

TOM 70 N°6 2024  
2024 VOL. 70 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](http://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

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

# Проблемы Эндокринологии

Том 70, №6

Ноябрь-Декабрь

2024

## ДВУХМЕСЯЧНЫЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

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 Грайвороновский пр-д, дом 4

Зав. редакцией Е.В. Шереметьева

Верстка А.И. Тюрина  
Оформление А.И. Тюрина  
Корректор Н.П. Тарасова  
Дизайн обложки А.Н. Чулин

Сдано в набор 14.11.2024 г.  
Подписано в печать 30.12.2024 г.  
Формат 60X90/8  
Печать офсетная  
Усл. печ. лист 8. Тираж 2500 экз.  
Отпечатано с готовых диапозитивов

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

**ПОДПИСКА:**

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

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР**

ДЕДОВ И.И., академик РАН (Москва, РФ)

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА**

МЕЛЬНИЧЕНКО Г.А., академик 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)  
БЕЛЬЦЕВИЧ Д.Г., д.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)  
КИСЕЛЕВА Т.П., д.м.н., проф. (Екатеринбург, 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)  
МОРУГОВА Т.В., д.м.н., проф. (Уфа, РФ)  
МКРТУМЯН А.М., д.м.н., проф. (Москва, РФ)  
ПЕТЕРКОВА В.А., академик РАН (Москва, РФ)  
ПЕТУНИНА Н.А., д.м.н., проф. (Москва, РФ)  
РОЖИНСКАЯ Л.Я., 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., академик РАН (Москва, РФ)  
УГРЮМОВ М.В., академик РАН (Москва, РФ)  
ФАДЕЕВ В.В., д.м.н., проф. (Москва, РФ)  
ХАДАРЦЕВА Е.Л. (Республика Северная Осетия-Алания, РФ)  
ШЕПЕЛЬКЕВИЧ А.П., д.м.н., проф. (Минск, Республика Беларусь)  
NEUMANN H.P.H., проф. (Германия)

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

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

## FOUNDERS & PUBLISHER

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

## INDEXATION

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

SCOPUS metrics	CiteScore 2021	<b>0.6</b>
	SJR 2021	<b>0.135</b>
	SNIP 2021	<b>0.365</b>

## EDITORIAL CONTACT

**Address:** 11, Dmitriya Ul'yanova street, Moscow, Russia, 117036  
**E-mail:** [probl@endojournals.ru](mailto: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** – Council of science editors  
**EASE** – European Association of Science Editors  
See journal's code of conduct:  
<https://probl-endojournals.ru/dia/about/editorialPolicies#custom-1>

# Problems of Endocrinology

Vol. 70 Issue 6 November-December 2024

## 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. Bezlepikina, 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)  
BELTSEVICH D.G., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russia)  
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)  
FADEYEV V.V., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russian Federation)  
KISELEVA T.P., MD, PhD, Prof. (Ekaterinburg, 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)  
MORUGOVA T.V., MD, PhD, Prof. (Ufa, 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)  
ROZHINSKAYA L.Y., MD, PhD, Prof. (Moscow, Russia)  
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/>

# СОДЕРЖАНИЕ TABLE OF CONTENTS

КЛИНИЧЕСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ	CLINICAL ENDOCRINOLOGY
Т.И. Ионова, Р.А. Черников, И.В. Слепцов, Д.М. Бузанаков, С.М. Ефремов, Т.П. Никитина, И.С. Тюлюбаев, А.В. Золотуха, К.А. Бубнов, А.А. Виноградова, В.В. Скворцов, В.Ф. Русаков <b>КАЧЕСТВО ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗОМ ДО И В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ И ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЕГО УЛУЧШЕНИЕ</b>	Ionova T.I., Chernikov R.A., Sleptsov I.V., Buzanakov D.M., Efremov S.M., Nikitina T.P., Tyulyubaev I.S., Zolotukho A.V., Bubnov K.A., Vinogradova A.A., Skvortsov V.V., Rusakov V.F. <b>QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM BEFORE AND AT DIFFERENT TIME-POINTS AFTER SURGERY AND FACTORS ASSOCIATED WITH ITS IMPROVEMENT</b>
М.Ю. Юкина, Е.А. Трошина, Л.С. Урусова, Н.Ф. Нуралиева, Л.В. Никанкина, В.А. Иоутси, О.Ю. Реброва, Н.Г. Мокрышева <b>ПОИСК НОВЫХ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МАРКЕРОВ ИНСУЛИНОМЫ</b>	Yukina M.Y., Troshina E.A., Urusova L.S., Nuralieva N.F., Nikankina L.V., Ioutsi V.A., Rebrova O.Y., Mokrysheva N.G. <b>SEARCH FOR NEW IMMUNOHISTOCHEMICAL AND CIRCULATING MARKERS OF INSULINOMA</b>
А. Шевэ, М.М. Гаджимурадова, Д.Г. Бельцевич, А.Н. Романова, К.Ш. Бегова, Х.В. Багирова, А.К. Эбзеева, Г.А. Мельниченко <b>ТРАНСКОРТИН: ЕГО СВОЙСТВА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА</b>	Chevais A., Gadzhimuradova M.M., Beltsevich D.G., Romanova A.N., Begova K.S., Bagirova H.V., Ebzееva A.K., Melnichenko G.A. <b>THE FUNCTIONAL ROLE AND PROPERTIES OF TRANSCORTIN IN THE HUMAN BODY</b>
Д.В. Реброва, В.Ф. Русаков, Л.М. Краснов, Е.А. Федоров, И.К. Чинчук, Н.В. Ворохобина, Ш.Ш. Шихмагомедов, А.А. Семенов, Р.А. Черников, И.В. Слепцов, Г.И. Гафтон, Е.Н. Имянитов <b>МЕТАСТАТИЧЕСКАЯ ФЕОХРОМОЦИТОМА ПРИ СИНДРОМЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЭНДОКРИННОЙ НЕОПЛАЗИИ 2А ТИПА</b>	Rebrova D.V., Rusakov V.F., Krasnov L.M., Fedorov E.A., Chinchuk I.K., Vorokhobina N.V., Shikhmagomedov S.S., Semenov A.A., Chernikov R.A., Sleptsov I.V., Gafton G.I., Imyanitov E.N. <b>METASTATIC PHEOCHROMOCYTOMA IN MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 2A</b>
Е.О. Мамедова, О.О. Голоунина, Ж.Е. Белая <b>КОРРЕКЦИЯ ОБЩЕГО КАЛЬЦИЯ В КРОВИ НА АЛЬБУМИН: ЕСТЬ ЛИ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ?</b>	Mamedova E.O., Golounina O.O., Belaya Z.E. <b>ALBUMIN ADJUSTMENT OF TOTAL SERUM CALCIUM — IS IT WORTH DOING?</b>
ОНКОЭНДОКРИНОЛОГИЯ	ONCOENDOCRINOLOGY
Noor Mohammed Naji Al-Timimi, Abed Hassan Baraaj <b>KI-67 AS A PREDICTIVE INDICATOR OF PAPILLARY THYROID CANCER IN IRAQI PATIENTS</b>	Noor Mohammed Naji Al-Timimi, Abed Hassan Baraaj <b>KI-67 AS A PREDICTIVE INDICATOR OF PAPILLARY THYROID CANCER IN IRAQI PATIENTS</b>
БОЛЕЗНИ КОСТНОЙ И ЖИРОВОЙ ТКАНИ	BONES & ADIPOSE TISSUES DISEASES
Б.И. Ялаев, А.В. Новиков, И.Р. Миннихметов, Р.И. Хусаинова <b>РАЗРАБОТКА ПРОГНОСТИЧЕСКИХ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ НИЗКОГО УРОВНЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОСЕТЕВОГО ОБУЧЕНИЯ</b>	Yalaev B.I., Novikov A.V., Minniakhmetov I.R., Khusainova R.I. <b>DEVELOPMENT OF PROGNOSTIC CLINICAL AND GENETIC MODELS OF THE RISK OF LOW BONE MINERAL DENSITY USING NEURAL NETWORK TRAINING</b>
К.А. Чубакова, Е.М. Каменских, Т.В. Саприна <b>ЗНАЧИМОСТЬ И МЕТОДОЛОГИЯ МОНИТОРИНГА КАЛЬЦИЕМИИ ПРИ НАРУШЕНИЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА: ВЫЗОВЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ</b>	Chubakova K.A., Kamenskikh E.M., Saprina T.V. <b>SIGNIFICANCE AND METHODOLOGY OF MONITORING CALCEMIA IN DISORDERS OF MINERAL METABOLISM: CHALLENGES AND PROSPECTS</b>
ДЕТСКАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ	PEDIATRIC ENDOCRINOLOGY
Н.Ю. Калинин, Н.А. Макрецкая, А.А. Колодкина, В.А. Иоутси, В.М. Петров, А.Н. Тюльпак <b>КЛИНИЧЕСКАЯ, ГОРМОНАЛЬНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛУЧАЕВ НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛА ПРИ КАРИОТИПЕ 46,XY, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВАРИАНТАМИ В ГЕНЕ HSD17B3</b>	Kalinchenko N.Y., Makretskaya N.A., Kolodkina A.A., Ioutsi V.A., Petrov V.M., Tiulpakov A.N. <b>CLINICAL, HORMONAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH 46,XY DISORDERS OF SEX DEVELOPMENT ASSOCIATED WITH VARIANTS IN THE HSD17B3 GENE</b>
Н.А. Друккер, Н.В. Палиева, Ю.А. Петров, В.А. Попова <b>ВЗАИМОСВЯЗЬ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНО-ЭКЗОГЕННОГО ОЖИРЕНИЯ И ГОРМОНАЛЬНО-МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ С ЗАДЕРЖКОЙ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ</b>	Drukker N.A., Palieva N.V., Petrov Y.A., Popova V.A. <b>THE RELATIONSHIP OF CONSTITUTIONAL-EXOGENOUS OBESITY AND HORMONAL-MICROELEMENT STATUS IN ADOLESCENT BOYS WITH DELAYED SEXUAL DEVELOPMENT</b>
Ю.Л. Скородок, И.Ю. Иоффе, Е.В. Плотникова, И.И. Нагорная, Л.А. Желенина, А.В. Кожевникова <b>НОВЫЙ СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГИПОГОНАДОТРОПНОГО ГИПОГОНАДИЗМА И КОНСТИТУЦИОНАЛЬНОЙ ЗАДЕРЖКИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ У ЮНОШЕЙ 13,5–17 ЛЕТ</b>	Skorodok Y.L., Ioffe I.Y., Plotnikova E.V., Nagornaya I.I., Kozhevnikova A.V., Zhelenina L.A. <b>A NEW WAY FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HYPOGONADOTROPIC HYPOGONADISM AND CONSTITUTIONAL DELAY OF PUBERTY IN ADOLESCENT MEN AGED 13.5–17 YEARS</b>
РЕПРОДУКТИВНАЯ ЭНДОКРИНОЛОГИЯ	REPRODUCTIVE ENDOCRINOLOGY
Ю.С. Абсатарова, Ю.С. Евсеева, Е.Н. Андреева, З.Т. Зураева, Е.В. Шереметьева, О.Р. Григорян, Р.К. Михеев <b>ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОК С АМЕНОРРЕЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)</b>	Absatarova Y.S., Evseeva Y.S., Andreeva E.N., Zuraeva Z.T., Sheremetyeva E.V., Grigoryan O.R., Mikheev R.K. <b>IMMUNOLOGICAL STATUS IN PATIENTS WITH AMENORRHEA (LITERATURE REVIEW)</b>

## КАЧЕСТВО ЖИЗНИ БОЛЬНЫХ ПЕРВИЧНЫМ ГИПЕРПАРАТИРЕОЗОМ ДО И В РАЗНЫЕ СРОКИ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ И ФАКТОРЫ, ОПРЕДЕЛЯЮЩИЕ ЕГО УЛУЧШЕНИЕ



© Т.И. Ионова<sup>1</sup>, Р.А. Черников<sup>1</sup>, И.В. Слепцов<sup>1</sup>, Д.М. Бузанаков<sup>1</sup>, С.М. Ефремов<sup>1</sup>, Т.П. Никитина<sup>1\*</sup>, И.С. Тюлюбаев<sup>1</sup>, А.В. Золотуха<sup>1</sup>, К.А. Бубнов<sup>2</sup>, А.А. Виноградова<sup>2</sup>, В.В. Скворцов<sup>2</sup>, В.Ф. Русаков<sup>3,1</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Клиника высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Кафедра терапии (усовершенствования врачей), ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова», Санкт-Петербург, Россия

**ОБОСНОВАНИЕ.** Для комплексной оценки эффекта хирургического лечения у больных первичным гиперпаратиреозом (ПГПТ) актуальным является анализ закономерностей изменений качества жизни и симптомов при длительном мониторинге после паратиреоидэктомии (ПТЭ).

