка концепции исследования, проведение обследования участников исследования, сбор материала, анализ данных, написание текста статьи; Пигарова Е.А. — разработка концепции исследования, проведение обследования участников исследования, сбор материала, анализ данных, написание текста статьи; Шульпекова Н.В. — проведение обследования участников исследования, сбор материала, анализ данных, написание текста статьи; Рожинская Л.Я. — разработка концепции исследования, сбор материала и анализ данных, подготовка статьи к публикации; Дзеранова Л.К. — разработка концепции исследования, проведение обследования участников исследования, сбор материала, подготовка статьи к публикации; Еремкина А.К. — анализ данных и литературы, написание текста статьи; Милутина А.П. — обработка материала, статистический анализ данных; Жуков А.Ю. — разработка концепции исследования, проведение обследования участников исследования, сбор материала, подготовка статьи к публикации; Повалеева А.А. — разработка концепции исследования, проведение обследования участников исследования, сбор материала, подготовка статьи к публикации; Богданов В.П. — проведение лабораторного исследования образцов биоматериала, редактирование текста статьи; Мокрышева Н.Г. — разработка концепции исследования, анализ данных, редактирование текста статьи.

Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты публикации, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Boudou P, Ibrahim F, Cormier C, et al. A very high incidence of low 25 hydroxy-vitamin D serum concentration in a French population of patients with primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest*. 2006;29(6):511-515. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03344140>
- Silverberg SJ, Walker MD, Bilezikian JP. Asymptomatic primary hyperparathyroidism. *J Clin Densitom*. 2013;16(1):14-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jocd.2012.11.005>
- Moosgaard B, Vestergaard P, Heickendorff L, et al. Vitamin D status, seasonal variations, parathyroid adenoma weight and bone mineral density in primary hyperparathyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63(5):506-513. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02371.x>
- Bilezikian JP, Brandi ML, Eastell R, et al. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):3561-3569. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-1413>
- Пигарова Е.А., Петрушкина А.А. Неклассические эффекты витамина D // *Остеопороз и остеопатии*. — 2017. — Т. 20. — №3. — С. 90-101. [Pigarova EA, Petrushkina AA. Non-classical effects of vitamin D. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2017;20(3):90-101. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/osteo2017390-101>
- Jassil NK, Sharma A, Bikle D, Wang X. Vitamin d binding protein and 25-hydroxyvitamin D levels: emerging clinical applications. *Endocr Pract*. 2017;23(5):605-613. doi: <https://doi.org/10.4158/EP161604.RA>
- Clements MR, Davies M, Hayes ME, et al. The role of 1,25-dihydroxyvitamin D in the mechanism of acquired vitamin D deficiency. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1992;37(1):17-27. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.1992.tb02278.x>
- Tuckey RC, Cheng CY, Slominski AT. The serum vitamin D metabolome: What we know and what is still to discover. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2019;186:4-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2018.09.003>
- Walker MD, Bilezikian JP. Vitamin D and primary hyperparathyroidism: more insights into a complex relationship. *Endocrine*. 2017;55(1):3-5. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1169-1>
- Rao DS, Agarwal G, Talpos GB, et al. Role of vitamin D and calcium nutrition in disease expression and parathyroid tumor growth in primary hyperparathyroidism: a global perspective. *J Bone Miner Res*. 2002;17(S2):N75-N80.
- Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Белая Ж.Е., и др. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике, лечению и профилактике дефицита витамина D у взрослых // *Проблемы Эндокринологии*. — 2016. — Т.62. — №4. — С. 60-84. [Pigarova EA, Rozhinskaya LY, Belaya JE, et al. Russian Association of Endocrinologists recommendations for diagnosis, treatment and prevention of vitamin D deficiency in adults. *Problems of Endocrinology*. 2016;62(4):60-84. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201662460-84>
- Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline [published correction appears in *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(12):3908]. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(7):1911-1930. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0385>
- Dirks NF, Martens F, Vanderschueren D, et al. Determination of human reference values for serum total 1,25-dihydroxyvitamin D using an extensively validated 2D ID-UPLC-MS/MS method. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2016;164:127-133. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.12.003>
- Tang JCY, Nicholls H, Picc I, et al. Reference intervals for serum 24,25-dihydroxyvitamin D and the ratio with 25-hydroxyvitamin D established using a newly developed LC-MS/MS method. *J Nutr Biochem*. 2017;46:21-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2017.04.005>
- Walker MD, Cong E, Lee JA, et al. Vitamin D in primary hyperparathyroidism: effects on clinical, biochemical, and densitometric presentation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(9):3443-3451. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2015-2022>
- Wang X, Shapses SA, Al-Hraishawi H. Free and bioavailable 25-hydroxyvitamin D levels in patients with primary hyperparathyroidism. *Endocr Pract*. 2017;23(1):66-71. doi: <https://doi.org/10.4158/EP161434.OR>
- Мокрышева Н.Г., Мирная С.С., Дедов И.И., и др. Первичный гиперпаратиреоз в России по данным регистра // *Проблемы Эндокринологии*. — 2019. — Т. 65. — №5. — С. 300-310. [Mokrysheva NG, Mirnaya SS, Dedov II, et al. Primary hyperparathyroidism in Russia according to the register. *Problems of Endocrinology*. 2019;65(5):300-310. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl10126>
- Мокрышева Н.Г., Еремкина А.К., Мирная С.С., и др. Клинические рекомендации по первичному гиперпаратиреозу, краткая версия // *Проблемы Эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №4. — С. 94-124. [Mokrysheva NG, Eremkina AK, Mirnaya SS, et al. The clinical practice guidelines for primary hyperparathyroidism, short version. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(4):94-124. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12801>
- Петрушкина А.А., Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я. Эпидемиология дефицита витамина D в Российской Федерации // *Остеопороз и остеопатии*. — 2018. — Т. 21. — №3. — С. 15-20. [Petrushkina AA, Pigarova EA, Rozhinskaya LY. The prevalence of vitamin D deficiency in Russian Federation. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2018;21(3):15-20. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/osteo10038>
- Fraser DR, Kodicek E. Regulation of 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase activity in kidney by parathyroid hormone. *Nat New Biol*. 1973;241(110):163-166. doi: <https://doi.org/10.1038/newbio241163a0>
- Wang X, Sheng Z, Meng L, et al. 25-hydroxyvitamin D and vitamin D binding protein levels in patients with primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:171. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00171>
- Bikle DD, Schwartz J. Vitamin D binding protein, total and free vitamin D levels in different physiological and pathophysiological conditions. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:317. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00317>
- Kabadi UM. Low 25-hydroxyvitamin D in primary hyperparathyroidism: enhanced conversion into 1,25-hydroxyvitamin D may not be «true» deficiency. *JBM Plus*. 2020;4(11):e10415. doi: <https://doi.org/10.1002/jbm4.10415>
- Meng L, Su C, Shapses SA, Wang X. Total and free vitamin D metabolites in patients with primary hyperparathyroidism [published online ahead of print, 2021 Jul 19]. *J Endocrinol Invest*. 2021;10. doi: <https://doi.org/10.1007/s40618-021-01633-1>
- Tsuprykov O, Chen X, Hoche CF, et al. Why should we measure free 25(OH) vitamin D? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;180:87-104. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.11.014>
- Jones G, Prosser DE, Kaufmann M. Cytochrome P450-mediated metabolism of vitamin D. *J Lipid Res*. 2014;55(1):13-31. doi: <https://doi.org/10.1194/jlr.R031534>
- Veldurthy V, Wei R, Campbell M, et al. 25-hydroxyvitamin D3 24-hydroxylase: a key regulator of 1,25(OH)2D3 catabolism and calcium homeostasis. *Vitam Horm*. 2016;100:137-150. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2015.10.005>
- Dai Q, Zhu X, Manson JE, et al. Magnesium status and supplementation influence vitamin D status and metabolism: results from a randomized trial. *Am J Clin Nutr*. 2018;108(6):1249-1258. doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy274>
- Lensmeyer G, Poquette M, Wiebe D, Binkley N. The C-3 epimer of 25-hydroxyvitamin D(3) is present in adult serum. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(1):163-168. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0584>
- Singh RJ, Taylor RL, Reddy GS, Grebe SK. C-3 epimers can account for a significant proportion of total circulating 25-hydroxyvitamin D in infants, complicating accurate measurement and interpretation of vitamin D status. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(8):3055-3061. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2006-0710>
- Brown AJ, Ritter C, Slatopolsky E, et al. 1Alpha,25-dihydroxy-3-epi-vitamin D3, a natural metabolite of 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3, is a potent suppressor of parathyroid hormone secretion. *J Cell Biochem*. 1999;73(1):106-113.
- Sakurai R, Shin E, Fonseca S, et al. 1alpha,25(OH)2D3 and its 3-epimer promote rat lung alveolar epithelial-mesenchymal interactions and inhibit lipofibroblast apoptosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009;297(3):L496-L505. doi: <https://doi.org/10.1152/ajplung.90539.2008>
- Bikle D, Bouillon R, Thadhani R, Schoenmakers I. Vitamin D metabolites in captivity? Should we measure free or total 25(OH)D to assess vitamin D status? *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2017;173:105-116. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2017.01.007>
- Chun RF, Peercy BE, Orwoll ES, et al. Vitamin D and DBP: the free hormone hypothesis revisited. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2014;144(A):132-137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2013.09.012>

Рукопись получена: 11.10.2021. Одобрена к публикации: 06.12.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Маганева Ирина Сергеевна**, врач-эндокринолог [Irina S. Maganeva, MD]; адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11 [address: 11, Dm. Ul'yanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0067-3622>; eLibrary SPIN: 2575-3091; e-mail: maganeva.ira@yandex.ru

Пигарова Екатерина Александровна, д.м.н. [Ekaterina A. Pigarova, M.D., Ph.D.];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6539-466X>; eLibrary SPIN: 6912-6331; e-mail: kpigarova@gmail.com

Шульпекова Надежда Владимировна [Nadezhda V. Shulpekova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3628-2102>;

Researcher ID: AAY-6365-2021; Scopus Author ID: 57220024968; eLibrary SPIN: 7256-6090; e-mail: nadshul@gmail.com

Дзеранова Лариса Константиновна, д.м.н. [Larisa K. Dzeranova, M.D., Ph.D.]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0327-4619>;

eLibrary SPIN: 2958-5555; e-mail: dzeranovalk@yandex.ru

Еремкина Анна Константиновна, к.м.н., ведущий научный сотрудник [Anna K. Eremkina, MD];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6667-062X>; eLibrary SPIN: 8848-2660; e-mail: a.lipatenkova@gmail.com

Милютин Анастасия Павловна [Anastasiia P. Miliutina]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9462-8522>;

eLibrary SPIN: 6392-5111; e-mail: oa11111998@gmail.com

Поваляева Александра Александровна [Alexandra A. Povaliaeva, M.D.]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7634-5457>;

eLibrary SPIN: 1970-2811; e-mail: a.petrushkina@yandex.ru

Жуков Артем Юрьевич [Artem Y. Zhukov, M.D.]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2729-9386>; eLibrary SPIN: 8513-7785;

e-mail: zhukovartem@yahoo.com

Богданов Виктор Павлович [Viktor P. Bogdanov]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6377-9056>; eLibrary SPIN: 9956-8495;

e-mail: siberman@yandex.ru

Рожинская Людмила Яковлевна, д.м.н., профессор [Liudmila Ya. Rozhinskaya, M.D., Ph.D., Professor];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7041-0732>; eLibrary SPIN: 5691-7775; e-mail: lrozhinskaya@gmail.com

Мокрышева Наталья Георгиевна [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD, Professor];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: parathyroid.enc@gmail.com

ЦИТИРОВАТЬ

Маганева И.С., Пигарова Е.А., Шульпекова Н.В., Дзеранова Л.К., Еремкина А.К., Милютин А.П., Жуков А.Ю., Поваляева А.А., Богданов В.П., Рожинская Л.Я., Мокрышева Н.Г. Оценка фосфорно-кальциевого обмена и метаболитов витамина D у пациентов с первичным гиперпаратиреозом на фоне болюсной терапии колекальциферолом // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 68-79. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12851>

FOR CITATION

Maganeva IS, Pigarova EA, Shulpekova NV, Dzeranova LK, Eremkina AK, Miliutina AP, Povaliaeva AA, Zhukov AY, Bogdanov VP, Rozhinskaya LY, Mokrysheva NG. Vitamin D metabolite and calcium phosphorus metabolism in in patients with primary hyperparathyroidism on the background of bolus therapy with colecalciferol. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):68-79. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12851>

ГЕННАЯ И КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПАТОЛОГИЙ НАДПОЧЕЧНИКОВ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ



© О.В. Глазова^{1,2*}, М.В. Воронцова^{1,2}, Л.В. Шевкова^{1,2}, Н. Сакр², Н.А. Онянов², С.А. Казиахметова², П.Ю. Волчков^{1,2}

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

Современное понимание организации работы тканей и органов на молекулярном уровне в норме и патологии открывает существенные перспективы для разработки новых, принципиально иных подходов к лечению различных заболеваний. В частности, моногенные наследственные заболевания перестают быть приговором — появившиеся в последнее десятилетие методы геномного редактирования сейчас активно исследуются как инструменты для исправления мутаций в пораженных органах. В свою очередь, появляются новые протоколы получения различных типов клеток и клеточных систем человека и животных, отражающих реальные структуры *in vivo*. Все эти методы, а также совмещение генной и клеточной терапии активно разрабатываются, и некоторые подходы уже сейчас проходят клинические испытания. Надпочечниковая недостаточность, вызванная разными причинами, также может стать объектом разработки такого рода терапевтических стратегий. Надпочечники представляют собой сложно организованный орган, разные структурные части которого взаимодействуют друг с другом посредством сложной координации эндокринных и паракринных сигналов. В данном обзоре суммированы результаты исследований структурной организации и функционирования надпочечников на молекулярном уровне и современные подходы к лечению патологии надпочечников.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: надпочечники; стероидогенез; генная терапия; клеточная терапия; органоиды; трансплантация; заболевания надпочечников.

GENE AND CELL THERAPY OF ADRENAL PATHOLOGY: ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS

© Olga V. Glazova^{1,2*}, Maria V. Vorontsova^{1,2}, Nawar Sakr², Liudmila V. Shevkova^{1,2}, Nikita A. Onyanov², Samira A. Kaziakhmedova², Pavel Y. Volchikov^{1,2}

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia

Our current understanding of the molecular and cellular mechanisms in tissues and organs during normal and pathological conditions opens up substantial prospects for the development of novel approaches to treatment of various diseases. For instance, lifelong replacement therapy is no longer mandatory for the management of some monogenic hereditary diseases. Genome editing techniques that have emerged in the last decade are being actively investigated as tools for correcting mutations in affected organs. Furthermore, new protocols for obtaining various types of human and animal cells and cellular systems are evolving, increasingly reflecting the real structures *in vivo*. These methods, together with the accompanying gene and cell therapy, are being actively developed and several approaches are already undergoing clinical trials. Adrenal insufficiency caused by a variety of factors can potentially be the target of such therapeutic strategies. The adrenal gland is a highly organized organ, with multiple structural components interacting with each other via a complex network of endocrine and paracrine signals. This review summarizes the findings of studies in the field of structural organization and functioning of the adrenal gland at the molecular level, as well as the modern approaches to the treatment of adrenal pathologies.

KEYWORDS: adrenal gland; steroidogenesis; gene therapy; cell therapy; differentiation; organoids; transplantation; adrenal diseases.

ВВЕДЕНИЕ

Кора надпочечников является основным местом синтеза стероидных гормонов, она гистологически и функционально делится на слои, которые окружают центральный мозговой слой.

Прямо под капсулой, которая покрывает всю железу, располагается клубочковая зона (zona glomerulosa, ZG), производящая минералокортикоиды (в основном альдостерон), за ней располагается пучковая зона (zona

fasciculata, ZF), синтезирующая глюкокортикоиды (кортизол у человека и кортикостерон у грызунов). У человека также есть сетчатая зона (zona reticularis, ZR), которая синтезирует надпочечниковые андрогены. Производство минералокортикоидов находится под контролем ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, в то время как глюкокортикоиды находятся под контролем гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Глюкокортикоиды регулируют метаболизм глюкозы, воспаление, иммунные реакции, мышечную и скелетную массу, а также

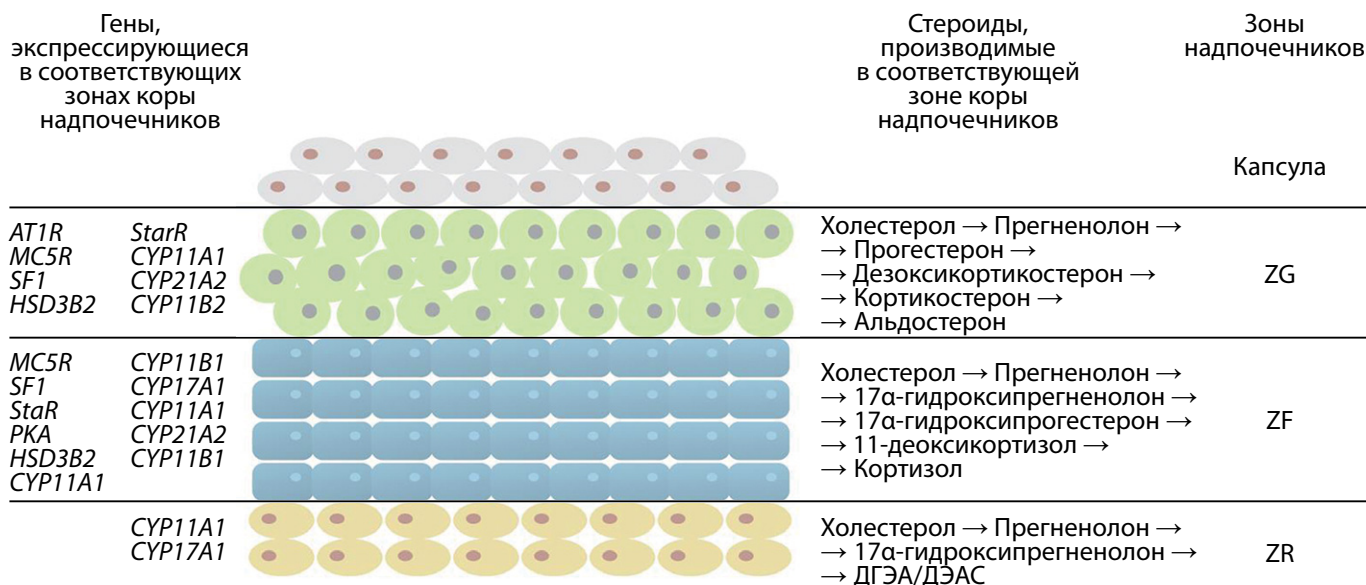


Рисунок 1. Схема строения коры надпочечников человека с указанием зон, а также основных генов и стероидов каждой зоны.

познавательные способности, самочувствие и память; в то время как минералокортикоиды контролируют объем внеклеточной жидкости и гомеостаз натрия и, следовательно, имеют важное влияние на кровяное давление [1] (рис. 1).

Кора надпочечников — это орган, способный самообновляться на протяжении всей жизни у грызунов (и, предположительно, у людей), заменяя стареющие клетки и поддерживая или расширяя функциональные зоны для удовлетворения физиологической потребности в стероидах или в ответ на внешние фармакологические раздражители [2]. Например, диета с высоким содержанием натрия или лечение ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента (АПФ) приводит к уменьшению ZG, и наоборот, диета с низким содержанием натрия приводит к ее увеличению [3]. Лечение синтетическими глюкокортикоидами, такими как дексаметазон, приводит к атрофии ZF из-за снижения уровня адренокортикотропного гормона (АКТГ), вызванного подавлением активности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (НРА), ZF обычно восстанавливается после прекращения лечения [4].

ЗАБОЛЕВАНИЯ НАДПОЧЕЧНИКОВ

Надпочечниковая недостаточность проявляется, когда кора не производит адекватные уровни глюкокортикоидов с/без сопутствующего дефицита минералокортикоидов и андрогенов. Болезнь Аддисона (аутоиммунный адреналит) — редкое, но потенциально опасное для жизни эндокринное заболевание, является наиболее частой причиной первичной надпочечниковой недостаточности и возникает в результате двустороннего разрушения коры надпочечников, приводящего к снижению выработки гормонов коры надпочечников, включая кортизол, альдостерон и андрогены [5].

Другой причиной первичной надпочечниковой недостаточности является врожденная гиперплазия коры надпочечников (ВДКН), аутомно-рецессивное заболевание с общей частотой 1: 9500 новорожденных в РФ [6].

Тяжесть заболевания варьируется от легкой формы, которая может манифестировать во взрослом возрасте, до опасного для жизни состояния при рождении или в раннем младенчестве. Недостаточность возникает в результате мутаций в генах, кодирующих ферменты различных этапов биосинтеза стероидов (*CYP11A1*, *CYP11B1*, *HSD3B2*, *CYP17A1*). Тем не менее большинство случаев врожденной дисплазии коры надпочечников (ВДКН) (>95%) опосредовано мутациями в гене *CYP21A2*, который кодирует 21-гидроксилазу (21-ОН) и превращает прогестерон в 11-дезоксикортикостерон и 17-гидроксипрогестерон в 11-дезоксикортизол. При этом выраженность клинического фенотипа коррелирует с типом и расположением молекулярного дефекта. Классическая форма ВДКН характеризуется полной или почти полной потерей активности 21-ОН, что в крайних случаях проявляется жизнеугрожающим сольтеряющим фенотипом. Неклассическая форма ВДКН — менее тяжелый вариант заболевания, проявляющийся в более позднем возрасте андрогенизацией у женщин и бессимптомно у мужчин. На сегодняшний день зарегистрировано более 30 других, в том числе генетических, причин первичной надпочечниковой недостаточности, и механизмы их постепенного выясняются [7].

В настоящее время единственным доступным лечением пациентов с надпочечниковой недостаточностью является заместительная гормональная терапия, и в большинстве случаев она требуется на протяжении всей жизни. Введение экзогенных глюкокортикоидов компенсирует дефицит эндогенного кортизола и действует посредством отрицательной обратной связи с гипоталамусом и гипофизом, подавляя секрецию кортикотропин-рилизинг-гормона и АКТГ. Недостатком традиционной заместительной терапии является то, что подбор корректной дозировки препаратов крайне затруднителен и не воспроизводит физиологический ритм секреции гормонов, а некорректная дозировка при продолжительном лечении может привести к негативным последствиям. К примеру, супрафизиологические дозы экзогенного гормона вызывают ряд побочных эффектов,

от легкого подавления гипоталамо-гипофизарной системы до развития сопутствующих инфекционных заболеваний. Длительная терапия низкими и умеренными дозами может вызвать такие проблемы, как ожирение, атрофия кожи, инсулинорезистентность, гипертония и потеря костной массы [8]. Несмотря на то что в последнее время усилия научного и медицинского сообществ были сосредоточены на разработке новых систем доставки глюкокортикоидов, которые могли бы лучше воспроизводить их физиологические уровни, или альтернативных терапевтических подходов, не связанных с глюкокортикоидами [8], коррекция симптомов надпочечниковой недостаточности остается актуальной проблемой.

Принципиально иным подходом к терапии описанных патологий являются генные и клеточные методы лечения. В настоящее время активно разрабатываются и системы доставки инструментов геномного редактирования, и сами подобные инструменты, а также стратегии получения функциональных клеток коры надпочечников *in vitro*.

ГЕННАЯ ТЕРАПИЯ

Заболевания, вызванные дефектом одного гена, возможно корректировать с использованием генной терапии. К ним относятся ВДКН, а также более редкий семейный изолированный дефицит глюкокортикоидов (СИДГ), генетическая причина которого выявляется примерно в 67% случаев (мутации в гене рецептора меланокортина типа 2 (*MC2R*), его белка-партнера, кодируемого геном *MRAP1*, а также белков, кодируемых генами *NNT*, *StAR* и других) [9]. Доступность животных моделей, фенотипирующих клиническую картину ВДКН человека, позволила исследователям протестировать различные варианты доставки генов и зафиксировать восстановление стероидогенеза в ходе экспериментов. В 1988 г. Н. Gotoh и соавт. идентифицировали штамм мышей (обозначенный H-2W18) с делецией примерно 80 тыс. пар оснований в области H-2 класса III хромосомы 17, включающей гены компонентов *Cyp21a1* и комплемента 4 [10, 11]. Мыши, гомозиготные по данной мутации, не обладают активностью 21-ОН и, следовательно, не могут катализировать превращение прогестерона в дезоксикортикостерон, что приводит к их неспособности секретировать кортикостерон (основной биологически активный глюкокортикоид у мышей). Интересно, что гистологический анализ надпочечников у этих мышей выявил нарушение зональности органа: надпочечники имели неправильные очертания, наблюдалась полная дегенерация всех слоев коры, которая сопровождалась хаотичным расположением различных типов клеток, а клетки ZF были увеличены и в размере, и в количестве. Кроме того, у данных мышей гомозиготность напрямую коррелирует с перинатальной летальностью в первые 15 дней жизни [10, 12].

Классический путь восстановления дефицита фермента в надпочечниках основывается на использовании вирус-опосредованной доставки генов в дефектную клетку. В 1999 г. Т. Tajima и соавт. ввели сконструированный аденовирусный вектор, кодирующий человеческий ген *CYP21A2*, в надпочечники мышей с дефицитом 21-ОН. Анализ показал наличие мРНК человеческого *CYP21A2* в коре и мозговом веществе надпочечников с макси-

мальной экспрессией в первую неделю. Экспрессия гена сохранялась и определялась через 14 дней после введения, хотя была меньшего уровня. Через 2–7 дней после инъекции уровень дезоксикортикостерона и кортикостерона восстанавливался до значений, аналогичных таковым в надпочечниках мышей дикого типа, и сохранялся в течение 40 дней. Кроме того, у этих мышей наблюдали значительное улучшение ультраструктуры клеток надпочечников, о чем свидетельствуют нормальные размеры митохондрий и гистологически нормальные клетки в ZG и ZF [13]. Хотя эффект длился ограниченное количество дней, данное исследование показало, что рекомбинантные аденовирусы можно использовать в качестве векторов для доставки трансгенов путем прямого введения в надпочечники.

Первичные фибробласты, трансдуцированные геном *Cyp21a1* мыши с использованием ретровирусного вектора, были трансплантированы в подкожные ткани 21-ОН-дефицитных мышей: эта процедура привела к снижению соотношения прогестерон/дезоксикортикостерон в сыворотке у 4 из 6 животных через 4 нед после аутотрансплантации. Авторы признали потенциал такого метода лечения, но вместе с тем объясняют не полностью удовлетворительный результат либо недостаточным количеством инфицированных фибробластов, либо низким титром вирусного вектора [14].

Параллельно другой группой ученых был проведен эксперимент с инъекцией в мышцы бедра аденоассоциированного вируса серотипа 2 (AAV2), содержащего ген *Cyp21a1*, что также привело к значительному снижению соотношения прогестерон/дезоксикортикостерон в сыворотке крови, причем на этот раз у 100% обработанных мышей. Показатель соотношения оставался относительно низким в течение 7 мес после инъекции. Несмотря на небольшой размер выборки, эта работа впервые показала, что внеадrenalовая индукция активности 21-ОН улучшает системный метаболизм стероидов у мышей с ВДКН и что менее инвазивные методы индукции генов также возможны [14].

Другой многообещающий результат был получен М. Perdomini и соавт. с использованием AAV серотипа rh10 (AAVrh10), уже применяемого в исследованиях генной терапии на человеке. Внутривенная инъекция AAVrh10, несущего человеческий ген *CYP21A2*, взрослым 21-ОН-дефицитным мышам приводила к экспрессии 21-ОН и почти нормальной экспрессии ключевых генов (*Mc2r*, *Prkar2a*, *Sf-1*, *Star*, *Cyp17a1* и *Cyp11b2*) в коре надпочечников. Важно отметить нормализацию ранее повышенного уровня прогестерона, что указывает на значительное и устойчивое восстановление активности 21-ОН, сохраняющейся в течение 15 нед [15].

В относительно недавнем исследовании был проведен более подробный анализ наблюдаемой кратковременной эффективности доставки *CYP21A2* в клетки надпочечников. Однократное внутривенное введение AAVrh10, несущего человеческий ген *CYP21A2*, мышам с дефицитом 21-ОН позволило нормализовать уровни прогестерона и АКТГ между 2-й и 8-й неделями после инъекции, но показатели обоих гормонов снова повысились, достигнув исходных уровней через 32 нед. Интересно, что иммуногистохимический анализ гемагглютининовой метки, связанной с С-концом 21-ОН, показал

экспрессию высокой интенсивности трансгена в ZF-и в X-зоне, но не в ZG-зоне и не в клетках капсулы. Более того, анализ трансдуцированных клеток с течением времени показал прогрессивное снижение экспрессии трансгена через 6 и 16 нед после введения вплоть до почти полного отсутствия трансдуцированных клеток через 32 нед [16]. Как заключают авторы исследования, весьма вероятно, что причина временной эффективности такого подхода кроется в биологии коры надпочечников и ее непрерывном самообновлении. Капсула и ZG содержат по крайней мере две популяции аденокортикальных стволовых клеток/клеток-предшественников. Если эти клетки не будут эффективно трансдуцированы (то есть в их геном не будет введен необходимый ген), то со временем стероидогенные потомки нетрансдуцированных клеток будут заменять более старые функциональные (трансдуцированные) клетки ZF, что в итоге приведет к восстановлению фенотипа ВДКН и нивелированию результатов лечения. Авторы пришли к выводу, что, хотя специфические векторы типа AAV, использованные в эксперименте, а также классическая генная терапия эффективны в краткосрочной перспективе, данный подход не позволяет добиться долгосрочных результатов. Следовательно, для достижения пожизненного терапевтического эффекта важно наличие таких серотипов AAV, которые способны трансдуцировать аденокортикальные стволовые и прогениторные клетки. Вместе с тем существование AAV, наделенных таким тропизмом, еще предстоит определить экспериментально, а также могут потребоваться другие методы доставки [17]. Кроме того, возможно, понадобятся доставка не только здоровой копии самого гена, но и инструменты для его встраивания в геном клетки.

Альтернативной стратегией доставки полноразмерных открытых рамок считывания могло бы быть применение инструментов редактирования генома в аденокортикальных стволовых клетках, что позволило бы целенаправленно корректировать дефекты генов как в стволовых клетках, так и в стероидогенных дифференцированных их потомках. Подход, основанный на редактировании генов, был успешно применен в мышечных моделях мышечной дистрофии [18–20]. Кроме того, используя двойную систему, где один AAV8 вектор экспрессировал нуклеазу Cas9, а второй вектор того же серотипа экспрессировал направляющую РНК и матрицу ДНК донора для репарации, Y. Yang и соавт. смогли исправить точечную мутацию в гене орнитин-транскарбамилазы в печени на модели метаболического заболевания печени у новорожденных мышей. Важно отметить, что эта работа показала возможность генной коррекции в регенерирующих тканях [21].

Ввиду сложной организации геномного локуса, в котором расположен ген *CYP21A2*, наиболее эффективной стратегией предположительно является доставка и интеграция в геном целой кодирующей последовательности *CYP21A2* дикого типа. Другие препятствия, которые необходимо учитывать при разработке генотерапевтических подходов — это потенциальная онкогенность вирусных векторов, небольшая упаковочная способность и иммунный ответ хозяина на вирусный вектор, короткая продолжительность экспрессии доставленной здоровой копии гена и многие другие [22]. Наконец, возможной альтерна-

тивной вирусным векторам могут быть системы доставки генов на основе невирусных плазмид: их можно вводить повторно, они обладают низкой токсичностью и иммуногенностью. Кроме того, постоянно разрабатываются новые способы улучшения переноса плазмидной ДНК в ядра клеток [17].

КЛЕТОЧНАЯ ТЕРАПИЯ

В последние годы методы лечения на основе клеток продемонстрировали большой терапевтический потенциал в рамках доклинических исследований на моделях животных различных патологических состояний, показав себя как уникальный инструмент для восстановления или замены поврежденных тканей. Конечной целью данных испытаний являлись регенерация и восстановление нормальной функции органов и тканей. В эндокринологии усилия научного сообщества привели к первым клиническим испытаниям с использованием поджелудочной железы, полученной путем дифференцировки эмбриональных стволовых клеток (ЭСК) и индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК), для лечения диабета 1-го типа [23]. Использование стратегий клеточной терапии для создания функциональной ткани коры надпочечника является многообещающей альтернативой существующим методам лечения надпочечниковой недостаточности вне зависимости от этиологии заболевания, поскольку такой подход позволяет сформировать более физиологичное функционирование органа.

Хотя разработка стратегий клеточной терапии в области надпочечников находится в начальном своем пути, важно признать, что на сегодняшний день было получено несколько значимых результатов. В следующих разделах будут обсуждаться современные подходы и достижения, включая применение клеток надпочечников для трансплантации, использование функциональных стероидогенных клеток, полученных из стволовых клеток или репрограммированных соматических клеток, а также создание объемных моделей адринальных органоидов.

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ КЛЕТОК НАДПОЧЕЧНИКОВ

В предшествующие годы были разработаны различные протоколы выделения и ограниченной пролиферации клеток надпочечников для алло- или ксенотрансплантации. Были изучены различные стратегии, типы клеток и животные модели с акцентом как на эффективную компенсацию трансплантированными клетками необходимого функционала, так и на долгосрочную безопасность такой процедуры. M. Thomas и соавт. изолировали клетки надпочечников крупного рогатого скота путем ферментативного и механического диспергирования коры надпочечников. Затем под капсулу почки мышей с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (severe combined immunodeficient mice, SCID) инъецировали цилиндр из поликарбоната, который был заполнен аденокортикальными клетками крупного рогатого скота. Кроме аденокортикальных, присутствовали также непролиферирующие клетки 3T3, которые секретировали факторы роста фибробластов

(fibroblast growth factor, FGF) с целью усиления васкуляризации. Пересаженные бычьи клетки формировали надпочечниковую ткань, способную выполнять основные функции собственных мышинных надпочечников, о чем свидетельствует выработка стабильных уровней кортизола [24, 25].

Затем та же группа ученых адаптировала свой протокол к клеткам коры надпочечников человека, выделенных из ZF. Клетки культивировали в течение 5–7 дней перед трансплантацией SCID-мышам, как было описано ранее. Через 50 дней после трансплантации гистологический и иммуногистохимический анализы показали, что полученная ткань имела характеристики нормальной коры надпочечников, а кортизол присутствовал в плазме животных в ответ на стимуляцию АКТГ. Таким образом, было продемонстрировано, что адренокортикальные клетки человека могут быть использованы для замены функции надпочечников у животного-реципиента [26].

Вышеупомянутые исследования побудили к дальнейшей работе, направленной на оптимизацию процедур трансплантации надпочечников. Например, различными группами исследователей было протестировано использование вспомогательного материала, имитирующего внеклеточный матрикс коры надпочечников для облегчения трансплантации и приживания клеток путем обеспечения для них необходимого окружения. N. Pornikolov и P. Hornsby встроили нормальные клетки коры надпочечников человека/крупного рогатого скота в матрицу из коллагена I типа перед подкожной трансплантацией этих клеток SCID-мышам. Было показано формирование узелков с инвазией новообразованной сосудистой сети, а также областей с характерной для ZF гистологической структурой. Кроме того, в плазме мышей-реципиентов был обнаружен кортизол [27]. J. Dunn и соавт. культивировали диссоциированные клетки надпочечников новорожденных мышей на губке из бычьего коллагена перед трансплантацией в почечную капсулу взрослых мышей. Анализ мРНК имплантата показал экспрессию специфичных для надпочечников маркеров (*Sf-1*, *Dax1*, *Star*, *Cyp11a*, *Cyp11b1* и *Cyp21a2*) в течение периода до 8 нед после трансплантации [28]. Впоследствии, используя эту технику, группа ученых смогла достичь 100% выживаемости мышей, перенесших двустороннюю адреналэктомию. Более того, уровень кортикостерона в плазме животных был сравним с таковым у контрольных образцов, а анализ извлеченных имплантатов показал наличие жизнеспособных клеток и экспрессию адренокортикальных генов, хотя полноценно сформированных желез не наблюдалось [29].