**ЦЕЛЬ.** Цель данного исследования заключалась в изучении качества жизни больных ПГПТ до и в разные сроки после ПТЭ и определении факторов, связанных с его улучшением после операции.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В рамках проспективного наблюдательного исследования все пациенты заполняли опросники до, через 3, 12, 24 мес и более после операции. Статистический анализ проводили с помощью t-критерия Стьюдента, U-теста Манна-Уитни в соответствии с характеристиками данных, критерия  $\chi^2$ , метода обобщенных оценочных уравнений (generalized estimating equations, GEE) и бинарной логистической регрессии. Различия рассматривали значимыми при уровне  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** В исследование включены 82 пациента (средний возраст 53,7 года, 95% — женщины) с манифестной (73%) и бессимптомной (27%) формами заболевания. Медиана длительности наблюдения — 20 (3–31) мес. Через 3 мес после ПТЭ имело место значимое увеличение показателей качества жизни по всем шкалам общего опросника SF-36, кроме шкалы боли, по сравнению с их предоперационными значениями с последующим сохранением положительных изменений в отдаленные сроки после операции (GEE,  $p < 0,001$ ). Установлено существенное увеличение суммарного показателя, физического и психического компонентов по специальному опроснику RHRQoL после ПТЭ (GEE,  $p < 0,05$ ). В отдаленные сроки после операции показатели по всем шкалам SF-36, кроме ролевого физического функционирования ( $p = 0,011$ ), стали сопоставимы с группой сравнения, соответствующей группе пациентов по полу и возрасту ( $n = 60$ ,  $52,5 \pm 9,2$  года, 95% — женщины). Независимым предиктором значимого улучшения качества жизни после ПТЭ является предоперационный уровень психического компонента по опроснику RHRQoL ( $p = 0,001$ ) — чем ниже его уровень, тем больше вероятность значимого улучшения качества жизни по суммарному показателю RHRQoL после операции (ОШ = 0,924,  $p = 0,004$ ).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** ПТЭ сопровождается существенным улучшением качества жизни и регрессией симптомов у больных ПГПТ в течение длительного периода после операции. Независимым предиктором значимого улучшения качества жизни после ПТЭ является предоперационный уровень психологической составляющей качества жизни.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** первичный гиперпаратиреоз; паратиреоидэктомия; качество жизни; симптомы.

## QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH PRIMARY HYPERPARATHYROIDISM BEFORE AND AT DIFFERENT TIME-POINTS AFTER SURGERY AND FACTORS ASSOCIATED WITH ITS IMPROVEMENT

© Tatiana I. Ionova<sup>1</sup>, Roman A. Chernikov<sup>1</sup>, Ilya V. Sleptsov<sup>1</sup>, Dmitry M. Buzanakov<sup>1</sup>, Sergey M. Efremov<sup>1</sup>, Tatyana P. Nikitina<sup>1\*</sup>, Ivan S. Tyulyubaev<sup>1</sup>, Anna V. Zolotukho<sup>1</sup>, Kirill A. Bubnov<sup>2</sup>, Arina A. Vinogradova<sup>2</sup>, Vladimir V. Skvortsov<sup>2</sup>, Vladimir F. Rusakov<sup>3,1</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg State University Hospital, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>3</sup>Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russia

**BACKGROUND:** For a comprehensive assessment of the effect of surgery in patients with primary hyperparathyroidism (PHPT) it sounds reasonable to evaluate quality of life (QoL) and symptoms in PHPT patients at long-term after parathyroidectomy (PTE). The purpose of this study was to study the quality of life of patients with PHPT before and at different times after PTE and to determine the factors associated with its improvement after surgery.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

© Endocrinology Research Centre, 2024

Received: 22.10.2023. Accepted: 28.12.2023.

Проблемы эндокринологии 2024;70(6):4-14

doi: <https://doi.org/10.14341/probl13386>

Problems of Endocrinology. 2024;70(6):4-14



**MATERIALS AND METHODS:** During prospective observational study, patients filled out QoL questionnaires before, 3, 12, 24 months or more after surgery. Statistical analysis was performed using the Student's t-test, the Mann-Whitney U-test,  $\chi^2$  criterion, the method of generalized estimating equations (GEE) and binary logistic regression. The differences were considered significant at the level of  $p < 0.05$ .

**RESULTS:** The study included 82 patients (mean age 53,7 years, 95% female) with symptomatic (73%) and asymptomatic (27%) PHPT. Median follow-up duration was 20 (3–31) months. At 3 months after PTE, there was a significant increase in QoL for all scales of the generic SF-36 questionnaire, except for the pain scale, compared with their preoperative values, followed by the preservation of positive changes at long term after surgery (GEE,  $p < 0.001$ ). A significant increase in the total index, physical and mental components according to special PHPQoL questionnaire was found after PTE (GEE,  $p < 0.05$ ). At the long term after surgery, scores for all SF-36 scales, except for role physical functioning ( $p = 0.011$ ), became similar with the ones in comparison group adjusted to patients by gender and age ( $n = 60$ ,  $52.5 \pm 9.2$  years, 95% were women). An independent predictor of significant improvement in QoL after PTE was the preoperative level of the mental component according to the PHPQoL questionnaire ( $p = 0.001$ ) — the lower its level, the greater the probability of significant improvement in QoL according to the total PHPQoL index after surgery (OR=0.924,  $p = 0.004$ ).

**CONCLUSION.** PTE is accompanied by significant improvement in QoL and regression of symptoms in patients with PHPT at long term follow-up after surgery. An independent predictor of significant QoL improvement after PTE is the preoperative level of the psychological component of QoL.

**KEYWORDS:** primary hyperparathyroidism; parathyroidectomy; quality of life; symptoms.

## ОБОСНОВАНИЕ

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) — распространенное эндокринное заболевание, характеризующееся избыточной автономной секрецией паратиреоидного гормона (паратгормона, ПТГ) при верхне-нормальном или повышенном уровне кальция крови одной или несколькими околотитовидными железами [1, 2]. ПГПТ проявляется полиорганными нарушениями различной степени выраженности и может сопровождаться разнообразными симптомами, связанными с висцеральными и костными проявлениями, а также с нейро-когнитивными изменениями [3, 4]. ПГПТ может протекать без диагностируемых традиционными методами висцеральных и костных изменений («бессимптомной») и с поражением костей и внутренних органов манифестной («симптомной») формами. Заболевание может приводить к существенному снижению качества жизни, инвалидизации пациентов, повышенному риску преждевременной смерти прежде всего от сердечно-сосудистых причин

В настоящее время паратиреоидэктомия (ПТЭ) является основным и самым эффективным методом лечения ПГПТ и показана всем пациентам с манифестной формой заболевания, пациентам моложе 50 лет при бессимптомной форме, при суточной экскреция кальция выше 10 ммоль или повышении уровня кальция в сыворотке крови на 0,25 ммоль/л. Хирургическое лечение может быть проведено также при бессимптомной форме ПГПТ и отсутствии явных общепринятых показаний к ПТЭ по требованию самого пациента, при этом необходима оценка соотношения риска/пользы от операции [6]. Кроме того, высокий уровень кальция крови может привести к развитию гиперкальциемического криза угрожающего жизни пациента что является абсолютным показанием к проведению ПТЭ при тяжелой гиперкальциемии [2, 5].

Преимущества оперативного лечения заключаются в нормализации фосфорно-кальциевого обмена и устранении ассоциированных с гиперкальциемией симптомов, значимом улучшении состояния костной ткани и почек, сердечно-сосудистой системы и положительных изменениях когнитивных функций у абсолютного большинства прооперированных пациентов [5]. Как резуль-

тат, ПТЭ приводит к улучшению качества жизни пациентов [7, 8].

Качество жизни больного ПГПТ после ПТЭ характеризуется эффектом операции с точки зрения пациента и является одним из критериев эффективности оперативного лечения. В настоящее время имеются зарубежные данные, свидетельствующие о положительных изменениях разных аспектов качества жизни у больных ПГПТ после операции [7, 9–12]. В этих работах проведен анализ степени восстановления разных аспектов функционирования пациентов после операции, изучены изменения качества жизни в разные сроки после хирургического лечения, в том числе, у пациентов с бессимптомным течением болезни и с манифестной формой ПГПТ, а также с разной степенью гиперкальциемии, определены предикторы улучшения качества жизни у больных после операции. Отечественных данных по динамике качества жизни у больных ПГПТ после ПТЭ крайне мало [13, 14].

Ранее нами изучено качество жизни больных ПГПТ до оперативного вмешательства и проведен предварительный анализ изменений качества жизни пациентов после ПТЭ [15]. Также нами продемонстрирована целесообразность и информативность комплексной оценки качества жизни с применением комбинации общего и специальных опросников [16]. Рекомендуемыми специальными инструментами при ПГПТ являются опросник для оценки качества жизни больных ПГПТ — Primary Hyperparathyroidism Quality of Life (PHPQoL) и опросник оценки симптомов после паратиреоидэктомии — Parathyroidectomy Assessment of Symptoms (PAS) [16, 17]. Общим опросником, который является информативным для оценки качества жизни при ПГПТ, является опросник SF-36. Комбинированное использование этих опросников может позволить выявить особенности изменения качества жизни у пациентов с ПГПТ до и после операции.

Остается актуальным изучение закономерностей изменений качества жизни и симптомов у больных ПГПТ при длительном мониторинге после ПТЭ и анализ факторов, которые оказывают влияние на положительные изменения качества жизни после операции, в том числе, изучение влияния исходного качества жизни до ПТЭ на его изменение в послеоперационный период. Данная

информация может быть полезной для обоснования целесообразности оценки качества жизни и симптомов у пациентов с ПГПТ до операции и при последующем наблюдении после ПТЭ для мониторинга состояния пациентов в рутинной клинической практике, а также в выборе лечебной тактики у них.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью исследования являлось изучение качества жизни больных ПГПТ до и в разные сроки после ПТЭ и определение факторов, которые связаны с его улучшением после операции.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и время проведения исследования

Одноцентровое наблюдательное проспективное исследование проводили с сентября 2019-го по сентябрь 2023 г. на базе отделения эндокринной хирургии Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ, Санкт-Петербург.

### Методы

Критерии включения пациентов в исследование были следующими: 1) подтвержденный диагноз ПГПТ; 2) возраст  $\geq 18$  лет; 3) наличие показаний к хирургическому лечению в соответствии с современными клиническими рекомендациями [1]; 4) письменное информированное согласие пациента; 5) способность пациента заполнять опросники. Диагноз ПГПТ был подтвержден на основании результатов клинического, инструментального биохимического исследований. Все иные состояния, которые могли бы имитировать течение ПГПТ, были исключены при предоперационном обследовании. В исследование включали пациентов как с манифестной, так и бессимптомной формами ПГПТ. Манифестная форма характеризуется типичными клиническими проявлениями: специфическим для ПГПТ поражением почек (нефролитиаз, нефрокальциноз), скелета (остеопороз, фиброцистический остеит), верхних отделов желудочно-кишечного тракта (рецидивирующие язвы, панкреатит). Бессимптомная форма характеризуется подтвержденным прежде всего биохимически ПГПТ без скелетных и висцеральных проявлений с неспецифическими жалобами или без них, такими как усталость, бессонница, раздражение и т.д. Не включали в исследование пациентов с неспорадическим ПГПТ. Также критериями исключения являлись наличие выраженных проявлений сопутствующих заболеваний и психических расстройств. Для оценки уровня коморбидности использовали индекс коморбидности Чарлсон [18].