В другой работе в качестве каркаса для эмбриональных клеток надпочечников человека использовались децеллюляризованные надпочечники свиней: анализ поведения клеток *in vitro* показал, что они способны прикрепляться к такому каркасу, пролиферировать и продуцировать кортизол до уровня, сопоставимого с литературными значениями для нативных тканей [30]. В еще одной работе M. Baluyra и соавт. разработали протокол создания искусственных надпочечников из первичной культуры бычьих адренокортикальных клеток, инкапсулированных в альгинатный матрикс. Преимущества использования альгинатов

заключаются в том, что они снижают риск иммунного ответа хозяина, таким образом обеспечивая трехмерную структуру, которая облегчает межклеточное взаимодействие. Пересадка инкапсулированных клеток способствовала активной васкуляризации трансплантата, предотвращала смертность, вероятность которой высока при двусторонней адреналэктоми, а также более эффективно восстанавливала уровень глюкокортикоидов в сравнении с процедурой трансплантации свободных клеток [31].

Очищенные клетки ZG и ZF, полученные из надпочечников крыс путем разделения в градиенте плотности, также были использованы в качестве исходного материала для трансплантации под капсулу почки адреналэктомизированных крыс. Часть клеток была пересажена непосредственно после подготовки, часть после прохождения процесса культивирования. Было замечено, что через 30 дней внедренные под капсулу почки клетки ZG, в отличие от клеток ZF, были способны образовывать тканевую структуру, гистологически напоминающую ZG. Кроме того, они продуцировали альдостерон и кортикостерон, что делает их более подходящими для трансплантации, чем клетки ZF [32]. Принимая во внимание наличие пула клеток-предшественников надпочечников именно в ZG крысы [33] и их способность трансдифференцироваться в клетки ZF [34], можно предположить, что именно эти субпопуляции были ответственны за высокий потенциал дифференцировки трансплантированных клеток, обеспечив успешное формирование ткани у животного-реципиента.

В другом исследовании была предпринята попытка выделить мышинные предшественники коры надпочечников из дифференцированных клеток на основе неодинакового сродства к флуоресцентному красителю Nile red, который взаимодействует с холестерином, локализованным в цитоплазме (высокое содержание в дифференцированных клетках и низкое/нулевое в недифференцированных клетках). Были идентифицированы две группы клеток: более светлые окрашенные клетки (с низким сродством к Nile red), которые экспрессировали мРНК *Sf-1* на уровнях, сопоставимых с более ярко окрашенными клетками (с сильным сродством к Nile red), но значительно более низкими уровнями *Cyp11b1*, *Cyp11b2* и мРНК *Cyp11a1*. При имплантации мышам менее окрашенные клетки смогли дать начало клеткам, экспрессирующим зонально-специфические гены коры надпочечников, в отличие от более ярко окрашенных клеток, которые утратили экспрессию стероидогенных ферментов и свой потенциал к пролиферации. Авторы предположили, что данный метод окрашивания помог выявить ту популяцию клеток (светлоокрашенные), что была обогащена клетками-предшественниками надпочечников, которые, в свою очередь, дали начало популяции стероидогенных клеток [35]. Данное предположение встраивается в актуальное понимание о самообновлении надпочечников [33].

Дальнейшие эксперименты в этой области направлены на повышение эффективности трансплантации клеток. Было показано, что экспансия клонов клеток *in vitro*, иммортализованных с использованием обратной транскриптазы теломеразы человека (hTERT), формирует васкуляризованные тканевые структуры при

трансплантации под капсулу почки, которые способны восстановить функцию надпочечников животных. Важно отметить, что модифицированные hTERT клетки не демонстрируют тенденции к неопластическим изменениям [36].

Плодотворное сотрудничество между специалистами разных областей науки и медицины оказалось абсолютно необходимым для ускорения разработок в этих областях, примером чего является получение новых герметизирующих устройств, изготовленных из различных материалов, которые предлагают хорошую альтернативу рассмотренным выше матриксам для трансплантированных клеток надпочечников. Некоторые из этих полупроницаемых и иммуноизолирующих устройств, загруженных панкреатическими клетками или β -клетками, в настоящее время проходят испытания на пациентах с сахарным диабетом 1-го типа. Тем не менее эти исследования еще не дали полностью удовлетворительных результатов. Например, состояние нормогликемии было достигнуто лишь в нескольких случаях, секреторная способность трансплантированных клеток ограничена, а безопасность и переносимость этих устройств находятся на стадии оживленных дискуссий [37].

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК *IN VITRO*

Стволовые клетки обладают способностью к самообновлению и могут дифференцироваться в определенные типы клеток, что делает их идеальным кандидатом для исследований в регенеративной медицине. Вместе с тем открытие, что зрелые полностью дифференцированные клетки можно репрограммировать и трансформировать в клетки другого типа, стало значительным прорывом и дало уникальный источник клеток для аутологичной клеточной заместительной терапии. В 2006 г. ученый С. Яманака продемонстрировал, что дифференцированные мышинные клетки могут быть возвращены в плюрипотентное состояние, схожее с эмбриональными стволовыми клетками, путем активации экспрессии генов, которые кодируют четыре фактора транскрипции [38]. В правильных условиях ИПСК могут дифференцироваться в разные специализированные типы клеток.

Наиболее часто используемым ресурсом для получения стероидогенных клеток на сегодняшний день являются мезенхимальные стромальные клетки (МСК). В ранних экспериментах было показано, что после индукции циклическим аденозинмонофосфатом (цАМФ) и третиноином клетки, стабильно экспрессирующие белок SF-1, но не нативные мышинные эмбриональные стволовые клетки (мЭСК), экспрессировали мРНК P450_{SCC} и продуцировали прогестерон [39]. Эта экспериментальная стратегия была улучшена спустя годы учеными Yazawa и соавт., которые смогли дифференцировать мЭСК в мезенхимальные клетки путем культивирования клеток на чашках, покрытых коллагеном IV, и импульсного воздействия ретиноевой кислоты. Впоследствии форсированная экспрессия SF-1 привела к экспрессии различных генов, связанных со стероидогенезом, и к секреции кортикостерона, подобно тому, как это происходит в адренокортикальных клетках [40].

Схожий подход был успешно применен для дифференцировки человеческих ЭСК в мезенхимные клетки (на этот раз с использованием ингибитора киназы-3 β гликогенсинтазы). Далее, при индукции экспрессии SF-1 и цАМФ были получены гормон-продуцирующие клетки [41]. S. Gondo и соавт. продемонстрировали, что первичные длительно культивируемые стволовые клетки костного мозга мыши (bone marrow cells, BMC), инфицированные аденовирусной конструкцией, которая содержит бычий SF-1, экспрессируют стероидогенные гены и продуцируют значительное количество стероидов (хотя экспрессия *Cyp11b2* и альдостерон не были обнаружены). Тем не менее стероидный профиль показал смешанную картину стероидогенеза надпочечников и гонад. Интересно, что даже в условиях отсутствия специальной индукции экспрессии рецепторов к АКГГ ответ клеток в виде активации стероидогенных генов и гормонов все же усиливается в ответ на введение тропного гормона [42]. Совсем недавно было показано, что индуцированные SF-1 стероидогенные клетки, полученные из МСК жировой ткани мышей, повышают базальный уровень кортикостерона в плазме и продлевают выживаемость мышей, подвергнутых двусторонней адреналэктомии [43].

В рамках аналогичного протокола авторы расширили свою работу и использовали мезенхимальные клетки, выделенные из жировой ткани (adipose mesenchymal cells, AMC). Форсированная экспрессия SF-1 трансформировала AMC в АКГГ-чувствительные стероидогенные клетки, способные производить кортикостерон надпочечников, а не тестостерон, в отличие от BMC. Важно отметить, что добавление третиноина усилило сдвиг стероидного профиля в сторону надпочечникового типа в AMC по сравнению со стероидным профилем гонадного типа в BMC. Это наблюдение указывает на то, что источник клеток и условия культивирования являются важными факторами в определении пути дифференцировки [44].

В то же время T. Yazawa и соавт. добились положительных результатов с использованием МСК человеческого происхождения. В их исследовании стабильная экспрессия SF-1 привела к увеличению производства клетками большинства стероидогенных ферментов и выработке стероидов надпочечников и гонад в присутствии цАМФ [45]. Позже было показано, что ретровирус-опосредованная экспрессия гомолога-1 рецептора печени (LRH-1), другого члена семейства ядерных рецепторов NR5A и высоко экспрессируемого в гонадах человека, индуцирует дифференцировку МСК человека в стероидогенные клетки, что представляет собой возможную альтернативу для достижения стероидогенного фенотипа [46].

Дифференцировка МСК пуповинной крови (UCB-MSC) или МСК из Вартонова студня (UC-MSC) также оказалась успешной. В 2010 г. T. Yazawa и соавт. показали, что UCB-MSC могут быть использованы для получения стероидогенных клеток посредством ретровирусной трансдукции геном SF-1, но демонстрируют заметно отличающиеся стероидогенные профили, скорее гонадного типа, в сравнении с клетками, полученными из BM-MSC [47]. С другой стороны, X. Wei и соавт. сочли UC-MSC более подходящим клеточным субстратом, поскольку после дифференцировки они показали более высокий пролиферативный потенциал и значительно более высокую экспрессию всех протестированных стероидогенных мРНК [48].

Использование ИПСК для генерации стероидогенных клеток на сегодняшний день находится в менее разобранной стадии в сравнении с другими источниками стволовых клеток, однако существующие исследования демонстрируют перспективность этого направления. В 2012 г., следуя многоступенчатому протоколу, T. Sponyama и соавт. получили стероид-продуцирующие клетки из фибробластов кожи человека, репрограммированных в ИПСК. Далее полученные ИПСК дифференцировали в клетки мезодермального пути в присутствии 6-броминдирубин-3'-оксима, ингибитора гликогенсинтазы киназы-3-β, что приводило к активации пути передачи сигнала Wnt. В конечном итоге принудительная экспрессия SF-1 в этих мезодермальных клетках и добавление 8-Br цАМФ привели к образованию клеток, которые экспрессировали мРНК *CYP21A1*, *CYP11B1*, *StAR*, *CYP11A1*, *HSD3B* и *CYP17A1* и секретируют кортизол [41].

Недавно также было продемонстрировано, что клетки крови, кожи и мочи можно дифференцировать с получением индуцированных стероидогенных клеток (hiSCs). Это было достигнуто за счет лентивирус-опосредованной экспрессии SF-1 и активации пути протеинкиназы A в присутствии гонадотропин-рилизинг-гормона [49]. Полученные клетки экспрессировали стероидогенные ферменты и секретируют кортизол при наличии стимула. Кроме того, эксперименты *in vivo* продемонстрировали жизнеспособность этих клеток после трансплантации в надпочечники и под капсулу почек мышей. Более того, стероидный профиль hiSCs, полученных из клеток мочи пациентов с мутациями *CYP21A2*, показал накопление субстратов 21-OH и снижение продуктов гидроксилирования по сравнению с клетками здоровых доноров, таким образом демонстрируя патологический фенотип ВДКН. Критически важно, что восстановление нормального стероидогенеза этих клеток может быть достигнуто путем доставки и экспрессии в них здоровой копии гена [49]. Этот результат особенно важен, поскольку он свидетельствует о том, что hiSCs могут представлять собой отправную точку для создания новых экспериментальных моделей ВДКН и разработки новых пациент-специфичных методов лечения.

Необходимо учитывать, что для развития терапевтических подходов необходимо создание надежных протоколов для получения адренокортикальных клеток, способных к самообновлению, где должен быть учтен ряд условий, а именно: тип и источник клеточного субстрата, компоненты среды, молекулярные индукторы, а также возможности последующего контроля качества результирующей клеточной культуры.

Нужно учитывать, что экзогенно привнесенная принудительная экспрессия факторов дифференцировки, которая не подвержена естественной регуляции со стороны клетки, приводит к формированию неспецифического клеточного фенотипа, часто смешанному гонадо-адреналовому. В это же время работа ряда других естественных регуляторных путей в трансфицированных клетках не в полной мере соответствует нормальным клеточным типам органа. В настоящее время наиболее корректными считаются протоколы, основанные на использовании малых молекул (BMP, FGF, Wt и др.), имитирующих эмбриональное развитие клеточного типа

и запускающих необходимые пути для корректной дифференцировки в нужный клеточный тип. Ввиду вышесказанного, а также учитывая ключевую роль SF-1 в виде эндогенного фактора транскрипции, участвующего в развитии и надпочечников, и гонад, создание поэтапного протокола получения клеток коры надпочечников без принудительной экспрессии какого-либо фактора транскрипции извне было бы ценным научным прорывом в области дифференцировки клеток надпочечников.

ТРЕХМЕРНЫЕ МОДЕЛИ И ОРГАНОИДЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ

В последние годы плюрипотентные стволовые клетки, взрослые стволовые клетки/клетки-предшественники или эмбриональные клетки-предшественники были использованы для разработки моделей органов человека *in vitro*, известных как органоиды, которые более точно воспроизводят клеточную структуру и взаимодействие в различных тканях органов. Органоиды — это трехмерная многоклеточная структура, полученная из резидентных стволовых клеток целевой ткани, которые дифференцируются и самоорганизуются, а также способны воспроизводить многие ключевые структурные и функциональные особенности органа [50]. Разработка протоколов создания органоидов станет значимым дополнением к существующим методам исследований функциональных нарушений надпочечников, знания о которых в основном были получены путем изучения мышиных моделей. Присутствие стволовых клеток/клеток-предшественников в капсуле/субкапсулярном слое коры надпочечников может представлять собой отличный источник для образования органоидов.

G. Poli и соавт. смогли получить трехмерную органоидоподобную структуру из образцов надпочечников человеческого плода на разных сроках беременности. Диссоциированные клетки коры надпочечников и нейроэндокринные (хромаффинные) клетки спонтанно генерировали органоидоподобные образования, структурно и функционально схожие с надпочечниками плода как в кортикальной (экспрессия *SF-1*, *StAR* и стероидогенных ферментов, способность секретиовать кортизол), так и в нейроэндокринной (экспрессия хромогранина A, тирозингидроксилазы и нестин) частях [51]. В дальнейшем потребуются исследования для оценки долгосрочной жизнеспособности и функциональности этих фетальных (и постнатальных, когда таковые будут получены) органоидоподобных структур, особенно если они будут содержать популяцию стволовых клеток, способных восполнять функциональные клетки надпочечников.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

И генная, и клеточная терапия обладают большим потенциалом, предлагая уникальные подходы для многих заболеваний.

Хотя подобные терапевтические достижения в сфере лечения патологии надпочечников разработаны меньше, чем в других областях эндокринологии, таких как лечение сахарного диабета, исследования последних двух десятилетий показывают, что существует высокий потенциал для лечения надпочечниковой недостаточности. К примеру,

средняя продолжительность жизни пациентов с ВДКН 42 года, при этом наблюдаются инвалидизация и ограниченность социальной и трудовой активности. Описываемые терапевтические подходы предполагают восстановление эндогенной продукции гормонов, что может привести к излечению пациентов. Таким образом, в случае успеха эти методы могут радикально изменить стратегию лечения надпочечниковой недостаточности.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено с использованием средств государственного бюджета по госзаданию № 121030100031-0 от 02.03.2021.

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

Участие авторов. Глазова О.В. — по критерию 1 — основной исполнитель, создание концепции, подбор литературы; по критерию 2 — подготовка основного текста; Воронцова М.В. — по критерию 1 — научное руководство, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Шевкова Л.В. — по критерию 1 — вклад в дизайн текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок, оформление; Сакр Н. — по критерию 1 — вклад в дизайн текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Онянов Н.А. — по критерию 1 — вклад в концепцию текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Казиахмедова С.А. — по критерию 1 — вклад в концепцию текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Волчков П.Ю. — по критерию 1 — научное руководство, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок.

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

- Yates R, Katugampola H, Cavlan D, et al. Adrenocortical Development, Maintenance, and Disease. *Curr Top Dev Biol.* 2013;106:239-312. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416021-7.00007-9>
- Steenblock C, Rubin de Celis MF, Delgadillo Silva LF, et al. Isolation and characterization of adrenocortical progenitors involved in the adaptation to stress. *Proc Natl Acad Sci.* 2018;115(51):12997-13002. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1814072115>
- Nishimoto K, Harris RBS, Rainey WE, Seki T. Sodium Deficiency Regulates Rat Adrenal Zona Glomerulosa Gene Expression. *Endocrinology.* 2014;155(4):1363-1372. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2013-1999>
- Benc D, Icin T, Pejakovic S, et al. Glucocorticoid therapy and adrenal suppression. *Med Pregl.* 2017;70(11-12):465-471. doi: <https://doi.org/10.2298/MPNS1712465B>
- Charmandari E, Nicolaides NC, Chrousos GP. Adrenal insufficiency. *Lancet.* 2014;383(9935):2152-2167. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61684-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61684-0)
- Карева М.А., Чугунов И.С. Федеральные клинические рекомендации — протоколы по ведению пациентов с врожденной дисфункцией коры надпочечников в детском возрасте // *Проблемы Эндокринологии.* — 2014. — Т. 60. — №2. — С. 42-50. [Karava MA, Chugunov IS. Federal clinical practice guidelines on the management of the patients presenting with congenital adrenal hyperplasia. *Problems of Endocrinology.* 2014;60(2):42-50. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201460242-50>
- Buonocore F, Achermann JC. Primary adrenal insufficiency: New genetic causes and their long-term consequences. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2020;92(1):11-20. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.14109>
- Turcu AF, Auchus RJ. Novel treatment strategies in congenital adrenal hyperplasia. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2016;23(3):225-232. doi: <https://doi.org/10.1097/MED.0000000000000256>
- Maharaj A, Maudhoo A, Chan LF, et al. Isolated glucocorticoid deficiency: Genetic causes and animal models. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2019;189:73-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.02.012>
- Gotoh H, Sagai T, Hata J-I, et al. Steroid 21-Hydroxylase Deficiency in Mice*. *Endocrinology.* 1988;123(4):1923-1927. doi: <https://doi.org/10.1210/endo-123-4-1923>
- Riepe FG, Tatzel S, Sippell WG, et al. Congenital Adrenal Hyperplasia: The Molecular Basis of 21-Hydroxylase Deficiency in H-2aw18 Mice. *Endocrinology.* 2005;146(6):2563-2574. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2004-1563>
- Hornstein SR, Tajima T, Eisenhofer G, et al. Adrenomedullary function is severely impaired in 21-hydroxylase-deficient mice. *FASEB J.* 1999;13(10):1185-1194. doi: <https://doi.org/10.1096/fasebj.13.10.1185>
- Tajima T, Okada T, Ma X-M, et al. Restoration of adrenal steroidogenesis by adenovirus-mediated transfer of human cytochrome P450 21-hydroxylase into the adrenal gland of 21-hydroxylase-deficient mice. *Gene Ther.* 1999;6(11):1898-1903. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.gt.3301018>
- Naiki Y, Miyado M, Horikawa R, et al. Extra-adrenal induction of *Cyp21a1* ameliorates systemic steroid metabolism in a mouse model of congenital adrenal hyperplasia. *Endocr J.* 2016;63(10):897-904. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ16-0112>
- Perdomini M, Dos Santos C, Goumeaux C, et al. An AAVrh10-CAG-CYP21-HA vector allows persistent correction of 21-hydroxylase deficiency in a *Cyp21*−/− mouse model. *Gene Ther.* 2017;24(5):275-281. doi: <https://doi.org/10.1038/gt.2017.10>
- Markmann S, De BP, Reid J, et al. Biology of the Adrenal Gland Cortex Obviates Effective Use of Adeno-Associated Virus Vectors to Treat Hereditary Adrenal Disorders. *Hum Gene Ther.* 2018;29(4):403-412. doi: <https://doi.org/10.1089/hum.2017.203>
- Al-Dosari MS, Gao X. Nonviral Gene Delivery: Principle, Limitations, and Recent Progress. *AAPS J.* 2009;11(4):671. doi: <https://doi.org/10.1208/s12248-009-9143-y>
- Long C, Amosii L, Mireault AA, et al. Postnatal genome editing partially restores dystrophin expression in a mouse model of muscular dystrophy. *Science (80-).* 2016;351(6271):400-403. doi: <https://doi.org/10.1126/science.aad5725>
- Nelson CE, Hakim CH, Ousterout DG, et al. In vivo genome editing improves muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Science (80-).* 2016;351(6271):403-407. doi: <https://doi.org/10.1126/science.aad5143>
- Tabebordbar M, Zhu K, Cheng JKW, et al. In vivo gene editing in dystrophic mouse muscle and muscle stem cells. *Science (80-).* 2016;351(6271):407-411. doi: <https://doi.org/10.1126/science.aad5177>
- Yang Y, Wang L, Bell P, et al. A dual AAV system enables the Cas9-mediated correction of a metabolic liver disease in newborn mice. *Nat Biotechnol.* 2016;34(3):334-338. doi: <https://doi.org/10.1038/nbt.3469>
- Thomas CE, Ehrhardt A, Kay MA. Progress and problems with the use of viral vectors for gene therapy. *Nat Rev Genet.* 2003;4(5):346-358. doi: <https://doi.org/10.1038/nrg1066>
- Chen S, Du K, Zou C. Current progress in stem cell therapy for type 1 diabetes mellitus. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):275. doi: <https://doi.org/10.1186/s13287-020-01793-6>
- Thomas M, Northrup SR, Hornsby PJ. Adrenocortical tissue formed by transplantation of normal clones of bovine adrenocortical cells in scid mice replaces the essential functions of the animals' adrenal glands. *Nat Med.* 1997;3(9):978-983. doi: <https://doi.org/10.1038/nm0997-978>
- Thomas M, Hornsby PJ. Transplantation of primary bovine adrenocortical cells into scid mice. *Mol Cell Endocrinol.* 1999;153(1-2):125-136. doi: [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(99\)00070-2](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(99)00070-2)
- Thomas M, Wang X, Hornsby PJ. Human adrenocortical cell xenotransplantation: Model of cotransplantation of human adrenocortical cells and 3T3 cells in scid mice to form vascularized functional tissue and prevent adrenal insufficiency. *Xenotransplantation.* 2002;9(1):58-67. doi: <https://doi.org/10.1046/j.0908-665x.2001.00138.x>

27. Popnikolov NK, Hornsby PJ. Subcutaneous Transplantation of Bovine and Human Adrenocortical Cells in Collagen Gel in scid Mice. *Cell Transplant.* 1999;8(6):617-625. doi: <https://doi.org/10.1177/096368979900800608>
28. Dunn JCY, Chu Y, Lam MM, et al. Adrenal cortical cell transplantation. *J Pediatr Surg.* 2004;39(12):1856-1858. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2004.08.006>
29. Zupekan T, Dunn JCY. Adrenocortical cell transplantation reverses a murine model of adrenal failure. *J Pediatr Surg.* 2011;46(6):1208-1213. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpedsurg.2011.03.057>
30. Allen RA, Seltz LM, Jiang H, et al. Adrenal Extracellular Matrix Scaffolds Support Adrenocortical Cell Proliferation and Function In Vitro. *Tissue Eng Part A.* 2010;16(11):3363-3374. doi: <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0005>
31. Balyura M, Gelfgat E, Ehrhart-Bornstein M, et al. Transplantation of bovine adrenocortical cells encapsulated in alginate. *Proc Natl Acad Sci.* 2015;112(8):2527-2532. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1500242112>
32. Teebken OE, Scheumann GFW. Differentiated corticosteroid production and regeneration after selective transplantation of cultured and noncultured adrenocortical cells in the adrenalectomized RAT1. *Transplantation.* 2000;70(5):836-843. doi: <https://doi.org/10.1097/00007890-200009150-00022>
33. Mariniello K, Ruiz-Babot G, McGaugh EC, et al. Stem Cells, Self-Renewal, and Lineage Commitment in the Endocrine System. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2019;10:772. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00772>
34. Freedman BD, Kempna PB, Carlone DL, et al. Adrenocortical Zonation Results from Lineage Conversion of Differentiated Zona Glomerulosa Cells. *Dev Cell.* 2013;26(6):666-673. doi: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.07.016>
35. Dunn JCY, Chu Y, Qin HH, Zupekan T. Transplantation of Adrenal Cortical Progenitor Cells Enriched by Nile Red. *J Surg Res.* 2009;156(2):317-324. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2009.04.021>
36. Thomas M, Suwa T, Yang L, et al. Cooperation of hTERT, SV40 T Antigen and Oncogenic Ras in Tumorigenesis: A Cell Transplantation Model Using Bovine Adrenocortical Cells. *Neoplasia.* 2002;4(6):493-500. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.neo.7900262>
37. Dimitrioglou N, Kanelli M, Papageorgiou E, Karatzas T, Hatzivramidis D. Paving the way for successful islet encapsulation. *Drug Discov Today.* 2019;24(3):737-748. doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2019.01.020>
38. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell.* 2006;126(4):663-676. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>
39. Crawford PA, Sadosky Y, Milbrandt J. Nuclear receptor steroidogenic factor 1 directs embryonic stem cells toward the steroidogenic lineage. *Mol Cell Biol.* 1997;17(7):3997-4006. doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.17.7.3997>
40. Yazawa T, Kawabe S, Inaoka Y, et al. Differentiation of mesenchymal stem cells and embryonic stem cells into steroidogenic cells using steroidogenic factor-1 and liver receptor homolog-1. *Mol Cell Endocrinol.* 2011;336(1-2):127-132. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2010.11.025>
41. Sonoyama T, Sone M, Honda K, et al. Differentiation of Human Embryonic Stem Cells and Human Induced Pluripotent Stem Cells into Steroid-Producing Cells. *Endocrinology.* 2012;153(9):4336-4345. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2012-1060>
42. Gondo S, Yanase T, Okabe T, et al. SF-1/Ad4BP transforms primary long-term cultured bone marrow cells into ACTH-responsive steroidogenic cells. *Genes to Cells.* 2004;9(12):1239-1247. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2443.2004.00801.x>
43. Tanaka T, Aoyagi C, Mukai K, et al. Extension of Survival in Bilaterally Adrenalectomized Mice by Implantation of SF-1/Ad4BP-Induced Steroidogenic Cells. *Endocrinology.* 2020;161(3):1-11. doi: <https://doi.org/10.1210/endo/bqaa007>
44. Gondo S, Okabe T, Tanaka T, et al. Adipose Tissue-Derived and Bone Marrow-Derived Mesenchymal Cells Develop into Different Lineage of Steroidogenic Cells by Forced Expression of Steroidogenic Factor 1. *Endocrinology.* 2008;149(9):4717-4725. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2007-1808>
45. Yazawa T, Mizutani T, Yamada K, et al. Differentiation of Adult Stem Cells Derived from Bone Marrow Stroma into Leydig or Adrenocortical Cells. *Endocrinology.* 2006;147(9):4104-4111. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2006-0162>
46. Yazawa T, Inanaka Y, Mizutani T, et al. Liver Receptor Homolog-1 Regulates the Transcription of Steroidogenic Enzymes and Induces the Differentiation of Mesenchymal Stem Cells into Steroidogenic Cells. *Endocrinology.* 2009;150(8):3885-3893. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2008-1310>
47. Yazawa T, Inaoka Y, Okada R, et al. PPAR-γ Coactivator-1α Regulates Progesterone Production in Ovarian Granulosa Cells with SF-1 and LRH-1. *Mol Endocrinol.* 2010;24(3):485-496. doi: <https://doi.org/10.1210/me.2009-0352>
48. Wei X, Peng G, Zheng S, Wu X. Differentiation of umbilical cord mesenchymal stem cells into steroidogenic cells in comparison to bone marrow mesenchymal stem cells. *Cell Prolif.* 2012;45(2):101-110. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2012.00809.x>
49. Ruiz-Babot G, Balyura M, Hadjideemetriou I, et al. Modeling Congenital Adrenal Hyperplasia and Testing Interventions for Adrenal Insufficiency Using Donor-Specific Reprogrammed Cells. *Cell Rep.* 2018;22(5):1236-1249. doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.01.003>
50. Lancaster MA, Huch M. Disease modelling in human organoids. *Dis Model Mech.* 2019;12(7). doi: <https://doi.org/10.1242/dmm.039347>
51. Poli G, Sarchielli E, Guasti D, et al. Human fetal adrenal cells retain age-related stem- and endocrine-differentiation potential in culture. *FASEB J.* 2019;33(2):2263-2277. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.20181028RR>

Рукопись получена: 19.09.2021. Одобрена к публикации: 02.12.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Глазова Ольга Владимировна [Olga V. Glazova];** адрес: Россия, 117292, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117292 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7199-1866>; SPIN: 5689-7421; e-mail: ol.glazova@gmail.com

Воронцова Мария Владимировна, к.м.н. [Maria V. Vorontsova]; ORCID: 0000-0002-9124-294X; SPIN: 4168-6851; e-mail: maria.vorontsova.endo@gmail.com

Шевкова Людмила Владимировна [Liudmila V. Shevkova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3766-9395>; SPIN: 5799-0350; e-mail: luda4everandever@gmail.com

Сакр Навар [Nawar Sakr]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0768-4401>; SPIN: 3171-7557; e-mail: sakr.nawar@gmail.com

Онянов Никита Алексеевич [Nikita A. Onyanov]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7563-097X>; SPIN: 7244-2870; e-mail: onyanov.na@phystech.edu

Казиахмедова Самира Арсеновна [Samira A. Kaziakhmedova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0879-3511>; SPIN: 8278-0000; e-mail: kaziakhmedova.sa@phystech.edu

Волчков Павел Юрьевич, к.б.н. [Pavel Y. Volchkov]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9794-6297>; SPIN: 9611-8768; e-mail: volchkov.office@gmail.com

ЦИТИРОВАТЬ

Глазова О.В., Воронцова М.В., Шевкова Л.В., Сакр Н., Онянов Н.А., Казиахмедова С.А., Волчков П.Ю. Генная и клеточная терапия функциональных патологий надпочечников: достижения и перспективы // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т.67. — №6. — С. 80-89. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12818>

FOR CITATION

Glazova OV, Vorontsova MV, Sakr N, Shevkova LV, Onyanov NA, Kaziakhmedova SA, Volchkov PY. Gene and cell therapy of adrenal pathology: achievements and prospects. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):80-89. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12818>

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ: ОСНОВНЫЕ СИГНАЛЬНЫЕ ПУТИ



© О.В. Глазова^{1,2*}, М.В. Воронцова^{1,2}, Л.В. Шевкова^{1,2}, Н. Сакр², Н.А. Онянов², С.А. Казиахмедова², П.Ю. Волчков^{1,2}

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Московский физико-технический институт (национальный исследовательский университет), Долгопрудный, Россия

Стволовые клетки взрослого организма вызывают сегодня большой интерес ввиду активного развития клеточных и геномных технологий. Именно они являются мишенью новых терапевтических подходов, основанных на редактировании мутаций или восполнении органов, поврежденных в результате аутоиммунной реакции, старения и прочих патологических процессов. Также стволовые клетки, в том числе пациент-специфичные (индуцированные плюрипотентные стволовые клетки), и полученные путем дифференцировки из них культуры тканей и органоидов являются наиболее приближенными к *in vivo* моделями человеческого организма, что позволяет получать более релевантные данные по тестированию различных терапевтических подходов и фармакологических препаратов. В представленном обзоре описаны основные молекулярные пути, ответственные за поддержание гомеостаза коры надпочечников — сложного, структурно и функционально неоднородного органа. Кора надпочечников обновляется в течение онтогенеза организма за счет пула клеток-предшественниц (стволовых клеток и прогениторов), находящихся в тесном контакте с дифференцированными стероидогенными клетками и подвергающихся постоянному контролю эндокринных и паракринных сигналов. Понимание путей сигналинга и взаимодействия разных типов клеток позволит разработать наиболее подходящие протоколы получения клеток коры надпочечников на разных стадиях дифференцировки для использования их в научных и медицинских целях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: надпочечники; стволовые клетки, сигнальные пути, клетки-предшественницы.

ADRENAL GLANDS STEM CELLS: GENERAL SIGNALING PATHWAYS

© Olga V. Glazova^{1,2*}, Maria V. Vorontsova^{1,2}, Liudmila V. Shevkova^{1,2}, Nawar Sakr², Nikita A. Onyanov², Samira A. Kaziakhmedova², Pavel Y. Volchikov^{1,2}

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²Moscow Institute of Physics and Technology (National Research University), Dolgoprudny, Russia

Nowadays stem cells of adult type are attractive in case of active development of cell and genome technologies. They are the target of new therapeutic approaches, which are based on correction of mutations or replenishment of organs, that were damaged by autoimmune reactions, aging or other pathological processes. Also stem cells, including patient-specific (induced Pluripotent Stem Cells, iPSCs), and obtained by differentiation from them tissue cultures and organoids are the closest models to *in vivo* researches on humans, which gives an opportunity to get more relevant data while testing different therapeutic approaches and pharmacological drugs. The main molecular pathways, that are essential for homeostasis of a cortex of an adrenal gland — compound, structurally and functionally heterogeneous organ, is described in the presented review. The adrenal cortex is renewing during the organism's ontogenesis at the expense of the pool of stem and progenitor cells, which are in tight junctions with differentiated steroidogenic cells and which are under constant control of endocrine and paracrine signals. The understanding of signaling pathways and interactions of different cell types will give an opportunity to develop the most suitable protocols for obtaining cells of adrenal gland cortex in different stages of differentiation to use them in scientific and medical purposes.

KEYWORDS: adrenal gland; stem cells; signal pathway; progenitor cells.