Всем пациентам была выполнена ПТЭ по стандартной методике с двусторонней ревизией шеи. Перед операцией проводили следующие исследования: определяли уровень ионизированного кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ), фосфора, ПТГ сыворотки крови, скорость клубочковой фильтрации, уровень витамина D, клиренс креатинина, суточную экскрецию кальция и фосфора с мочой, ЭКГ, а также выполняли клинический анализ крови и общий анализ мочи, остеоденситометрию. Выполнялись также общепринятые обязательные предоперационные исследования.

При выписке после ПТЭ всем пациентам были даны рекомендации по приему препаратов кальция, альфа-кальцидола или колекальциферола по показаниям под контролем показателей фосфорно-кальциевого обмена. В послеоперационный период уровни  $\text{Ca}^{2+}$ , ПТГ, 25ОНD и другие биохимические параметры контролировались амбулаторно по месту жительства через 3 недели, 3 и 6 месяцев после операции. Пациентам были также даны рекомендации обращаться к специалистам клиники при возникновении каких-либо жалоб. Не было зарегистрировано ни одного случая обращения пациентов по поводу персистирующей/рецидивирующей гиперкальциемии, а также ни одного случая постоянной послеоперационной гипокальциемии.

Для оценки качества жизни и симптомов до операции все пациенты заполняли опросники на бумажных носителях, после операции — дистанционно, с помощью электронных форм через 3 месяца, 12 месяцев, 24 месяца и более после операции.

Для оценки качества жизни использовали общий опросник качества жизни RAND SF-36 и специальный опросник RHPQoL. Наличие и интенсивность симптомов анализировали на основании специального опросника оценки симптомов PAS.

RAND SF-36 — общий опросник, который может использоваться для оценки качества жизни здоровых людей и пациентов с хроническими заболеваниями [19]. Опросник состоит из 36 вопросов, которые формируют 8 шкал: физическое функционирование (ФФ), ролевое физическое функционирование (РФФ), боль (Б), общее здоровье (ОЗ), жизнеспособность (Ж), социальное функционирование (СФ), ролевое эмоциональное функционирование (РЭФ), психическое здоровье (ПЗ). Чем выше показатели по SF-36, тем лучше качество жизни. Для оценки изменения показателей качества жизни у пациентов с ПГПТ после операции проводили сравнение средних показателей по опроснику SF-36 у пациентов через 12 месяцев и более после операции со средними значениями показателей условно-здоровых респондентов того же пола и возраста. Для анализа использовали полученные ранее данные нормативных показателей качества жизни [20].

RHPQoL — специальный опросник качества жизни для пациентов с ПГПТ [16]. Он включает 16 вопросов, каждый из которых оценивается по шкале Ликерта в диапазоне от 0 до 4 (всегда, очень часто, время от времени, очень редко и никогда). Сумму баллов по шкалам Ликерта для 16 вопросов преобразуют с помощью процедуры стандартизации в суммарный показатель качества жизни, значения которого могут варьировать от 0 до 100 — чем выше суммарный показатель, тем лучше качество жизни. Формула для расчета суммарного показателя по опроснику RHPQoL представлена ниже.

Суммарный показатель = номинальное количество баллов по 16 вопросам /  $64 * 100$ .

Таким же способом рассчитывается физический компонент (ФК) качества жизни (стандартизированная сумма баллов по 9 вопросам опросника) и психический компонент (ПК) качества жизни (стандартизированная сумма баллов по 7 вопросам опросника).

ФК = номинальное количество баллов по 9 вопросам /  $36 * 100$

ПК=номинальное количество баллов по 7 вопросам/28 \* 100.

На основании суммарного показателя по опроснику PHPQoL определяли клинически значимое улучшение качества жизни больных в процессе лечения, которое соответствует увеличению суммарного показателя на 9 и более баллов по сравнению с его исходным значением [16]. Значимое улучшение качества жизни устанавливали в том случае, если хотя бы на одном сроке наблюдения регистрировали увеличение суммарного показателя PHPQoL на 9 и более пунктов по сравнению с показателем до операции.

Опросник PAS позволяет оценить 13 симптомов, распространенных при ПГПТ: усталость, жажда, перемены в настроении, боль в суставах, постоянная раздражительность, плохое настроение/депрессия, слабость, кожный зуд, забывчивость, головная боль, боль в животе, боль в костях, проблемы при вставании из положения сидя [17]. Симптомы количественно оценивали по шкале от 0 до 100, «0» обозначает полное отсутствие симптома, «100» — максимальную выраженность симптома, которую можно себе представить. Значение в диапазоне от 40 до 100 баллов рассматривали как значительно выраженный симптом. В исследовании оценивали все 13 симптомов опросника PAS согласно их выраженности от 0 до 100 баллов. Расчет единого показателя выраженности симптомов, предусмотренный в опроснике PAS, не проводили. Анализ динамики симптомов после операции проводили для тех симптомов, которые до операции встречались у более половины пациентов и имели выраженную интенсивность (40–100 баллов).

#### Статистический анализ

Описательная статистика для непрерывных данных была представлена в виде количества наблюдений, средних арифметических значений и стандартных отклонений, медиан, диапазонов, межквартильных диапазонов и 95% доверительных интервалов (ДИ); для категори-

альных переменных данные были представлены в виде частот и долей. Характер распределения количественных переменных определяли с помощью критерия Шапиро-Уилка. Для статистических сравнений использовали t-тест Стьюдента, U-тест Манна-Уитни в соответствии с характеристиками данных и критерий  $\chi^2$ .

Для оценки изменений качества жизни во времени после операции были применены обобщенные оценочные уравнения (GEE). Для изучения связи между параметрами до операции и того, испытал ли пациент значимое улучшение качества жизни после операции, применяли бинарную логистическую регрессию. Для проверки мультиколлинеарности между независимыми переменными использовали корреляции Спирмена. Все переменные, которые не имели сильной корреляции друг с другом (Spearman  $r < 0,8$ ), при уровне статистической значимости  $p < 0,05$  на этапе однофакторного анализа были включены в многомерный регрессионный анализ методом единовременного ввода. Результаты бинарной логистической регрессии представлены в виде отношения шансов (ОШ) с 95% ДИ для каждого предиктора.

Все тесты были двусторонними с уровнем статистической значимости  $p < 0,05$ . Статистический анализ проводился с использованием пакета прикладного программного обеспечения SPSS 23.0.

#### Этическая экспертиза

Исследование одобрено Комитетом по биомедицинской этике Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова СПбГУ (выписка из протокола №08/19 от 15.08.2019).

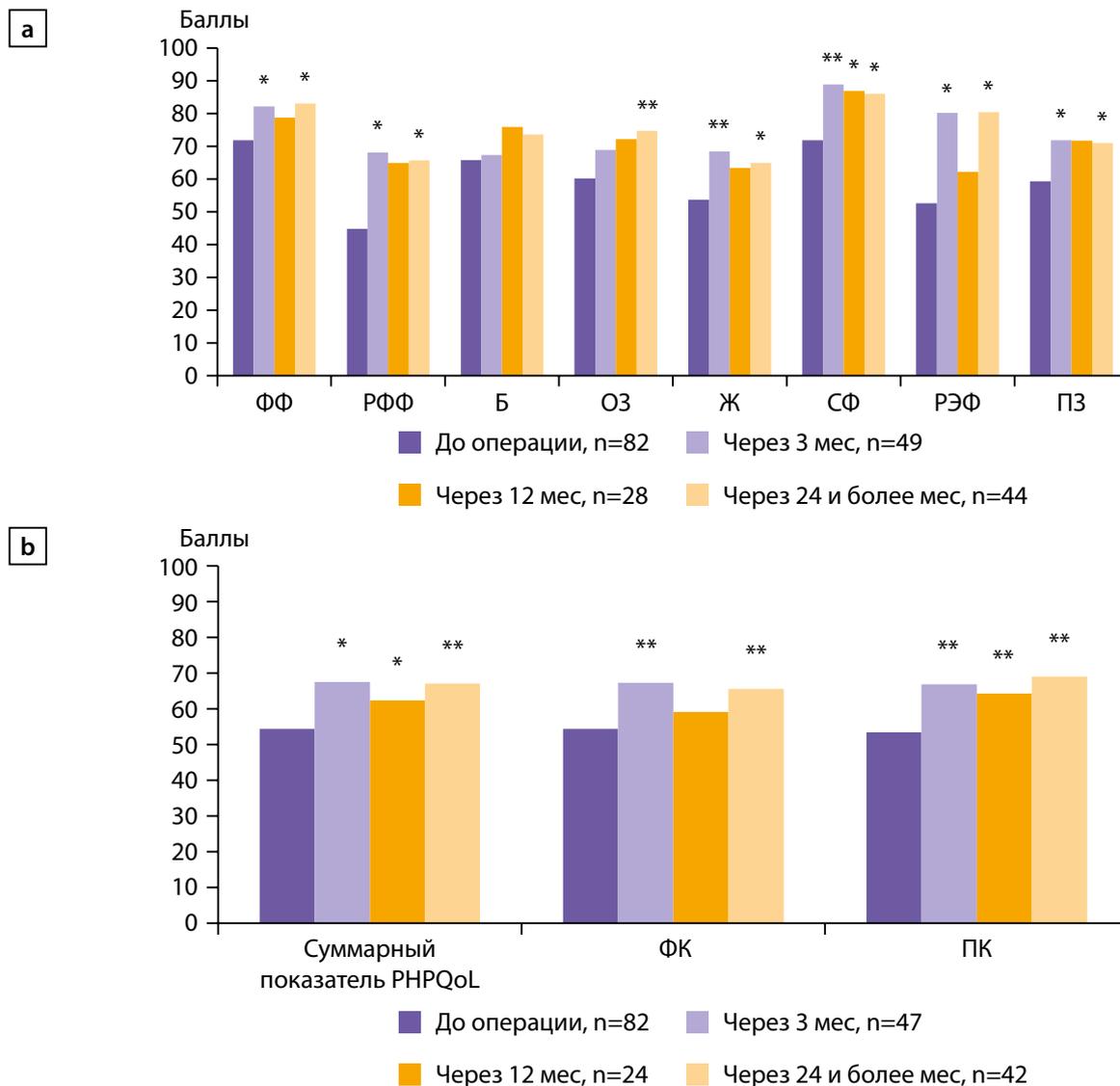
#### РЕЗУЛЬТАТЫ

В анализ включено 82 больных ПГПТ. Средний возраст пациентов составил  $53,7 \pm 10,2$  года, 95% — женщины. Основные характеристики выборки представлены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика выборки пациентов с ПГПТ

Характеристики	Значения
Общее количество, n (%)	82 (100)
Медиана возраста (диапазон), лет	55,5 (21–85)
Соотношение мужчины/женщины, n (%)	4 (4,9)/78 (95,1)
Образование, n (%)	
Среднее/среднее специальное	20 (24,4)
Высшее	62 (74,4)
Медиана ИМТ (диапазон), кг/м <sup>2</sup>	26,5 (19,3–45,4)
Медиана предоперационного уровня Ca <sup>2+</sup> (диапазон), ммоль/л (нормальные значения 1,1–1,3)	1,45 (1,2–2)
Медиана предоперационного уровня ПТГ (диапазон), пмоль/л (нормальные значения 1,6–6,9)	14,9 (7,2–84,5)
Форма ПГПТ, n (%)	
Бессимптомная	22 (26,8)
Манифестная	60 (73,2)
Уровень гиперкальциемии, n (%)	
Незначительная (ионизированный кальций сыворотки $\leq 1,49$ ммоль/л)	55 (67,1)
Умеренная (ионизированный кальций сыворотки 1,5–1,79 ммоль/л)	24 (29,3)
Тяжелая (ионизированный кальций сыворотки $\geq 1,8$ ммоль/л)	3 (3,6)

ИМТ — индекс массы тела; Ca<sup>2+</sup> — ионизированный кальций сыворотки; ПТГ — дооперационный уровень паратгормона плазмы крови; ПГПТ — первичный гиперпаратиреоз.



**Рисунок 1.** Скорректированные по возрасту, форме ПГПТ (манifestная или бессимптомная), уровню гиперкальциемии (легкая или умеренная/тяжелая), а также исходному качеству жизни средние показатели по шкалам опросника SF-36 (а) и по суммарному показателю, ФК и ПК опросника RHPQoL (б) у больных ПГПТ до операции, через 3, 12, 24 и более мес после операции; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ .

Шкалы SF-36: ФФ — физическое функционирование, РФФ — ролевое физическое функционирование, Б — боль, ОЗ — общее здоровье, Ж — жизнеспособность, СФ — социальное функционирование, РЭФ — ролевое эмоциональное функционирование, ПЗ — психическое здоровье; ФК — физический компонент качества жизни по RHPQoL, ПК — психический компонент качества жизни по RHPQoL.

Длительность заболевания на момент включения в исследование составила в среднем  $14,2 \pm 17,8$  мес (медиана — 8,4 мес). У большинства пациентов имелась манифестная форма ПГПТ (72,8%). Умеренная или тяжелая гиперкальциемия выявлена у 33,3% больных. Размеры аденомы околощитовидной железы/желез находились в диапазоне 0,8–6 см. Остеопороз позвоночника/шейки бедра/лучевой кости выявлен у 21 пациента (26,6%), мочекаменная болезнь — у 43 пациентов (54,4%), хроническая болезнь почек (ХБП) ст. 2–4 — у 10 пациентов (12,8%), хроническая сердечная недостаточность — у 18 пациентов (22,2%). Сопутствующая патология имела у 68,3% пациентов, из их числа у 24 пациентов (42,9%) гастроэнтерологическая патология, у 12 (21,4%) — сердечно-сосудистая патология, у 9 (16,1%) — эндокринная патология (диабет 2 типа, нетоксический зоб), у 5 (9%) — патология почек (пиелонефрит, кисты почек) и другие заболевания. Медиана индекса коморбидности — 1 (диапазон 0–7).

#### Изменения качества жизни после хирургического лечения

Медиана длительности наблюдения составила 20 (3–31) мес.

Анализ изменений качества жизни и актуальных симптомов у пациентов в разные сроки после ПТЭ проведен на основании скорректированных средних значений с учетом возможного влияния возраста, формы ПГПТ (манифестная или бессимптомная) и уровня гиперкальциемии (легкая или умеренная/тяжелая), а также исходного качества жизни/выраженности симптомов на динамику показателей.

На рис. 1 представлены скорректированные средние показатели качества жизни по шкалам SF-36 и по суммарному показателю, ФК и ПК опросника RHPQoL у больных ПГПТ до операции, через 3, 12, 24 и более мес после ПТЭ.

До операции наиболее выраженные нарушения качества жизни согласно SF-36 были по шкалам РФФ,

РЭФ и Ж (средние значения  $\leq 50$  баллов из 100). После ПТЭ имело место статистически значимое увеличение показателей по всем шкалам SF-36, кроме шкалы Б, по сравнению с их предоперационными значениями (GEE,  $p < 0,001$ ). Наиболее выраженное улучшение после операции выявлено по шкалам РФФ и РЭФ ( $\Delta = 21$  и 28 баллов, соответственно). Значимые положительные изменения наблюдали уже через 3 мес после операции по всем шкалам, кроме Б и ОЗ. Как видно из полученных данных, улучшение показателей качества жизни, по сравнению с предоперационными, сохранялось в отдаленные сроки после ПТЭ.

В соответствии с данными специального опросника RHPQoL, у 42,7% больных до операции отмечалось низкое качество жизни (26–50 баллов), а у 2,4% больных — очень низкое качество жизни (0–25 баллов). При этом показатель ФК составил  $55,0 \pm 18,1$  балла, ПК —  $52,7 \pm 16,5$  балла. Через 3 мес после ПТЭ установлено существенное увеличение суммарного показателя RHPQoL (GEE,  $p < 0,05$ ), ФК и ПК (GEE,  $p < 0,001$ ), при этом положительные изменения сохранялись через 12 мес и в отдаленные сроки после операции (GEE,  $p < 0,001$ ), (рис. 16). Полученные результаты указывают на положительные изменения как специфических для ПГПТ, так и общих аспектов качества жизни пациентов после хирургического лечения.

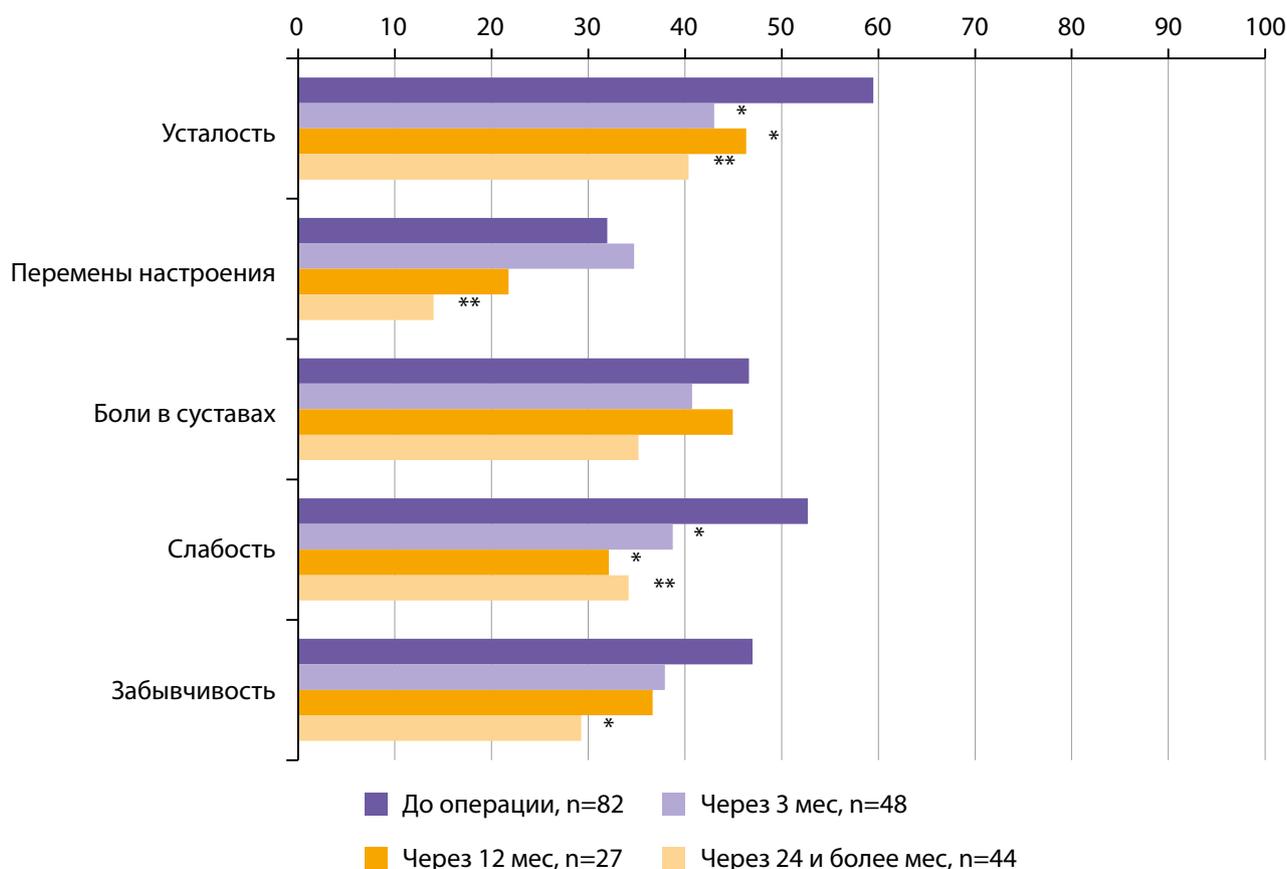
Отметим, что клинически значимое улучшение качества жизни согласно RHPQoL (увеличение на  $\geq 9$  и более пунктов по сравнению с исходным) зарегистрировано

у половины (61%) прооперированных больных. Доля больных с клинически значимым улучшением качества жизни сопоставима в группах пациентов с манифестным (62,7%) и бессимптомным течением ПГПТ (59,1%).

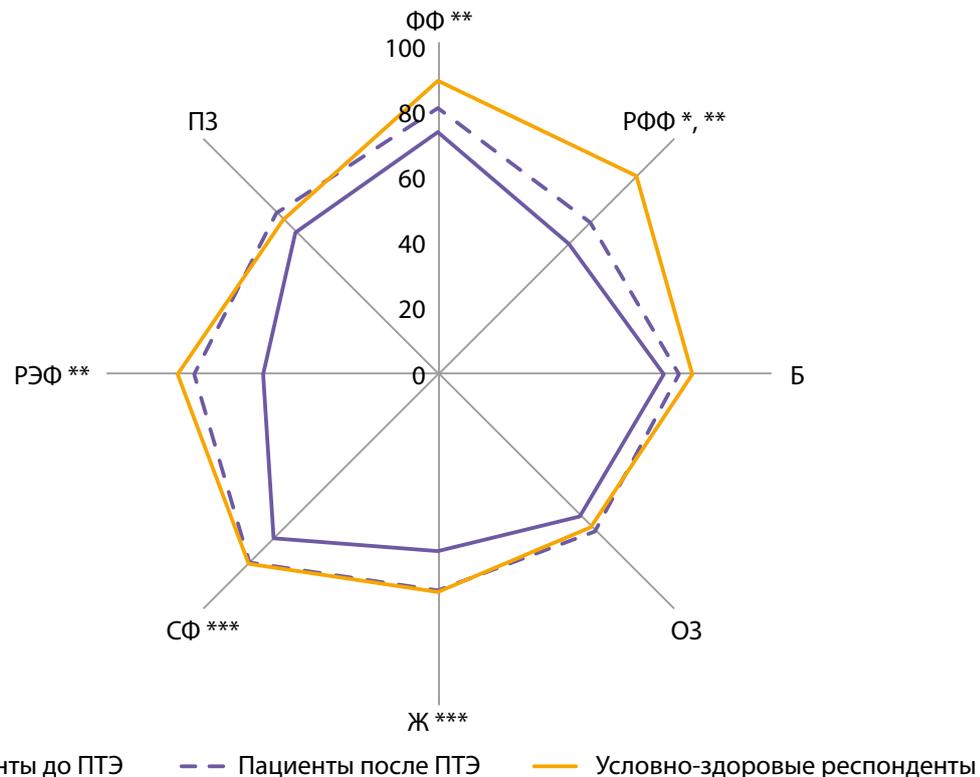
До операции актуальными симптомами, которые встречались у более половины пациентов и имели выраженную интенсивность (40–100 баллов), являлись **усталость** (80%), **слабость** (64,6%), **забывчивость** (60,9%), **боли в суставах** (58,0%), и **перемены настроения** (50,1%). В разные сроки после операции происходило снижение выраженности данных симптомов (рис. 2).

Как видно из рисунка 2, установлено статистически значимое улучшение (уменьшение выраженности) усталости, слабости, перемен настроения (GEE,  $p < 0,001$ ) и забывчивости (GEE,  $p = 0,005$ ) у пациентов в разные сроки после операции.

Дополнительно проведено сравнение профилей качества жизни у больных ПГПТ по опроснику SF-36 до и в отдаленные сроки после операции ( $n = 57$ ) с профилем качества жизни условно-здоровых респондентов (рис. 3). Средний возраст условно-здоровых респондентов ( $n = 60$ )  $52,5 \pm 9,2$  года, 95% — женщины. До ПТЭ показатели качества жизни у пациентов были значимо ниже, чем в группе сравнения ( $p < 0,05$ ). В отдаленные сроки после операции показатели по всем шкалам SF-36, кроме РФФ ( $p = 0,011$ ), стали сопоставимы с группой сравнения, что свидетельствует о существенном улучшении и восстановлении общих аспектов качества жизни больных после хирургического лечения.



**Рисунок 2.** Скорректированные по возрасту, форме ПГПТ (манифестная или бессимптомная), уровню гиперкальциемии (легкая или умеренная/тяжелая), а также исходной интенсивности средние показатели выраженности актуальных симптомов у больных ПГПТ до операции, через 3, 12, 24 и более мес после операции; \* $p < 0,05$ ; \*\* $p \leq 0,001$ .