ВВЕДЕНИЕ

Надпочечники — это парные эндокринные органы, расположенные по одному в забрюшинном пространстве, топографо-анатомически над верхними полюсами почек, производящие стероидные гормоны и катехоламины. Железы состоят из двух частей различного эмбрионального происхождения: внешнего слоя — коркового вещества и центральной зоны — мозгового вещества. Кора надпочечников, о которой идет речь в данном обзоре, произво-

дит три типа стероидов: минералокортикоиды, глюкокортикоиды и андрогены. Производство гормонов разделено физиологически и регулируется независимыми петлями эндокринной обратной связи: ренин-ангиотензин-альдостероновой системой (РААС) и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой осью (ГН), которые контролируют выработку минералокортикоидов и глюкокортикоидов/андрогенов соответственно. Эта функциональная компартментализация отражена гистологически, так как кора разделена на три отдельные гистологические зоны

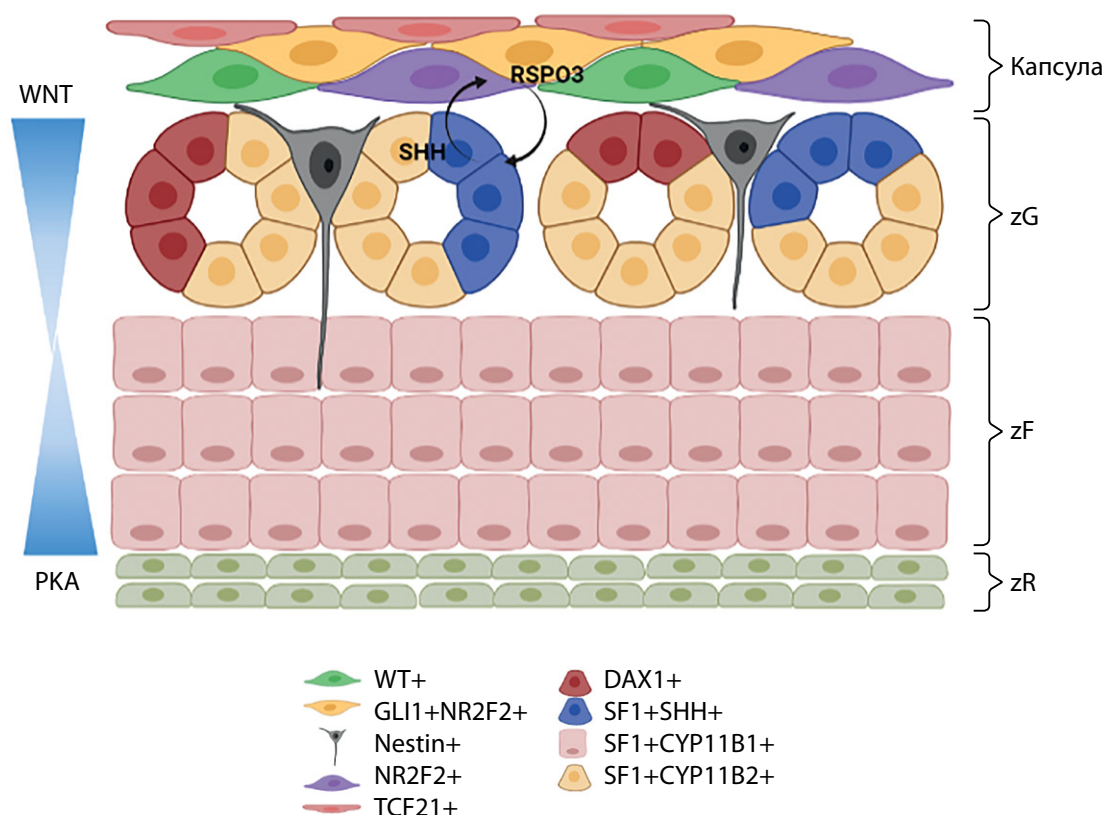


Рисунок 1. Схематическое строение коры надпочечников с указанием основных типов стволовых клеток и прогениторов, локализирующихся в капсуле и клубочковой зоне.

в центростремительном направлении: клубочковая зона (zona glomerulosa, zG), пучковая зона (zona fasciculata, zF) и сетчатая зона (zona reticularis, zR). Кроме того, надпочечник окружен капсулой, содержащей стволовые клетки, под которой в zG располагаются субкапсулярные клетки-прогениторы. Паракринные пути передачи сигналов, поддерживаемые популяциями стволовых клеток/прогениторов, о которых речь пойдет ниже, и включающие гетеротипические клеточные взаимодействия, являются основными детерминантами анатомической и функциональной зональности надпочечников (рис. 1).

На основе изучения стволовых клеток крови (гематопоэтических стволовых клеток, hematopoietic stem cells, HSCs) в научном сообществе сформировался консенсус по использованию терминов, описывающих клеточные состояния разного уровня потенциальности. Согласно этой терминологии, в данной работе термин «стволовые клетки» будет означать редко делящиеся, длительно сохраняющиеся в состоянии покоя мультипотентные клетки. Также будет использоваться термин «прогениторы», который в более широком смысле описывает уникальные клеточные популяции, способные поддерживать и восполнять в случае резекции необходимое количество специализированных клеток посредством активной пролиферации и дифференцировки [1]. Гомеостатическое поддержание и восстановление коры надпочечников требует тонкой координации между стволовыми клетками и прогениторами. Эти популяции клеток демонстрируют высокий уровень пластичности и по-разному активируются в ответ на различные факторы, включая эмбриональное развитие, физиологические потребности и патологические процессы.

В этом обзоре мы суммируем последние данные о паракринных регуляторных петлях, которые управляют функцией стволовых клеток/прогениторов в коре надпочечников, и их важности для гомеостаза органа на протяжении всей жизни.

ЭМБРИОНАЛЬНОЕ РАЗВИТИЕ

Для понимания становления и функционирования различных популяций стволовых клеток и прогениторов надпочечников, а также для разработки подходов к получению таких линий *in vitro* крайне необходимо понимать основные молекулярные процессы, происходящие во время эмбрионального развития органа. Кора надпочечников плода формируется из зачатка надпочечников (adrenogonadal primordium, AGP), который, в свою очередь, происходит из целомического эпителия и лежащей в его основе промежуточной (мезонефрической) мезодермы в течение первых 4–6 нед гестации у людей и на 9,5-й день эмбрионального развития (E9.5) у мышей. На этом этапе инициируется экспрессия фактора транскрипции стероидогенного фактора 1 (SF1, кодируемого геном *NR5A1* у людей или *Nr5a1* у мышей), запускающего дифференцировку AGP с последующим формированием гонад и коры надпочечников с уникальными стероидогенными программами обоих органов [2]. Для инициации экспрессии адренокортикального *Nr5a1* необходим фетальный адреналоспецифический энхансер (FAdE), активный исключительно во время позднего развития AGP [3]. Экспрессия FAdE индуцируется комплексом белков Нох-Pbx-Prep1 и поддерживается этим комплексом вместе с ауторегуляцией

самим *Sf1*. Интересно, что у мышей, дефицитных по гену *Pbx*, не развиваются надпочечники, но развиваются гонады, в которых экспрессия *Sf1* сохраняется, что позволяет предположить, что существует другой фактор и/или энхансер на промоторе *Sf1*, контролирующей экспрессию последнего в этих тканях [4]. AGP разделяется на зачатки надпочечников и гонад (8-я неделя беременности (E10.5)), и к 9-й неделе беременности (E12.5) клетки нервного гребня проникают в зачаток надпочечников с образованием центрального мозгового вещества надпочечников.

После инкапсуляции и инфильтрации клетками нервного гребня формируется ниша стволовых клеток/прогениторов дефинитивной надпочечниковой коры (коры взрослого типа). В текущем представлении для реализации этого процесса необходимо 4 события:

1. подавление экспрессии *Sf1* в фетальной коре, переход части клеток в стволовое состояние и миграция их в капсулу;
2. формирование капсулы из близлежащих мезенхимальных клеток плода (8–9-я неделя беременности у людей, E11.5–E12.5 у мышей);
3. дифференцировка капсулярных клеток и активация экспрессии *Sf1* в дефинитивной коре;
4. регрессия фетальной коры. У людей фетальная кора надпочечников регрессирует и в конечном итоге заменяется окончательной (дефинитивной) корой взрослого типа в течение нескольких недель после рождения [5]. Все вышеперечисленные события происходят в строго определенные временные интервалы, что обеспечивает правильное развитие и нормальное функционирование коры надпочечников [6]. Хотя механизмы, регулирующие переход между фетальной корой плода и дефинитивной корой, все еще плохо изучены, исследования показывают, что транскрипционный фактор DAX1 (кодируется геном *Nr0b1*) и сам *Sf1* действуют как корепрессоры [7], подавляющие FAdE во время перехода от фетальной к дефинитивной коре [3].

СТВОЛОВЫЕ КЛЕТКИ И ПРОГЕНИТОРЫ КОРЫ НАДПОЧЕЧНИКОВ ВЗРОСЛОГО ТИПА

Описанный процесс формирования коры надпочечников на разных стадиях эмбриогенеза дает представление об источнике стволовых клеток в надпочечниках взрослого типа — клетках фетальной коры и мезенхимальных клетках, окружающих формирующийся надпочечник. Во взрослом органе описаны различные популяции клеток-предшественниц, локализованных в надпочечниковой капсуле и коре. Эти капсульные и корковые популяции взаимодействуют через реципрокные сигнальные сети с помощью не до конца изученных механизмов, координируя центростремительную пролиферацию и дифференцировку кортикальных клеток в ответ на паракринную и эндокринную сигнализацию, тем самым поддерживая гомеостаз коры надпочечников. В следующих разделах мы кратко суммируем текущие знания о ключевых популяциях клеток-предшественниц и их участии в паракринных сигнальных сетях, важных для адreno-кортикального гомеостаза.

Капсула

Капсула толщиной в несколько клеток состоит из нескольких длительно сохраняющихся мультипотентных популяций SF1-отрицательных (SF1-) клеток. Эти популяции отличаются экспрессией разных факторов и белков: белок семейства содержащих домен цинковых пальцев 1 типа GLI (GLI family zinc finger 1, GLI1), гомолог 1 опухолевого белка Вильмса (Wilms tumor suppressor gene 1, WT1), фактор транскрипции 21 (TCF21), R-спондин 3 (R-spondin 3, RSPO3), Yes-ассоциированный белок (Yes-associated protein, YAP), транскрипционный коактиватор с PDZ-связывающим мотивом (transcriptional coactivator with the PDZ-binding motif, TAZ) и нестин (Nestin). Все эти популяции клеток обладают различной пролиферативной способностью и свои особенности взаимодействия с субкапсулярными прогениторами, экспрессирующими SF1 (SF1+).

GLI1

GLI1 является транскрипционным эффектором канонического сигнального пути Hedgehog (HH). В надпочечниках Sonic hedgehog (SHH) секретируется прогениторами zG и передает сигналы капсульным клеткам *Gli1*+, что приводит к *Gli1*-зависимой транскрипции канонических генов-мишеней SHH [8–10]. Недавние исследования показывают, что *Gli1*-зависимая транскрипция может быть активирована посредством SHH-независимых механизмов [11]. Во время эмбрионального развития по крайней мере часть клеток, экспрессирующих *Gli1*, происходит из клеток FAdE+ [12] и составляет самую большую популяцию клеток в капсуле. Во взрослом органе их потомки мигрируют центростремительно в кору, дифференцируясь в клетки *Sf1*+, подмножество которых также экспрессирует SHH [10]. Примечательно, что у самцов мышей во взрослом возрасте вклад *Gli1*+ клеток в корковый гомеостаз существенно снижается, но может усиливаться во время регенерации zF [10, 13]. Хотя было замечено, что обновление надпочечников у самок мышей происходит быстрее, чем у самцов [14], недавнее исследование A. Grabek и соавт. [15] показало, что половой диморфизм может частично объясняться андрогенами, ограничивающими вклад *Gli1*+ клеток в процессы регенерации коры надпочечников особей мужского пола.

WT1

WT1 является регулятором транскрипции SF1 в AGP, но после разделения зачатков надпочечников и гонад экспрессия *WT1* в надпочечниках репрессирована [16]. Молекулярная биология WT1 сложна, и по крайней мере 36 различных изоформ белка могут быть получены с помощью комбинации альтернативных сайтов начала транскрипции, альтернативного сплайсинга и редактирования РНК. Альтернативный сплайсинг на стыке экзонов 9 и 10 генерирует изоформы, содержащие (+KTS) или не содержащие (–KTS) три аминокислоты KTS, что приводит к образованию белков с разными биохимическими и биологическими свойствами. Эктопическая экспрессия изоформы *Wt1*-KTS достаточна для предотвращения дифференцировки клеток AGP в стероидогенные клетки путем прямой регуляции экспрессии генов *Gli1* и *Tcf21*, что указывает на значимость этой изоформы в эмбриогенезе органа [17]. Капсульные *Wt1*+ клетки

взрослого надпочечника в норме могут давать некоторое количество *Sf1*⁺ адренокортикальных клеток, осуществляя таким образом небольшой вклад в корковый гомеостаз [16–18]. Недавно было продемонстрировано, что специфичная для *Sf1*⁺ клеток делеция гена *Ezh2*, роль которого в поддержании коркового гомеостаза будет рассматриваться ниже, приводит к аплазии zF, совпадающей с накоплением *Wt1*⁺ клеток. Это явление дает возможность предположить, что в контексте повышенного запроса клетки *Wt1* могут рекрутироваться в качестве супрафизиологических предшественников [19].

TCF21

Во время развития надпочечников мыши *Tcf21* экспрессируется начиная с E9.5, и на стадии E12.5 *Tcf21*⁺ мезенхимальные зародышевые клетки совместно с таковыми *Wt1*⁺ обволакивают формирующийся надпочечник. Клетки *Tcf21*⁺ дают начало как *Sf1*[–] капсулярной, так и *Sf1*⁺ кортикальной популяциям до формирования функциональной капсулы. После образования капсулы клетки *Tcf21*⁺ вносят вклад в развитие надпочечников, давая *Sf1*[–] стромальные клетки. Начиная с E14.5 стадии развития экспрессия *Tcf21* ограничивается только капсулярными клетками. Во взрослой коре надпочечников эта популяция генерирует только стромальные клетки, включая десмин-положительные гладкомышечные клетки (SMC) и PDGFRA-положительные фибробластные клетки [12].

RSPO3

RSPO3 — паракринный фактор, высвобождаемый из капсулы надпочечников, действующий как усилитель передачи сигналов канонического пути WNT [20]. *Rspo3* экспрессируется в капсуле надпочечников мыши, начиная с E12.5, совместно с клетками *Gli1*⁺ и *Nr2f2*⁺ (маркер мезенхимальных стволовых клеток). Потеря RSPO3 в зрелом возрасте приводит к истончению коры из-за потери zG, о чем свидетельствует потеря маркеров прогениторов SHN и Wnt4, а также маркеров зональности DAB2 и CYP11B2. Экспрессия капсульного *Gli1* у таких животных также нарушается, что согласуется с потерей передачи сигналов SHN [21]. На основе описанных наблюдений была предложена модель двойной паракринной связи между корой и капсулой: капсула поддерживает идентичность и пролиферацию zG за счет секреции RSPO3, тогда как клубочковая зона поддерживает пул капсулярных предшественников за счет секреции SHN.

YAP

Путь передачи сигналов Hippo участвует в контроле размера, обновления и регенерации органов [22]. Два эффектора передачи сигналов Hippo — YAP и TAZ — экспрессируются как в капсуле надпочечников мыши, так и во всей коре надпочечников. Было показано, что SF1-контролируемая делеция одной копии *Yap* и двух копий *Taz* приводит к дефектам надпочечников у самцов мышей [23]. Такие мыши демонстрировали незначительное снижение уровня кортикостерона при индукции аденокортикотропным гормоном (АКТГ), увеличение накопления липидов и снижение экспрессии мРНК *Shh*, *Nr0b1* и *Gli1* в возрасте 10 нед. Последнее может свидетельствовать о частичном истощении стволовых клеток

и прогениторов надпочечников. Примечательно, что избыточная экспрессия YAP1 наблюдалась в опухолях коры надпочечников у детей и ассоциировалась с плохим прогнозом [24]. Любопытно, что гиперактивация YAP и TAZ (которая достигается удалением их негативных регуляторов, киназ LATS1 и LATS2) вызывает надпочечниковую недостаточность при рождении, скорее всего, из-за обширной трансдифференцировки стероидогенных клеток в миофибробласты — хотя этот процесс еще предстоит однозначно доказать [25]. Таким образом, путь Hippo может иметь специфические, но важные функции как во время эмбрионального развития надпочечников, так и в постнатальном поддержании гомеостаза органа.

Нестин (Nestin)

Нестин — белок промежуточных филаментов типа VI, маркирует небольшую обособленную популяцию клеток, происходящих из нервного гребня, разбросанных по капсуле и распространенных в коре надпочечников мышей [26]. Во взрослом надпочечнике потомки Nest⁺ клеток мигрируют центростремительно к мозговому веществу и демонстрируют способность к дифференцировке в стероидогенные клетки *in vivo* и *in vitro* [26]. Интересно, что мыши, подвергшиеся иммобилизационному стрессу, демонстрируют более быстрое истощение этого пула стволовых клеток, чем контрольные мыши, из-за повышенной скорости центростремительной миграции Nest⁺ клеток к мозговому веществу надпочечника. Поскольку нестин-положительные клетки разрастаются сквозь кору в сторону медуллы, вероятно, они могут выполнять уникальную функцию по организации взаимодействия между этими зонами во время стрессовых реакций [26, 27].

Кора

Недавние исследования также выявили субкапсулярный внешний слой клеток коры как место расположения аденокортикальных прогениторов, рекрутируемых в ответ на эндокринные и паракринные факторы. Текущая модель предполагает, что потомки периферических аденокортикальных стволовых клеток дифференцируются и мигрируют центростремительно, подвергаясь апоптозу на кортикомедуллярной границе, тем самым давая начало сперва субкапсулярным прогениторам SHN⁺, затем терминально или частично дифференцированным CYP11B2⁺ и CYP11B1⁺ клеткам zG и zF соответственно. Эти периферические предшественники характеризуются ядерной экспрессией β-catenin, SF1, SHN, DAX1 и отсутствием CYP11B2 [8–10, 13, 14, 28, 29]. Далее будет представлен краткий обзор молекулярных процессов, определяющих различные состояния этих корковых популяций.

Сигнальный путь HH

SHN является единственным лигандом сигнального пути HH, экспрессируемым в надпочечниках. SHN секретируется частично дифференцированным подмножеством клеток *Sf1*⁺*Cy11b2*[–] zG, начиная с E12.5. Эксперименты по отслеживанию клонов клеток на мышах показали, что *Shh*⁺ клетки zG дают начало практически всем кортикальным клеткам во время развития и гомеостаза взрослых надпочечников. В настоящее время

известно, что клетки *SHH*⁺ дифференцируются в клетки *CYP11B2*⁺, которые затем мигрируют и дифференцируются в клетки *zF CYP11B1* посредством репрессии сигнального пути WNT и активации сигнального пути АСТН-зависимой протеинкиназы А (PKA) (будет рассмотрено ниже) [9, 10, 28, 30]. У самцов мышей передача сигналов *SHH* особенно важна во время регенерации *zF*, во время которой капсулярные *Gli1*⁺ и субкапсулярные *SHH*⁺ клетки являются предшественниками, рекрутируемыми для репопуляции *zF* и восстановления стероидогенеза. Действительно, фармакологическое ингибирование пути *HH* ограничивает регенерацию коры надпочечников [13]. Таким образом, во взрослом надпочечнике *SHH*, секретруемый клетками *zG*, через рецептор *PTCH1* активирует передачу сигналов *Hedgehog* в капсульных клетках, что приводит к активации транскрипции, опосредованной *GLI1*.

Сигнальный путь WNT

Путь передачи сигналов WNT участвует в органогенезе, гомеостазе и контроле клеток-предшественниц во многих тканях, включая кору надпочечников. В каноническом сигнальном лиганды WNT, выделяемые одними клетками, связываются с рецепторами на поверхности клеток-мишеней [31], что приводит к транслокации β -катенина из цитоплазмы в ядро, где он соединяется с фактором транскрипции *TCF/LEF* (*T-cell factor/lymphoid enhancer factor*) для инициации транскрипции целевых генов [32]. В коре надпочечников передача сигналов WNT зонально распределена, с выраженным ядерным окрашиванием β -катенина в *zG* и градиентом затухания в направлении верхней *zF* [30, 33–35].

У мышей канонический WNT каскад устанавливается после образования *AGP* (*E9.5*) и инкапсуляции (*E12.5*), что совпадает с формированием дефинитивной коры надпочечников. Генетически опосредованное нарушение концентрации β -катенина в клетках *Sf1*⁺ во время органогенеза (после *E12.5*) приводит к снижению пролиферации кортикальных клеток и полной регрессии надпочечников на *E18.5* [35]. Потеря передачи сигналов β -катенина 50% кортикальных *Sf1*⁺ клеток приводит к надпочечниковой недостаточности и выраженному истончению коры у мышей в возрасте 15 нед. К 45-недельному возрасту такие мыши демонстрируют полную гистологическую дезорганизацию и истончение коры надпочечников. Описанные наблюдения подтверждают, что каноническая передача сигналов WNT важна как для активности кортикальных предшественников в эмбриональном развитии, так и поддержания гомеостаза взрослого органа [35]. Большинство *Shh*⁺ клеток активно секретруют WNT [36] и истощаются в модели капсульного дефицита *RSPO3* [21]. Эффективность регенерации *zF* также зависит от канонического WNT сигнального [13].

В недавних исследованиях роли лигандов WNT в поддержании канонической передачи сигналов в коре надпочечников особый акцент был сделан на *Wnt4*. У людей наследственные инактивирующие мутации *WNT4* вызывают *SERKAL*-синдром — состояние, характеризующееся реверсией пола с женского на мужской и надпочечниковой недостаточностью [37]. У мышей в эмбриональном периоде *Wnt4* экспрессируется во всех зонах развиваю-

щегося надпочечника с *E11.5* [34], с *E14.5* экспрессия гена ограничивается внешними отделами коры, а у взрослых мышей *WNT4* продуцируется клетками *zG* [33, 34]. Дефицит *WNT4* ведет к снижению экспрессии *Cyp11b2* в надпочечниках и продукции альдостерона. Значимость этого лиганда также подтверждается мышинной моделью, в которой делеция *Wnt4* под контролем *SF1* приводит к снижению экспрессии канонических генов-мишеней пути WNT [30].

DAX1

Белок DAX1 (кодируемый геном *NROB1*) является эффектором сигнального пути WNT и корепрессором *SF1*-опосредованной транскрипции [1]. Мутации в DAX1 вызывают врожденную X-сцепленную гипоплазию надпочечников у людей, которая часто проявляется надпочечниковой недостаточностью [38–40]. Интересно, что DAX1-дефицитные стареющие мыши демонстрируют фенотип, частично напоминающий потерю экспрессии β -катенина: гипофункциональные диспластические надпочечники с потерей пролиферации, что указывает на важность DAX1 в поддержании пула аденокортикальных предшественников [41].

Сигнальный путь PKA (Protein kinase A)

Система обратной связи ГГН регулирует выработку глюкокортикоидов и андрогенов корой надпочечников. Помимо стимуляции выработки стероидов, активация ГГН-оси оказывает митогенное действие на кору надпочечников. Так, АКГГ стимулирует высвобождение кортизола (или кортикостерона у мышей) из *zF* надпочечников посредством связывания рецептора меланокортина-2 и вспомогательного белка меланокортина (*MRAP*, *melanocortin 2 receptor accessory protein*) и активации сигнального пути PKA [42]. У мышей дефицит *MRAP* приводит к неонатальной летальности, которая устраняется введением экзогенных глюкокортикоидов. У выживших без *MRAP* наблюдаются постнатальное нарушение стероидогенеза, утолщенная и гиперпластическая капсула, повышенная экспрессия *Shh* и накопление клеток-предшественниц с активацией WNT сигнального. Эти данные указывают на критическую роль АКГГ в стимулировании аденокортикальных стволовых клеток/прогениторов к дифференцировке в стероидогенные клетки *zF*. Кроме того, конститутивная активация PKA-сигнального в коре надпочечников ингибирует канонический путь WNT, способствуя дифференцировке в *zF* [30, 43].

М. Mathieu и соавт. разработали мышиную модель с *SF1*-контролируемой делецией гена белка *Ezh2*, ответственного за метилирование H3K27me3 [19]. Экспрессия *Ezh2* в коре надпочечников взрослых мышей в значительной степени ограничивается пролиферирующими клетками на границе *zG/zF*. В описываемом исследовании у мутантных мышей наблюдалось развитие первичной глюкокортикоидной недостаточности с серьезными дефектами зонирования, в частности аплазией *zF* и дезорганизацией *zG*. Интересно, что WNT-сигнальный не изменялся, что позволяет предположить, что действие белка *EZH2* в первую очередь относится к клеткам *zF*. Действительно, этой же группой исследователей было показано, что аденокортикальный *EZH2*

метирует промоторы генов, кодирующих негативные регуляторы передачи сигналов PKA. Полученные данные указывают на то, что EZH2 является критическим для направления дифференцировки в клетки zF в ответ на индукцию АКТГ и согласуются с недавними наблюдениями, что экспрессия *Ezh2* резко возрастает во время пролиферативного всплеска, сопровождающего регенерацию zF [13]. В совокупности вышеизложенные данные подтверждают важную роль EZH2 в обеспечении zF новыми клетками в ответ на АКТГ во время развития и обновления коры надпочечников.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы были достигнуты многочисленные успехи в изучении молекулярных аспектов функционирования надпочечников. Было показано, что поддержание и обновление стероидогенных клеток в коре надпочечников у взрослых организмов регулируются сложными процессами, в которых задействованы как паракринные, так и эндокринные механизмы. В этом обзоре мы сосредоточились в основном на паракринной коммуникации между капсулой и субкапсулярной корой. Однако в будущем научному сообществу предстоит большая работа по более тонкому описанию известных клеточных популяций, а также поиску новых типов предшественников и альтернативных путей обновления zF. Также внимание ученых все больше сосредотачивается на роли нестероидогенных клеток коры надпочечников, включая компартменты стромальных, иммунных и эндотелиальных клеток, в регуляции рекрутирования предшественников и поддержания клеточного гомеостаза надпочечников. Во многом эти задачи будут решаться с использованием новых методов, в частности секвенирования транскриптомов единичных клеток. Этот подход позволит лучше понять устройство надпочечников людей, так как позволяет определять клеточные популяции в образцах, полученных после хирургических вмешательств. Более того, хотя половой диморфизм в коре надпочечников известен давно, только в последние несколько лет становятся понятными механизмы влияния андрогенов на обновление тканей надпочечников. Понимание этого влияния необходимо для объяснения связанной с половой принадлежностью специфики патогенеза, которая характерна для многих заболеваний надпочечников.

Новые знания о тонкой молекулярной структуре типов клеток надпочечников могут быть использованы в будущем для разработки протоколов получения стероидо-

генных клеток и клеток-предшественниц для клеточной и генной терапии. На сегодняшний день разрабатываются *in vitro* подходы по получению пациент-специфичных стероидогенных клеток, способных компенсировать недостаток стероидогенеза при врожденной дисфункции коры надпочечников путем экзогенной экспрессии SF1 [44]. Однако такие клетки, во-первых, могут иметь смешанный гонадо-адренальный фенотип из-за активации всех или почти всех генов-мишеней этого транскрипционного фактора, и в таком случае клеточная терапия может приводить к нежелательным побочным эффектам. Во-вторых, продолжительность жизни таких клеток, как и почти любых терминально дифференцированных клеток, ограничена. Следовательно, терапевтический эффект будет иметь временный характер. Решением этих проблем может быть получение частично коммитированных клеток-предшественниц, которые будут способны интегрироваться в структуру взрослого органа и дифференцироваться *in vivo*. Подобные подходы уже применяются в частности для получения прогениторов дофаминергических нейронов [45], что дает основания рассчитывать на успех стратегии и для клеточных линий надпочечников.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование выполнено с использованием средств государственного бюджета по госзаданию № 121030100031-0 от 02.03.2021.

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

Участие авторов. Глазова О.В. — по критерию 1 — основной исполнитель, создание концепции, подбор литературы; по критерию 2 — подготовка основного текста; Воронцова М.В. — по критерию 1 — научное руководство, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Шевкова Л.В. — по критерию 1 — вклад в дизайн текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок, оформление; Сакр Н. — по критерию 1 — вклад в дизайн текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Онянов Н.А. — по критерию 1 — вклад в концепцию текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Казиахмедова С.А. — по критерию 1 — вклад в концепцию текста, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок; Волчков П.Ю. — по критерию 1 — научное руководство, по критерию 2 — внесение в рукопись важных правок. 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. Hammer GD, Basham KJ. Stem cell function and plasticity in the normal physiology of the adrenal cortex. *Mol Cell Endocrinol*. 2021;519:111043. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.111043>
2. Schimmer BP, White PC. Minireview: Steroidogenic Factor 1: Its Roles in Differentiation, Development, and Disease. *Mol Endocrinol*. 2010;24(7):1322-1337. doi: <https://doi.org/10.1210/me.2009-0519>
3. Zubair M, Parker KL, Morohashi K. Developmental Links between the Fetal and Adult Zones of the Adrenal Cortex Revealed by Lineage Tracing. *Mol Cell Biol*. 2008;28(23):7030-7040. doi: <https://doi.org/10.1128/MCB.00900-08>
4. Ward RD, Raetzman LT, Suh H, et al. Role of PROP1 in Pituitary Gland Growth. *Mol Endocrinol*. 2005;19(3):698-710. doi: <https://doi.org/10.1210/me.2004-0341>
5. Mesiano S, Jaffe RB. Developmental and Functional Biology of the Primate Fetal Adrenal Cortex*. *Endocr Rev*. 1997;18(3):378-403. doi: <https://doi.org/10.1210/edrv.18.3.0304>
6. Xing Y, Morohashi K, Ingraham HA, Hammer GD. Timing of adrenal regression controlled by synergistic interaction between Sf1 SUMOylation and Dax1. *Development*. 2017;144(20):3798-3807. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.150516>

7. Xing Y, Lerario AM, Rainey W, Hammer GD. Development of Adrenal Cortex Zonation. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2015;44(2):243-274. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2015.02.001>
8. Ching S, Vilain E. Targeted disruption of Sonic Hedgehog in the mouse adrenal leads to adrenocortical hypoplasia. *Genesis*. 2009;47(9):628-637. doi: <https://doi.org/10.1002/dvg.20532>
9. Huang C-CJ, Miyagawa S, Matsumaru D, et al. Progenitor Cell Expansion and Organ Size of Mouse Adrenal Is Regulated by Sonic Hedgehog. *Endocrinology*. 2010;151(3):1119-1128. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2009-0814>
10. King P, Paul A, Laufer E. Shh signaling regulates adrenocortical development and identifies progenitors of steroidogenic lineages. *Proc Natl Acad Sci*. 2009;106(50):21185-21190. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0909471106>
11. Guasti L, Cavlan D, Cogger K, et al. Dlk1 Up-Regulates Gli1 Expression in Male Rat Adrenal Capsule Cells Through the Activation of β 1 Integrin and ERK1/2. *Endocrinology*. 2013;154(12):4675-4684. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2013-1211>
12. Wood MA, Acharya A, Finco I, et al. Fetal adrenal capsular cells serve as progenitor cells for steroidogenic and stromal adrenocortical cell lineages in *M. musculus*. *Development*. 2013;140(22):4522-4532. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.092775>
13. Finco I, Lerario AM, Hammer GD. Sonic Hedgehog and WNT Signaling Promote Adrenal Gland Regeneration in Male Mice. *Endocrinology*. 2018;159(2):579-596. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2017-03061>
14. Freedman BD, Kempna PB, Carlone DL, et al. Adrenocortical Zonation Results from Lineage Conversion of Differentiated Zona Glomerulosa Cells. *Dev Cell*. 2013;26(6):666-673. doi: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.07.016>
15. Grabek A, Dolfi B, Klein B, et al. The Adult Adrenal Cortex Undergoes Rapid Tissue Renewal in a Sex-Specific Manner. *Cell Stem Cell*. 2019;25(2):290-296.e2. doi: <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.04.012>
16. Val P, Martinez-Barbera J-P, Swain A. Adrenal development is initiated by Cited2 and Wt1 through modulation of Sf-1 dosage. *Development*. 2007;134(12):2349-2358. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.004390>
17. Bandiera R, Vidal VP, Motamedi FJ, et al. WT1 Maintains Adrenal-Gonadal Primordium Identity and Marks a Population of AGP-like Progenitors within the Adrenal Gland. *Dev Cell*. 2013;27(1):5-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.09.003>
18. Wilhelm D, Englert C. The Wilms tumor suppressor WT1 regulates early gonad development by activation of Sf1. *Genes Dev*. 2002;16(14):1839-1851. doi: <https://doi.org/10.1101/gad.220102>
19. Mathieu M, Drelon C, Rodriguez S, et al. Steroidogenic differentiation and PKA signaling are programmed by histone methyltransferase EZH2 in the adrenal cortex. *Proc Natl Acad Sci*. 2018;115(52):E12265-E12274. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1809185115>
20. Kim K-A, Zhao J, Andarmani S, et al. R-Spondin Proteins: A Novel Link to β -catenin Activation. *Cell Cycle*. 2006;5(1):23-26. doi: <https://doi.org/10.4161/cc.5.1.2305>
21. Vidal V, Sacco S, Rocha AS, et al. The adrenal capsule is a signaling center controlling cell renewal and zonation through Rspo3. *Genes Dev*. 2016;30(12):1389-1394. doi: <https://doi.org/10.1101/gad.277756.116>
22. Zhao B, Tumaneng K, Guan K-L. The Hippo pathway in organ size control, tissue regeneration and stem cell self-renewal. *Nat Cell Biol*. 2011;13(8):877-883. doi: <https://doi.org/10.1038/ncb2303>
23. Levasseur A, St-Jean G, Paquet M, et al. Targeted Disruption of YAP and TAZ Impairs the Maintenance of the Adrenal Cortex. *Endocrinology*. 2017;158(11):3738-3753. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2017-00098>
24. Abduch RH, Bueno AC, Leal LF, et al. Unraveling the expression of the oncogene YAP1, a Wnt/ β -catenin target, in adrenocortical tumors and its association with poor outcome in pediatric patients. *Oncotarget*. 2016;7(51):84634-84644. doi: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12382>
25. Ménard A, Abou Nader N, Levasseur A, et al. Targeted Disruption of Lats1 and Lats2 in Mice Impairs Adrenal Cortex Development and Alters Adrenocortical Cell Fate. *Endocrinology*. 2020;161(6). doi: <https://doi.org/10.1210/endo/bqaa052>
26. Steenblock C, Rubin de Celis MF, Delgadillo Silva LF, et al. Isolation and characterization of adrenocortical progenitors involved in the adaptation to stress. *Proc Natl Acad Sci*. 2018;115(51):12997-13002. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1814072115>
27. Steenblock C, Rubin de Celis MF, Androutsellis-Theotokis A, et al. Adrenal cortical and chromaffin stem cells: Is there a common progeny related to stress adaptation? *Mol Cell Endocrinol*. 2017;441:156-163. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2016.09.011>
28. Freedman BD, Kempna PB, Carlone DL, et al. Adrenocortical Zonation Results from Lineage Conversion of Differentiated Zona Glomerulosa Cells. *Dev Cell*. 2013;26(6):666-673. doi: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.07.016>
29. Vinson GP. Functional Zonation of the Adult Mammalian Adrenal Cortex. *Front Neurosci*. 2016;10. doi: <https://doi.org/10.3389/fnins.2016.00238>
30. Drelon C, Berthon A, Sahut-Barnola I, et al. PKA inhibits WNT signalling in adrenal cortex zonation and prevents malignant tumour development. *Nat Commun*. 2016;7(1):12751. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms12751>
31. Farin HF, Jordens I, Mosa MH, et al. Visualization of a short-range Wnt gradient in the intestinal stem-cell niche. *Nature*. 2016;530(7590):340-343. doi: <https://doi.org/10.1038/nature16937>
32. Wiese KE, Nusse R, van Amerongen R. Wnt signalling: conquering complexity. *Development*. 2018;145(12). doi: <https://doi.org/10.1242/dev.165902>
33. Basham KJ, Rodriguez S, Turcu AF, et al. A ZNRF3-dependent Wnt/ β -catenin signaling gradient is required for adrenal homeostasis. *Genes Dev*. 2019;33(3-4):209-220. doi: <https://doi.org/10.1101/gad.317412.118>
34. Heikkilä M, Peltoketo H, Leppäloueto J, et al. Wnt-4 Deficiency Alters Mouse Adrenal Cortex Function, Reducing Aldosterone Production. *Endocrinology*. 2002;143(11):4358-4365. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2002-220275>
35. Kim AC, Reuter AL, Zubair M, et al. Targeted disruption of β -catenin in Sf1-expressing cells impairs development and maintenance of the adrenal cortex. *Development*. 2008;135(15):2593-2602. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.021493>
36. Walczak EM, Kuick R, Finco I, et al. Wnt Signaling Inhibits Adrenal Steroidogenesis by Cell-Autonomous and Non-Cell-Autonomous Mechanisms. *Mol Endocrinol*. 2014;28(9):1471-1486. doi: <https://doi.org/10.1210/me.2014-1060>
37. Mandel H, Shemer R, Borochowitz U, et al. SERKAL Syndrome: An Autosomal-Recessive Disorder Caused by a Loss-of-Function Mutation in WNT4. *Am J Hum Genet*. 2008;82(1):39-47. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2007.08.005>
38. Pihlajoki M, Dörner J, Cochran RS, et al. Adrenocortical Zonation, Renewal, and Remodeling. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2015;6. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2015.00027>
39. Zanaria E, Muscatelli F, Bardoni B, et al. An unusual member of the nuclear hormone receptor superfamily responsible for X-linked adrenal hypoplasia congenita. *Nature*. 1994;372(6507):635-641. doi: <https://doi.org/10.1038/372635a0>
40. Muscatelli F, Strom TM, Walker AP, et al. Mutations in the DAX-1 gene give rise to both X-linked adrenal hypoplasia congenita and hypogonadotropic hypogonadism. *Nature*. 1994;372(6507):672-676. doi: <https://doi.org/10.1038/372672a0>
41. Scheys JO, Heaton JH, Hammer GD. Evidence of Adrenal Failure in Aging Dax1-Deficient Mice. *Endocrinology*. 2011;152(9):3430-3439. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2010-0986>
42. Lotfi CFP, de Mendonca POR. Comparative Effect of ACTH and Related Peptides on Proliferation and Growth of Rat Adrenal Gland. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2016;7:39. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00039>
43. Novoselova TV, Hussain M, King PJ, et al. MRAP deficiency impairs adrenal progenitor cell differentiation and gland zonation. *FASEB J*. 2018;32(11):6186-6196. doi: <https://doi.org/10.1096/fj.201701274RR>
44. Ruiz-Babot G, Balyura M, Hadjidemetriou I, et al. Modeling Congenital Adrenal Hyperplasia and Testing Interventions for Adrenal Insufficiency Using Donor-Specific Reprogrammed Cells. *Cell Rep*. 2018;22(5):1236-1249. doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.01.003>
45. Nolbrant S, Heuer A, Parmar M, Kirkeby A. Generation of high-purity human ventral midbrain dopaminergic progenitors for in vitro maturation and intracerebral transplantation. *Nat Protoc*. 2017;12(9):1962-1979. doi: <https://doi.org/10.1038/nprot.2017.078>

Рукопись получена: 19.09.2021. Одобрена к публикации: 13.12.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Глазова Ольга Владимировна [Olga V. Glazova]**; адрес: Россия, 117292, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117292 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7199-1866>; eLibrary SPIN: 5689-7421; e-mail: ol.glazova@gmail.com

Воронцова Мария Владимировна, к.м.н. [Maria V. Vorontsova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9124-294X>; eLibrary SPIN: 4168-6851; e-mail: maria.vorontsova.endo@gmail.com

Шевкова Людмила Владимировна [Liudmila V. Shevkova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3766-9395>; eLibrary SPIN: 5799-0350; e-mail: luda4everandever@gmail.com

Сакр Навар [Nawar Sakr]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0768-4401>; eLibrary SPIN: 3171-7557; e-mail: sakr.nawar@gmail.com

Онянов Никита Алексеевич [Nikita A. Onyanov]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7563-097X>; eLibrary SPIN: 7244-2870; e-mail: onyanov.na@phystech.edu

Казиахмедова Самира Арсеновна [Samira A. Kaziakhmedova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0879-3511>; eLibrary SPIN: 8278-0000; e-mail: kaziakhmedova.sa@phystech.edu

Волчков Павел Юрьевич, к.б.н. [Pavel Y. Volchkov] ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9794-6297>; eLibrary SPIN: 9611-8768; e-mail: volchkov.office@gmail.com

ЦИТИРОВАТЬ

Глазова О.В., Воронцова М.В., Шевкова Л.В., Сакр Н., Онянов Н.А., Казиахмедова С.А., Волчков П.Ю. Стволовые клетки коры надпочечников: основные сигнальные пути // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 90-97. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12819>

FOR CITATION

Glazova OV, Vorontsova MV, Shevkova LV, Sakr N, Onyanov NA, Kaziakhmedova SA, Volchkov PY. Adrenal glands stem cells: general signaling pathways. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):90-97. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12819>



ADIPONECTIN: A PLEIOTROPIC HORMONE WITH MULTIFACETED ROLES

© Stanislav S. Shklyayev^{1,2*}, Galina A. Melnichenko¹, Natalia N. Volevodz¹, Natalia A. Falaleeva², Sergey A. Ivanov², Andrey D. Kaprin², Natalia G. Mokrysheva¹

¹National Research Center for Endocrinology of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

²A. Tsyb Medical Radiological Research Center — Branch of the National Medical Research Radiological Center of the Ministry of Health of the Russian Federation, Obninsk, Russia

Adipose tissue mostly composed of different types of fat is one of the largest endocrine organs in the body playing multiple intricate roles including but not limited to energy storage, metabolic homeostasis, generation of heat, participation in immune functions and secretion of a number of biologically active factors known as adipokines. The most abundant of them is adiponectin. This adipocyte-derived hormone exerts pleiotropic actions and exhibits insulin-sensitizing, antidiabetic, anti-obesogenic, anti-inflammatory, antiatherogenic, cardio- and neuroprotective properties. Contrariwise to its protective effects against various pathological events in different cell types, adiponectin may have links to several systemic diseases and malignances. Reduction in adiponectin levels has an implication in COVID-19-associated respiratory failure, which is attributed mainly to a phenomenon called 'adiponectin paradox'. Ample evidence about multiple functions of adiponectin in the body was obtained from animal, mostly rodent studies. Our succinct review is entirely about multifaceted roles of adiponectin and mechanisms of its action in different physiological and pathological states.

KEYWORDS: *adipose tissue, adiponectin; AdipoR1; AdipoR2; T-cadherin; calreticulin; metabolic inflammation; 'adiponectin paradox'*

АДИПОНЕКТИН: ПЛЕЙОТРОПНЫЙ ГОРМОН С МНОЖЕСТВОМ ФУНКЦИЙ

© С.С. Шкляев^{1,2*}, Г.А. Мельниченко¹, Н.Н. Волеводз¹, Н.А. Фалалеева², С.А. Иванов², А.Д. Каприн², Н.Г. Мокрышева¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр радиологии им. А.Ф. Цыба, Обнинск, Россия

Жировая ткань, состоящая из различных видов жира, является в организме одним из самых больших эндокринных органов, играющим множество ролей, которые включают, но не ограничиваются сохранением энергетических запасов, метаболическим гомеостазом, продукцией тепла, участием в иммунных функциях и секрецией целого ряда биологически активных факторов, называемых адипокинами. Самым обильно секретируемым из адипокинов является адипонектин. Этот вырабатываемый адипоцитами гормон оказывает плеiotропное действие и обладает способностью повышать чувствительность к инсулину, а также демонстрирует антидиабетические свойства и эффекты противодействия развитию ожирения, воспаления, атеросклероза и, кроме того, еще и проявляет кардио- и нейропротективные свойства. С другой стороны, помимо вышеперечисленных защитных свойств и возможности предотвращения развития различных патологических процессов в разных типах клеток, адипонектин может быть связан с развитием ряда системных заболеваний и злокачественных опухолей. Снижение уровней адипонектина, как оказалось, наблюдается в том числе при дыхательной недостаточности, связанной с коронавирусной инфекцией COVID-19, что обусловлено в основном развитием феномена, называемого «адипонектиновый парадокс». Многочисленные доказательства многоликости функций адипонектина в организме были получены в ходе исследований на животных моделях, больше всего на грызунах. Наш краткий обзор полностью посвящен многофункциональной роли адипонектина и механизмам его действия при различных физиологических и патологических состояниях.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *жировая ткань; адипонектин; AdipoR1; AdipoR2; T-кадгерин; калретикулин; метаболическое воспаление; «адипонектиновый парадокс».*

BRIEF OVERVIEW OF ADIPOSE TISSUE STRUCTURE AND FUNCTIONS

An inexorable rise of obesity with over 650 million obese worldwide, driven mainly by changes in the global food system with an imbalance between energy intake and expenditure, was recognized by the World Health Organization (WHO) as a health problem of pandemic magnitude [1,2,3]. The topic has induced a tsunami of scientific interest

in functions and roles of adipose tissues. In this connection, vigorous research in recent decades has provided ample evidence that adipose tissue widely distributed throughout the body is not only a dormant storage reservoir for fat cells but rather an endocrine multi-depot organ playing a crucial role in the control of energy homeostasis [4,5].

Depending on localization, adipose depots are broadly classified into subcutaneous, visceral (abdominal) and bone marrow fats [6]. Moreover, various depots have been shown



to have distinct developmental origins from different compartments of mesoderm [7] and dissimilar depots also possess distinct functions due to composition of corresponding fat cell classes. According to their unique morphophysiological properties there are at least three different types of fat cells in the body, namely: white, brown and beige (also referred to as brite (from 'brown-in-white')) [4,5,6,7,8].

White adipocytes composing the bulk of white adipose tissue (WAT) (recognized recently as an independent endocrine organ) can be subdivided into two subtypes: the ones that populate visceral depots in the abdomen called visceral WAT (vWAT) and their subcutaneous counterparts around the trunk, limbs and face called sWAT, respectively [8,9,10]. vWAT providing protective padding is distributed around internal organs and depending on its location is sub-classified into mesenteric, retroperitoneal, perigonadal and omental adipose tissue. sWAT is typically distributed on the hips, thighs, and buttocks but also inside the abdominal cavity underneath the skin as well as a scattered intramuscular fat [8]. WAT comprising as much as some 20% of body weight of normal adult humans is the main energy storing tissue in the form of packed in unilocular lipid droplets triglycerides [10]. The latter class of molecules stored anhydrously in its receptacle is highly energetic [4]. White adipocytes are flexible in their number and size, and are capable to expand well over 100 micrometers in diameter at times of overnutrition, while episodes of starvation with severe caloric restriction may result in a significant shrinkage of them [7,11,12].

In contrast to their white counterparts, brown adipocytes sharing a similar gene expression profile with myocytes [13] are rich in mitochondria and specialized in dissipating chemical energy in the form of heat through the combustion of various metabolites [14], defending mammals against hypothermia [4]. Brown adipose tissue (BAT) expressing constitutively high levels of thermogenic genes is distributed mostly in depots in the neck, scapulae, chest cavity and to some extent in the perirenal regions [15,16,17]. PET scanning in adult humans has allowed to identify presence of activated (by cold exposure) BAT at discrete anatomical sites including cervical, supraclavicular, pericardial, facial plane, between the subscapularis and pectoralis muscles, posterior to the brachial plexus and proceeding through thoracic and abdominal paraspinal sites, also with little perinephric activity [18]. Noteworthy, as few as 50 g of maximally stimulated brown adipose tissue could account for as much as 20% of total resting energy expenditure [19] and in this regards concepts of restoring energy balance in the body by means of activation of BAT in order to increase energy expenditure sound quite plausible [20].

Third type of adipocytes interspersed within the WAT and reputed as 'mysterious' [21] is beige, also known as "inducible brown" or "recruitable brown" [22–29]. The names imply that the cells exhibit overlapping but distinct properties of both white and brown adipocytes [6,7]. In their basal state (without stimulation by cold) this type of adipocytes is morphologically identical to its neighboring white counterparts [21], however upon reduction of temperature exposure or pharmacological activation of β -adrenergic receptors both *de novo* beige adipogenesis and the direct conversion (or transdifferentiation) of white into beige adipocytes occur [31]. *Vice versa*, the process of conversion of beige into white adipocytes takes place as a result of such

stimuli as warming and high-fat diet [30,32,33]. Therefore, beige adipocytes can be induced from white-adipocyte-like phenotype to a brown-adipocyte-like one — the process called 'browning of WAT' [34].

All in all, activated brown and beige adipocytes releasing endocrine signals alter systemic energy metabolism by means of increasing substrate oxidation and energy expenditure [35]. Both brown and beige adipocytes can uptake glucose and fatty acids to produce heat, playing a pivotal role in regulating glucose and lipid metabolism in the whole body [36]. However, if one would compare pure clonal brown and beige cells, it appears that classical brown adipocytes have higher basal expression of uncoupling protein-1 (UCP-1) within the mitochondria and elevated uncoupled respiration, while beige cells have low basal UCP-1 expression (rather comparable to white adipocytes) and depressed uncoupled respiration [10]. Nevertheless, stimulation with a β -adrenergic agonist elevates UCP-1 to levels similar to brown fat cells, indicating that beige cells are uniquely bifunctional, namely: suited for energy storage in the absence of thermogenic stimuli, but capable of turning on heat production after receiving appropriate signals [37]. Moreover, experimental selective loss of brown fat causes compensatory induction of the beige one with concomitant restoring of body temperature and resistance to diet-induced obesity exhibiting significant overlap in functions [38].

Besides adipocytes *per se*, adipose tissues contain several other cell types and structures including but not limited to endothelial cells of vasculature, connective tissue matrix, nerve endings, as well as infiltrating immune cells [39]. Taken together all these components function as an integrated and well-orchestrated unit [40], responding to plethora of afferent signals from traditional hormone systems and central nervous system, and secreting itself multiple factors with paracrine, autocrine, juxtacrine and endocrine functions. Collectively these adipose-tissue-secreted hormones and cytokines were named "adipokines" and by now as many as more than 600 adipokines have been identified, excluding fatty acids and other metabolites [41]. Physiological functions of adipokines include regulation of glucose and lipid metabolism, body weight and appetite modulations, vascular homeostasis and blood pressure regulation, stimulation of angiogenesis and secretion of both classical cytokines and acute phase responders, etc. [42–44].

In the obese state, characterized by abnormal enlargement of WAT (hypertrophy and sometimes even hyperplasia of white adipocytes), systemic metabolic alterations, including hyperglycemia, insulin resistance and dyslipidemia occur, thus leading to the activation of proinflammatory pathways in adipocytes and enhancing the release of proinflammatory adipokines [39,44]. On the contrary to WAT, BAT activity is directed to protect against hyperglycemia, insulin resistance and dyslipidemia by means of releasing anti-inflammatory adipokines and metabolic substrates for oxidation [45,46]. However, sustained obesogenic insults inducing local proinflammatory signaling have detrimental effects interfering thermogenic function of BAT and beige recruitment and the browning of WAT, respectively [39]. Local action of proinflammatory cytokines and activation of inflammatory pathways attract infiltration of the associated immune cells, including proinflammatory macrophages, and all the aforementioned obesogenic machinery eventually contributes

to systemic low-grade chronic inflammation [39,47] triggering several overlapping loops of vicious circles with lipotoxicity, insulin resistance, metabolic disturbances, endothelial dysfunction, etc. Moreover, imbalance in adipokines levels contributes to the development of autoimmune diseases [41,48] including diabetes mellitus type 1 [49], systemic lupus erythematosus [50,51], rheumatoid arthritis [52,53], ankylosing spondylitis [54], systemic sclerosis [55–57], and Behçet's disease [58].

ADIPONECTIN: STRUCTURE AND PLEIOTROPIC ACTIONS

The most abundant adipokine secreted by adipocytes is adiponectin first identified in both human and mouse forms and described in 1995 and 1996 by at least four independent groups [59–62]. Other names for this hormone used by the four research groups were gelatin-binding protein-28 (GBP-28), adipocyte complement-related protein (ACRP30), AdipoQ and apM1 [59–62]. We would like to focus our succinct review on this key collagen-like 244-amino-acid-long protein considered by many as a crucial 'rescue hormone' altering lipid and glucose metabolism and insulin sensitivity, stimulating mitochondrial biogenesis, exhibiting anti-inflammatory, anti-fibrotic, anti-thrombogenic, antioxidative, anti-atherogenic and cardioprotective properties, and also known to have links to several systemic diseases and malignancies [63,64]. The polypeptide (a member of the complement 1q family) has four distinct domains including an amino-terminal region that target the hormone for secretion outside the cell, a variable one, a 65-amino-acid collagenous one and a carboxy-terminal globular domain [59,65,66]. The gene encoding adiponectin is located on chromosome 3q27, a region known as affecting genetic susceptibility to type 2 diabetes, metabolic syndrome, obesity and cardiovascular disease [67,68]. To date more than 50000 publications about this salutary adipocyte-derived circulating factor could be retrieved in PubMed, indicating that adiponectin has attracted much scientific attention because of its properties.

Adiponectin is synthesized intracellularly undergoing post-translational modifications by glycosylation and hydroxylation and then it is secreted from adipocytes into the bloodstream in three major isoforms, including low-molecular-weight (LMW) trimers (67kDa), middle-molecular-weight hexamers (MMW) (140kDa) and high-molecular-weight (HMW) oligomers (300kDa) [59,66,69–73]. However, a proteolytically cleaved form of globular adiponectin has also been found in the circulation [74,75]. Each of the multimers of adiponectin has been shown to exert distinct biological properties [68,76] with HMW as the predominant and the most active form of the protein playing a significant role in promoting glucose uptake and fatty acid oxidation [77], in facilitating insulin sensitivity [68,77–81] and in exerting its biological effects in the liver, muscles and endothelium [75,82]. Thus, normal oligomerization of adiponectin is critical to its physiological action, while multimerization impaired by various factors is associated with insulin resistance, type 2 diabetes, obesity and arteriosclerosis [68,70,81–84].

Adiponectin exerts its beneficial pleiotropic effects through binding to three classes of its receptors, namely: AdipoR (with two subtypes: AdipoR1 and AdipoR2), T-cadherin and calreticulin. AdipoR1 expressed ubiquitously

but most abundantly in skeletal muscle, while AdipoR2 predominantly expressed in the liver and both receptors contain a seven-transmembrane domain which are completely different from classic G-protein coupled receptors (GPCRs) and therefore they represent an entirely new class of receptor with presence of a zinc binding site [85,86]. Basically, binding of adiponectin to AdipoR1 in skeletal muscle leads to the sequential activation of adenosine monophosphate-activated protein kinase (AMPK) pathway, then p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway leading eventually to drastic increase in activation of peroxisome proliferator-activated receptor- α (PPAR- α) pathway and stimulating fatty acid oxidation and energy expenditure [87,88]. In the liver AdipoR1 also activates AMPK pathway suppressing hepatic gluconeogenesis and *de novo* lipogenesis and promoting fatty acid oxidation [85,88]. On the other hand, binding to AdipoR2 induces activation PPAR- α thus increasing expression of uncoupling protein-2 (UCP-2) which synergistically with AMPK signaling promotes fatty acid combustion [85]. Thereby, glucose and lipid metabolism, oxidative stress and inflammation are regulated [86]. Additionally, adiponectin through its receptors AdipoR1 and AdipoR2 induces ceramidase activation which leads to decreased levels of hepatic ceramide and promotes ceramide catabolism and therefore improves insulin sensitivity and slows down glucose production in the liver [89–91].

Mainly in the liver the full-length adiponectin ligand, as already mentioned above, functions as an insulin sensitizer signaling through both AMPK-dependent (by controlling hepatic ketogenesis, cholesterol synthesis and triglyceride synthesis [92]) and AMPK-independent pathways to suppress glucose production. At the same time, proteolytically processed globular form of adiponectin signals through AMPK pathway activation, promotes fatty acid oxidation chiefly in skeletal muscle facilitating glucose uptake. Additionally, the trimer and hexamer forms of adiponectin can act in the central nervous system (CNS) regulating appetite, energy expenditure and even producing antidepressant effects [68].

Yet another key molecules playing a crucial role in various signaling pathways of cell proliferation, chromatin remodeling, endosomal trafficking, cell survival, metabolism and apoptosis are adaptor proteins containing the pleckstrin homology domain, phosphotyrosine binding domain and leucine zipper motif (APPLs) [93]. APPLs isoforms—APPL1 and APPL2 have been found to interact directly with adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 and to transduce adiponectin signaling to enhance glucose uptake and lipid oxidation therefore mediating the crosstalk between insulin and adiponectin pathways [93].

A unique member of glycosylphosphatidylinositol-anchored cadherin superfamily lacking the transmembrane cytoplasmic and domains T-cadherin is known to be highly expressed in endothelial cells; in smooth muscle, skeletal muscle and cardiac muscle cells; in neurons and in mesenchymal stem/stromal cells (MCSs) [94]. Moreover, it was found that T-cadherin is one of the most abundantly expressed proteins on the cell surface of MCSs [95]. Noteworthy, T-cadherin has been identified as a receptor for hexameric and HMW forms of adiponectin but not for trimeric and globular ones [96]. Binding of adiponectin to T-cadherin leads to endocytosis into microvesicular bodies (MVBs) and

then their release as exosomal cargo which results in increased efflux of ceramide in exosomes with concomitant decrease of cellular ceramide levels [97]. All in all, ceramide lowering effects of adiponectin/T-cadherin is an important mechanism in protection against various organs and tissues damage, and against metabolic disturbances, while T-cadherin is a key binding partner for adiponectin [98]. In the heart T-cadherin was found to be crucial in mediating adiponectin effects against ischemia-reperfusion injury [99].

Calreticulin, a multifunctioning soluble protein binding Ca^{2+} ions and expressed on both the phagocytic and the apoptotic cell surface, plays a pivotal role in apoptotic debris disposal through its interactions with CD95 [100,101]. Binding of adiponectin to calreticulin on the macrophage cell surface facilitates the uptake of early apoptotic cells by macrophages [102]. Therefore, adiponectin accounting for as much as 0.01% of total plasma protein [103] protects the organism from systemic inflammation by promoting the phagocytosis of early apoptotic cells by macrophages through a receptor-dependent pathway involving calreticulin but not through AdipR1, AdipoR2 and T-cadherin [102]. Hence, the latter three receptors are involved in mediation of the metabolic properties of adiponectin, while calreticulin mainly controls aspects of adiponectin's anti-inflammatory actions.

Human adiponectin despite its abundant presence in serum (nearly three orders of magnitude higher than other adipokines) has a half-life of approximately 75 minutes [104] and its plasma levels are higher in women compared to men [105] which attributed to differential body fat and fat types distribution between males and females [106], as well as to selective inhibition by testosterone of the secretion of HMW adiponectin [107]. Accordingly, it has been shown that females have higher proportion and absolute amount of HMW and hexamers, and a significantly lower the proportion of trimers [104].

It is also worth mentioning, that approximately 42% of the total adiponectin pool in the human body resides in the extravascular compartment but rapid postprandial redistribution between extra- and intravascular compartments occurs [104].

ADIPONECTIN AND VARIOUS DISEASES

Ample epidemiological evidence indicates that individuals with obesity (particularly with morbid obesity), diabetes, metabolic syndrome, hypertension and coronary heart disease have decreased levels of adiponectin, with especially low HMW adiponectin [68,108–112]. Moreover, decreased ratio of HMW to total adiponectin strikingly correlates with angiographic coronary atherosclerosis severity [113], while adiponectin protects against all stages of atherosclerotic plaque formation [114]. Obesity and cardiovascular disease (CVD) are recognized as chronic low-grade inflammatory conditions [115]. This low-grade inflammation termed "metabolic inflammation" or meta-inflammation is responsible for the decrease of insulin sensitivity through activation of JNK, NF- κ B and inflammasome pathways; through concomitant production of proinflammatory cytokines and proinflammatory macrophages infiltration [116–118]. In CVD chronic inflammation of the vessel wall results from the transendothelial passage of cholesterol-rich atherogenic

Apo-B lipoproteins from plasma into the intima, local secretion of a copious amount of reactive oxygen species (ROS) and production of oxidized lipoproteins leading ultimately to endothelial cell apoptosis, which induces infiltration by macrophages, mast cells and T-cells [115,119]. As we already mentioned above, such sort of vicious circle between oxidative stress and inflammation takes place not only in the arterial wall, but also in adipose tissues impairing adipocytes maturation, insulin action and adipokines signaling [119]. Considering the fact that adiponectin is negatively correlated with adiposity and that it has anti-inflammatory properties as well as inverse relationship with several inflammatory markers, this adipocytokine was proposed to be a link between obesity and inflammation [120,121]. Moreover, it was epically proclaimed as a 'guardian angel' against the pathophysiology of obesity and diabetes [120]. In general, its protective effects against insulin resistance and inflammation are due to this adipokine's capacity to ameliorate lipid and simple carbohydrates profiles [122] and to its ability to inhibit monocytes adhesion, transformation of macrophages into foam cells and lipid accumulation in macrophages in the vessel wall via reduction of the expression of adhesion molecules and scavenger receptors [123,124]. It also inhibits proliferation of vascular smooth muscle cells (VSMCs) maintaining their contractile phenotype [125]. Adiponectin exerts its protective effects on cardio-vascular system partly through the increase of nitric oxide (NO) production, endothelium-dependent vasodilation [126] and concurrent stimulation of neovascularization [127]. It has also been demonstrated that in endothelial cells adiponectin decreases TNF- α -induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and NF- κ B activation [128,129]. Yet another pleiotropic effect of this adipokine is limiting of monocytic microparticle-induced endothelial activation at least in part through the AMPK, Akt and NF- κ B signaling pathways [130]. It also inhibits collagen-induced platelet aggregation and abrogates C-reactive protein mRNA and protein synthesis and secretion via upregulation of AMPK and downregulation of NF- κ B pathways [131]. It is therefore evident that adiponectin protects cardiovascular tissues under conditions of stress through several mechanisms, including inhibition of proinflammatory and hypertrophic responses as well as through stimulation of endothelial cell responses [132]. Thus, it attenuates excessive inflammatory responses to multiple stimuli regulating several signaling pathways in a variety of cell types and tissues [121].

Accordingly, adiponectin has been shown to be protective against fatty liver disease increasing hepatic insulin sensitivity and attenuating liver inflammation and fibrosis [133], therefore exerting antisteatotic, anti-inflammatory and antifibrogenic effects [134], as well as it was reported to be anti-apoptotic on pancreatic β -cells [135]. In the kidney adiponectin via AMPK pathway activation inhibits NADPH oxidase which results in preventing of podocytes injury, improving their dysfunction, inhibiting inflammation, fibrosis and oxidative stress [136,137]. However, high serum adiponectin levels were found in chronic kidney disease due to impaired urinary excretion, which can be explained by its clearance via glomerular filtration [138,139]. Moreover, after successful kidney transplantation in patients with chronic renal failure significant reduction of adiponectin serum concentration was found, implying that the kidney plays an important role

in biodegradation and/or elimination from the circulation of adiponectin [139,140] and making this protein a biomarker of renal disease outcomes [139].

As for cellulite, a complex multifactorial cosmetic disorder of the subcutaneous fat layer and the overlying superficial skin on the thighs and buttocks, it has been demonstrated that adiponectin expression is significantly reduced in the subcutaneous areas affected by cellulite [141]. Since adiponectin is known as a humoral vasodilator, it might contribute to the altered microcirculation in cellulite areas.

Hypertension is just one more pathologic condition where adiponectin was also found to play a role modulating blood pressure. In patients with essential hypertension plasma adiponectin levels were significantly lower than in normotensive subjects [142]. As we already described above, adiponectin protects against endothelial dysfunction via several regulatory pathways. One pathway in endothelial cells involves enhancing of nitric oxide synthase (eNOS) activity and NO production via AdipoR1/R2-AMPK-endothelial signaling and the other one is via cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and prostaglandin I₂ (PGI₂) production through calreticulin/CD91-dependent Akt signaling [143]. Furthermore, adiponectin is able to attenuate the phenotype of macrophages M1 (M1 activity is known to inhibit cell proliferation and tissue damage) and to promote the phenotype of macrophages M2 (M2 activity is known to promote cell proliferation and tissue repair). Therefore, it is plausible that adiponectin exerts protective actions on vascular functions at least in part through improving functions (excuse the pleonasm here) of macrophages and endothelial cells [143].

Adiponectin is also among hormones controlling the interaction between energy balance, fertility and reproduction in humans. In males it modulates several functions of both somatic and germ cells including steroidogenesis, proliferation, apoptosis and oxidative stress, while in females adiponectin is involved in the control of steroidogenesis in ovarian granulosa and theca cells, oocyte maturation, and embryo development [144]. At the testicular level autocrine/paracrine actions of adiponectin have been demonstrated to promote spermatogenesis and sperm maturation [145]. Additionally, adiponectin receptors were found in placental and endometrial cells, suggesting that it might play a crucial role in embryo implantation, trophoblast invasion and fetal growth [144]. Therefore, adiponectin has obviously beneficial effects on both female and male reproductive functions.

Contrastingly to the well-known canonical anti-inflammatory effects of adiponectin, there is a vast literature describing its non-canonical proinflammatory properties in several diseases that are unrelated to increased adipose tissue [146]. These are inflammatory/autoimmune disorders including rheumatoid arthritis (RA), systemic lupus erythematosus (SLE), chronic kidney disease (CKD), inflammatory bowel disease (IBD), type 1 diabetes (T1D) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) [147]. Adiponectin, a member of C1q/TNF-related protein superfamily (CTRP), selectively binds several anionic phospholipids and sphingolipids, including phosphatidylserine, ceramide-1-phosphate, glycosylceramide and sulfatide via the C1q domain in liposomes, low-density lipoproteins, cell membranes and plasma, suggesting that it can function facilitating opsonization of lipids [148]. Furthermore, via promotion of proinflammatory

responses by CD4⁺ T-cells and macrophages it can also stimulate production of several cytokines and chemokines such as INF- γ and TNF- α secretion, respectively [149].

It has been shown that in fibroblast-like synoviocytes (FLS) of RA patients adiponectin stimulates production of proinflammatory factors including IL-6, IL-8, PGE2 [150] and enhances the production of vascular endothelial growth factor (VEGF) and matrix metalloproteinases (MMPs), while in osteoblasts it leads to increase in levels of IL-8, MMP-9 and tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) and in RA-induced human bone tissue it inhibits osterix expression, elevates osteoprotegerin mRNA expression, decreasing mineralization capacity of osteoblasts and increasing resorptive activity of osteoclasts, which eventually may lead to joint destruction and hinders bone formation [151,152].

In SLE, an autoimmune disease characterized by the immune system attack on its own tissues and organs, presence of antibodies to nuclear and cytoplasmic antigens, multisystem widespread inflammation and protean clinical manifestations, a positive association of serum adiponectin levels with SLE-related atherosclerotic plaques formation and a strong correlation of urine adiponectin concentrations with lupus nephritis were found [153].

It is well established that adiponectin is present in the kidneys mainly in the arterial and capillary endothelium as well as in the smooth muscle cells. Patients with CKD, especially with end stage renal disease (ESRD) have significantly elevated adiponectin levels chiefly with elevation of HMW form of adiponectin and its concentration was found to inversely associate with estimated glomerular filtration rate (eGFR) [154]. Considering the fact that the kidneys play an important role in the biodegradation and clearance of adiponectin via glomerular filtration, its higher serum levels may be due to impaired urinary excretion [139,155]. Furthermore, there is a disruption in the normal adiponectin signaling through AMPK and several other pathways as a result of noxious effects of the uremic milieu.

As for IBD, a chronic idiopathic inflammatory condition comprised of two major disorders: ulcerative colitis and Crohn disease, adiponectin signaling through AdipoR1 has been shown to exacerbate colonic inflammation through two possible mechanisms, namely: 1). increased production of proinflammatory factors like IL-6, MIP-2 and COX-2 (the latter promotes the production of PGE2 from arachidonic acid in the colon); and 2). enhanced neutrophil chemokine expression and recruited neutrophils into the colonic tissue which in turn increase inflammation [156].

In T1D patients despite elevated mean both total and HMW adiponectin levels decreased insulin sensitivity compared with nondiabetic controls was observed, suggesting an increased set point or dysregulation of adiponectin function in the subjects with T1D [157]. These findings are consistent with a relative adiponectin resistance among this cohort of patients and support the proposed hypothesis that factors unrelated to adiponectin contribute to decreased insulin sensitivity in this population.

Adiponectin and all of its known receptors including AdipoR1, AdipoR2, T-cadherin and calreticulin are expressed on multiple cell types in the lungs, moreover adiponectin has also been isolated from BAL fluid [158]. Serum adiponectin concentrations were found to be significantly higher in patients with COPD particularly in the phase of exacerbation,

hence the hormone might represent an indirect marker of low-grade systemic inflammatory response and a severity of COPD [159]. Elevated levels of serum adiponectin have also been revealed in patients with cystic fibrosis (CF) with normal nutrition which may be attributed to the energy deficit inherent to the disease. On the contrary, decreased adiponectin levels were observed among malnourished patients with CF which probably might be explained by lipodystrophy-like body fat reduction [160]. Furthermore, sputum adiponectin levels were higher in CF patients with pancreatic insufficiency versus cases of CF with pancreatic sufficiency [161]. In general, these data indicate that under some chronic inflammatory conditions lasting for prolonged periods, adiponectin may exacerbate inflammation in several cell types and tissues.

Noteworthy, dissimilar to the above mentioned autoimmune conditions, adiponectin can act on keratinocytes and naïve T-cells and therefore has its rather an anti-inflammatory role in the pathogenesis of one more autoimmune disorder psoriasis by increasing the production of IL-10, while inhibiting the production and activity of IL-2, IL-6, IL-8, IL-17, IL-22, TNF- α and IFN- γ [162]. Moreover, adiponectin similarly to adipocytes is expressed in human sebaceous glands affecting the homeostasis of the dermis. Patients with psoriasis have lower plasma adiponectin levels which thereby may lead to increased production of proinflammatory cytokines and lack of anti-inflammatory ones which eventually worsen the severity of their skin lesions. In keratinocytes the decrease in adiponectin levels has been shown to result in the reduced E2F1 gene activation through AMPK pathway promoting the proliferation of keratinocytes and inducing abnormal cell apoptosis thus interacting with the infiltration of the inflammatory response and leading to psoriasis [162].