**Рисунок 3.** Средние показатели по шкалам SF-36 у пациентов до и после ПТЭ в сравнении с условно-здоровыми респондентами; \* $p=0,011$  для сравнения показателей в отдаленные сроки после ПТЭ с показателями условно-здоровых респондентов; \*\*  $p<0,001$ , \*\*\*  $p<0,05$  для сравнения показателей до операции с показателями условно-здоровых респондентов.

#### Факторы, связанные с улучшением качества жизни больных ПГПТ после хирургического лечения

Перечень анализируемых факторов и результаты однофакторного и многофакторного анализа представлены в таблице 2.

По данным однофакторного анализа, уровень физического и психического компонентов качества жизни по RHRQoL до операции, а также исходный уровень усталости, слабости, изменений настроения и забывчивости являются факторами, связанными со значимым улучшением качества жизни после операции. Принимая во внимание высокие корреляции между исходными уровнями усталости и слабости ( $r=0,8$ ,  $p<0,001$ ), в многофакторный анализ включили уровень усталости как более выраженного симптома перед операцией и имеющего более высокое ОШ на этапе однофакторного анализа (1,031 для усталости против 1,025 для слабости).

Из всех включенных в анализ показателей, связанных с пациентом и заболеванием до операции, окончательная многофакторная модель включала только один независимый предиктор значимого улучшения качества жизни после ПТЭ — предоперационный уровень ПК по опроснику RHRQoL ( $-2 \text{ Log}=88,5$ , Nagelkerke  $R^2=0,309$ ;  $p=0,001$ ). Согласно полученной модели, чем ниже уровень психического компонента качества жизни по RHRQoL до операции, тем больше вероятность значимого улучшения качества жизни по суммарному показателю RHRQoL после операции (ОШ=0,924, 95% ДИ=0,876–0,976,  $p=0,004$ ).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время ПТЭ является эффективным методом лечения больных ПГПТ [1, 5, 6]. Для определения эф-

фекта оперативного лечения в условиях пациентоориентированной медицинской помощи важным является учет мнения пациента и оценка изменений качества жизни и спектра симптомов после ПТЭ. Информация о предоперационном уровне качества жизни и траектории его изменения после операции представляет ценность для принятия решений об оптимальной клинической тактике, в том числе, при мягком течении заболевания, когда клинических данных может быть недостаточно в качестве показаний для хирургического лечения.

Ранее нами в рамках промежуточного анализа данных установлены существенные нарушения качества жизни у пациентов с ПГПТ до выполнения ПТЭ и продемонстрированы изменения качества жизни и симптомов после операции [14, 15]. Данная работа является продолжением проведенного анализа, выполнена на большем объеме наблюдений и посвящена изучению траектории изменений качества жизни в ранние и отдаленные сроки после ПТЭ и определению степени его восстановления после операции. Также нами изучены факторы, которые связаны со значимым улучшением качества жизни после ПТЭ.

Отметим, что в нашем исследовании, в отличие от многих других работ, была выполнена комплексная оценка качества жизни с помощью сочетания общего опросника SF-36 и специальных опросников — RHRQoL и PAS, что позволило более корректно подойти к оценке влияния болезни и лечения на разные аспекты жизни пациентов. Нами подтверждено, что до операции у больных ПГПТ имелись значительные нарушения качества жизни, более половины пациентов испытывали существенно выраженные усталость, слабость, забывчивость, боли в суставах и перемены настроения. Эти данные соответствуют результатам других исследований [8, 9, 16, 17]. При анализе траектории изменений качества жизни после операции

нами установлено, что существенное улучшение качества жизни происходило уже через 3 месяца после ПТЭ. Причем положительные изменения сохранялись в течение длительного времени, а именно, при медиане наблюдения после операции 29 мес. Самое выраженное улучшение показателей зарегистрировано по шкалам ролевого физического и ролевого эмоционального функционирования по общему опроснику SF-36. По специальному опроснику RHPQoL установлено значимое улучшение как физического, так и психического компонентов качества жизни после операции. Также показано уменьшение в ранние сроки после ПТЭ интенсивности таких симптомов, как усталость, слабость, изменения настроения и забывчивость с дальнейшим сохранением положительной динамики в отдаленные сроки. Полученные результаты дополняют полученные нами ранее данные мониторинга качества жизни и симптомов после ПТЭ [14, 15] и свидетельствуют о стойких длительных положительных изменениях качества жизни больных ПГПТ после операции. Отметим, что выполненный нами анализ изменения качества жизни проведен на основании скорректированных средних с учетом возраста, формы заболевания, уровня гиперкальциемии и исходного качества жизни пациентов.

Известно, что статистически значимые изменения не всегда являются клинически значимыми, т.е. важными для самого пациента. В этой связи нами была определена доля пациентов, у которых наблюдалось клинически значимое улучшение качества жизни. Клинически значимое

улучшение качества жизни определяли на основании изменения суммарного балла RHPQoL ( $\geq 9$  баллов) на любом сроке после операции по сравнению с предоперационным показателем [16]. Примечательно, что более половины пациентов (61%) при длительном наблюдении имели клинически значимое улучшение качества жизни.

Далее нами проведен сравнительный анализ качества жизни больных ПГПТ в отдаленные сроки после операции (более года) и условно-здоровых респондентов, сходных с группой пациентов по полу и возрасту. Оказалось, что по большинству показателей качество жизни больных в отдаленные сроки после ПТЭ было сходным с таковым у условно-здоровых. Данный результат свидетельствует о существенном восстановлении разных аспектов качества жизни больных ПГПТ после операции, их адаптации и возможности вернуться к полноценной жизни.

Наконец, нами изучены предикторы значимого улучшения качества жизни после операции. Информация о факторах, которые связаны с эффектом операции с точки зрения пациента, может способствовать пациент-ориентированному принятию решения о целесообразности хирургического лечения. В настоящее время эти данные мало изучены, что подчеркивает ценность выполненного нами анализа. В перечень факторов, которые были включены нами в регрессионный анализ, вошли возраст, уровень образования, длительность заболевания, уровни  $\text{Ca}^{2+}$  и ПТГ до операции, форма заболевания, наличие сопутствующей патологии, а также исходный уровень

Таблица 2. Результаты регрессионного логистического анализа

Исходные переменные <sup>1</sup>	Однофакторный анализ			Многофакторный анализ		
	p	ОШ	95% ДИ	p	ОШ	95% ДИ
Возраст, годы	0,075	0,958	0,913–1,004			
Образование Среднее Высшее <sup>2</sup>	0,477	0,689	0,248–1,92			
Длительность заболевания, нед	0,353	1,004	0,996–1,011			
Исходный $\text{Ca}^{2+}$ , ммоль/л	0,074	0,044	0,001–1,359			
Исходный ПТГ, пмоль/л	0,310	0,996	0,988–1,004			
Форма ПТГ Бессимптомная Манифестная <sup>2</sup>	0,766	0,859	0,316–2,336			
Сопутствующая патология Нет Есть <sup>2</sup>	0,943	1,035	0,398–2,69			
Исходный ФК по RHPQoL	<b>0,023</b>	0,970	0,944–0,996	0,092	1,042	0,993–1,093
Исходный ПК по RHPQoL	<b>0,001</b>	0,936	0,902–0,972	<b>0,004</b>	0,924	0,876–0,976
Исходный уровень усталости	<b>0,002</b>	1,031	1,011–1,052	0,110	1,026	0,994–1,059
Исходный уровень перемен настроения	<b>0,043</b>	1,018	1,001–1,035	0,922	0,999	0,978–1,021
Исходный уровень болей в суставах	0,117	1,010	0,997–1,024			
Исходный уровень слабости <sup>3</sup>	<b>0,003</b>	1,025	1,009–1,042			
Исходный уровень забывчивости	<b>0,034</b>	1,016	1,001–1,031	0,985	1,000	0,979–1,021

<sup>1</sup>Зависимая переменная — увеличение суммарного показателя RHPQoL на 9 и более баллов.

<sup>2</sup>Референтная категория.

<sup>3</sup>Симптом «слабость» не включен в многофакторную модель в виду наличия выраженной его корреляции с симптомом усталость (Spearman  $r=0,8$ ,  $p<0,001$ ).

качества жизни и актуальных до операции симптомов. Нами обнаружено, что уровень физического и психологического аспектов качества жизни, а также уровень интенсивности актуальных для ПГПТ симптомов до ПТЭ ассоциированы с улучшением качества жизни в целом после ПТЭ. Все клинические параметры, связанные с заболеванием, и уровень образования не имели прогностического значения для улучшения качества жизни после операции. Единственным независимым фактором, связанным с вероятностью улучшения качества жизни после операции по результатам многофакторного анализа, являлся пониженный показатель психологической составляющей качества жизни до ПТЭ. В целом, полученные данные сходны с результатами недавно опубликованного отечественного исследования [21] и зарубежной работы, выполненной в 2015 году [22]. Так, в работе Ильичевой и соавт. показано, что хирургическое лечение ПГПТ, несмотря на транзиторные осложнения, не мешает улучшению показателей качества жизни при условии достижения ремиссии заболевания, и только персистенция заболевания не позволяет значимо улучшить качество жизни пациентов [21]. В исследовании Ryhänen et al. установлено, что только уровень образования и качество жизни пациента до операции связано со значимым улучшением послеоперационного качества жизни [22]. Согласно нашим данным, чем хуже психологическое состояние пациента до операции, тем более высока вероятность значимого улучшения качества жизни в послеоперационный период. Таким образом, наличие психологических проблем у пациента до операции может рассматриваться в качестве показателя для хирургического лечения.

Наше исследование имеет несколько ограничений. Во-первых, включение пациентов происходило только в одном центре. Во-вторых, вследствие дизайна исследования, отсутствовала возможность мониторинга лабораторных показателей после операции. Наконец, имеется некоторое смещение выборки относительно пола (очень мала доля пациентов мужского пола, однако в настоящее время неоспоримо доказано существенное преобладание женщин, больных ПГПТ во всех популяционных исследованиях).

В целом, полученные результаты подтверждают важность учета информации о качестве жизни больных ПГПТ для определения соотношения рисков и пользы при выборе хирургической тактики лечения, а также в процессе наблюдения пациентов после операции для оценки степени их восстановления. Для того, чтобы в полной мере оценить эффективность хирургического лечения на должном уровне, необходимы дальнейшие исследования на большем объеме выборке. Также перспективным является проведение многоцентровых исследований и долговременный анализ качества жизни после ПТЭ совместно с клиническими данными.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПТЭ сопровождается существенным улучшением качества жизни и регрессией симптомов у больных ПГПТ в течение длительного периода после операции. Значимые положительные изменения происходят уже через 3 месяца после ПТЭ и сохраняются при медиане наблюдения 29 мес.

Показатели качества жизни у больных ПГПТ в отдаленные сроки после операции по большинству показателей качества жизни сходны с таковыми у условно-здоровых респондентов.