Taking into account antiangiogenic and tumor-growth limiting properties of adiponectin [163], it would be a significant gap in our review if we skip the topic of its roles in cancer. Noteworthy, adiponectin receptors are expressed in a plethora of malignant tissues, while activation of the receptors limits the proliferation of cancer cells *in vitro* [164]. Several studies have demonstrated an inverse association between circulating adiponectin levels *in vivo* and the risk of malignances associated with obesity and insulin resistance *videlicet*, endometrial cancer [165], postmenopausal breast cancer [166], leukemia [167] and colon cancer [168]. Moreover, low adiponectin levels have been associated with prostate and gastric types of cancer [169,170]. Reduced levels of plasma adiponectin can potentially contribute to carcinogenesis through altered effects of TNF- α and VEGF leading to promotion of cellular proliferation and inhibition of apoptosis in various cell types [163]. Furthermore, adiponectin may selectively bind several mitogenic growth factors at a pre-receptor level sequestering them and thus exerting an antiproliferative effect [171]. Lack of adiponectin can therefore contribute to the development of tumors, while stimulation of AMPK pathway by adiponectin [172] may instead inhibit growth and/or survival of cancer cells [173]. Anticarcinogenic effects of adiponectin may also involve AMPK-independent multiple pathways including blocking of MAPK pathway activation partly through the increase of NO production and also through attenuation of actions of oxidized low-density lipoprotein (OxLDL), which reduce cell proliferation [172,174]. Another possible pathway

involvement is activation of caspases cascade by adiponectin eventually leading to cell death [175]. More intracellular signaling pathways involved in adiponectin-mediated inhibition of cancerogenesis include: NF- κ B, PI3K/Akt/mTOR, activation of PKA, inhibition of β -catenin and in particular sphingolipid metabolic pathway [164]. Lastly, it was reported that adiponectin stimulates c-Jun N-terminal kinase (JNK) activation and also drastically suppresses STAT3 pathway in prostate and hepatocellular carcinomas known to express AdipoR1 and AdipoR2 receptors, and thus may affect the pathogenesis of these types of cancer [176]. As for the already described above nonclassical potential adiponectin receptor T-cadherin, it has been reported to be expressed on tumor-associated endothelial cells [177] therefore affecting tumor angiogenesis directly. Some authors hypothesized that since T-cadherin lacks an intracellular domain responsible for signal transduction, it may act as a coreceptor by competing with AdipoR1 and AdipoR2 receptors for binding of adiponectin hence restricting AdipoR1/R2 signaling and may therefore induce interference with signal transduction events [178]. It is also worth mentioning that influence of adiponectin in endocrine cancer cells may depend to some extent on paracrine interactions between tumor cells and neighboring adipocytes as these types of cells are often in close proximity to each other and one of such examples is the case of breast cancer, when adiponectin negatively modulates aromatase activity in adipocytes affecting estrogen production and reducing estrogen receptor alpha (ER α) stimulation in adjacent cancer cells [179]. However, adiponectin effects on breast cancer cell growth may diverge depending on ER α expression, when in ER α -negative cells it exerts anti-proliferative properties while in ER α -positive ones it promotes cancer cell proliferation [180]. Significantly decreased serum concentrations of adiponectin have been also demonstrated in most forms of thyroid carcinoma with papillary one in particular presumably due to indirect effects of adiponectin through regulation of insulin sensitivity and metabolism [181]. Nevertheless, this correlation with low serum levels of the adipokine was not found in medullary thyroid cancer [182]. In endocrine malignances it was reported that adiponectin may be able to suppress several important processes leading to metastatization, including adhesion, invasion and migration of, for instance, breast cancer cells [183]. The reduction of cancer cell migration and invasion by adiponectin at least in part occurs through the AMPK/Akt pathway [184]. All in all, adiponectin appears to play numerous roles in initiation, promotion, progression and prevention of various types of cancer exerting its anti-tumorigenic effects directly on cancer cells by stimulating receptor-mediated signaling pathways and also indirectly by modulating insulin sensitivity at the target tissue site, by influencing tumor angiogenesis and by regulating inflammatory responses.

ADIPONECTIN AND SARS-COV-2

At last, while reviewing multifaceted roles of adiponectin, it is virtually impossible not to mention the most pernicious problem of the last couple of years, namely the ongoing global pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19), caused by the highly pathogenic virus SARS-CoV-2, and a potential implication of adiponectin. As an efficient antiviral response

is driven by T-helper lymphocytes (LTh) with a specific polarization such as LTh1 and LTh2, it is now apparent that adiponectin may contribute to promoting primarily LTh1 polarization, which in turn triggers anti-viral inflammation [185]. Nevertheless, in the publication of van Zelst C.M. et al. [186] in a relatively small number of patients not requiring intubation no difference in levels of serum adiponectin between COVID-19 negative and COVID-19 positive patients was found. On the contrary, in another study investigating a role of adipose tissue in COVID-19 onset it has been demonstrated that adiponectin levels were higher in patients with severe cases of the infection as compared to mild and moderate ones [187]. Taking into consideration a correlation of adiponectin and IL-6 serum concentrations, authors suggest an attempt of adipose tissue to counteract inflammation from the beginning of the infection [187]. Moreover, in the publication with eloquent title "When two pandemics meet: why is obesity associated with increased COVID mortality?" special emphasis is given on the role of significantly decreased circulation levels of adiponectin in obese patients which facilitates an exaggerated inflammatory response in the capillaries of the lungs and negatively affects survival in this cohort of 'double pandemic' patients [188]. Accordingly, markedly reduced levels of adiponectin have been reported in patients with COVID-19 respiratory failure even after adjustment for BMI which implies that COVID-19 infection may independently itself reduce adiponectin levels in humans with respiratory failure [189]. The authors speculate that this fact has a specific implication for patients with obesity, which is a major risk factor for a negative clinical prognosis, and hypothesize that individuals with persistently low adiponectin levels are more prone to develop COVID-19-associated respiratory failure [189]. Interestingly, adipose tissue itself can serve a viral reservoir as the expression of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) — the functional receptor for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), is known to facilitate viral penetration into target cells [190]. Further upon tissue penetration of the virus, viral RNAs are released, triggering so called 'cytokine storm' characterized by excessive release of IL-1, IL-6, IL-18, IFN- γ , TNF- α and leading to overwhelming systemic inflammation, hyperferritinemia, hemodynamic instability, multi-organ failure, and if left untreated, ultimately to death [191–193]. Meanwhile, ACE2 was observed to be upregulated in adipocytes of patients with obesity and diabetes and this dysfunctional adipose tissue may undergo increased fibrosis (and adiponectin is potentially antifibrotic and it is likely able to restore normally functioning adipose tissue) [190]. Hence, both diseases are potential comorbidities for COVID-19 significantly aggravating its clinical course [190]. Moreover, taking into account the fact that the virus may reduce functional circulating ACE2 and one of the tissues where ACE2 is abundantly expressed is pancreatic β -cells, SARS-CoV-2 might target and disturb normal pancreatic function, alter glucose metabolism and induce *de novo* type 2 diabetes (T2DM) [194]. Accordingly, upon SARS-CoV-2 infection pancreatic beta-cells have been demonstrated a lower expression of insulin and higher expression of alpha and acinar cell markers, including glucagon and trypsin suggesting cellular transdifferentiation [195]. Therefore, and even more striking, pancreatic injury as a result of COVID-19-diabetes has reciprocally bidirectional relationship [196],

when in one direction T2D may increase risk of the infection and in the other one active T2D is an independent predictor of morbidity and mortality in patients with coronavirus infection [197]. However, an alternative opinion questioning the idea of direct infection and injury of β cells by SARS-CoV-2 also exists in accordance with which β -cell damage is attributed to a "bystander" effect in which the infection leads to damage of surrounding tissues that are essential for β -cell survival and function, namely the pancreatic microvasculature and exocrine tissue [198]. Contrastingly to this opinion direct SARS-CoV-2 viral infiltration of the islets has been reported using immunofluorescence and electron microscopy techniques, although ACE2 expression was found to be more common in endothelial vasculature than in β -cell while adiponectin (as we mentioned above adiponectin is known to be anti-apoptotic on pancreatic β -cells [135]) levels were also reduced [199]. All in all, it is now apparent that reduction in adiponectin levels may negatively affect its ability to reduce the amount of proinflammatory cytokines and ability to stimulate the content of anti-inflammatory ones (for instance, IL-10), and may also induce impaired expression of AipoR1, AdipoR2 and, above all, of T-cadherin [199]. The latter is a crucial molecule as any disturbances in its expression or functioning of T-cadherin or the binding of adiponectin correlate with endothelial dysfunction and pulmonary and cardiovascular pathologies [200]. As we already described above in details in such circumstances it would be a decreased efflux of ceramide in exosomes with concomitant increase of cellular ceramide levels impairing the mechanism of protection against various organs and tissues damage, and against metabolic disturbances. Noteworthy, in newborns where a so called 'neonatal hyperadiponectinemia' is observed at delivery, it may positively influence on the prognosis for COVID-19 infection [201].

FACETS OF ADIPONECTIN PARADOX

Paradoxically, accumulating reports of results of several meta-analyses demonstrated that elevated serum levels of both total and HMW adiponectin have been positively associated with both cardiovascular and, what is quite surprising and confusing, even with all-cause mortality rate in the population above 65 years of age [reviewed in 202]. This controversial and ambiguous relationship has been called 'adiponectin paradox'. One of the explanations for such phenomenon is based on the direct correlation between natriuretic peptides (NPs), well-known as predictors of all-cause mortality [203] and adiponectin levels. NPs promote adiponectin secretion and therefore increase its serum concentrations [204]. In such circumstances adiponectin simply serves as a marker of elevated NPs. Other plausible explanation at least in patients with cardiovascular risk and particularly with concomitant metabolic disorders is impaired liver function affecting adiponectin's degradation in the liver [205,206]. Hence, it is rather a secondary feature of metabolic disorders than a primary cause of CVD. Besides, despite the fact that mostly HMW form of adiponectin exerts its cardioprotective properties, a majority of studies mechanistically evaluated total adiponectin instead of its quality [207]. Nevertheless, in those studies where HMW form was measured, its comparable elevation and correlation with incidence of mortality in patients with chronic heart failure

have been found [208,209]. There was also reported that elevated adiponectin levels predicting cardiovascular mortality could be observed in men but not women [210]. The latter may be attributed to gender differences in adipose tissue distribution with so called «pear shape» with predominance of subcutaneous WAT in women and «apple shape» body habitus with more visceral WAT in men [211]. One more hypothesis that may at least in part explain the phenomenon is a possibility that increase of adiponectin is a failing attempt of the body to protect individuals with high risk of mortality [210], as pathological adiponectin resistance with its receptors downregulation develops in metabolically active organs including the adipose tissue, the heart, the liver, the vasculature, etc. [212]. Accordingly, augmented adiponectin production, for instance, in patients with advanced heart failure is assumably a compensatory mechanism due to the development of adiponectin resistance alike insulin resistance and hyperglycemia, which drive hyperinsulinemia [212]. It is now apparent that adiponectin resistance most commonly develops in obesity, diabetes and heart failure, when it is accompanied by decreased receptors expression, reduced receptor sensitivity and impaired downstream signaling [212]. Besides, high serum adiponectin levels were noted in patients with a reduced kidney function and the latter is an important cause of premature death [213,214]. We already described above in details the fact that significant elevation in adiponectin levels has been observed in patients with ESRD (chiefly with elevation of HMW form) and its concentration inversely associates with eGFR [154]. Therefore, higher serum levels of adiponectin may be due to impaired urinary excretion [155] and, perhaps, microvascular damage seen in nephropathy and other pathologic states [215]. However, serum adiponectin is obviously just a biomarker of renal dysfunction rather than a true risk factor of CKD progression [155]. Nevertheless, in maintenance hemodialysis (MHD) patients with few comorbidities high blood adiponectin levels were rather good prognostic markers, while in MHD population with a high comorbidity burden elevated levels of the hormone were associated with poor clinical outcomes and increased mortality risk [216]. Body mass index (BMI) was also suggested to be a confounder on the association between adiponectin and mortality, although studies addressing the issue have demonstrated discordant results [reviewed in 202]. Notably, 'adiponectin paradox' may play a detrimental role not only in circulatory disorders like CKD and chronic heart failure (CHF) but the paradox might be applicable to neurodegenerative diseases. Accordingly, it has also been proposed that adiponectin plays an important role in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD) [217,218]. It was quite unanticipated since adiponectin has been shown previously to ameliorate neuropathological features in mouse models of neurodegeneration [217]. Anyway, it was reported that adiponectin is associated with the severity of amyloid accumulation and cognitive decline, while AD is associated with hyperadiponectinemia [217–219]. Elevation of adiponectin might be a consequence of compensatory feedback to the decreased activity of insulin/IGF-1 receptor signaling pathway in the neurodegenerative conditions [217]. During the progression of the disease adiponectin may increase and sequester by tau- the microtubule-associated protein forming insoluble filaments that accumulate as

neurofibrillary tangles in AD, eventually leading to neurotoxic protein aggregation in the brain, synaptic loss and neuronal cell death [218]. Thus, 'adiponectin paradox' mainly observed in aging-associated chronic diseases with concomitant metabolic dysfunction, including neurodegenerative and circulating diseases may be considered as playing an important role phenomenon in age-associated conditions and also in the emerging field of geroscience [218]. Additionally, higher serum adiponectin concentrations are associated with development of cancer and cancer-related deaths in T2DM patients- one more implication of 'adiponectin paradox' and this was reported just recently [220].

Moreover, a link between 'adiponectin paradox' and SARS-CoV-2 infection and its chronic complications has also been demonstrated lately [221]. Curiously, antagonistic pleiotropy was found. Accordingly, SARS-CoV-2 may augment both chronic inflammation and adiponectin serum levels and this plays a beneficial role contributing to more efficient combating acute infection in younger ages representing a kind of hormesis. Conversely, in aging population SARS-CoV-2 induction of 'adiponectin paradox' is detrimental [221].

On the whole, the paradox is at the forefront of the research, but publications concerning the matter are sometimes contradictory. Noteworthy, the authors of the commentary «Adiponectin: good, bad or just plain ugly?» aptly noticed that conflicting data in the literature (quote) «may reflect our inability to paint a complete picture» [215]. Hopefully, the enigmatic phenomenon of adiponectin paradox can be solved in the nearest future.

Noteworthy, when our manuscript was close to its final layout, a new plausible explanation for 'adiponectin paradox' was proposed by Hans O. Kalkman in his review article in December 2021 issue of Pharmaceuticals [233]. Accordingly, T-cadherin, also known as a co-receptor for AdipoRs, is a key culprit for the paradox. T-cadherin, which is anchored to the cell membrane through a glycosylphosphatidylinositol moiety, can be specifically cleaved by phospholipase D (GPI-PLD). In several pathological conditions when excessive elevation of circulating GPI-PLD levels is observed, this leads to an increased hydrolysis of membrane-bound T-cadherin and, therefore to a reduced adiponectin sequestration by responsive tissues as well to impaired adiponectin signaling and consequently to augmented adiponectin levels in circulation. Moreover, since HMW-adiponectin/T-cadherin system is responsible for ceramide removal from the cell [97], any dysfunction in the system can further aggravate impaired signaling, including the insulin resistance. In such circumstances metformin, acting on adiponectin pathway and inducing AMPK activation downstream of adiponectin receptors, can be a therapy of choice [233].

RODENT STUDIES OF ADIPONECTIN

Incredible amount of data about adiponectin's multiple roles in the body was obtained from pioneering studies carried out in rodent models. Excessively detailed description of such sort of research is not the main purpose of our review, anyway we would like to portray the topic with a few strokes. For instance, in studies of transgenic globular adiponectin ob/ob mice partial amelioration of insulin resistance and diabetes, but not of obesity were found

implying that sustainably high levels of globular adiponectin have insulin-sensitizing effect, which is independent of WAT [222,223]. Moreover, in constitutively high cholesterol levels apolipoprotein E (apoE)-deficient/globular adiponectin transgenic mice globular adiponectin could inhibit development of severe atherosclerosis in the aorta as compared to apoE-deficient control transgenic animals [223]. This results were corroborated later in apoE-deficient knockout mice [224]. In adiponectin knockout mice insulin resistance, glucose intolerance, hyperlipidemia, hypertension and other metabolic syndrome-related traits were found as well as more abundant neointimal formation in response to injury unveiling the protective role of adiponectin [225,226]. In transgenic mice with the collagenous domain of adiponectin deletion elevation of circulating adiponectin levels leading to improved insulin sensitivity was reported [227].

Besides, it has been proved that sustained peripheral expression using recombinant adeno-associated virus (rAAV) vectors of transgene adiponectin offsets the development of diet-induced obesity [228]. In the latter study conducted at the University of Florida, where one of the authors of the current review took part as an integral part of the collaborative research team, the long-term (up to 280 days) expression of AAV-Acrp30 vectors encoding mouse Acrp30 cDNA was tested after intramuscular and intraportal injections in female Sprague-Dawley rats. It is worth mentioning that rAAV is a prototypical gene therapy vector with excellent safety profiles, broad host range and ability to transduce differentiated cells [229]. So, using rAAV for Acrp-30 gene delivery, it has been demonstrated that a single intraportal injection of 10^{12} physical particles of the vector resulted in sustained reduction of body weight, concomitant with the reduction of daily food intake as compared to the control group with mock rAAV in which diet-induced obesity (DIO) has developed. A possible and certainly very intriguing explanation for such offsetting of DIO is based on modulations of hepatic gluconeogenesis and lipogenesis as a result of the reduction of the expression of the two key genes in the liver, namely: phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) and sterol regulatory element-binding protein 1c (SREBP-1c) with signaling of the both through AMPK pathway [228]. Nevertheless, expression of Acrp30 in muscles resulted in significantly weaker effect incomparable to the one with the expression of the gene in the liver. Moreover, the most unexpected finding of the study was relatively low plasma concentration of murine Acrp30, which was two orders of magnitude lower than physiological levels of endogenous rat Acrp30. Obviously, the main effect was achieved at the hepatic level due autocrine and/or paracrine interactions of exogenous Acrp30 with AdipoR2 [228].

Furthermore, Li X. et al. in their study have demonstrated that both globular and full-length adiponectin reverses high-fat diet-induced insulin resistance in mice through decreased PKC ϵ activation in the liver and decreased PKC ϵ /PKC θ activity in muscles [230].

In another study in rats it was found that globular adiponectin resistance develops independently of impaired insulin-stimulated glucose transport in muscles of high-fat diet rats [231]. One more striking result was achieved after restoration of normal adiponectin concentrations in obese

pregnant mice, which has led to prevention of placental dysfunction, fetal overgrowth and metabolic syndrome development as well as prevention of cardiac dysfunction in the adult offspring [232].

CONCLUSION

Adiponectin epically proclaimed as a 'guardian angel' against the development of obesity and diabetes is a crucial 'rescue hormone' secreted mainly by white adipose tissue (and by placenta in pregnancy) and regulating lipid and glucose homeostasis, insulin sensitivity, energy balance and stimulating mitochondrial biogenesis. It is now apparent that adiponectin is the most abundant protein synthesized and secreted by mature adipocytes, however its serum levels inversely correlate with increases in adiposity, especially with its central subtype. The preponderance of evidence suggests that adiponectin is a pivotal link between adiposity, insulin resistance, inflammation and atherosclerosis. The hormone, protecting against various pathological events in different cell types, exerts pleiotropic actions and exhibits anti-inflammatory, antifibrotic, antithrombotic, antioxidant, antinflammatory, antiatherogenic, cardio- and neuroprotective properties on the one hand, may also have links to several systemic diseases and malignancies on the other. Furthermore, it may even have an implication to severity of SARS-CoV-2 depending on the age and the development of the phenomenon called 'adiponectin paradox'. Adiponectin exerts its both beneficial and detrimental effects via normal or impaired signaling through its receptors: AdipoR1 and AdipoR2, T-cadherin and calreticulin. AdipoR1 is expressed abundantly in skeletal muscle and endothelial cells; AdipoR2 — predominantly in the liver; T-cadherin is highly expressed in endothelial cells, in smooth muscle, skeletal muscle and cardiac muscle cells, in neurons and in mesenchymal stem/stromal cells; while calreticulin, endoplasmic reticulum luminal Ca²⁺-buffering chaperone, found in virtually every cell of the body (except erythrocytes), is responsible for endothelial anti-inflammatory and vasculoprotective effects of adiponectin. It is worth mentioning, that ample evidence about multiple favorable physiological as well as pathological roles of adiponectin has been obtained from studies carried out in animal, mainly rodent, models. Accumulating reports demonstrate that modulation of levels of adiponectin and its isoforms, normalization of its signaling patterns may lead to novel therapeutic approaches for many diseases. However, significant knowledge gaps remain and it is apparent, therefore, that further in-depth research in this field is imperative.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

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

Участие авторов. Кроме того, 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

- WHO. Obesity and overweight. Geneva: World Health Organization, 2020. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- Swinburn BA, Sacks G, Hall KD, et al. The global obesity pandemic: shaped by global drivers and local environments. *Lancet*. 2011;378(9793):804-814. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60813-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60813-1)
- WHO. Global strategy on diet, physical activity and health. Geneva: World Health Organization, 2004. Available from: <http://www.who.int/>
- Cohen P, Spiegelman BM. Cell biology of fat storage. *Mol Biol Cell*. 2016;27(16):2523-2527. doi: <https://doi.org/10.1091/mbc.E15-10-0749>
- Shuldiner AR, Yang R, Gong DW. Resistin, obesity and insulin resistance — the emerging role of the adipocyte as an endocrine organ. *N Engl J Med*. 2001;345:1345-1346. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJM200111013451814>
- Song T, Kuang S. Adipocyte differentiation in health and diseases. *Clin Sci (Lond)*. 2019; 133(20): 2107-2119. doi: <https://doi.org/10.1042/CS2019012>
- Sebo ZL, Rodeheffer MS. Assembling the adipose organ: adipocyte lineage segregation and adipogenesis in vivo. *Development*. 2019;146(7):dev172098. doi: <https://doi.org/10.1242/dev.172098>
- Park A, Kim WK, Bae K-H. Distinction of white, beige and brown adipocytes derived from mesenchymal stem cells. *World J Stem Cells*. 2014;6(1):33-42. doi: <https://doi.org/10.4252/wjsc.v6.i1.33>
- Gesta S, Tseng Y-H, Kahn CR. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell*. 2007;131(2):242-256. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.004>
- Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 2014;156(1-2):20-44. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.012>
- Scherer PE. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes*. 2006;55(6):1537-1555. doi: <https://doi.org/10.2337/db06-0263>
- Parlee SD, Lentz SI, Mori H, MacDougald OA. Quantifying size and number of adipocytes in adipose tissue. *Methods Enzymol*. 2014;537:93-122. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411619-1.00006-9>
- Timmos JA, Wennmalm K, Larson O, et al. Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:4401-4406. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0610615104>
- Harms M, Seale P. Brown and beige fat: development, function and therapeutic potential. *Nat Med*. 2013;19(10):1252-1263. doi: <https://doi.org/10.1038/nm.3361>
- Nedergaard J, Bengtsson T, Cannon B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(2):444-452. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00691.2006>
- Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *N Engl J Med*. 2009;360(15):1518-1525. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808949>
- Shen W, Wang ZM, Punyanita M, et al. Adipose tissue quantification by imaging methods: a proposed classification. *Obes Res*. 2003;11(1):5-16. doi: <https://doi.org/10.1038/oby.2003.3>
- Cypess AM, Lehman S, Williams G, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *N Engl J Med*. 2009;360(15):1509-1517. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810780>
- Rothwell NJ, Stock MJ. Luxuskonsumption, diet-induced thermogenesis and brown fat: the case in favour. *Clin Sci (Lond)*. 1983;64(1):19-23. doi: <https://doi.org/10.1042/cs0640019>
- Krylowicz A, Puzanowska-Kuznicka M. Induction of adipose tissue browning as a strategy to combat obesity. *Int J Mol Sci*. 2020;21(17):6241. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21176241>
- Sanchez-Gurmaches J, Guertin GA. Adipocyte lineages: tracking back the origin of fat. *Biochim Biophys Acta*. 2014;1842(3):340-351. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2013.05.027>
- Cinti S. The adipose organ at a glance. *Dis Model Mech*. 2012;5(5):588-594. doi: <https://doi.org/10.1242/dmm.009662>
- Frontini A, Cinti S. Distribution and Development of brown adipocytes in the murine and human adipose organ. *Cell Metab*. 2010;11(4):253-256. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2010.03.004>
- Petrovic N, Walden TB, Shabalina IG, et al. Chronic peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) activation of epididymally derived white adipocyte cultures reveals a population of thermogenically competent, UCP1-containing adipocytes molecularly distinct from classic brown adipocytes. *J Biol Chem*. 2010;285(10):7153-7164. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.053942>
- Ishibashi J, Seale P. Medicine. Beige can be slimming. *Science*. 2010;328(5982):1113-1114. doi: <https://doi.org/10.1126/science.1190816>
- Schulz TJ, Huang TL, Tran TT, et al. Identification of inducible brown adipocyte progenitors residing in skeletal muscle and white fat. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011;108:143-148. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1010929108>
- Cannon B, Nedergaard J. Cell Biology: Neither brown nor white. *Nature*. 2012;488(7411):286-287. doi: <https://doi.org/10.1038/488286a>
- Cinti S. Between brown and white: Novel aspects of adipocyte differentiation. *Ann Med*. 2011;43(2):104-115. doi: <https://doi.org/10.3109/07853890.2010.535557>
- Cinti S. Transdifferentiation properties of adipocytes in the adipose organ. *Am J Phys Endocrinol Metab*. 2009;297(5):977-986. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00183.2009>
- Wang W, Kissig M, Rajakumar S, et al. Ebf2 is a selective marker of brown and beige adipogenic precursor cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(40):14466-14471. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1412685111>
- Rosenwald M, Perdikari A, Rulicke T, et al. Bi-directional interconversion of brite and white adipocytes. *Nat Cell Biol*. 2013;15(6):659-667. doi: <https://doi.org/10.1038/ncb2740>
- Kajimura S, Spiegelman BM, Seale P. Brown and beige fat: physiological roles beyond heat generation. *Cell Metab*. 2015;22(4):546-559. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.09.007>
- Roh HC, Tsai LTY, Shao M, et al. Warming induces significant reprogramming of beige, but not brown, adipocyte cellular identity. *Cell Metab*. 2018;27(5):1121-1137. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.005>
- We J, Bostrom P, Sparks LM, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*. 2012;150(2):366-376. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.016>
- Whitehead A, Krause FN, Moran A, et al. Brown and beige adipose tissue regulate systemic metabolism through a metabolite interorgan signaling axis. *Nat Commun*. 2021;12(1):1905. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22272-3>
- Cheng L, Wang J, Dai H, et al. Brown and beige adipose tissue: a novel therapeutic strategy for obesity and type 2 diabetes mellitus. *Adipocyte*. 2021;10(1):48-65. doi: <https://doi.org/10.1080/21623945.2020.1870060>
- Wu J, Bostrom P, Sparks LM, et al. Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human. *Cell*. 2012;150(2):366-376. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.05.016>
- Schulz TJ, Huang P, Huang TL, et al. Brown-fat paucity due to impaired BMP signalling induces compensatory browning of white fat. *Nature*. 2013;495(7441):379-383. doi: <https://doi.org/10.1038/nature11943>
- Villaroya F, Cereiho R, Gavalda-Navarro A, et al. Inflammation of brown/beige adipose tissues in obesity and metabolic disease. *J Intern Med*. 2018;284(5):492-504. doi: <https://doi.org/10.1111/joim.12803>
- Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(6):2548-2556. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0395>
- Taylor EB. The complex role of adipokines in obesity, inflammation and autoimmunity. *Clin Sci (Lond)*. 2021;135(6):731-752. doi: <https://doi.org/10.1042/CS20200895>
- Leal VdO, Mafra D. Adipokines in obesity. *Clin Chim Acta*. 2013;419:87-94. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.003>
- Khan M, Joseph F. Adipose Tissue and Adipokines: The association with and application of adipokines in obesity. *Scientifica (Cairo)*. 2014;2014:1-7. doi: <https://doi.org/10.1155/2014/328592>
- Recinella L, Orlando G, Ferrante C, et al. Adipokines: new potential therapeutic target for obesity and metabolic, rheumatic, and cardiovascular diseases. *Front Physiol*. 2020;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.578966>
- Bartelt A, Bruns OT, Reimer R, et al. Brown adipose tissue activity controls triglyceride clearance. *Nat Med*. 2011;17(2):200-205. doi: <https://doi.org/10.1038/nm.2297>

46. Giralto M, Villaroya F. Mitochondrial uncoupling and the regulation of glucose homeostasis. *Curr Diabetis Rev.* 2017;13(4):386-394. doi: <https://doi.org/10.2174/1573399812666160217122707>
47. Lou Y, Lin H. Inflammation initiates a vicious circle between obesity and non-alcoholic fatty liver disease. *Immun Inflam Dis.* 2021;9(1):59-73. doi: <https://doi.org/10.1002/iid3.391>
48. Frommer KW, Neumann E, Müller-Ladner U. Adipocytokines and autoimmunity. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(S2):O8. doi: <https://doi.org/10.1186/ar3412>
49. Galler A, Gelbrich G, Kratzsch J, et al. Elevated serum levels of adiponectin in children, adolescents and young adults with type 1 diabetes and the impact of age, gender, body mass index and metabolic control: a longitudinal study. *Eur J Endocrinol.* 2007;157(4):481-489. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-07-0250>
50. Harle P, Pongratz G, Weidler C, et al. Possible role of leptin in hypoandrogenicity in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(7):809-816. doi: <https://doi.org/10.1136/ard.2003.011619>
51. Chougule D, Nadkar M, Venkataraman K, et al. Adipokine interactions promote the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine.* 2018;111:20-27. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2018.08.002>
52. Schäffler A, Ehling A, Neumann E, et al. Adipocytokines in synovial fluid. *JAMA.* 2003;290(13):1709-1710. doi: <https://doi.org/10.1001/jama.290.13.1709-c>
53. Neumann E, Hasseli R, Ohl S, et al. Adipokines and autoimmunity in inflammatory arthritis. *Cells.* 2021;10(2):216. doi: <https://doi.org/10.3390/cells10020216>
54. Syrbe U, Callhoff J, Conrad K, et al. Serum adipokines levels in patients with ankylosing spondylitis and their relationship to clinical parameters and radiographic spinal progression. *Arthritis Rheumatol.* 2015;67(3):678-685. doi: <https://doi.org/10.1002/art.38968>
55. Kotulska A, Kucharz EJ, Brzezinska-Wcislo L, Wadas U. A decreased serum leptin level in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol.* 2001;20(4):300-302. doi: <https://doi.org/10.1007/s100670170053>
56. Frommer KW, Neumann E, Müller-Ladner U. Role of adipokines in systemic sclerosis pathogenesis. *Eur J Rheumatol.* 2020;7(S3):165-172. doi: <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2020.19107>
57. Zhao J-H, Huang X-L, Duan Y, et al. Serum adipokines levels in patients with systemic sclerosis: a meta-analysis. *Mod Rheumatol.* 2017;27(2):298-305. doi: [10.1080/14397595.2016.1193106](https://doi.org/10.1080/14397595.2016.1193106)
58. Lee YH, Song GG. Association of circulating resistin, leptin, adiponectin and visfatin with Behçet's disease: a meta-analysis. *Clin Exp Dermatol.* 2018;43(5):536-545. doi: <https://doi.org/10.1111/ced.13383>
59. Scherer PE, Williams S, Fogliano M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem.* 1995;270(45):26746-26749. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.270.45.26746>
60. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, et al. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem.* 1996;120(4):803-812. doi: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a021483>
61. Hu E, Liang P, Spiegelman BM. AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem.* 1996;271(18):10697-10703. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.271.18.10697>
62. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, et al. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun.* 1996;221(2):286-289. doi: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1996.0587>
63. Woodward L, Akoumianakis I, Antoniadis C. Unravelling the adiponectin paradox: novel roles of adiponectin in the regulation of cardiovascular disease. *Br J Pharmacol.* 2017;174(22):4007-4020. doi: <https://doi.org/10.1111/bph.13619>
64. Ziemke F, Mantzoros CS. Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr.* 2010;91(1):258S-261S. doi: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.28449C>
65. Chandran M, Phillips SA, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin: more than just another fat cell hormone? *Diabetes Care.* 2003;26(8):2442-2450. doi: <https://doi.org/10.2337/diacare.26.8.2442>
66. Oh DK, Ciaraldi T, Henry RR. Adiponectin in health and disease. *Diabetis Obes Metab.* 2007;9(3):282-289. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2006.00610.x>
67. Vasseur F, Lepretre F, Lasqueant C, Froguel P. The genetics of adiponectin. *Curr Diab Rep.* 2003;3(2):151-158. doi: <https://doi.org/10.1007/s11892-003-0039-4>
68. Liu M, Liu F. Regulation of adiponectin multimerization, signaling and function. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2014;28(1):25-31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.06.003>
69. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;257(1):79-83. doi: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0255>
70. Tsao T, Murrey HE, Hug C, et al. Oligomerization state-dependent activation of NF-kappa B signaling pathway by adipocyte complement-related protein of 30 kDa (Acrp30). *J Biol Chem.* 2002;277(33):29359-29362. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.C200312200>
71. Waki H, Yamauchi T, Kamon J, et al. Impaired multimerization of human adiponectin mutants associated with diabetes. Molecular structure and multimer formation of adiponectin. *J Biol Chem.* 2003;278(41):40352-40363. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M300365200>
72. Peake PW, Kriketos AD, Campbell LV, et al. The metabolism of isoforms of human adiponectin: studies in human subjects and in experimental animals. *Eur J Endocrinol.* 2005;153(3):409-417. doi: <https://doi.org/10.1530/eje.1.01978>
73. Ebinuma H, Miyazaki O, Yago H, et al. A novel ELISA system for selective measurement of human adiponectin multimers by using proteases. *Clin Chim Acta.* 2006;372(1-2):47-53. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.03.014>
74. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001;98(4):2005-2010. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.041591798>
75. Waki H, Yamauchi T, Kamon J, et al. Generation of globular fragment of adiponectin by leukocyte elastase secreted by monocytic cell line THP-1. *Endocrinology.* 2005;146:790-796. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2004-1096>
76. Schraw T, Wang ZV, Halberg N, et al. Plasma adiponectin complexes have distinct biochemical characteristics. *Endocrinology.* 2008;149(5):2270-2282. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2007-1561>
77. van Andel M, Heijboer AC, Drent ML. Adiponectin and its isoforms in pathophysiology. *Adv Clin Chem.* 2018;85:115-147. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.acc.2018.02.007>
78. Tomas E, Tsao TS, Saha AK, et al. Enhanced muscle fat oxidation and glucose transport by ACRP30 globular domain: acetyl-CoA carboxylase inhibition and AMP-activated protein kinase activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(25):16309-16313. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.222657499>
79. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med.* 2002;8(11):1288-1295. doi: <https://doi.org/10.1038/nm.788>
80. Tsao TS, Tomas E, Murrey HE, et al. Role of disulfide bonds in Acrp30/adiponectin structure and signaling specificity. Different oligomers activate different signal transduction pathways. *J Biol Chem.* 2003;278(50):50810-50817. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M309469200>
81. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest.* 2006;116(7):1784-1792. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI29126>
82. Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, et al. Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. *J Biol Chem.* 2004;279(13):12152-12162. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M31113200>
83. Basu R, Pajvani UB, Rizza RA, et al. Selective downregulation of the high molecular weight form of adiponectin in hyperinsulinemia and in type 2 diabetes: differential regulation from nondiabetic subjects. *Diabetes.* 2007;56(8):2174-2177. doi: <https://doi.org/10.2337/db07-0185>
84. Koenen TB, van Tits LJ, Holveijn S, et al. Adiponectin multimer distribution in patients with familial combined hyperlipidemia. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;376(1):164-168. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.08.111>
85. Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature.* 2003;423(6941):762-769. doi: <https://doi.org/10.1038/nature01705>

86. Tanabe H, Fujii Y, Okada-Iwabu M, et al. Crystal structures of the human adiponectin receptors. *Nature*. 2015;520(7547):312-316. doi: <https://doi.org/10.1038/nature14301>
87. Yoon MJ, Lee GY, Chung J-J, et al. Adiponectin increases fatty acid oxidation in skeletal muscle cells by sequential activation of AMP-activated protein kinase, p38 mitogen-activated protein kinase, and peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Diabetes*. 2006;55(9):2562-2570. doi: <https://doi.org/10.2337/db05-1322>
88. Ruan H, Dong LQ. Adiponectin signaling and function in insulin target tissues. *J Mol Cell Biol*. 2016;8(2):101-109. doi: <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjw014>
89. Holland WL, Miller RA, Wang ZV, et al. Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. *Nat Med*. 2011;17(1):55-63. doi: <https://doi.org/10.1038/nm.2277>
90. Lopez X, Goldfine AB, Holland WL, et al. Plasma ceramides are elevated in female children and adolescents with type 2 diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2013;26(9-10):995-998. doi: <https://doi.org/10.1515/jpem-2012-0407>
91. Combs TP, Mariliss EB. Adiponectin signaling in the liver. *Rev Endocr Metab Disord*. 2014;15(2):137-147. doi: <https://doi.org/10.1007/s11154-013-9280-6>
92. Winder WW, Hardie DG. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: possible roles in type 2 diabetes. *Am J Physiol*. 1999;277(1):E1-10. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1999.277.1.E1>
93. Liu Z, Xiao T, Peng X, et al. APPLs: more than just adiponectin receptor binding proteins. *Cell Signal*. 2017; 2:76-84. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2017.01.018>
94. Kita S, Shimomura I. Stimulation of exosome biogenesis by adiponectin, a circulating factor secreted from adipocytes. *J Biochem*. 2021;169(2):173-179. doi: <https://doi.org/10.1093/jb/mvaa105>
95. Holley RJ, Tai G, Williamson AJ, et al. Comparative quantification of the surfaceome of human multipotent mesenchymal progenitor cells. *Stem Cell Reports*. 2015;4(3):473-488. doi: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.01.007>
96. Hug C, Wang J, Ahmad NS, et al. T-cadherin is a receptor for hexameric and high-molecular-weight forms of Acrp30/adiponectin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(28):10308-10313. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0403382101>
97. Obata Y, Kita S, Koyama Y, et al. Adiponectin/T-cadherin system enhances exosome biogenesis and decreases cellular ceramides by exosomal release. *JCI Insight*. 2018;3(8):20-27. doi: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.99680>
98. Holland WL, Xia JY, Johnson JA, et al. Inducible overexpression of adiponectin receptors highlight the roles of adiponectin-induced ceramidase signaling in lipid and glucose homeostasis. *Mol Metab*. 2017;6(3):267-275. doi: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2017.01.002>
99. Denzel MS, Scimia MC, Zumstein PM, et al. T-cadherin is critical for adiponectin-mediated cardioprotection in mice. *J Clin Invest*. 2010;120(12):4342-4352. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI43464>
100. Vandivier RW, Ogden CA, Fadok VA, et al. Role of surfactant proteins A, D, and C1q in the clearance of apoptotic cells in vivo and in vitro: calreticulin and CD91 as a common collectin receptor complex. *J Immunol*. 2002;169(7):3978-3986. doi: <https://doi.org/10.1093/jimmunol.169.7.3978>
101. Gardai SJ, McPhillips KA, Frasch SC, et al. Cell-surface calreticulin initiates clearance of viable or apoptotic cells through trans-activation of LRP on the phagocyte. *Cell*. 2005;123(2):321-334. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.08.032>
102. Takemura Y, Ouchi N, Shibata R, et al. Adiponectin modulates inflammatory reactions via calreticulin receptor-dependent clearance of early apoptotic bodies. *J Clin Invest*. 2007;117(2):375-386. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI29709>
103. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1999;257(1):79-83. doi: <https://doi.org/10.1006/bbrc.1999.0255>
104. Halberg N, Shraw TD, Wang ZV, et al. Systemic fate of the adipocyte-derived factor adiponectin. *Diabetes*. 2009;58(9):1961-1970. doi: <https://doi.org/10.2337/db08-1750>
105. Cui J, Wu XD, Andrel J, et al. Relationships of total adiponectin and molecular weight fractions of adiponectin with free testosterone in African men and premenopausal women. *J Clin Hypertens (Greenwich)*. 2010;12(12):957-963. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1751-7176.2010.00383.x>
106. Blaak E. Gender differences in fat metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2001;4(6):499-502. doi: <https://doi.org/10.1097/00075197-200111000-00006>
107. Xu A, Chan KW, Hoo RL, et al. Testosterone selectively reduces the high molecular weight form of adiponectin by inhibiting its secretion from adipocytes. *J Biol Chem*. 2005;280(18):18073-18080. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M414231200>
108. Stern JH, Rutkowski JM, Scherer PE. Adiponectin, leptin, and fatty acids in the maintenance of metabolic homeostasis through adipose tissue crosstalk. *Cell Metab*. 2016;23(5):770-784. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.04.011>
109. Goto M, Goto A, Morita A, et al. Low-molecular-weight adiponectin and high-molecular-weight adiponectin levels in relation to diabetes. *Obesity (Silver Spring)*. 2014;22(2):401-407. doi: <https://doi.org/10.1002/oby.20553>
110. Saito I, Yamagishi K, Chei C-L, et al. Total and high molecular weight adiponectin levels and risk of cardiovascular disease in individuals with high blood glucose levels. *Atherosclerosis*. 2013;229(1):222-227. doi: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.04.014>
111. Ouchi N, Ohishi M, Kihara S, et al. Association of hypoadiponectinemia with impaired vasoreactivity. *Hypertension*. 2003;42(3):231-234. doi: <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000083488.67550.B8>
112. Trujillo ME, Scherer PE. Adiponectin: journey from an adipocyte secretory protein to biomarker of the metabolic syndrome. *J Intern Med*. 2005;257(2):167-175. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2004.01426.x>
113. Liang KW, Lee WJ, Lee WL, et al. Decreased ratio of high-molecular-weight to total adiponectin is associated with angiographic coronary atherosclerosis severity but not restenosis. *Clin Chim Acta*. 2009;405(1-2):114-118. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2009.04.018>
114. Gasbarrino K, Zheng H, Hafiane A, et al. Decreased adiponectin-mediated signaling through the AdipoR2 pathway is associated with carotid plaque instability. *Stroke*. 2017;48(4):915-924. doi: <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.116.015145>
115. Wang Z, Nakayama T. Inflammation, a link between obesity and cardiovascular disease. *Mediators Inflamm*. 2010;2010:1-17. doi: <https://doi.org/10.1155/2010/535918>
116. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860-867. doi: <https://doi.org/10.1038/nature05485>
117. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm*. 2013;2013:1-12. doi: <https://doi.org/10.1155/2013/139239>
118. Chen L, Chen R, Wang H, Liang F. Mechanisms linking inflammation to insulin resistance. *Int J Endocrinol*. 2015;2015:1-9. doi: <https://doi.org/10.1155/2015/508409>
119. Hulsmans M, Holvoet P. The vicious circle between oxidative stress and inflammation in atherosclerosis. *J Cell Mol Med*. 2010;14(1-2):70-78. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2009.00978.x>
120. Garaulet M, Hernandez-Morante JJ, Perez de Heredia F, et al. Adiponectin, the controversial hormone. *Public Health Nutr*. 2007;10(10A):1145-1150. doi: <https://doi.org/10.1017/S1368980007000638>
121. Ouchi N, Walsh K. Adiponectin as an anti-inflammatory factor. *Clin Chim Acta*. 2007;380(1-2):24-30. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.01.026>
122. Berg AH, Combs TP, Du X, et al. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med*. 2001;7(8):947-953. doi: <https://doi.org/10.1038/90992>
123. Driez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocr*. 2003;148(3):293-300. doi: <https://doi.org/10.1530/eje.0.1480293>
124. Khan M, Joseph F. Adipose tissue and adipokines: the association with and application of adipokines in obesity. *Scientifica (Cairo)*. 2014;2014:1-7. doi: <https://doi.org/10.1155/2014/328592>
125. Cheng KKY, Lam KSL, Wang Y, et al. Adiponectin-induced endothelial nitric oxide synthase activation and nitric oxide production are mediated by APPL1 in endothelial cells. *Diabetes*. 2007;56(5):1387-1394. doi: <https://doi.org/10.2337/db06-1580>
126. Chen X, Yuan Y, Wang Q, et al. Post-translational modification of adiponectin affects lipid accumulation, proliferation and migration of vascular smooth muscle cells. *Cell Physiol Biochem*. 2017;43(1):172-181. doi: <https://doi.org/10.1159/000480336>
127. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocr Metab*. 2004;89(6):2548-2556. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0395>
128. Niinaga R, Yamamoto H, Yoshii M, et al. Marked elevation of serum M2BP-adiponectin complex in men with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2016;253:70-74. doi: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.08.024>

129. Sawicka M, Janowska J, Chudek J. Potential beneficial effect of some adipokines positively correlated with the adipose tissue content on the cardiovascular system. *Int J Cardiol*. 2016;222(Suppl. C):581-589. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.07.054>
130. Ehsan M, Singh KK, Lovren F, et al. Adiponectin limits monocytic microparticle-induced endothelial activation by modulation of the AMPK, Akt and NFκB signaling pathways. *Atherosclerosis*. 2016;245(Suppl. C):1-11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.024>
131. Devaraj S, Torok S, Dasu MR, et al. Adiponectin decreases C-reactive protein synthesis and secretion from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28(7):1368-1374. doi: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.108.163303>
132. Shibata R, Ouchi N, Murohara T. Adiponectin and cardiovascular disease. *Circ J*. 2009;73(4):608-614. doi: <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-09-0057>
133. Polyzos SA, Kountouras J, Zavos C, et al. The role of adiponectin in the pathogenesis and treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Diabetes Obes Metab*. 2010;12(5):365-383. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01176.x>
134. Silva TE, Colombo G, Schiavon LL. Adiponectin: a multitasking player in the field of liver disease. *Diabetes Metab*. 2014;40(2):95-107. doi: <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2013.11.004>
135. Lee Y, Magkos F, Mankzoros CS, et al. Effects of leptin and adiponectin on pancreatic β-cell function. *Methabolism*. 2011;60(12):1664-1672. doi: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.04.008>
136. Sweiss N, Sharma K. Adiponectin effects on the kidney. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2014;28(1):71-79. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2013.08.002>
137. Christou GA, Kiortsis DN. The role of adiponectin in renal physiology and development of albuminuria. *J Endocrinol*. 2014;221(2):R49-R61. doi: <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0578>
138. Markaki A, Psylinakis E, Spyridaki A. Adiponectin and end-stage renal disease. *Hormones (Athens)*. 2016;15(3):345-354. doi: <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1698>
139. Song SH, Oh TR, Choi HS, et al. High serum adiponectin as a biomarker of renal dysfunction: Results from the KNOW-CKD study. *Sci Rep*. 2020;10(1):5598. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62465-2>
140. Chudek J, Adamczak M, Karkoszka H, et al. Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2003;35(6):2186-2189. doi: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2003.08.001>
141. Emanuele E, Minoretto P, Altabas K, et al. Adiponectin expression in subcutaneous adipose tissue is reduced in women with cellulite. *Int J Dermatol*. 2011;50(4):412-416. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-4632.2010.04713.x>
142. Adamczak M, Wiecek A, Funahashi T, et al. Decreased plasma adiponectin concentration in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 2003;16(1):72-75. doi: [https://doi.org/10.1016/s0895-7061\(02\)03197-7](https://doi.org/10.1016/s0895-7061(02)03197-7)
143. Ohashi K, Ouchi N, Matsuzawa Y. Adiponectin and hypertension. *Am J Hypertens*. 2011;24(3):263-269. doi: <https://doi.org/10.1038/ajh.2010.216>
144. Barbe A, Bongrani A, Mellouk N, et al. Mechanisms of adiponectin actions in fertility: an overview from gametogenesis to gestation in humans and animal models in normal and pathologic conditions. *Int J Mol Sci*. 2019;20(7):1526. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20071526>
145. Martin LJ. Implications of adiponectin in linking metabolism to testicular function. *Endocrine*. 2014;46(1):16-28. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-013-0102-0>
146. Choi HM, Doss HM, Kim KS. Multifaceted Physiological Roles of Adiponectin in inflammation and diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4):1219. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21041219>
147. Fantuzzi G. Adiponectin and inflammation: Consensus and controversy. *J Allergy Clin Immunol*. 2008;121(2):326-330. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.10.018>
148. Ye JJ, Bian X, Lim J, et al. Adiponectin and related C1q/TNF-related proteins bind selectively to anionic phospholipids and sphingolipids. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(29):17381-17388. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1922270117>
149. Cheng X, Folco EJ, Shimizu K, et al. Adiponectin induces pro-inflammatory programs in human macrophages and CD4+ T cells. *J Biol Chem*. 2012;287(44):36896-36904. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.409516>
150. Choi HM, Lee Y-A, Lee SH, et al. Adiponectin may contribute to synovitis and joint destruction in rheumatoid arthritis by stimulating vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinase-1, and matrix metalloproteinase-13 expression in fibroblast-like synoviocytes more than proinflammatory mediators. *Arthritis Res Ther*. 2009;11(6):R161. doi: <https://doi.org/10.1186/ar2844>
151. Lee Y-A, Ji H, Lee SH, et al. The role of adiponectin in the production of IL-6, IL-8, VEGF and MMPs in human endothelial cells and osteoblasts: Implications for arthritic joints. *Exp Mol Med*. 2014;46(1):e72. doi: <https://doi.org/10.1038/emm.2013.141>
152. Krumbholz G, Junker S, Meier FMP, et al. Response of human rheumatoid arthritis osteoblasts and osteoclasts to adiponectin. *Clin Exp Rheumatol*. 2017;35(3):406-414.
153. Brezovec N, Perdan-Pirkmajer K, Čučnik S, et al. Adiponectin deregulation in systemic autoimmune rheumatic diseases. *Int J Mol Sci*. 2021;22(8):4095. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22084095>
154. Przybyciński J, Dziedzic V, Puchałowicz K, et al. Adiponectin in chronic kidney disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9375. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21249375>
155. Christou GA, Kiortsis DN. The role of adiponectin in renal physiology and development of albuminuria. *J Endocrinol*. 2014;221(2):R49-61. doi: <https://doi.org/10.1530/JOE-23-0578>
156. Peng Y-J, Shen T-L, Chen Y-S, et al. Adiponectin and adiponectin receptor 1 overexpression enhance inflammatory bowel disease. *J Biomed Sci*. 2018;25(1):24. doi: <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0419-3>
157. Pereira RI, Snell-Bergeon J-K, Erickson C, et al. Adiponectin dysregulation and insulin resistance in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(4):E642-647. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-2542>
158. Oraby SS, Ahmed ES, Farag TS, et al. Adiponectin as inflammatory biomarker of chronic obstructive pulmonary disease. *Egypt J Chest Dis Tuberc*. 2014;63(3):583-587. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejcdt.2014.02.006>
159. Vitsas V, Koutsoukou A, Michalopoulou P, et al. Biomarkers in COPD exacerbation, the role of adiponectin. *Eur Res J*. 2014;44(58):3615.
160. Panagopoulou P, Fotoulaki M, Manolitsas A, et al. Adiponectin and body composition in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2008;7(3):244-251. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2007.10.003>
161. Wahab AA, Allangawi M, Thomas M, et al. Sputum and plasma adiponectin levels in clinically stable adult cystic fibrosis patients with CFTR I1234V mutation. *Transl Med Commun*. 2020;5(2):1-7. doi: <https://doi.org/10.1186/s41231-020-00053-2>
162. Ruiyang B, Panayi A, Ruifang W, et al. Adiponectin in psoriasis and its comorbidities: a review. *Lipids Health Dis*. 2021;20(1):87. doi: <https://doi.org/10.1186/s12944-021-01510-z>
163. Kelesidis I, Kelesidis T, Mantzoros CS. Adiponectin and cancer: a systemic review. *Br J Cancer*. 2006;94:1221-1225. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603051>
164. Dalamaga M, Diakopoulos KN, Mantzoros CS. The role of adiponectin in cancer: a review of current evidence. *Endocr Rev*. 2012;33(4):547-594. doi: <https://doi.org/10.1210/er.2011-1015>
165. Petridou E, Mantzoros C, Dessypris N, et al. Plasma adiponectin concentrations in relation to endometrial cancer: a case-control study in Greece. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88(3):993-997. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021209>
166. Mantzoros C, Petridou E, Dessypris N, et al. Adiponectin and breast cancer risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(3):1102-1107. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2003-031804>
167. Petridou E, Mantzoros CS, Dessypris N, et al. Adiponectin in relation to childhood myeloblastic leukaemia. *Br J Cancer*. 2006;94(1):156-160. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602896>
168. Wei E, Giovannucci E, Fuchs C, et al. Low plasma adiponectin levels and the risk of colorectal cancer in men: a prospective study. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(22):1688-1694. doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/dji376>
169. Ishikawa M, Kitayama J, Kazama S, et al. Plasma adiponectin and gastric cancer. *Clin Cancer Res*. 2005;11(2 Pt 1):466-472.
170. Goktas S, Yilmaz MI, Caglar K, et al. Prostate cancer and adiponectin. *Urology*. 2005;65(6):1168-1172. doi: <https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.053>
171. Wang Y, Lam KS, Xu JY, et al. Adiponectin inhibits cell proliferation by interacting with several growth factors in an oligomerization-dependent manner. *J Biol Chem*. 2005;280(18):18341-18347. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M501149200>
172. Goldstein BJ, Scalia R. Adiponectin: A novel adipokine linking adipocytes and vascular function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89(4):2563-2568. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0518>

173. Saitoh M, Nagai K, Nakagawa K, et al. Adenosine induces apoptosis in the human gastric cancer cells via an intrinsic pathway relevant to activation of AMP-activated protein kinase. *Biochem Pharmacol.* 2004;67(10):2005-2011. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2004.01.020>
174. Kakino A, Fujita Y, Sawamura T. Adiponectin as a blocker of oxidized LDL. *Atherosclerosis.* 2016;252:e103. doi: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.578>
175. Brakenhielm E, Veitonmaki N, Cao R, et al. Adiponectin-induced angiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101(8):2476-2481. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0308671100>
176. Miyazaki T, Bub JD, Uzuki M, et al. Adiponectin activates c-Jun NH(2)-terminal kinase and inhibits signal transducer and activator of transcription 3. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;333(1):79-87. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbcr.2005.05.076>
177. Hebbard LW, Garlatti M, Young LJ, et al. T-Cadherin supports angiogenesis and adiponectin association with the vasculature in a mouse mammary tumor model. *Cancer Res.* 2008;68(5):1407-1416. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-2953>
178. Lee MH, Klein RL, El-Shewy HM, et al. The adiponectin receptors AdipoR1 and AdipoR2 activate ERK1/2 through a Src/Ras-dependent pathway and stimulate cell growth. *Biochemistry.* 2008;47(44):11682-11692. doi: <https://doi.org/10.1021/bi801451f>
179. Park J, Euhus DM, Scherer PE. Paracrine and endocrine effects of adipose tissue on cancer development and progression. *Endocr Rev.* 2011;32(4):550-570. doi: <https://doi.org/10.1210/er.2010-0030>
180. Tumminia A, Vinciguerra F, Parisi M, et al. Adipose tissue, obesity and adiponectin: role in endocrine cancer risk. *Int J Mol Sci.* 2019;20(12):2863. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20122863>
181. Mitsiades N, Pazaitou-Panayiotou K, Aronis KN, et al. Circulating adiponectin is inversely associated with risk of thyroid cancer: In vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(12):E2023-2028. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1908>
182. Abooshahab R, Yaghmaei P, Ghadaksaz HG, Hedayati M. Lack of association between serum adiponectin/leptin levels and medullary thyroid cancer. *Asian Pacific J Cancer Prev.* 2016;17(8):3861-3864. doi: <https://doi.org/10.14456/apjcp.2016.183/APJCP.2016.17.8.3861>
183. Taliaferro-Smith L, Nagalingam A, Zhong D, et al. LKB1 is required for adiponectin-mediated modulation of AMPK-S6K axis and inhibition of migration and invasion of breast cancer cells. *Oncogene.* 2009;28(29):2621-33. doi: <https://doi.org/10.1038/onc.2009.129>
184. Kim K, Baek A, Hwang JE, et al. Adiponectin-activated AMPK stimulates dephosphorylation of AKT through protein phosphatase 2A activation. *Cancer Res.* 2009;69(9):4018-4026. doi: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-08-2641>
185. Mery G, Eupaulard O, Borel A-L, et al. COVID-19: underlining adipokine storm and angiotensin 1-7 umbrella. *Front Immunol.* 2020;11(1714):1-10. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01714>
186. van Zelst CM, Janssen ML, Pouw N, et al. Analyses of abdominal adiposity and metabolic syndrome as risk factors for respiratory distress in COVID-19. *BMJ Open Respir Res.* 2020;7(1):e000792. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjresp-2020-000792>
187. Caterino M, Gelzo M, Sol S, et al. Dysregulation of lipid metabolism and pathological inflammation in patients with COVID-19. *Sci Rep.* 2021;11(1):2941. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82426-7>
188. Lockhart SM, O'Rahilly S. When two pandemics meet: why is obesity associated with increased COVID-19 mortality? *Med (N Y).* 2020;1(1):33-42. doi: <https://doi.org/10.1016/j.medj.2020.06.005>
189. Kearns SM, Ahenr KW, Patrie JT, et al. Reduced adiponectin levels in patients with COVID-19 acute respiratory failure: A case-control study. *Physiol Rep.* 2021;9(7):e14843. doi: <https://doi.org/10.14814/phy2.14843>
190. Kruglikov IL, Scherer PE. The role of adipocytes and adipocyte-like cells in the severity of COVID-19 infection. *Obesity (Silver Spring).* 2020;28(7):1187-1190. doi: <https://doi.org/10.1002/oby.22856>
191. Kaur G, Lungarella G, Rahman I. SARS-CoV-2 COVID-19 susceptibility and lung inflammatory storm by smoking and vaping. *J Inflamm. (Lond).* 2020;17:17-21. doi: <https://doi.org/10.1186/s12950-020-00250-8>
192. Shimizu M. Clinical features of cytokine storm syndrome. (chapter in the book published by Springer and edited by Cron RQ, Behrens E.). Clinical features of cytokine storm syndrome. *Cham: Springer;* 2019:31-42. doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-22094-5>
193. Ragab D, Eldin HS, Taeimah M, et al. The COVID-19 cytokine storm; what we know so far. *Front Immunol.* 2020;11:1446. doi: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01446>
194. Muller JA, Grob R, Kleger A. SARS-CoV-2 infects and replicates in cells of the human endocrine and exocrine pancreas. *Nat Metab.* 2021;3(2):149-165. doi: <https://doi.org/10.1038/s42255-021-00347-1>
195. Tang X, Uhl S, Zhang T, et al. SARS-CoV-2 infection induces beta cell transdifferentiation. *Cell Metab.* 2021;33(8):1577-1591. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.05.015>
196. Geravandi S, Mahmoudi-Aznavah A, Azizi Z, et al. SARS-CoV-2 and pancreas: a potential pathological interaction? *Trends Endocrinol Metab.* 2021;1622:1-4. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.07.004>
197. Bornstein SR, Dalan R, Hopkins D, et al. Endocrine and metabolic link to coronavirus infection. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16(2020):297-298. doi: <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0353-9>
198. Ibrahim S, Monaco GSF, Sims EK. Not so sweet and simple: impacts of SARS-CoV-2 on the β cell. *Islets.* 2021;13(3-4):66-79. doi: <https://doi.org/10.1080/19382014.2021.1909970>
199. Das L, Bhadada SK. COVID-19-associated new-onset hyperglycaemia: a reversible entity or persistent risk. *Postgrad Med J.* 2021;postgradmedj-2021-140807. doi: <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2021-14807>
200. Rubina KA, Sabitova NR, Efimenko AY, et al. Proteolytic enzyme and adiponectin receptors as potential targets for COVID-19 therapy. *Cariiovasc Therapy and Prevention.* 2021;20(3):2791. doi: <https://doi.org/10.15829/1728-8800-2021-2791>
201. Padro IMCG. Is there a link between hyperadiponectinemia in newborns and a better prognosis in COVID-19 infection? *Ann Pediatr Res.* 2021;5(1):1057.
202. Menzaghi C, Trischitta V. The adiponectin paradox for all-cause and cardiovascular mortality. *Diabetes.* 2018;67(1):12-22. doi: <https://doi.org/10.2337/dbi17-0016>
203. Wang TJ, Larson MG, Levy D. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med.* 2004;350(7):655-663. doi: <https://doi.org/10.1056/NEJMOA031994>
204. Tsukamoto O, Fujita M, Kato M. Natriuretic peptides enhance the production of adiponectin in human adipocytes and in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(22):2070-2077. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.02038>
205. Halberg N, Schraw TD, Wang ZV, et al. Systemic fate of the adipocyte-derived factor adiponectin. *Diabetes.* 2009;58(9):1961-1970. doi: <https://doi.org/10.3227/db08-1750>
206. Sowka A, Dobrzyn P. Role of perivascular adipose tissue-derived adiponectin in vascular homeostasis. *Cells.* 2021;10(6):1485. doi: <https://doi.org/10.3390/cells10061485>
207. Zhao S, Kusinski CM, Scherer PE. Adiponectin, leptin and cardiovascular disorders. *Circ Res.* 2021;128(1):136-149. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.120.314458>
208. Tsutamoto T, Tanaka T, Sakai H, et al. Total and high molecular weight adiponectin, haemodynamics, and mortality in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2007;28(14):1723-1730. doi: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehm154>
209. Karas MG, Benkeser D, Arnold AM, et al. Relations of plasma total and high-molecular-weight adiponectin to new-onset heart failure in adults ≥ 65 years of age (from the Cardiovascular Health study). *Am J Cardiol.* 2014;113(2):328-334. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2013.09.027>
210. Menzaghi C, Xu M, Salvemini L, et al. Circulating adiponectin and cardiovascular mortality in patients with type 2 diabetes mellitus: evidence of sexual dimorphism. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:130. doi: <https://doi.org/10.1186/s12933-014-0130-y>
211. Chang E, Varghese M, Singer K. Gender sex differences in adipose tissue. *Curr Diab Rep.* 2018;18(9):69. doi: <https://doi.org/10.1007/s11892-018-1031-3>
212. Wang Y, Ma XL, Lau WB. Cardiovascular adiponectin resistance: the critical role of adiponectin receptor modification. *Trends Endocrinol Metab.* 2017;28(7):519-530. doi: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.03.004>
213. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, et al. Chronic kidney disease. *Lancet.* 2017;389(10075):1238-1252. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32064-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32064-5)
214. Menon V, Li L, Wang X, et al. Adiponectin and mortality in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(9):2599-2606. doi: <https://doi.org/10.1681/ASN.2006040331>
215. Costacou T, Orchard TJ. Adiponectin: good, bad or just plain ugly? *Kidney Int.* 2008;74(5):549-551. doi: <https://doi.org/10.1038/ki.2008.262>

216. Beberashvili I, Cohen-Cesla T, Khatib A, et al. Comorbidity burden may explain adiponectin's paradox as a marker of increased mortality risk in hemodialysis patients. *Sci Rep*. 2021;11(1):9087. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88558-0>
217. Waragai M, Ho G, Takamatsu Y, et al. Importance of adiponectin activity in the pathogenesis of Alzheimer's disease. *Ann Clin Transl Neurol*. 2017;4(8):591-600. doi: <https://doi.org/10.1002/acn3.436>
218. Waragai M, Ho G, Takamatsu Y, et al. Adiponectin paradox in Alzheimer's disease; relevance to amyloidogenic evolvability? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:108. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00108>
219. Une K, Takei YA, Tomita N, et al. Adiponectin in plasma and cerebrospinal fluid in MCI and Alzheimer's disease. *Eur J Neurol*. 2011;18(7):1006-1009. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2010.03194.x>
220. Lee CH, Lui DTW, Cheung CY, et al. Higher circulating adiponectin concentrations predict incident cancer in type 2 diabetes – The adiponectin paradox. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020;105(4):e1387-e1396. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa075>
221. Ho G, Ali A, Takamatsu Y, et al. Diabetes, inflammation, and the adiponectin paradox: Therapeutic targets in SARS-CoV-2. *Drug Discov Today*. 2021;26(8):2036-2044. doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2021.03.013>
222. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev*. 2005;26(3):439-451. doi: <https://doi.org/10.1210/er.2005-0005>
223. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, et al. Globular adiponectin protected ob/ob mice from diabetes and ApoE-deficient mice from atherosclerosis. *J Biol Chem*. 2003;278(4):2461-2468. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M209033200>
224. Okamoto Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Adiponectin reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*. 2002;106(22):2767-2770. doi: <https://doi.org/10.1161/01.cir.0000042707.50032.19>
225. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem*. 2002;277(29):25863-25866. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.C200251200>
226. Matsuda M, Shimomura I, Sata M, et al. Role of adiponectin in preventing vascular stenosis. The missing link of adipovascular axis. *J Biol Chem*. 2002;277(40):37487-37491. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M206083200>
227. Combs TP, Pajvani UB, Berg AH, et al. A transgenic mouse with a deletion in the collagenous domain of adiponectin displays elevated circulating adiponectin and improved insulin sensitivity. *Endocrinology*. 2004;145(1):367-383. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2003-1068>
228. Shklyayev S, Aslanidi G, Tennant M, et al. Sustained peripheral expression of transgene adiponectin offsets the development of diet-induced obesity in rats. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(24):14217-14222. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2333912100>
229. Kohlbrenner E, Aslanidi G, Nash K, et al. Successful production of pseudotyped rAAV vectors using a modified baculovirus expression system. *Mol Ther*. 2005;12(6):12171-12225. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ymthhe.2005.08.018>
230. Li X, Zhang D, Vatner DF, et al. Mechanisms by which adiponectin reverses high fat diet-induced insulin resistance in mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2020;117(51):32584-32593. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1922169117>
231. Mullen KL, Smith AC, Junkin KA, et al. Globular adiponectin resistance develops independently of impaired insulin-stimulated glucose transport in soleus muscle from high-fat-fed rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2007;293(1):E83-90. doi: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00545.2006>
232. Vaughan OR, Rosario FJ, Powell TL, et al. Normalisation of circulating adiponectin levels in obese pregnant mice prevents cardiac dysfunction in adult offspring. *Int J Obes (Lond)*. 2020;44(2):488-499. doi: <https://doi.org/10.1038/s41366-019-0374-4>
233. Kalkman HO. An explanation for adiponectin paradox. *Pharmaceuticals*. 2021;14(12):1266. doi: <https://doi.org/10.3390/ph14121266>

Рукопись получена: 11.10.2021. Одобрена к публикации: 22.10.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

*Шкляев Станислав Сергеевич, к.м.н. [Stanislav S. Shklyayev, MD, PhD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9215-4984>; eLibrary SPIN: 2975-4121; e-mail: staniss1@yahoo.com

Мельниченко Галина Афанасьевна, д.м.н., профессор, академик Российской академии наук [Galina A. Melnichenko, MD, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5634-7877>; eLibrary SPIN: 8615-0038; e-mail: teofrast2000@mail.ru

Волеводз Наталья Никитична, д.м.н., профессор [Natalya N. Volevodz, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6470-6318>; eLibrary SPIN: 1127-0933; e-mail: nnvovodz@mail.ru

Фалалеева Наталья Александровна, д.м.н. [Natalya A. Falaleeva, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0023-4216>; eLibrary SPIN: 1431-5452; e-mail: falaleeva-n@mail.ru

Иванов Сергей Анатольевич, д.м.н., профессор [Sergey A. Ivanov, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7689-6032>; eLibrary SPIN: 4264-5167; e-mail: oncurolog@gmail.com

Каприн Андрей Дмитриевич, д.м.н., профессор, академик Российской академии наук [Andrey D. Kaprin, MD, PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8784-8415>; eLibrary SPIN: 1759-8101; e-mail: contact@nmcir.ru

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., профессор, член-корреспондент Российской академии наук [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: mokrisheva.natalia@endocrincentr.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Шкляев С.С., Мельниченко Г.А., Волеводз Н.Н., Фалалеева Н.А., Иванов С.А., Каприн А.Д., Мокрышева Н.Г. Адипонектин: плейотропный гормон с множеством функций // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т.67. — №6. — С. 98-112. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12827>

FOR CITATION

Shklyayev SS, Melnichenko GA, Volevodz NN, Falaleeva NA, Ivanov SA, Kaprin AD, Mokrysheva NG. Adiponectin: a pleiotropic hormone with multifaceted roles. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):98-112. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12827>

САХАРНЫЙ ДИАБЕТ 1 ТИПА У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ Г. МОСКВЫ. ДАННЫЕ МОСКОВСКОГО СЕГМЕНТА ФЕДЕРАЛЬНОГО РЕГИСТРА БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2015–2020 ГГ.



© Е.Е. Петряйкина¹, Д.Н. Лаптев², И.Г. Воронцова¹, Н.А. Демидов^{3*}, Ю.А. Ряполова⁴

¹Российская детская клиническая больница, Москва, Россия

²Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

³Городская больница г. Московский Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

⁴Детская городская поликлиника №98 Департамента здравоохранения г. Москвы, Москва, Россия

ОБОСНОВАНИЕ. Терапия сахарного диабета 1 типа (СД1) до настоящего времени является во многом не решенной клинической проблемой. Несмотря на внедрение в клиническую практику современных препаратов инсулина, устройств для его введения, а также непрерывного мониторинга уровня глюкозы, цели терапии зачастую не достигаются. При этом международная федерация диабета (IDF) отмечает рост распространенности и заболеваемости СД1 у детей и подростков в мире. Федеральный регистр сахарного диабета (ФРСД) — динамически обновляющаяся база данных больных СД, которая позволяет оценить показатели распространенности и заболеваемости, степень достижения целей гликемического контроля, а также частоту развития осложнений СД.

ЦЕЛЬ. Анализ эпидемиологических данных СД1 (распространенности, заболеваемости) у детей и подростков (пациенты с рождения до 18 лет) г. Москвы по данным ФРСД и оценка их динамики, а также динамики достижения целей гликемического контроля и частоты встречаемости осложнений СД1 за 2015–2020 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Объект исследования — выборка из базы данных Московского сегмента ФРСД когорты пациентов с СД1 моложе 18 лет, состоявших на учете в период 01.01.2015–01.01.2021. Эпидемиологические показатели распространенности и заболеваемости рассчитаны на 100 тыс. соответствующего населения.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Численность детей и подростков, страдающих СД1, в Москве на 01.01.2021 составила 4024 чел. (2962 ребенка и 1062 подростка).

За период 2015–2020 гг. отмечались рост распространенности СД1 (возможно, за счет повышения качества регистрации данных в ФРСД) и снижение заболеваемости как среди детей, так и среди подростков. Также отмечалось снижение уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) и доли пациентов с $HbA_{1c} > 8,0\%$ среди детей с СД1.

Как среди детей, так и среди подростков с СД1 отмечалось снижение частоты диабетических ком и кетоацидозов с одновременным ростом частоты тяжелых гипогликемий, а также снижение частоты ретинопатии, нефропатии. При этом частота нейропатии снижалась среди детей и увеличивалась среди подростков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Полученные данные динамического ведения подростков с СД1 являются основанием для рассмотрения вопроса разработки профильной программы их динамического наблюдения с учетом необходимости психологической и социальной поддержки пациентов и членов их семей.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: сахарный диабет 1 типа; распространенность СД1; заболеваемость СД1; ретинопатия; нефропатия; нейропатия; кетоацидоз; диабетическая кома; гипогликемическая кома.

DIABETES MELLITUS TYPE 1 IN CHILDREN AND ADOLESCENTS IN MOSCOW. DATA FROM THE MOSCOW SEGMENT OF THE FEDERAL REGISTER OF DIABETIC PATIENTS 2015–2020

© Elena E. Petryaykina¹, Dmitrii N. Laptev², Inna G. Vorontsova¹, Nikolai A. Demidov^{3*}, Yulia A. Ryapolova⁴

¹Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

²Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian

³State Budgetary Institution of Healthcare Moskovsky city hospital of Department of Healthcare of Moscow, Moscow, Russia

⁴State Budgetary Institution of Healthcare City Children's Polyclinic 98, Moscow, Russia

BACKGROUND: Therapy for type 1 diabetes mellitus (T1DM) is still largely an unsolved clinical problem. Despite the introduction into clinical practice of modern insulin preparations, devices for its administration, as well as continuous monitoring of glucose levels, the goals of therapy are often not achieved. At the same time, the International Diabetes Federation (IDF) notes an increase in the prevalence and incidence of T1DM in children and adolescents in the world. The Federal Register of Diabetes Mellitus (FRDM) is a dynamically updated database of patients with diabetes, which allows assessing prevalence and incidence rates, achievement of glycemic control goals and the incidence of diabetes complications.