Независимым предиктором значимого улучшения качества жизни после ПТЭ является предоперационный уровень психологической составляющей качества жизни — чем ниже ее уровень до операции, тем больше вероятность значимого улучшения качества жизни после ПТЭ.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

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

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

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

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. 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, AK, Krupinova YA, 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>
2. Hyperparathyroidism (primary): diagnosis, assessment and initial management. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2019
3. El-Hajj Fuleihan G, Chakhtoura M, et al. Classical and Nonclassical Manifestations of Primary Hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res*. 2022;37(11):2330-2350. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4679>
4. Мокрышева Н.Г., Крупинова Ю.А., Бибики Е.Е., Мельниченко Г.А. Когнитивные нарушения при первичном гиперпаратиреозе. // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. — 2019. — Т. 11. — №1. — С. 103-108. [Mokrysheva NG, Krupinova YuA, Bibiki EE, Melnichenko GA. Cognitive impairment in primary hyperparathyroidism. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2019;11(1):103-108. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2019-1-103-108>
5. Bilezikian JP, Khan AA, Silverberg SJ, Fuleihan GE, et al. International Workshop on Primary Hyperparathyroidism. Evaluation and Management of Primary Hyperparathyroidism: Summary Statement and Guidelines from the Fifth International Workshop. *J Bone Miner Res*. 2022;37(11):2293-2314. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4677>
6. 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>
7. Tzikos G, Chorti A, Evangelos S, et al. Quality of Life in Patients With Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism After Parathyroidectomy: A 3-Year Longitudinal Study. *Endocr Pract*. 2021;27(7):716-722. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eprac.2021.01.003>
8. Ionova TI, Buzanakov DM, Chernikov RA, et al. Quality of life in patients with primary hyperparathyroidism before and after parathyroidectomy: long term single center experience. *BMC Endocr Disord*. 2023;23:87. doi: <https://doi.org/10.1186/s12902-023-01344-z>
9. Somuncu E, Kara Y. The effect of parathyroidectomy on quality of life in primary hyperparathyroidism: evaluation with using sf-36 and phpqol questionnaire. *Endocr J*. 2021;68(1):87-93. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ20-0417>

10. Vadhvana B, Currow C, Bowers D, Groot-Wassink T. Impact on Quality of Life After Parathyroidectomy for Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism. *J Surg Res.* 2021;261:139-145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jss.2020.12.023>
11. Pretorius M, Lundstam K, Hellström M, et al. Effects of Parathyroidectomy on Quality of Life: 10 Years of Data From a Prospective Randomized Controlled Trial on Primary Hyperparathyroidism (the SIPH-Study). *J Bone Miner Res.* 2021;36(1):3-11. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4199>
12. Livschitz J, Yen TWF, Evans DB, Wang TS, Dream S. Long-term Quality of Life after Parathyroidectomy for Primary Hyperparathyroidism: A Systematic Review. *JAMA Surg.* 2022. doi: <https://doi.org/10.1001/jamasurg.2022.4249>
13. Огородников А.В., Харнас С.С. Оценка качества жизни пациентов после паратиреоидэктомии из стандартного и малого доступов. // *Проблемы эндокринологии.* — 2021. — Т. 67. — №2. — С. 40-48. [Ogorodnikov AV, Kharnas SS. Assessment of the quality of life of patients after parathyroidectomy from standard and small access. *Problems of Endocrinology.* 2021;67(2):40-48. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/probl12735>
14. Похожай В.В., Величко А.В., Дундаров З.А., Зыблев С.Л. Сравнительный анализ качества жизни пациентов с первичным гиперпаратиреозом в позднем послеоперационном периоде. // *Проблемы здоровья и экологии.* — 2017. — Т. 3. — №53. — С. 73-79. [Pokhozhai VV, Velichko AV, Dundarov ZA, Zyblev SL. The comparative analysis of life quality of patients with primary hyperparathyroidism in the late postoperative period. *Problemy zdorov'ya i jekologii.* 2017;3(53):73-79. (in Russ.)]
15. Никитина Т.П., Гладкова И.Н., Русаков В.Ф., и др. Качество жизни пациентов с первичным гиперпаратиреозом после хирургического лечения. // *Проблемы эндокринологии.* — 2022. — Т. 68. — №1 — С. 27-39. [Nikitina TP, Gladkova IN, Rusakov VF, et al. Quality of life in patients with primary hyperparathyroidism after surgery. *Problems of Endocrinology.* 2022;68(1):27-39. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/probl12825>
16. Webb SM, Puig-Domingo M, Villabona C, et al. Validation of PHPQoL, a Disease-Specific Quality-of-Life Questionnaire for Patients With Primary Hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(4):1571-1578. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3094>
17. Pasiaka JL, Parsons LL, Demeure MJ, et al. Patient-based surgical outcome tool demonstrating alleviation of symptoms following parathyroidectomy in patients with primary hyperparathyroidism. *World J Surg.* 2002;26(8):942-949. doi: <https://doi.org/10.1007/s00268-002-6623-y>
18. Charlson ME, Pompei P, Ales KL, MacKenzie CR. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: development and validation. *J Chronic Dis.* 1987;40(5):373-383. doi: [https://doi.org/10.1016/0021-9681\(87\)90171-8](https://doi.org/10.1016/0021-9681(87)90171-8)
19. Hays RD, Sherbourne CD, Mazel RM. User's Manual for Medical Outcomes Study (MOS) Core measures of health-related quality of life. *RAND Corporation.* 1995; MR-162-RC. Available from: [www.rand.org](http://www.rand.org)
20. Новик А.А., Ионова Т.И. *Руководство по исследованию качества жизни в медицине.* 4-е изд., перераб. и доп. / Под ред. акад. РАН Ю.Ф. Шевченко. — М.: Издательство Национального медико-хирургического центра им. Н. И. Пирогова; 2021. [Novik AA, Ionova TI. *Guidelines for Quality of Life Research in Medicine.* 4th ed., rev. and ad. Shevchenko YuL, editor. M: Pirogov National Medical and Surgical Centre Publ; 2021. (in Russ.)].
21. Ильичева Е.А., Берсенев Г.А., Рой Т.А. Качество жизни пациентов с солитарным и множественным поражением околощитовидных желёз при спорадическом первичном гиперпаратиреозе до и после хирургического лечения. *Acta biomedica scientifica.* 2023 — Т. 8. — №5. — С. 225-234. [Ilyicheva EA, Bersenev GA, Roy TA. Quality of life of patients with single and multigland parathyroid disease in sporadic primary hyperparathyroidism before and after surgical treatment. *Acta biomedica scientifica.* 2023;8(5):225-234] doi: <https://doi.org/10.29413/ABS.2023-8.5.24>
22. Ryhänen EM, Heiskanen I, Sintonen H, et al. Health-related quality of life is impaired in primary hyperparathyroidism and significantly improves after surgery: a prospective study using the 15D instrument. *Endocr Connect.* 2015;4(3):179-186. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-15-0053>

Рукопись получена: 22.10.2023. Одобрена к публикации: 28.12.2023. Опубликовано online: 31.12. 2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\***Никитина Татьяна Павловна**, к.м.н. [Tatiana P. Nikitina, MD, PhD]; адрес: Набережная Фонтанки, д. 154, 198103, Санкт-Петербург, Россия [St. Petersburg, Russian Federation, Zip code 198103, Fontanka river embankment 154]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8279-8129>; SPIN-код: 5275-8114; e-mail: [tnikitina\\_74@mail.ru](mailto:tnikitina_74@mail.ru)

**Ионова Татьяна Ивановна**, д.б.н., профессор [Tatiana I. Ionova, DSc, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9431-5286>; SPIN-код: 9290-3160; e-mail: [tation16@gmail.com](mailto:tation16@gmail.com).

**Черников Роман Анатольевич**, д.м.н. [Roman A. Chernikov, MD, DSc]; ORCID: <https://orcid.org/id:0000-0002-3001-664X>; SPIN-код: 7093-1088; e-mail: [yaddd@yandex.ru](mailto:yaddd@yandex.ru)

**Слепцов Илья Валерьевич**, д.м.н., профессор [Ilya V. Sleptsov, MD, DSc, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3001-664x>; e-mail: [newsurgery@yandex.ru](mailto:newsurgery@yandex.ru)

**Бузанаков Дмитрий Михайлович**, к.м.н. [Dmitry M. Buzanakov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8350-8376>; e-mail: [dmitrybuzanakov@gmail.com](mailto:dmitrybuzanakov@gmail.com)

**Ефремов Сергей Михайлович**, д.м.н. [Sergey M. Efremov, MD, DSc]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5581-9169>; SPIN-код: 4827-7274; e-mail: [sergefremov@mail.ru](mailto:sergefremov@mail.ru)

**Тюлюбаев Иван Сергеевич** [Ivan S. Tyulyubaev, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-7782-1119>; e-mail: [ivantyulyu@yandex.ru](mailto:ivantyulyu@yandex.ru)

**Золотуха Анна Викторовна** [Anna V. Zolotukho, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1259-8188>; e-mail: [a.zolotoukho@gmail.com](mailto:a.zolotoukho@gmail.com)

**Бубнов Кирилл Алексеевич** [Kirill A. Bubnov, medical student]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2202-150x>; e-mail: [kir.ches@mail.ru](mailto:kir.ches@mail.ru)

**Виноградова Арина Александровна** [Arina A. Vinogradova, medical student]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4259-6001>; e-mail: [Arina082001@yandex.ru](mailto:Arina082001@yandex.ru)

**Скворцов Владимир Владимирович** [Vladimir V. Skvortsov, medical student]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9831-8962>; e-mail: [skvortsovvladimir5@gmail.com](mailto:skvortsovvladimir5@gmail.com)

**Русаков Владимир Федорович**, к.м.н. [Vladimir F. Rusakov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/id:0000-0002-6807-778X>; SPIN-код: 1345-3530; e-mail: [rusvf@mail.ru](mailto:rusvf@mail.ru)

**ЦИТИРОВАТЬ:**

Ионова Т.И., Черников Р.А., Слепцов И.В., Бузанаков Д.М., Ефремов С.М., Никитина Т.П., Тюлюбаев И.С., Золотуха А.В., Бубнов К.А., Виноградова А.А., Скворцов В.В., Русаков В.Ф. Качество жизни больных первичным гиперпаратиреозом до и в разные сроки после хирургического лечения и факторы, определяющие его улучшение // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 4-14. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13386>

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Ionova TI, Chernikov RA, Sleptsov IV, Buzanakov DM, Efremov SM, Nikitina TP, Tyulyubaev IS, Zolotukho AV, Bubnov KA, Vinogradova AA, Skvortsov VV, Rusakov VF. Quality of life in patients with primary hyperparathyroidism before and at different time-points after surgery and factors associated with its improvement. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):4-14. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13386>

## ПОИСК НОВЫХ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИХ И ЦИРКУЛИРУЮЩИХ МАРКЕРОВ ИНСУЛИНОМЫ



© М.Ю. Юкина<sup>1\*</sup>, Е.А. Трошина<sup>1</sup>, Л.С. Урусова<sup>1</sup>, Н.Ф. Нуралиева<sup>1</sup>, Л.В. Никанкина<sup>1</sup>, В.А. Иоутси<sup>1</sup>, О.Ю. Реброва<sup>1,2</sup>, Н.Г. Мокрышева<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

**ОБОСНОВАНИЕ.** Инсулинома — нейроэндокринная опухоль, основным проявлением которой является гипогликемия. Однако симптомы гипогликемии длительно могут носить неспецифический характер, особенно вне провокационных условий, и нередко опухоль манифестирует с жизнеугрожающего состояния — гипогликемической комы. В связи с этим своевременная лабораторная диагностика инсулиномы и определение ее агрессивного течения являются одним из приоритетных направлений в современных исследованиях.

**ЦЕЛЬ.** Поиск новых иммуногистохимических (ИГХ) и циркулирующих маркеров (ЦМ) инсулиномы, в том числе ее агрессивного течения.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Включены пациенты, обследованные в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» в период 2017–2022 гг. и прооперированные по поводу инсулин-продуцирующей опухоли. Перед хирургическим вмешательством и через 2–12 месяцев после него выполнен забор крови с определением целевых белков-маркеров. Некоторым пациентам проведено расширенное ИГХ исследование опухоли, окружающей ткани, и островков Лангерганса с первичными антителами к целевым белкам-маркерам с оценкой степени их экспрессии. Для определения агрессивного течения опухоли были охарактеризованы по степени злокачественности (Grade), количеству новообразований и признакам рецидива.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** На основании анализа литературы и патогенетических характеристик инсулиномы выбраны следующие кандидаты для целевых белков-маркеров: кокаин- и амфетаминрегулируемый транскрипт (CART), хромогранин В (ХрВ), нейроэндокринный секреторный протеин 55 (NESP55), глюкагоноподобный пептид 1 (ГПП1), арилалкиламин-N-ацетилтрансфераза (AA-NAT), мелатонин и, исключительно для ИГХ исследования, протеин D52 (TPD52), а также рецепторы к глюкагоноподобному пептиду-1 (рГПП1) и мелатонину (MTNR1b).

В исследование включен 41 пациент, из них 10 проведено расширенное ИГХ исследование. У пациентов, как с агрессивной, так и неагрессивной инсулиномой, после хирургического лечения уровни ЦМ статистически значимо не менялись и у отдельных пациентов могли как повышаться, так и снижаться, в т.ч. при экспрессии соответствующего маркера в ткани опухоли. Показано, что CART экспрессировался только в опухоли (в 4/10 случаев), а MTNR1b и рГПП1 экспрессировались в опухоли (в 6/10 и 10/10 соответственно) и островках Лангерганса (в 5/9 и 9/9 соответственно). Связи экспрессии маркеров с агрессивностью течения инсулиномы не выявлено.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Маркеры CART, MTNR1b и рГПП1 представляют первостепенный интерес для дальнейшего изучения на большей выборке пациентов с инсулиномой. Другие маркеры (TPD52, ХрВ, NESP55, мелатонин, AA-NAT) связь с инсулин-продуцирующей опухолью не показали, поэтому не являются перспективными в отношении будущих изысканий. При этом необходимо продолжать исследования, направленные на поиск новых как циркулирующих, так и ИГХ маркеров, с целью ранней диагностики манифестации заболевания и его рецидива, более точного определения злокачественного и пролиферативного потенциала опухоли.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** инсулинома; иммуногистохимические маркеры; циркулирующие маркеры.

## SEARCH FOR NEW IMMUNOHISTOCHEMICAL AND CIRCULATING MARKERS OF INSULINOMA

© Marina Y. Yukina<sup>1\*</sup>, Ekaterina A. Troshina<sup>1</sup>, Liliya S. Urusova<sup>1</sup>, Nurana F. Nuralieva<sup>1</sup>, Larisa V. Nikankina<sup>1</sup>, Vitaliy A. Ioutsi<sup>1</sup>, Olga Y. Rebrova<sup>1,2</sup>, Natalia G. Mokrysheva<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

**BACKGROUND:** Insulinoma is a neuroendocrine tumor, the main manifestation of which is hypoglycemia. However, the symptoms of hypoglycemia can be non-specific for a long time, especially outside provocative conditions, and quite often the tumor manifests from a life-threatening condition — hypoglycemic coma. In this regard, timely laboratory diagnosis of insulinoma and determination of its aggressive course is one of the priorities in modern researches.

**AIM:** Search for new immunohistochemical (IHC) and circulating markers (CM) of insulinoma, including its aggressive course.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



**MATERIALS AND METHODS:** The patients examined at the Endocrinology Research Centre in the period 2017–2022 and operated on for an insulin-producing tumor were included. Before surgery and 2–12 months after it, blood sampling was performed with the determination of targeted marker proteins. Some patients underwent an extended IHC examination of the tumor, surrounding tissue and islets of Langerhans with primary antibodies to target marker proteins with an assessment of the degree of their expression. To determine the aggressive course of the tumor, the degree of malignancy (Grade), the number of tumors and signs of recurrence were characterized.

**RESULTS:** Based on the analysis of literature and pathogenetic characteristics of insulinoma, the following candidates for targeted marker proteins were selected: cocaine and amphetamine-regulated transcript (CART), chromogranin B (CrB), neuroendocrine secretory protein 55 (NESP55), glucagon-like peptide 1 (GLP1), arylalkylamine-N-acetyltransferase (AA-NAT), melatonin, and, exclusively for IHC research, protein D52 (TPD52), as well as receptors for glucagon-like peptide-1 (rGLP1) and melatonin (MTNR1b).

41 patients were included in the study, of which 10 patients underwent an extended IHC study. In patients with both aggressive and non-aggressive insulinoma after surgical treatment, CM levels did not change significantly and in individual patients they could both increase and decrease, including those patients with the expression of the corresponding marker in tumor tissue. It was shown that CART was expressed only in the tumor (in 4/10 of cases), while MTNR1b and rGLP1 were expressed in the tumor (in 6/10 and 10/10, respectively) and the islets of Langerhans (in 5/9 and 9/9, respectively). The association of marker expression with the aggressiveness of the course of insulinoma has not been revealed.

**CONCLUSION.** The markers CART, MTNR1b and rGLP1 are of primary interest for further study in a larger sample of patients with insulinoma. Other markers (TPD52, XgB, NESP55, melatonin, AA-NAT) have not been shown to be associated with an insulin-producing tumor, therefore they are not promising for future researches. At the same time, it is necessary to continue research aimed at finding new both circulating and IHC markers in order to early diagnose the manifestation of the disease and its recurrence, and more accurately determine the malignant and proliferative potential of the tumor.

**KEYWORDS:** *insulinoma; immunohistochemical markers; circulating markers.*

## ВВЕДЕНИЕ

Диагностика органического гиперинсулинизма у взрослых остается одной из наиболее трудных задач в практической эндокринологии. По данным многочисленных исследований, в том числе отечественных авторов [1, 2], вариабельность клинических проявлений, а также дискордантность результатов топической диагностики приводят к поздней диагностике заболевания. В качестве вариантов совершенствования выявления инсулиномы предлагается комбинирование стандартных визуализирующих процедур [1], применение методов молекулярной визуализации [3], построение диагностических моделей на основе анализа панели генов-кандидатов [4]. Эти новые подходы, безусловно, являются наиболее перспективными для практического применения и, как следствие, наиболее обсуждаемыми в научной литературе последних лет. Однако поиск других, в том числе менее затратных методов, продолжается.

В настоящее время в свете выявления новых клеточных сигнальных путей [5, 6] проводится активный поиск альтернативных иммуногистохимических (ИГХ) и циркулирующих маркеров (ЦМ) инсулиномы с целью определения злокачественного потенциала, прогнозирования рисков, изучения механизмов опухолевого роста и гормональной гиперсекреции. На основании полученных результатов также могут быть предложены молекулярные мишени для визуализации и лечения.

При анализе последних научных публикаций перспективными в качестве альтернативного маркера нейроэндокринных опухолей рассматриваются несколько кандидатов. Таким может являться опухолевый маркер кокаин- и амфетаминрегулируемый транскрипт (CART) [6], который экспрессируется в нейронах и нейроэндокринных клетках, а также был обнаружен в ткани феохромоцитомы, глюкагономы и инсулиномы [7, 8]. CART увеличивает глюкозостимулированную секрецию

инсулина *in vivo* у мышей и *in vitro* у человека, а также оказывает протективное действие в отношении бета-клеток против глютокотоксичности *in vitro* у крыс [9]. Есть предположительные данные, что высокодифференцированные инсулиномы, в отличие от менее дифференцированных, характеризуются высоким уровнем иммунореактивности к CART наравне с инсулином [10].

В качестве альтернативного онкомаркера при инсулиноме также может рассматриваться хромогранин В (ХрВ) [11, 12]. Преимуществом ХрВ по сравнению с Хромогранинном А является отсутствие влияния на его показатели нарушения функции почек и приема ингибиторов протонной помпы [12]. Согласно результатам отечественного исследования [9], частота повышения ХрВ при панкреатических нейроэндокринных опухолях (П-НЭО) составляет 68%. В отличие от Хромогранина А, значимых отличий в уровне ХрВ у пациентов с распространенными (с метастазами в печень) и локализованными формами заболевания не выявлено, что позволяет рассматривать его как универсальный и независимый маркер. Примечательно, что при нормальных показателях Хромогранина А у пациентов с П-НЭО и НЭО желудка в 53,6% случаев наблюдалось повышение концентрации ХрВ относительно порогового уровня [14].

Еще одним возможным биомаркером инсулиномы может быть NESP55 (нейроэндокринный секреторный протеин 55), который обнаружен в островках здоровой ткани поджелудочной железы (ПЖ), хромоаффинных клетках, гипофизе и ткани феохромоцитомы, нейробластомы, инсулиномы и других П-НЭО. Согласно результатам отечественного исследования [15], иммунореактивность к данному протеину выявлена в 90,9% П-НЭО.

Предполагается, что в ткани низкодифференцированной инсулин-продуцирующей опухоли (О) ПЖ в процессе неопластической трансформации происходит потеря экспрессии протеина D52 (TPD52), который при иммуноокрашивании обнаруживается в островках

Лангерганса (ОЛ) здоровой ткани ПЖ. При этом низкий уровень экспрессии TPД52 ассоциирован с агрессивным клиническим течением инсулиномы, уменьшением безрецидивной выживаемости и выживаемости, связанной с болезнью [16].

С целью уточнения механизмов канцерогенеза, а также определения молекулярных мишеней для визуализации О или радиотерапии большое значение имеет изучение экспрессии различных рецепторов в ткани инсулиномы. В частности, с учетом физиологической экспрессии в эндокринной части ПЖ рецепторов к глюкагоноподобному пептиду-1 (рГПП1), которые обнаружены и в клетках инсулиномы [17–19], преимущественно высокодифференцированной [17, 19], разработаны соответствующие методы визуализации: ПЭТ/КТ и ОФЭКТ/КТ с радиотрейсерами на основе аналогов ГПП1. По данным литературы, инсулиномы могут секретировать ГПП-1 [20], однако оценка уровня циркулирующего гормона до и после хирургического лечения опухоли ранее не проводилась.

Кроме того, в клетках инсулиномы выявлены рецепторы к мелатонину MTNR1a и MTNR1b. В недавно проведенном исследовании [21] продемонстрировано, что в наномолярных концентрациях мелатонин стимулирует секрецию инсулина клетками инсулиномы крыс, воздействуя на MTNR1a и MTNR1b, однако при продолжительном воздействии — ингибирует, оказывая дозозависимый эффект. На животных моделях доказано ингибирующее влияние мелатонина на секрецию инсулина посредством воздействия на рецепторы MTNR1a [22], а также на транскрипцию гена инсулина посредством воздействия на рецепторы MTNR1b [23] инсулиномы. Как известно, в норме инсулин и мелатонин ингибируют секрецию друг друга [24]; а при сахарном диабете нарушается циркадный ритм секреции мелатонина [25], что, предположительно, обусловлено изменением активности фермента арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы (AA-NAT), катализирующего синтез данного вещества [24]. Однако уровень мелатонина при инсулиноме не исследовался. Таким образом, предполагается, что изучение экспрессии рецепторов MTNR1a и MTNR1b с оценкой показателей мелатонина и фермента AA-NAT позволит выявить новые патогенетические механизмы влияния на функцию опухолевых бета-клеток, что впоследствии приведет к разработке новых терапевтических мишеней при данной О.

Целью настоящего исследования является поиск новых ИГХ и циркулирующих маркеров (ЦМ) инсулиномы, в том числе ее агрессивного течения.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Критерии включения:** пол: мужской или женский. Возраст: 18 лет и старше. Диагноз: инсулин-продуцирующая опухоль (коды МКБ: С25.0–С25.4, С25.7–С25.8), выполненное хирургическое вмешательство.

**Критерии исключения:** не применялись.

**Источник случаев:** пациенты, обследованные в ФГБУ «НМИЦ Эндокринологии» (НМИЦЭ) в период 2017–2022 гг.

**Способ формирования выборки:** сплошной.

**Диагноз** инсулиномы подтвержден результатами гистологического и ИГХ исследований. **Рецидивом** инсули-

номы после операции с положительным исходом считается выявление гиперинсулинемической гипогликемии в сочетании со структурными изменениями ПЖ по данным визуализирующих исследований. При этом в качестве положительного исхода хирургического лечения рассматривалась ремиссия гипогликемического синдрома в раннем послеоперационном периоде по данным представленной медицинской документации. В качестве структурных изменений ПЖ, подтверждающих рецидив инсулиномы, рассматривались как новообразование в месте резекции\*, так и новообразование другой локализации в рамках первично-множественного поражения\*\*.

Инсулинома считалась **агрессивной**, если определялись промежуточная степень злокачественности G2 и выше [26] и/или первично-множественная инсулинома (число опухолей >1) любой степени злокачественности и/или рецидивирующая любой степени злокачественности\*\*\*.

**Дизайн исследований:**

- 1) серия случаев с двукратным наблюдением (до операции и при повторном визите через 2–12 месяцев после операции);
- 2) сравнительное (группы агрессивной и неагрессивной инсулиномы).

Исследование одобрено локальным этическим комитетом НМИЦЭ (протокол №1 от 27.01.2016 г.).

## Методы исследования

Перед операцией и на повторном визите после хирургического вмешательства всем пациентам выполнен забор крови в пробирки с активатором свертывания в одинаковых условиях искусственного освещения после 8–12 часов ночного голодания. Из венозной крови отделена сыворотка, заморожена и сохранена при температуре -80 °С.