AIM: analyze the epidemiological data of T1DM (prevalence, morbidity) in children and adolescents (patients from birth to 18 years of age) in Moscow according to the FRSD data and to assess their dynamics, as well as the dynamics of achieving the goals of glycemic control and the incidence of T1DM complications in 2015–2020.

MATERIALS AND METHODS: The object of the study is a sample from the database of the Moscow segment of the FRDM of a cohort of patients with type 1 diabetes under 18 years of age who were registered for the period 01.01.2015–01.01.2021. Epidemiological prevalence and incidence rates are calculated per 100,000 of the relevant population.

RESULTS: the number of children and adolescents with type 1 diabetes in Moscow as of 01.01.2021 was 4024 people (2962 children and 1062 adolescents).

Over the period from 2015 to 2020, there was an increase in the prevalence of T1DM (possibly due to an increase in the quality of data registration in the FRSD) and a decrease in the incidence of both children and adolescents. There was also a decrease in the level of HbA_{1c} and the proportion of patients with $HbA_{1c} > 8.0\%$ among children with T1DM.

Both children and adolescents with T1DM showed a decrease in the incidence of diabetic coma and ketoacidosis with a simultaneous increase in the incidence of severe hypoglycemia, as well as a decrease in the incidence of retinopathy and nephropathy. However, the incidence of neuropathy decreased among children and increased among adolescents.

CONCLUSION: The data obtained on the dynamic management of adolescents with T1DM are the basis for considering the development of a profile program for their dynamic observation, taking into account the need for psychological and social support for patients and their families.

KEYWORDS: type 1 diabetes mellitus; T1DM prevalence; T1DM incidence; retinopathy; nephropathy; neuropathy; ketoacidosis; diabetic coma; hypoglycemic coma.

ОБОСНОВАНИЕ

СД 1 типа (СД1) — аутоиммунное заболевание у генетически предрасположенных лиц, при котором хронически протекающий лимфоцитарный инсулит приводит к опосредованной Т-клетками деструкции β -клеток с последующим развитием абсолютной инсулиновой недостаточности, со склонностью к развитию диабетического кетоацидоза (ДКА) [1].

СД1 характеризуется хронической иммуноопосредованной деструкцией β -клеток островков поджелудочной железы, которая приводит в большинстве случаев к абсолютному дефициту инсулина. Разрушение β -клеток происходит с различной скоростью и становится клинически значимым при разрушении примерно 90% β -клеток. СД1 является многофакторным заболеванием, однако конкретные механизмы взаимодействия генетической предрасположенности, факторов окружающей среды, состояния иммунной системы, лежащие в основе СД1, остаются неясными [1].

Заболеваемость и распространенность СД1 у детей и подростков в мире, по данным отчета Международной федерации диабета (IDF, 2019 г.), растет с каждым годом, особенно среди лиц в возрасте до 15 лет. Общий годовой прирост больных СД1 за 2019 г. составил около 3%. В общей сложности 1,1 млн детей и подростков в возрасте до 20 лет в мире страдают СД1. Ежегодно около 98 тыс. новых случаев СД1 диагностируется у детей и подростков в возрасте до 15 лет. Это число увеличивается до 129 тыс., когда возрастной диапазон расширяется до 20 лет [2].

Заболеваемость СД значительно варьирует в различных странах:

- самые высокие показатели (более 20 на 100 тыс. детского населения в год) отмечены в Скандинавских странах (Финляндия, Швеция, Норвегия) и Сардинии (Италия);
- к странам с наименьшим риском заболеваемости (менее 3 на 100 тыс. в год) отнесены Чили, Мексика, Китай и др. [1].

Основными медико-социальными проблемами, ассоциированными с СД1, возникающим в детском и подростковом возрасте, являются снижение продолжительности жизни пациентов и высокая частота развития тяжелых, инвалидизирующих осложнений.

Общая численность пациентов с СД1 до 18 лет в Российской Федерации на 31.12.2016 составила 31 727 чел. Распространенность СД1 в 2013–2016 гг. у детей составила 81,0–91,4/100 тыс. детского населения, у подростков — 212,8–209,5/100 тыс. подросткового населения. Заболеваемость СД1 среди детей в 2016 г. составила 14,2/100 тыс. детского населения, подростков — 10,0/100 тыс. подросткового населения [3–8].

С целью снижения медико-социального ущерба, обусловленного глобальным ростом распространенности сахарного диабета, в Российской Федерации (РФ) была разработана Федеральная целевая программа (ФЦП) «Сахарный диабет». Одним из ключевых направлений реализации ФЦП стало создание системы клинко-эпидемиологического мониторинга СД в масштабах всей страны посредством Государственного регистра СД (ГРСД) (на сегодняшний день — Федерального регистра СД (ФРСД)).

Данные регистра позволяют оценить эпидемиологические и клинические показатели СД как в РФ, так и в отдельных регионах и населенных пунктах, а также соответствие реальной клинической практики стандартам ведения пациентов.

ГРСД основан Приказом Минздрава России от 10.12.1996 г. № 404; методологическим и организационным референс-центром регистра стал ФГБУ «Эндокринологический научный центр» (ныне «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России).

Организация лечебной и профилактической помощи детям и подросткам с СД1 является одним из приоритетных направлений работы в системе Департамента здравоохранения г. Москвы.

По данным информационной базы Московского сегмента ФРСД, на 01.01.2021 в Москве было зарегистрировано 4024 чел. моложе 18 лет, страдающих СД1.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Провести анализ эпидемиологических данных СД1 (распространенности, заболеваемости) у детей и подростков (пациенты с рождения до 18 лет) г. Москвы по данным ФРСД и оценить их динамику, а также динамику достижения целей гликемического контроля и частоту встречаемости осложнений СД1 за 2015–2020 гг.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Место проведения. Г. Москва. Проведен анализ базы данных Московского сегмента ФРСД.

Время исследования. Анализ когорты пациентов с СД1 моложе 18 лет из базы данных ФРСД был проведен в период с 15.01.2021 по 01.04.2021.

Изучаемая популяция

Объектом исследования являлась когорта больных СД1 моложе 18 лет, состоявших на учете в детских амбулаторных учреждениях г. Москвы за период с 01.01.2015 по 01.01.2021, сформированная на основе базы данных Московского сегмента ФРСД.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции

Из Московского сегмента ФРСД была сформирована сплошная выборка больных СД1 моложе 18 лет, состоявших на учете в детских амбулаторных учреждениях г. Москвы за период с 01.01.2015 по 01.01.2021.

Дизайн исследования

Одномоментный срез показателей выборки больных СД1 моложе 18 лет, состоявших на учете в детских амбулаторных учреждениях г. Москвы за период с 01.01.2015 по 01.01.2021 на основе данных Московского сегмента ФРСД. Срез показателей выполнен на дату: 01.01.2021.

Методы

Критерии включения в исследование:

1. наличие СД1;
2. возраст моложе 18 лет в течение любого временного отрезка за период с 01.01.2015 по 01.01.2021.

Были оценены эпидемиологические показатели: распространенность СД1 на 100 тыс. соответствующего населения, заболеваемость на 100 тыс. соответствующего населения и динамика данных показателей за период 2015–2020 гг.

Кроме того, оценивались показатели достижения целей гликемического контроля по уровню HbA_{1c} : средний уровень HbA_{1c} по возрастным группам, доля пациентов, находящихся на различных уровнях гликемического контроля ($<7,0\%$, $7,0-7,9\%$, $8,0-8,9\%$, $\geq 9,0\%$), а также динамика данных показателей за период 2015–2020 гг.

Также были оценены частота встречаемости (%) осложнений СД1 (комы, диабетические кетоацидозы, тяжелые гипогликемии, диабетическая полинейропатия, диабетическая нефропатия, диабетическая ретинопатия) и динамика данных показателей за период 2015–2020 гг.

Статистический анализ

Для описания полученных данных были использованы абсолютные значения (число пациентов), средние значения и стандартное отклонение (показатели возраста, длительности заболевания, уровня HbA_{1c}).

Распространенность СД1 и заболеваемость были рассчитаны на 100 тыс. соответствующего по возрастной группе населения.

Частота встречаемости осложнения рассчитывалась как доля пациентов с данным осложнением (%) от общего числа пациентов.

Для статистической обработки данных использовали пакет статистических программ Statistica 10.0.

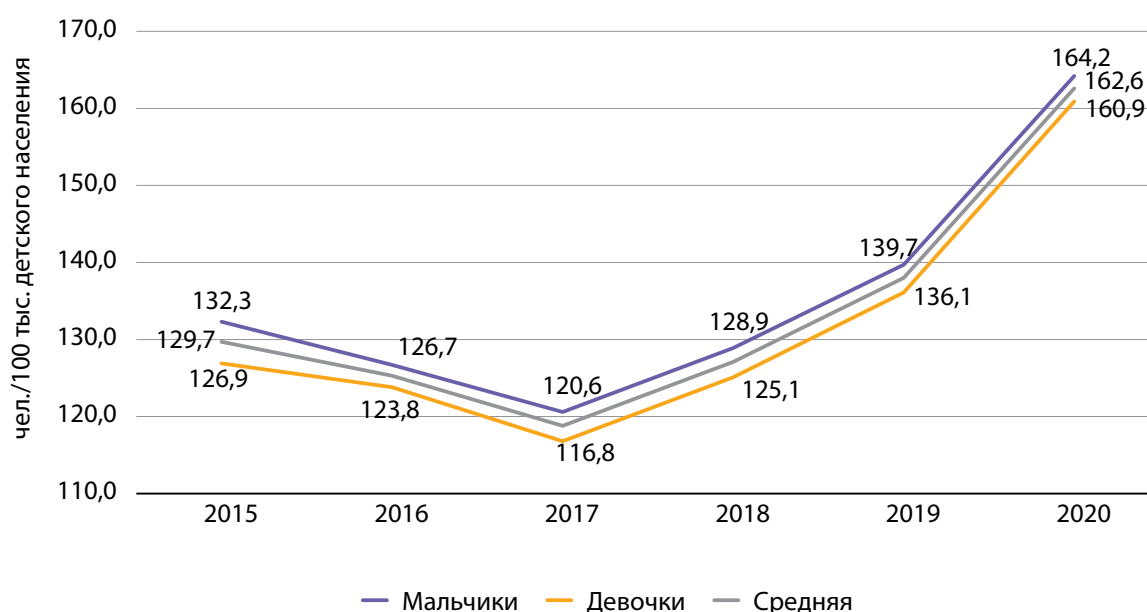


Рисунок 1. Динамика распространенности сахарного диабета 1 типа среди детей с 2015 по 2020 гг. по данным Московского сегмента ФРСД (на 100 тыс. детского населения).

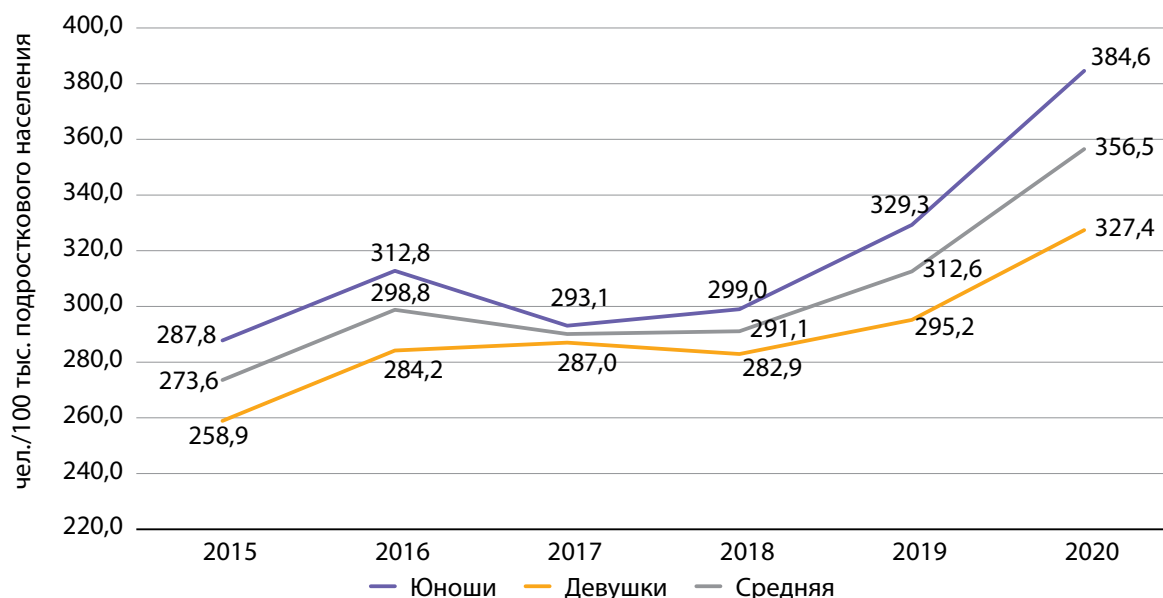


Рисунок 2. Динамика распространенности сахарного диабета 1 типа среди подростков с 2015 по 2020 гг. по данным Московского сегмента ФРСД (на 100 тыс. подросткового населения).

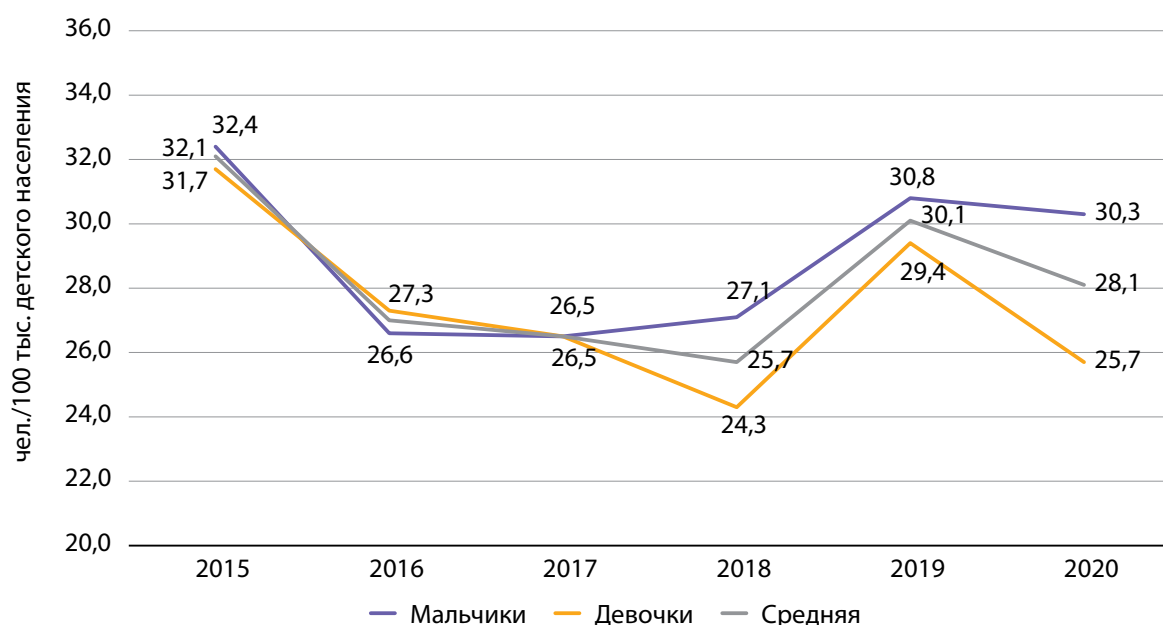


Рисунок 3. Динамика заболеваемости сахарным диабетом 1 типа среди детей с 2015 по 2020 гг. по данным Московского сегмента ФРСД (на 100 тыс. детского населения).

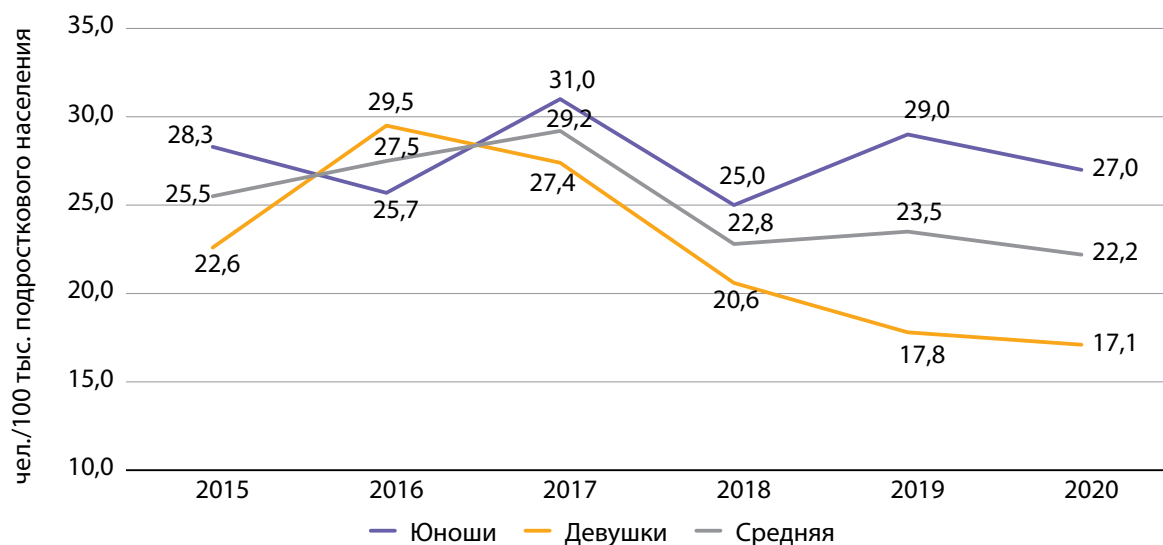


Рисунок 4. Заболеваемость сахарным диабетом 1 типа подростков с 2015 по 2020 гг. по данным Московского сегмента ФРСД (на 100 тыс. подросткового населения).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая численность детей и подростков, страдающих СД1, в Москве на 01.01.2021 составила 4024 чел. (2962 ребенка и 1062 подростка).

Распространенность СД1 в Москве с 2015 по 2020 гг. среди детей выросла на 25,4% (с 129,7 до 162,6 на 100 тыс. детского населения) (рис. 1). В 2015–2016 гг. распространенность СД1 среди детей Москвы значительно превышала средние показатели по РФ (89,3 в 2015 г. и 91,4 в 2016 г. на 100 тыс. детского населения) [9].

За период 2015–2017 гг. отмечалось снижение распространенности СД1 среди детей в Москве, вероятно, связанное с процессом перехода на онлайн-версию ФРСД и необходимостью удаления из системы накопившихся за предыдущие годы дублированных записей пациентов. После 2017 г. наметился тренд на повышение данного показателя.

Распространенность СД1 среди подростков г. Москвы в период с 2015 по 2020 гг. также выросла на 30,3% (с 273,6 до 356,5 на 100 тыс. соответствующего населения), что также превышает средние показатели по РФ (201,7 в 2015 г. и 209,5 в 2016 г.) [9] (рис. 2). Среди подростков также отмечается тенденция к небольшому снижению распространенности СД1 за период 2016–2018 гг., после чего формируется восходящий тренд.

Таким образом, динамика распространенности СД1 среди детей и подростков коррелирует между собой и отражает похожие процессы, связанные как с повышением качества регистрации данных за последние 3 года наблюдения, так и с реальным ростом распространенности СД1.

При оценке заболеваемости СД1 среди детей и подростков отмечается снижение данного показателя. Так, заболеваемость среди детей с 2015 по 2020 гг. снизилась на 4,2%, с 32,1 до 28,1 на 100 тыс. соответствующего населения, при этом оставаясь в 2 раза и более выше, чем в среднем по РФ (в РФ в 2015 г. — 15,6, в 2016 г. — 12,4 на 100 тыс. соответствующего населения [9]) (рис. 3). Наибольшая динамика снижения отмечается в период с 2015

по 2016 г., а с 2018 г. наметился рост данного показателя (см. рис. 3).

Заболеваемость среди подростков за период наблюдения снизилась на 13,3%, с 25,5 до 22,2 на 100 тыс. подросткового населения. Данный показатель по Москве также в 2 раза превышает средние данные по РФ (в РФ в 2015 г. — 12,8, в 2016 г. — 10,0 на 100 тыс. соответствующего населения [9]) (рис. 4).

Таким образом, мы одновременно наблюдаем постепенное снижение показателей заболеваемости СД1 среди детей и подростков и тенденцию к росту распространенности данного заболевания. Можно предположить, что данные факты в большей степени говорят о постепенном повышении качества регистрации данных в ФРСД, чем о реальном росте распространенности в данных возрастных группах. Скорее всего, значимую долю пациентов, которые были поставлены на учет в ФРСД за последние 3 года, составляют больные СД1, ранее уже наблюдавшиеся в МО Москвы, но своевременно не зарегистрированные в ФРСД.

При оценке динамики показателей гликемического контроля больных СД1 с 2015 по 2020 гг. можно сделать вывод, что на протяжении всего периода наблюдения уровень HbA_{1c} среди детей был значительно ниже, чем среди подростков. При этом если среди детей отмечается тенденция к снижению данного показателя в течение последних 3 лет наблюдения, то у подростков сложно выделить какой-либо устойчивый тренд (рис. 5).

При анализе динамики распределения по уровню HbA_{1c} у детей отмечается выраженный рост доли пациентов с уровнем $HbA_{1c} < 7,0\%$. При этом снижается доля пациентов, имеющих уровень $HbA_{1c} > 8,0\%$ (рис. 6).

Данные ФРСД по Москве, по сравнению с показателями распределения по уровню HbA_{1c} в РФ за 2015–2016 гг., демонстрируют лучшее достижение целей гликемического контроля. Доля пациентов с уровнем $HbA_{1c} > 9\%$ в 2015–2016 гг. в среднем по РФ составляла 36 и 35% соответственно [9], в Москве — 21,1 и 21,3% (см. рис. 6).

При этом за период с 2015 по 2020 гг. отмечается значимое повышение качества обследования на HbA_{1c} .

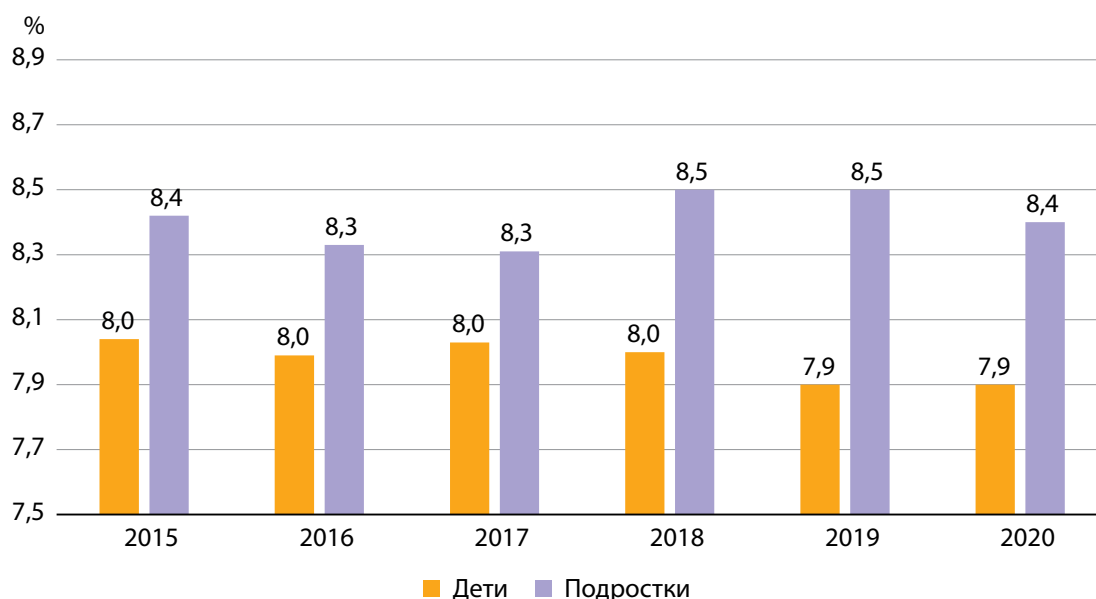


Рисунок 5. Динамика уровня гликированного гемоглобина у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа по данным Московского сегмента ФРСД, 2015–2020 гг., %.

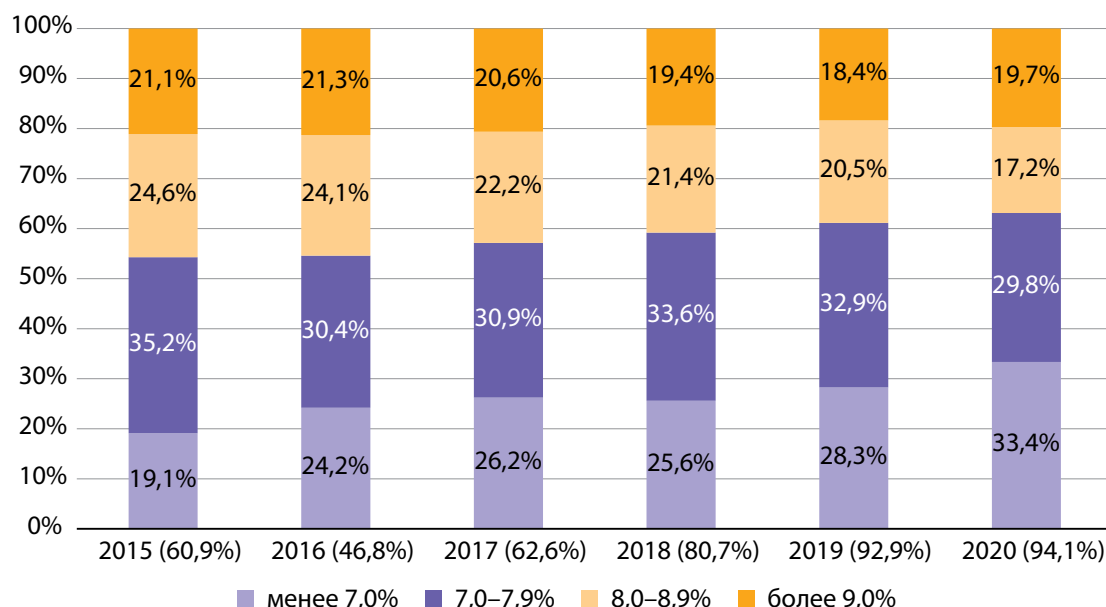


Рисунок 6. Распределение по уровню гликированного гемоглобина среди детей с сахарным диабетом 1 типа по данным ФРСД по Москве с 2015 по 2020 гг. (% числа больных).

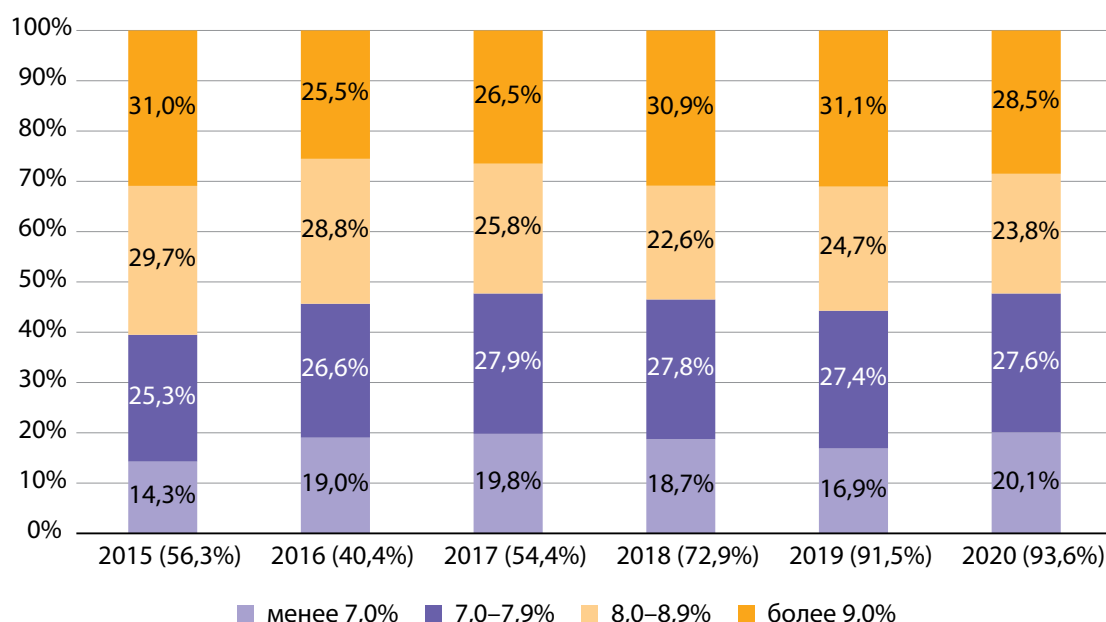


Рисунок 7. Распределение по уровню гликированного гемоглобина среди подростков с сахарным диабетом 1 типа по данным Московского сегмента ФРСД с 2015 по 2020 гг. (% числа больных).

Доля детей с известным уровнем HbA_{1c} выросла за отчетный период с 60,9 до 94,1% (см. рис. 6).

Динамика распределения по уровню HbA_{1c} у подростков не отражает каких-либо устойчивых трендов. В 2015–2017 гг. наблюдался рост доли подростков с уровнем $HbA_{1c} < 8,0\%$ и снижалась доля пациентов с уровнем $HbA_{1c} > 8,0\%$, но с 2018 г. данный тренд сменился на противоположный. В 2020 г. вновь отмечается увеличение доли больных с уровнем $HbA_{1c} < 8,0\%$ (рис. 7). По сравнению со средними показателями по РФ в Москве среди подростков также отмечается лучшее достижение целей гликемического контроля. Так, в 2015–2016 гг. среди подростков РФ доля пациентов с уровнем $HbA_{1c} > 9,0\%$ составляла 45% [9], а среди подростков Москвы — 31,0 и 25,5% соответственно (см. рис. 7).

За период с 2015 по 2020 гг. среди подростков, так же как и среди детей, отмечается повышение качества об-

следования на HbA_{1c} . Доля подростков с известным уровнем HbA_{1c} выросла за отчетный период с 56,3 до 93,6% (см. рис. 7).

Таким образом, на протяжении всего периода наблюдения среди детей с СД1 уровень HbA_{1c} был ниже, чем среди подростков, при этом у детей наблюдается выраженный тренд на рост доли пациентов с уровнем $HbA_{1c} < 8,0\%$.

На протяжении периода наблюдения 2015–2016 гг. среди детей и подростков Москвы наблюдались значительно лучшие показатели углеводного обмена, чем средние показатели по РФ при ежегодном повышении охвата обследованием на HbA_{1c} , начиная с 2017 г.

При оценке частоты встречаемости различных осложнений СД1 среди детей и подростков г. Москвы было выявлено, что как среди детей, так и среди подростков наблюдается длительно существующий выраженный тренд на снижение частоты встречаемости комы.

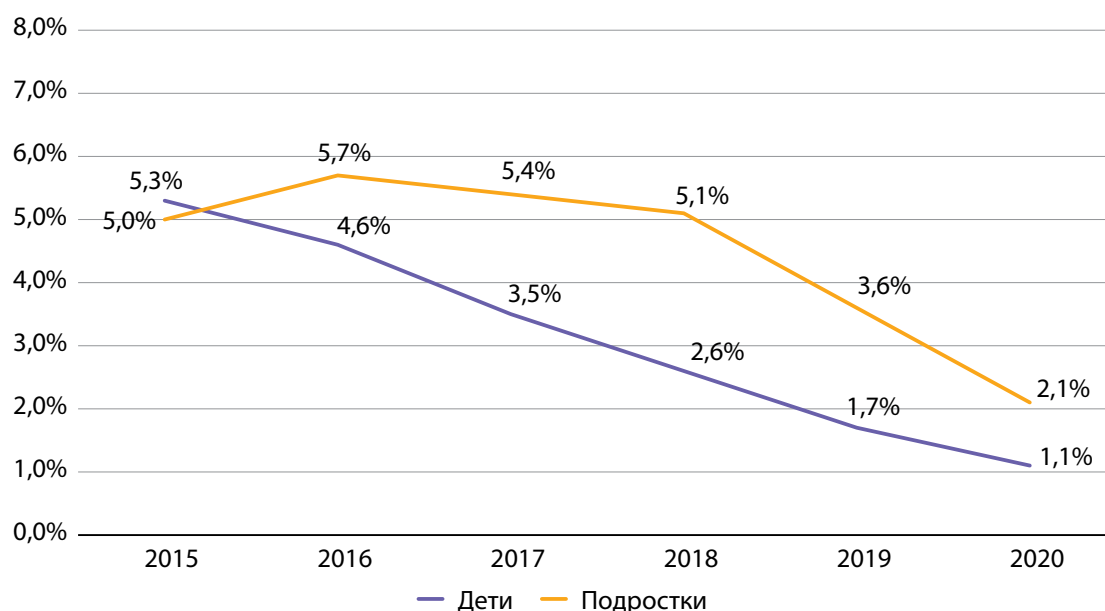


Рисунок 8. Динамика частоты встречаемости состояния комы у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа с 2015 по 2020 гг. по данным Московского сегмента ФРСД (% от числа больных).

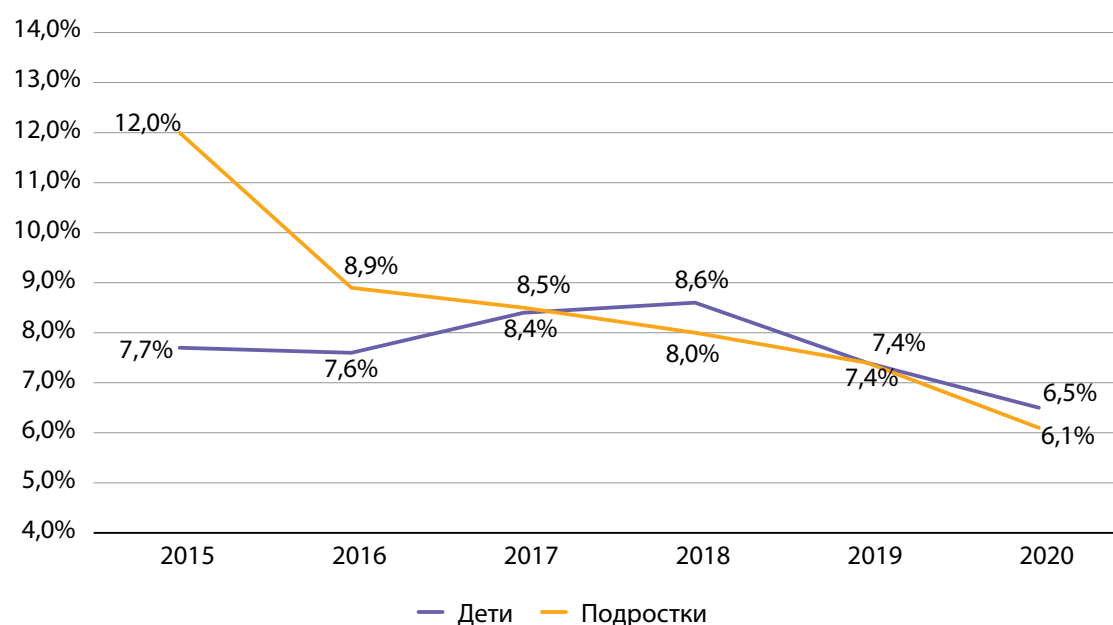


Рисунок 9. Динамика частоты встречаемости диабетического кетоацидоза (без комы) у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа с 2015 по 2020 гг. по данным Московского сегмента ФРСД (% от числа больных).

Так, за время наблюдения частота встречаемости комы снизилась в 4,5 раза среди детей и в 2,5 раза среди подростков (рис. 8), что может быть связано с профилактикой развития данного острого осложнения СД1, направленной на улучшение гликемического контроля СД, обучение пациентов и членов их семей. При этом частота встречаемости комы в Москве значительно превышала таковую в среднем по РФ по показателям 2016 г. (в РФ в 2016 г. частота комы составила среди детей 1,2%, среди подростков — 3,2% [9]), что, вероятно, связано с лучшими возможностями диагностики и учета данного состояния в г. Москве.

Частота ДКА за наблюдаемый период также снизилась на 18,5% среди детей и почти в 2 раза — среди подростков (рис. 9). Показатели частоты ДКА в Москве, по данным 2016 г., среди детей в 2,6 раза, а среди подростков в 1,9 раза выше, чем в среднем по РФ (в РФ в 2016 г. среди

детей частота ДКА составила 2,5%, среди подростков — 3,2% [9]), что также можно связать с лучшими возможностями своевременной диагностики данного состояния, госпитализации и учета пациентов.

По данным Московского сегмента ФРСД, за период наблюдения отмечается тенденция к росту частоты встречаемости тяжелых гипогликемий. Так, среди детей частота тяжелых гипогликемий за отчетный период выросла в 12,3 раза (с 0,04 до 0,49%), а среди подростков за период с 2017 по 2020 гг. — в 4,2 раза (с 0,2 до 0,8%). При этом важно отметить, что абсолютное число случаев тяжелой гипогликемии в год составляет максимально 15 случаев среди детей (для диспансерной группы 2962 чел.) и 9 случаев среди подростков (для диспансерной группы 1062 чел.). Таким образом, несмотря на выраженный рост данного показателя в процентном отношении, он представлен единичными случаями в абсолютном

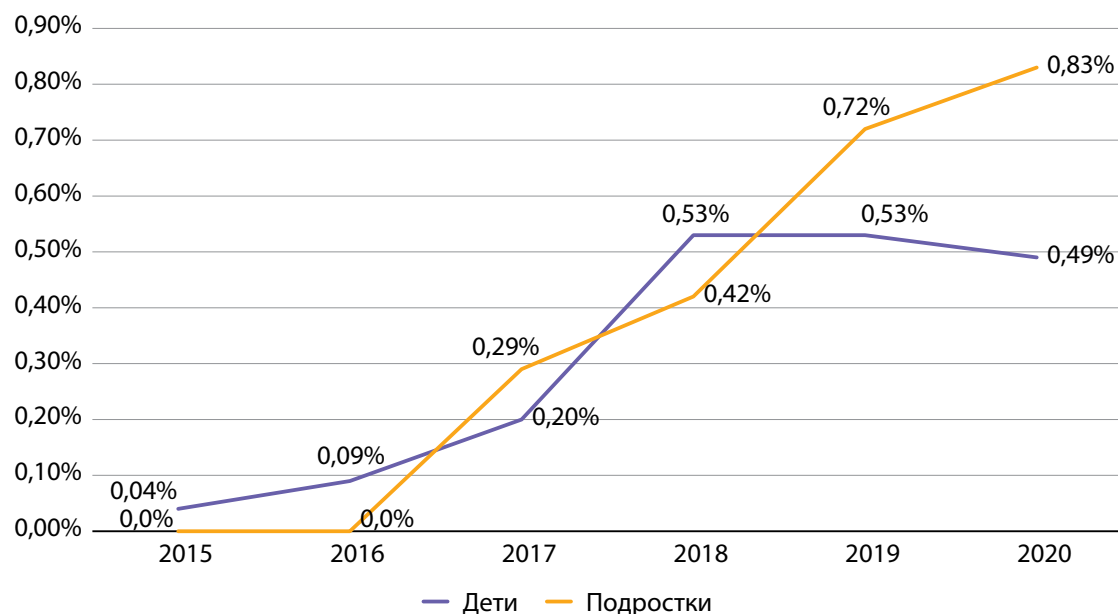


Рисунок 10. Динамика частоты встречаемости тяжелых гипогликемий у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа по данным ФРСД с 2015 по 2020 гг. (% от числа больных).

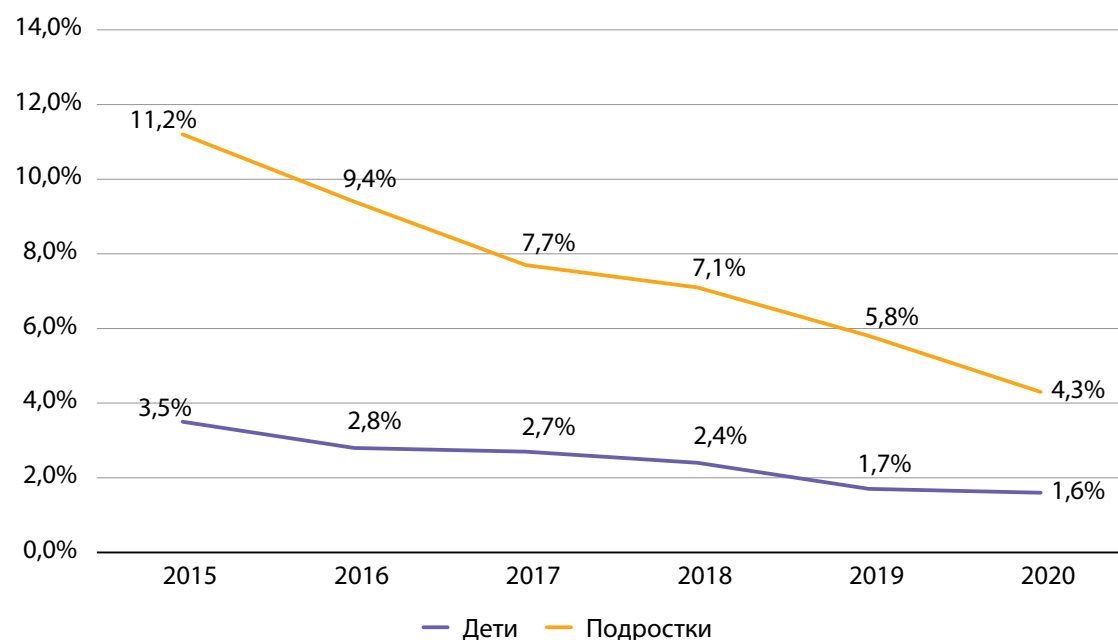


Рисунок 11. Динамика частоты встречаемости ретинопатии у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа по данным Московского сегмента ФРСД с 2015 по 2020 гг. (% диспансерной группы).

выражении. Данная ситуация в детском и подростковом возрасте — это, в том числе, неизбежная сторона усилий по достижению целевых показателей самоконтроля, необходимого для профилактики развития инвалидизирующих и смертельных осложнений СД1, особенно при достижении целевого показателя HbA_{1c} менее 7%. Рост доли пациентов с тяжелыми гипогликемиями ни в коей мере не отменяет необходимости достижения целей гликемического контроля, но требует дополнительного обучения пациентов и членов их семьи, применения современных средств мониторинга гликемии.

Частота тяжелых гипогликемий в Москве по данным 2016 г. была значительно ниже таковой в среднем по РФ (в РФ в 2016 г. среди детей 0,3%, среди подростков 0,7% [9]), что может объясняться большими возможностями по обучению пациентов и их родителей, а также высоким уровнем обеспеченности средствами самоконтроля гликемии.

При оценке динамики частоты встречаемости диабетической ретинопатии обращает на себя внимание выраженный тренд на снижение данного показателя как среди детей, так и среди подростков. Так, среди детей данный показатель снизился за период наблюдения в 2,2 раза, среди подростков — в 2,6 раза (рис. 11). По сравнению со средними показателями распространенности данного осложнения в 2016 г. в РФ отмечаются сопоставимые данные (в РФ частота ретинопатии в 2016 г. составляла среди детей 2,7%, среди подростков — 9,8% [9]).

За время наблюдения частота диабетической нефропатии среди детей снизилась на 33,4% (с 1,5 до 0,9%), среди подростков — на 47,6% (с 6,2 до 4,2%) (рис. 12). По данным ФРСД по РФ, частота нефропатии в 2016 г. составляла 1,4% среди детей и 8,5% среди подростков [9]. Таким образом, не отмечалось существенных различий по частоте встречаемости данного осложнения

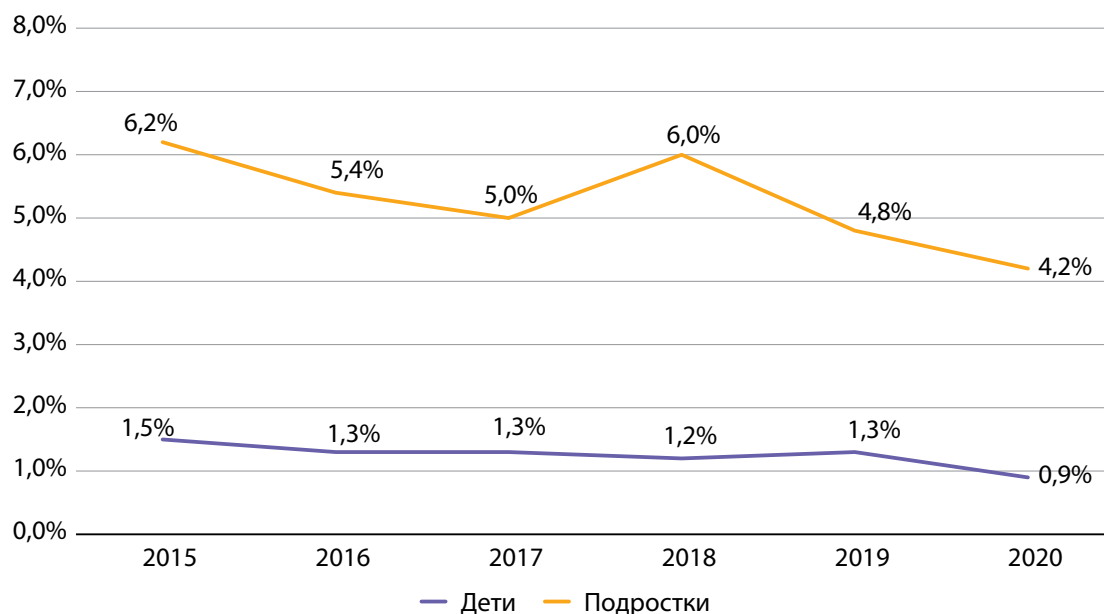


Рисунок 12. Динамика частоты встречаемости нефропатии у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа по данным Московского сегмента ФРСД с 2015 по 2020 гг. (% диспансерной группы)

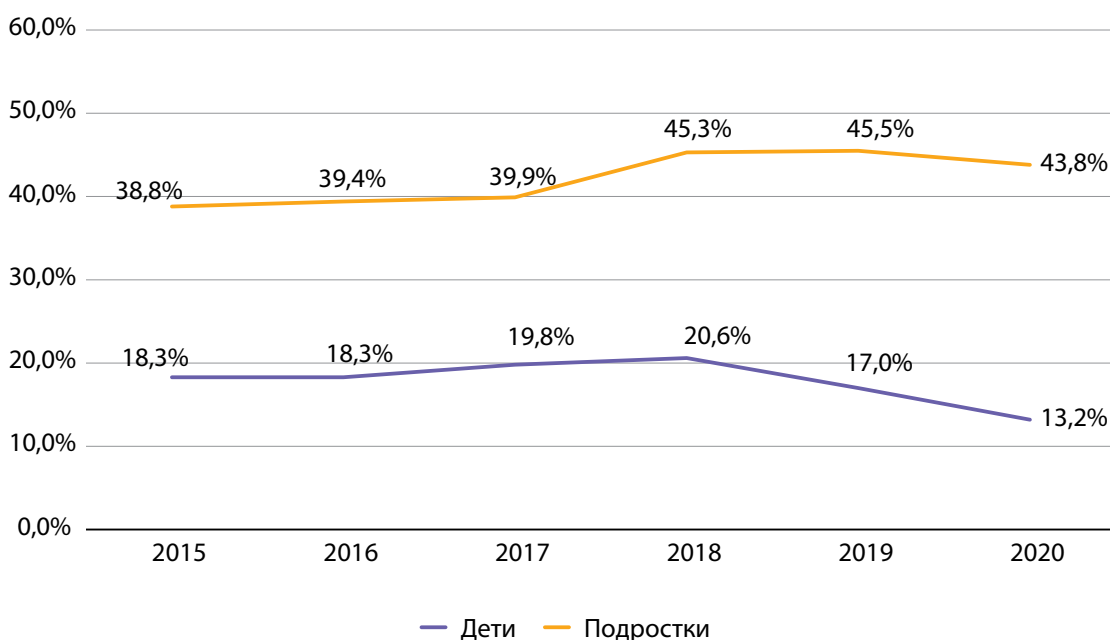


Рисунок 13. Динамика частоты встречаемости нейропатии у детей и подростков с сахарным диабетом 1 типа по данным Московского сегмента ФРСД с 2015 по 2020 гг. (% диспансерной группы).

среди детей в Москве в среднем по РФ, при этом среди подростков в Москве данное осложнение встречалось в 1,6 раза реже.

При анализе частоты встречаемости диабетической нейропатии обращают на себя внимание тенденция к постоянному росту данного показателя среди подростков (на 37,2% за период наблюдения) и относительно стабильные показатели с тенденцией к снижению за последние 3 года среди детей (на 12,0%) (рис. 13). По сравнению с данными по РФ за 2016 г. можно отметить, что частота нейропатии среди детей в Москве в 2016 г. была в 1,8 раза выше, чем в среднем по РФ (10,9% [9]), а среди подростков сопоставима с данными по РФ (40,5% [9]). Более высокая частота диагностики нейропатии в детском возрасте может быть обусловлена лучшими диагностическими возможностями по ранней диагностике данного осложнения в г. Москве.

ОБСУЖДЕНИЕ

За последние десятилетия произошли глобальные изменения в подходах к терапии СД1. К таким изменениям можно отнести внедрение в клиническую практику аналогов инсулина, инсулиновых помп и мониторинга уровня глюкозы. При этом, хотя и наблюдается рост доли пациентов с уровнем $HbA_{1c} < 8,0\%$, но только среди детей. Доля подростков, не достигающих целей терапии, по-прежнему остается высокой.

Тем не менее преимущества внедрения в ежедневную клиническую практику новых препаратов инсулина и современных электронных устройств для введения инсулина и мониторинга уровня глюкозы доказательно продемонстрированы снижением частоты встречаемости диабетических ком и ДКА, а также диабетической ретинопатии, нейропатии и нефропатии (только среди детей). При этом

побочным эффектом стремления к достижению более низких цифр гликемии может являться повышение числа тяжелых гипогликемий, хотя общее их количество в абсолютном выражении невелико (в масштабах г. Москвы).

Одновременный процесс снижения частоты встречаемости нейропатии (на фоне улучшения показателей гликемического контроля и снижения частоты ретинопатии и нефропатии) у детей и рост данного показателя среди подростков может говорить как о гипердиагностике данного осложнения, обусловленной в большей степени социальными, нежели медицинскими причинами (стремление сохранить социальные льготы при достижении 18-летнего возраста), так и об инструментальных возможностях доклинического скрининга осложнений СД1 в медицинских организациях Москвы.

Клиническая значимость результатов

Представленные данные демонстрируют положительные результаты медицинского сопровождения детей и подростков в медицинских организациях Москвы. При этом ведение подростков, страдающих СД1, требует дополнительного анализа и обсуждения, возможно, с рассмотрением вопроса разработки профильной программы их динамического наблюдения, с учетом необходимости психологической и социальной поддержки пациентов и членов их семей.

Ограничения исследования

Необходимо отметить, что динамика всех эпидемиологических показателей СД напрямую связана с качеством выявления данной патологии и последующим качеством внесения данных в ФРСД. Уникальная особенность СД1 у детей и подростков в этом отношении заключается в том, что выявляемость данного заболевания составляет практически 100% (в отличие от СД2 у взрослых), поэтому своевременное внесение данных в ФРСД позволяет иметь практически полную картину ситуации с распространенностью и заболеваемостью.

Изложенные выше данные, демонстрирующие высокие темпы прироста распространенности СД1 как среди детей, так и среди подростков, при стабильных или даже снижающихся показателях заболеваемости могут объясняться различным качеством заполнения ФРСД в разные годы. Интенсификация работы по внесению данных в течение последних 3 лет привела к значительному увеличению числа больных в ФРСД и росту показателя «распространенность». Однако это произошло не только за счет введения в ФРСД информации о впервые выявленных больных СД1, формирующих показатель «заболеваемость», но и за счет внесения информации о больных, ранее состоявших на учете в медицинских организациях. Дальнейшее повышение своевременности и качества

ввода данных в ФРСД позволит получить максимально приближенную к реальности информацию о динамике распространенности и заболеваемости СД1.

Направления дальнейших исследований

В продолжение данного исследования считаем целесообразным более подробно проанализировать зависимость степени достижения целей гликемического контроля от использования современных устройств для мониторинга уровня глюкозы и непрерывной подкожной инфузии инсулина, приобретающих всю большую распространенность в детской практике терапии СД1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наша работа демонстрирует текущее состояние медицинского сопровождения детей и подростков в медицинских организациях Москвы и может выступать отправной точкой для формулировки основных направлений дальнейшей организационной работы, направленной на достижение целей гликемического контроля у максимального числа детей и подростков с СД1 г. Москвы, а также на снижение риска развития как острых, так и отдаленных осложнений данного заболевания. Полученные результаты демонстрируют более низкую эффективность проводимых терапевтических мероприятий в когорте подростков с СД1 и предполагают необходимость отдельных мероприятий, направленных на работу именно с этой популяцией больных.

Можно заключить, что ФРСД является эффективным инструментом в комплексной оценке качества оказания медицинской помощи больным СД1. Эффективность внедрения любых комплексных организационных и клинических решений в дальнейшем также может быть достаточно точно оценена с помощью встроенных в ФРСД аналитических алгоритмов. Своевременное внесение клинических данных пациентов в программу ФРСД, а также повышение качества этих данных могут значительно увеличить эффективность оценки проводимых организационных и клинических мероприятий.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием 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. Петеркова В.А., Шестакова М.В., Безлепкина О.Б., и др. Сахарный диабет 1 типа у детей // *Сахарный диабет*. — 2020. — Т. 23. — №15. — С. 4-40. [Peterkova VA, Shestakova MV, Bezlepkin O B, et al. Diabetes mellitus type 1 in childhood. *Diabetes mellitus*. 2020;23(15):4-40. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12504>
2. IDF DIABETES ATLAS 9-th edition 2019. Chapter 3. Global picture. Diabetes incidence and prevalence in children and adolescents. Available from: <https://diabetesatlas.org/en/>
3. Mayorov AY, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, et al. Epidemiology of acute diabetes complications (coma) according to the Federal Diabetes register of the Russian Federation (2013–2016). *Diabetes mellitus*. 2019;21(6):444-454. doi: <https://doi.org/10.14341/DM10028>
4. Lipatov DV, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, et al. Trends in the epidemiology of diabetic retinopathy in Russian Federation according to the Federal Diabetes Register (2013–2016). *Diabetes mellitus*. 2018;21(4):230-240. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9797>

5. Galstyan GR, Vikulova OK, Isakov MA, et al. Trends in the epidemiology of diabetic foot and lower limb amputations in Russian Federation according to the Federal Diabetes Register (2013–2016). *Diabetes mellitus*. 2018;21(3):170-177. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9688>.
6. Shamkhalova MS, Vikulova OK, Zheleznyakova AV, et al. Trends in the epidemiology of chronic kidney disease in Russian Federation according to the Federal Diabetes Register (2013–2016). *Diabetes mellitus*. 2018;21(3):160-169. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9687>.
7. Dedov II, Shestakova MV, Peterkova VA, et al. Diabetes mellitus in children and adolescents according to the Federal diabetes registry in the Russian Federation: dynamics of major epidemiological characteristics for 2013–2016. *Diabetes mellitus*. 2018;20(6):392-402. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9460>.
8. Dedov II, Shestakova MV, Vikulova OK, et al. Diabetes mellitus in Russian Federation: prevalence, morbidity, mortality, parameters of glycaemic control and structure of glucose lowering therapy according to the Federal Diabetes Register, status 2017. *Diabetes mellitus*. 2018;21(3):144-159. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9686>.
9. Дедов И.И., Шестакова М.В., Петеркова В.А., и др. Сахарный диабет у детей и подростков по данным Федерального регистра Российской Федерации: динамика основных эпидемиологических характеристик за 2013–2016 гг. // *Сахарный диабет*. — 2017. — Т. 20. — №6. — С. 392-402. [Dedov II, Shestakova MV, Peterkova VA, et al. Diabetes mellitus in children and adolescents according to the Federal diabetes registry in the Russian Federation: dynamics of major epidemiological characteristics for 2013–2016. *Diabetes mellitus*. 2017;20(6):392-402. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9460>.

Рукопись получена: 03.08.2021. Одобрена к публикации: 08.10.2021. Опубликовано online: 31.12.2021.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Демидов Николай Александрович**, к.м.н., врач-эндокринолог [Nikolay A. Demidov, MD, PhD]; адрес: 108811, г. Московский, мкр. 3, стр 7 [address: 7 bld., 3 microdistr., Moscovskii city, Moscow, 108811, Russian Federation]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8289-0032>; eLibrary SPIN: 7715-4508; e-mail: nicolay13@mail.ru

Петряйкина Елена Ефимовна, д.м.н., профессор [Elena E. Petryaykina, MD, PhD, Professor]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8520-2378>; eLibrary SPIN: 5997-7464; e-mail: lepet_morozko@mail.ru

Лаптев Дмитрий Никитич, д.м.н., доцент [Dmitry N. Laptev, MD, PhD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4316-8546>; eLibrary SPIN: 2419-4019, e-mail: laptevdn@ya.ru

Воронцова Инна Геннадьевна, врач детский эндокринолог [Inna G. Vorontsova, MD]; eLibrary SPIN: 7829-5461; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8520-2378>; e-mail: vorontsova-inna@mail.ru

Ряполова Юлия Александровна, врач детский эндокринолог [Yulia A. Ryapolova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1074-2396>; eLibrary SPIN: 5664-8280; e-mail: timeyula@yandex.ru

ЦИТИРОВАТЬ

Петряйкина Е.Е., Лаптев Д.Н., Воронцова И.Г., Демидов Н.А., Ряполова Ю.А. Сахарный диабет 1 типа у детей и подростков г. Москвы. Данные Московского сегмента Федерального регистра больных сахарным диабетом 2015–2020 гг. // *Проблемы эндокринологии*. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 113-123. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12795>

TO CITE THIS ARTICLE

Petryaykina EE, Laptev DN, Vorontsova IG, Demidov NA, Ryapolova YA. Diabetes mellitus type 1 in children and adolescents in Moscow. Data from the Moscow Segment of the Federal Register of Diabetic Patients 2015–2020. *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):113-123. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12795>

ОШИБКИ: КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С НАРУШЕНИЕМ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛА 46,XY, ОБУСЛОВЛЕННЫМ МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ NR5A1

[Проблемы эндокринологии. 2020;66(3):62-69. <https://doi.org/10.14341/probl12445>



© Н.Ю. Калинин^{1*}, А.А. Колодкина¹, Н.Ю. Райгородская², А.Н. Тюльпаков¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Россия

В статье «Клинические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с нарушением формирования пола 46,XY, обусловленным мутациями в гене NR5A1», опубликованной в Т. 66 № 3 журнала «Проблемы Эндокринологии» за 2020 г. (doi: 10.14341/probl12445), допущены ошибки:

- в аннотации «Среди обнаруженных мутаций 15 ранее описаны не были» была исправлена информация на «Среди обнаруженных мутаций 22 ранее описаны не были»;
- в подразделе РЕЗУЛЬТАТЫ «У 36 пациентов было выявлено 31 вариант в гене NR5A1, 15 из которых ранее описаны не были» внесены изменения на «У 36 пациентов было выявлено 31 вариант в гене NR5A1, 22 из которых ранее описаны не были»;
- в подразделе РЕЗУЛЬТАТЫ «Среди впервые выявленных вариантов изменений в гене NR1A1 два приводят к образованию стоп-кодона – p.Y197X и p.Y25X, два к сдвигу рамки считывания — p.N385SfsX10 и p.L245AfsX53, что не позволяет сомневаться в их патогенности. Среди ранее неописанных вариантных изменений 5 миссенс-мутаций (p.C283Y, p.C283F, p.H24Q, p.M126K, p.A82T) и 1 синонимичная замена, затрагивающая сайт сплайсинга (E330E), были оценены как патогенные, а 5 других — как вероятно патогенные» была исправлена информация на «Среди впервые выявленных вариантов изменений в гене NR1A1 два приводят к образованию стоп-кодона — p.Y197X и p.Y25X, два к сдвигу рамки считывания — p.N385SfsX10 и p.L245AfsX53, что не позволяет сомневаться в их патогенности. Среди ранее неописанных вариантных изменений 5 миссенс-мутаций (p.C283Y, p.C283F, p.H24Q, p.M126K, p.A82T) и 1 синонимичная замена, затрагивающая сайт сплайсинга (E330E), были оценены как патогенные, а 5 других — как вероятно патогенные»;
- внесены исправления в таблицу 2.

Приведенная ранее информация в статье не должна была сколь-нибудь существенно отразиться на восприятии информации читателями и/или интерпретации представленных данных. Авторы выражают сожаления за неверную информацию в опубликованной ранее статье.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: нарушение формирования пола, гипоспадия, стероидогенный фактор, NR5A1, дисгенезия гонад

ERRATUM: CLINICAL AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH 46,XY DSD DUE TO NR5A1 GENE MUTATIONS

(Probl Endokrinol (Mosk). 2020 Sep 16;66(3):62-69. Russian. doi: 10.14341/probl12445)

© Natalia Yu. Kalinchenko^{1*}, Anna A. Kolodkina¹, Nadezda Yu. Raygorodskaya², Anatoly N. Tiulpakov¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²Saratov State Medical University, Saratov, Russia

In the article some corrections were needed.

Abstract: “Heterozygous SF1 variants were found in 36 out of 310 (11.6%) of cases, among them 15 were not previously described”. has been corrected to read “Heterozygous SF1 variants were found in 36 out of 310 (11.6%) of cases, among them 22 were not previously described”.

Results: “Heterozygous SF1 variants were found in 36 out of 310 (11.6%) of cases, among them 15 were not previously described”, **has been corrected** to read “Heterozygous SF1 variants were found in 36 out of 310 (11.6%) of cases, among them 22 were not previously described”.

Among the newly identified variants in the NR1A1 gene, two lead to the premature stop codon -p. Y197X and p. Y25X, two lead to a shift in the reading frame-p. N385fs and p. L245fs, which does not allow us to doubt their pathogenicity. Among the previously undescribed variant changes, 5 missense mutations (p. C283Y, p. C283B, p. H24Q, p. M126K, p. E81K) and 1 synonymous substitution affecting the splicing site (E330E) were evaluated as pathogenic, and 5 others as probably pathogenic.



Has been corrected to read: Among the newly identified variants in the *NR1A1* gene, two lead to the premature stop codon -p. Y197X and p. Y25X, two lead to a shift in the reading frame — p.N385SfsX10 and p.L245AfsX53, which does not allow us to doubt their pathogenicity

Among the previously undescribed variants, 5 missense mutations (p.C283Y, p.C283F, p.H24Q, p.M126K, p.A82T) and 1 synonymous substitution affecting the splicing site (E330E) were predicted as pathogenic, and 5 others as probably pathogenic by calculating pathogenicity.

The authors apologize for these errors.

KEYWORDS: *SF1; steroidogenic factor 1; gonadal dysgenesis; disorders of sex development; hypospadias; NR5A1*

Таблица 2. Фенотипические, гормональные и молекулярно-генетические характеристики пациентов.

П	П	возраст	фенотип Prader	ДМП	положение гонад	ФСГ/ЛГ	Т нмоль/л /после пробы с ХГ	АМГ нг/мл	генетика	Патогенность*
1	ж	4 мес	III			10.6/2.2	1.3/7.59	12	c.del1273_1278 p.E425_VI426del	П (PS4, PP4, PM2, PVS1)
2	ж	11 мес	III	нет	нет	14/	10.6	13.7	c.1152_1153ins(25) p.N385SfsX10	П (PP4, PM2, PVS1)
3	ж	1 год	III	рудимент	ЛГ-МТ, ППК	6.72/0.21	0.36	17.6	c.671C>T:p.P224L	ВП (PS4, PM2, PP2, PP4)
4	ж	4 года	Ж	есть					c.104G>A:p.G35D	
5	ж	13 лет	II	рудимент					c.1025C>T:p.S342L	ВП (PS4, PM2, PP2, PP4)
6	ж	13 лет	II		БГ				c.1003A>C:p.T335P	ВП (PS4, PM2, PP2, PP4)
7	ж	3 мес	II	нет	ПК	3.93/1.22	1.3/13.3	41	c.848G>T:p.C283F	П (PS4, PM2, PM5, PP2, PP4)
8	ж	16 лет	II	нет	ПК	34/27.7	15.7		c.937C>T:p.R313C	
9	ж	1 г. 4 мес	III	нет	БГ	0.87/0.2	0.1	20	c.103-3C>A	
10	ж	10 мес	II	нет	ПК	3.6/1.5	0.22/24	40	c.70C>G;p.H24D	П (PS4, PM2, PM5, PP3, PM1, PP2, PP4)
11	ж	1 г. 5 мес	III	нет	ППК, ЛГ-мошонка	10.5/2.16	0.5/4.51		c.37T>C:p.C13R	
12	ж	15 лет	Ж		ПБК, ЛПК	85/43	9.5		c.72C>G;p.H24Q	П (PS4, PM2, PM5, PP2, PP4)
13	ж	5 лет	III	нет	ПК				c.251G>A p.R84H	
14	ж	4 мес	Ж	есть	БГ	7.0/0.5	3.17/4.89		c.102+1G>T	
15	ж	10 лет	II	нет	ПК	5.54/0.3	/7.45	8.45	c.106T>C:p.F36L	ВП (PS4, PM2, PP2, PP4)
16	ж	нет инф.	Ж						c.245-1G>T	
17	ж	нет инф.	III						c.848G>A:p.C283Y	П (PS4, PM2, PM5, PP2, PP4)
18	ж	10 лет	II	нет		10.3/3.2	10		c.728_733dupGCATC p.L245AfsX53	П (PP4, PM2, PVS1)
19	ж > м	1,5 мес	IV		ПК	7.2/4.2	3.1/10	18	c.1139-1G>T	
20	м	2 мес	IV			5.03/1.69	4.0/7.8		c.244G>A:p.A82T	П (PS4, PM2, PM5, PP2, PP4)
21	м	1 мес	III	нет	в мошонке	18.6/1.0	0.8	18.5	c.721C>T:p.R241W	ВП (PS4, PM2, PP2, PP4)
22	м	4 г.	IV			1.64/0.1	0.09		c.75C>A:p.Y25X	П (PP4, PM2, PVS1)
23	м	5 мес	IV		ППК, ЛГ-мошонка	5.0/2.2	5.6/33	44	c.937C>T:p.R313C	
24	м	1 мес	III		ПК		4.3		c.937C>T:p.R313C	
25	м	13 лет	III	нет	ППК, ЛГ-мошонка	14.4/5.32	15.9		c.T377A:p.M126K	П (PS4, PM2, PM5, PP2, PP4)
26	м	4 мес	IV		в мошонке	7.2/4.2	2.63		c.C86T:p.T29M	
27	м	10 лет	III	нет	ПК	1.7/0.2	0.26	31	c.591C>A:p.Y197X	П (PP4, PM2, PVS1)

Окончание табл. 2

	ПП	возраст	фенотип Prader	ДМП	положение гонад	ФСГ/ЛГ	Т нмоль/л /после пробы с ХГ	АМГ нг/мл	генетика	Патогенность*
28	м	1 г. 2 мес	III	нет	ПК	2.4/0.48	0.5/14		c.C909G>p.S303R	ВП (PM2, PP3, PM1, PP4)
29	м	15 лет	III	нет	ЛПК, ПГ — в мошонке	9.1/8.1	26.2	42	c.G938A>p.R313H	
30	м	18 лет	III	нет	ПК	8/5.5	18.3	0.6	c.251G>A;p.R84H	
31	м	12 мес	III	нет		1.1/0.2	0.2		c.1289G>A;p.S430N	ВП (PM2, PM5, PP3, PM1, PP4)
32	м	11 лет	III			2.64/0.19	0.27		c.962G>T;p.G321V	ВП (PM2, PP3, PM1, PP4)
33	м	5 мес	IV		ПК	2.3/0.2	0.03/4.6	60.4	c.251G>A;p.R84H	
34	м	18 лет	IV	нет	ППК, ЛГ — мошонка	9.6/6.9	11/20.8		c.951delC;p. H317QfsX17	П (PP4, PM2, PVS1)
35	м	16 лет	III	нет	ПК	8/5.5	15.4		c.951delC;p. H317QfsX17	П (PP4, PM2, PVS1)
36	м	нет инф.	III						c.990G>A;p.E330E	П (PM2 PVS1 PP4)

Примечания: Т – тестостерон; ЛГ — левая гонада; ПГ — правая гонада; МТ — малый таз; ЛПК — левосторонний паховый крипторхизм; ППК — правосторонний паховый крипторхизм; БГ — большая губа; * — патогенность определена для впервые выявленных вариантных изменений; П — патогенная мутация, ВП — вероятно патогенная, в скобках указаны коэффициенты (PP, PM и др.) для расчета патогенности [12, 13]; ж > м — смена пола с женского на мужской; АМГ >28 нг/мл — норма для мальчиков до 1 года [23].

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

***Калинченко Наталья Юрьевна**, к.м.н. [Natalia Yu. Kalinchenko, MD, PhD,] адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-2000-7694>; eLibrary SPIN: 6727-9653; e-mail: kalinnat@rambler.ru

Колодкина Анна Александровна, к.м.н. [Anna A. Kolodkina, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7736-5372>; SPIN-код: 6705-6630; e-mail: anna_kolodkina@mail.ru

Райгородская Надежда Юрьевна, д.м.н. [Nadezda Y. Raygorodskaya, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0361-5329> SPIN-код: 4227-4358; e-mail: nraygorodskaya@gmail.com

Тюльпаков Анатолий Николаевич, д.м.н. [Anatoly N. Tiulpakov, MD, PhD] Russia; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8500-4841>; SPIN-код: 8396-1798; e-mail: anatolytiulpakov@gmail.com

ЦИТИРОВАТЬ:

Калинченко Н.Ю., Колодкина А.А., Райгородская Н.Ю., Тюльпаков А.Н. Ошибки: Клинические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с нарушением формирования пола 46,XY, обусловленным мутациями в гене NR5A1. [проблемы эндокринологии 2020;66(3):62-69. doi: 10.14341/probl12445] // Проблемы эндокринологии. — 2021. — Т. 67. — №6. — С. 124-126. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12848>

TO CITE THIS ARTICLE:

Kalinchenko NY, Kolodkina AA, Raygorodskaya NY, Tiulpakov AN. Erratum: clinical and molecular characteristics of patients with 46,xy dsd due to nr5a1 gene mutations (Probl Endokrinol (Mosk). 2020 Sep 16;66(3):62-69. Russian. doi: 10.14341/probl12445). *Problems of Endocrinology*. 2021;67(6):124-126. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12848>