Сбор серологического материала выполнялся исключительно в НМИЦЭ.

Сбор послеоперационного гистологического материала выполнялся в НМИЦЭ и в других медучреждениях, где выполнялось оперативное лечение.

## ИФА исследование

Проведено исследование следующих циркулирующих маркеров: CART, ХрВ, NESP55, мелатонин, AA-NAT и у части пациентов (по техническим причинам) ГПП1.

**Определение уровня мелатонина** проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием

\* При этом данных за наличие опухоли в крае резекции по результатам патоморфологического исследования после первичной операции не было. В противном случае состояние расценивалось как «продолженный рост опухоли или нерадикальность хирургического вмешательства».

\*\* В нашем исследовании у всех пациентов рецидив заболевания впервые установлен в ходе повторного визита через 2–12 месяцев после операции.

\*\*\* Это не общепринятая схема оценки. Поскольку известно, что даже высокодифференцированная опухоль Grade 1 не может гарантировать благоприятный прогноз и отсутствие метастазирования, мы добавили дополнительные критерии, помимо Grade. Эти дополнительные критерии, по нашему мнению, в большей степени осложняют течение заболевания/препятствуют ремиссии, а метастатической инсулиномы в нашей горте не было.

ем (ВЭЖХ-МС/МС) на жидкостном хроматографе Agilent 1290 InfinityII (Agilent Technologies, Германия) и tandemном масс-спектрометре AB Sciex QTrap 5500 (AB Sciex, Сингапур) с источником ионизации TurboV (APCI).

ИФА и ВЭЖХ-МС/МС выполнялись в клинико-диагностической лаборатории НМИЦЭ.

#### *Патоморфологическое и стандартное ИГХ исследования*

Проводилась оценка числа инсулин-продуцирующих опухолей и их размера. При наличии нескольких опухолей приводилась характеристика наибольшей опухоли. Число митозов рассчитывалось на 10 полей зрения с объективом 40/0.65. В рамках стандартного ИГХ исследования производилось определение индекса пролиферативной активности (Ki67). Стадирование опухолей проводилось в соответствии с классификациями AJCC 2010 [27], ENETS/WHO 2010 [26]. Исследования выполнялись в отделе фундаментальной патоморфологии НМИЦЭ и других медучреждениях.

#### *Расширенное ИГХ исследование*

Выполнялось исследование О, окружающей ткани (ОТ) и островков Лангерганса (ОЛ) с первичными антителами к следующим белкам-маркерам: CART, ХрВ, NESP55, рГПП1, MTNR1b, TPD52. Исследованы образцы сыворотки некоторых (произвольно отобранных) пациентов до и после операции, выполненной в НМИЦЭ. Число образцов ткани для анализа было ограничено объемом имеющегося расходного материала. У одного пациента образцы ОТ и ОЛ отсутствовали для анализа в связи с исходным недостаточным объемом послеоперационного материала.

Исследование выполнялось в отделе фундаментальной патоморфологии НМИЦЭ.

Для проведения ИГХ исследования операционный материал фиксировали в забуференном формалине в течение 24 часов, проводили в изопропиловой гистологической проводке, заливали в парафин по стандартной методике. Иммуногистохимическое исследование проводилось на срезах толщиной 3 мкм, расположенных на стеклах с полилизинным слоем (Leica, Германия) на полностью автоматизированном иммуногистостейнере LeicaBond III (Германия), позволяющем депарафинизировать срезы, проводить инкубацию с антителами при постоянной заданной температуре, проводить энзиматическую демаскировку антигенов, высокотемпературную демаскировку антигенов в буферах pH 6,0 и 8,8, подкрашивать препараты гематоксилином. Исследование проводилось по стандартным протоколам, рекомендованным фирмой-производителем с антителами, представленными выше. Все препараты были отсканированы на сканирующей системе LeicaAT2 (Германия) — уникальной системе получения высокоточных изображений гистологических препаратов, позволяющей создавать полноценное изображение, которое можно многократно увеличивать, просматривая отдельные фрагменты в высоком качестве. Программная обработка изображения позволяет проводить качественный и количественный анализ препарата.

С целью оценки специфичности взаимодействия антител с тканевыми антигенами использовали кон-

трольные образцы: ткани надпочечника (для CART, ХрВ, NESP55), щитовидной железы (для MTNR1a\*\*\*\*, MTNR1b, TPD52), ПЖ (для рецепторов к ГПП1), гипофиза (для ХрВ), предстательной железы (для TPD52). Интенсивность окрашивания описывали в соответствии со следующей системой: «—» (0 баллов) при отсутствии иммунореактивности, «+» (1 балл) при слабоположительной реакции (низкоинтенсивное), «++» (2 балла) при умеренно положительной реакции (умеренно интенсивное) и «+++» (3 балла) при выраженной положительной реакции иммуноокрашивания (высокоинтенсивное).

#### **Статистический анализ**

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием пакета STATISTICA v. 13 (TIBCO Inc., США). Распределения количественных признаков представлены медианами (Me) и интерквартильными интервалами [Q1; Q3], для некоторых признаков — также минимальными и максимальными значениями. Распределения качественных признаков представлены абсолютными и относительными частотами. Для сравнения связанных групп по количественным признакам применялся критерий Вилкоксона, для сравнения независимых групп по качественным признакам — двусторонний точный критерий Фишера (ТКФ<sub>2</sub>) и критерий Фримена-Холтона (КФХ, <http://vassarstats.net/>). Критический уровень статистической значимости был принят равным 0,05.

#### **РЕЗУЛЬТАТЫ**

В исследование включен 41 пациент, их характеристика на момент операции и описание удаленных новообразований приведены в таблице 1. 13 пациентов прооперированы в НМИЦЭ, 28 — в других медучреждениях РФ. Все повторные визиты после операции прошли в НМИЦЭ.

Солитарная И наблюдалась в 83% случаев, 95% ДИ (68%, 93%), множественная — в 17% (7%, 32%). Доля небольших (до 2 см) опухолей составила 26/41=63%, 95% ДИ (47%; 78%). Низкую злокачественность (G1) имели опухоли у 61%, 95% (45%; 76%) пациентов. Ki-67%≥3 имели 39%, 95% ДИ (24%; 57%) пациентов. Длительность наблюдения после операции варьировала от 2 до 12 мес. У 9 (22%, 95% ДИ (11%; 38%)) пациентов определен рецидив в сроки от 4 до 12 мес. (рис. 1).

Агрессивная И установлена у 23 пациентов, неагрессивная — у 18.

#### **Циркулирующие маркеры**

Проведен сравнительный анализ значений ЦМ до операции и через 2–12 мес после оперативного вмешательства, а также в группах с агрессивной и неагрессивной инсулиномой (табл. 2).

Статистически значимых различий не выявлено. Динамика индивидуального уровня всех ЦМ после операции была разнонаправленной — отмечено как снижение, так и повышение показателей.

\*\*\*\* Экспрессия MTNR1a не подтверждена на контрольных образцах, дальнейшие исследования с данным маркером не проводились.

Таблица 1. Характеристика 41 включенного пациента

Возраст манифестации И, лет	50 [33; 56] (16, 71)*
Пол: м/ж (n; %)	10/31; 24/76
Число И у одного пациента, n	1 (1, 5)
Размеры И, мм	15 [13; 20] (10, 40) *
Ki-67, %	2 [1; 5] (1, 14)*, **
Ki-67 $\geq$ 3% (n; %)	15 (39)**
G1/G2/G3 (n; %)	25/16/0; 61/39/0
Число митозов, n**	1 [1; 2] (0, 4) *
Тип И (солитарная/множественная) (n; %)	34/7; 83/17

Сокращения: И — инсулинома; \* Me [Q1; Q3] (min, max); \*\*Данные доступны у 38 пациентов.

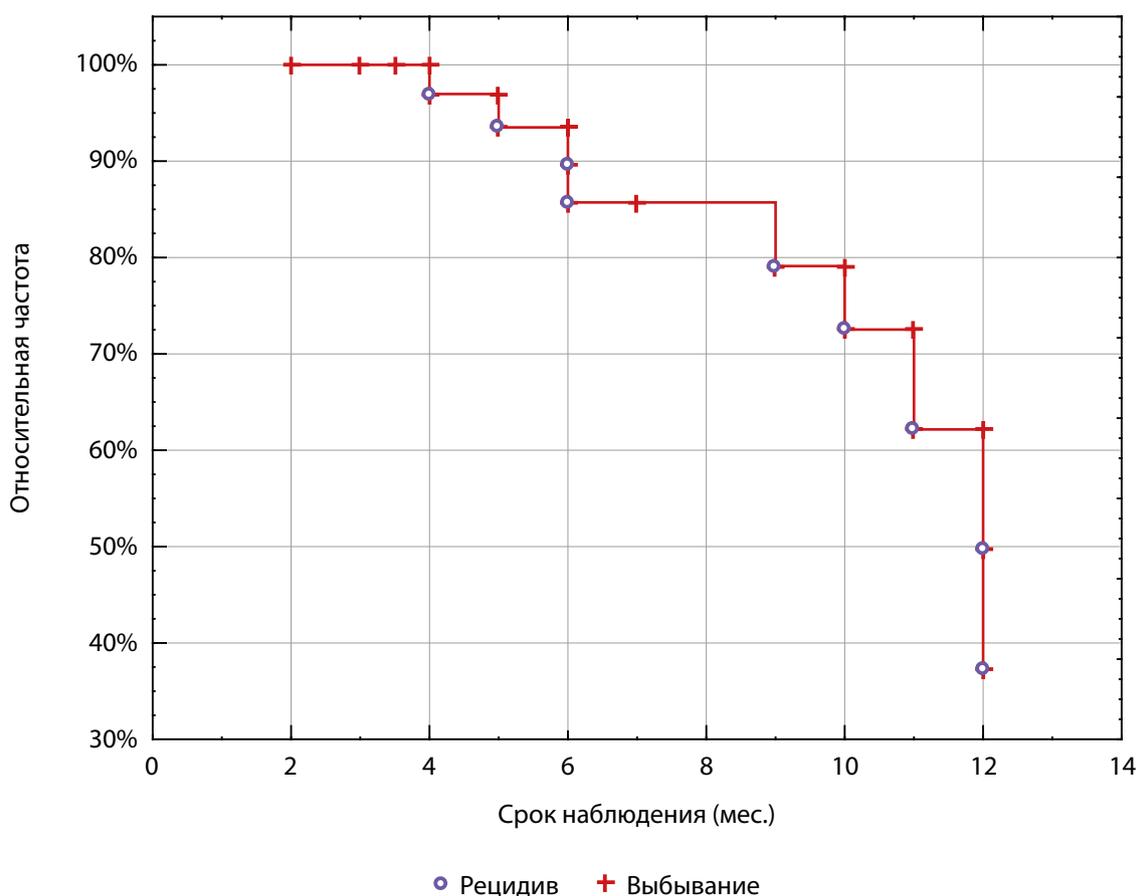


Рисунок 1. Сроки возникновения рецидива в изучаемой группе 41 пациента (кривая Каплана-Майера).

### Иммуногистохимические маркеры

Расширенные ИГХ исследования выполнены у 10 пациентов (табл. 3).

Во всех О зафиксирована экспрессия маркеров: ХрВ (2–3 балла), NESP55 (1–2 балла), TPD52 (1–3 балла), рГПП1 (1–3 балла). Маркеры CART и MTNR1b экспрессировались не во всех О.

Маркер CART не экспрессировался, а NESP55 не всегда экспрессировался в ОТ и в ОЛ, при этом степень экспрессии составляла всегда не более 1 балла. рГПП1 не экспрессировались в ОТ, но всегда в ОЛ (2 балла). MTNR1b не экспрессировались в ОТ, но в ряде случа-

ев выявлялись в ОЛ. Всегда отмечалась экспрессия в ОТ и ОЛ TPD52 и ХрВ: 1–2 балла и 2–3 балла, соответственно. Таким образом, TPD52 и ХрВ экспрессировались везде (в О, ОТ и ОЛ), причем, если для ХрВ более интенсивная экспрессия отмечалась в О, то для TPD52 она не имела каких-либо особенностей по локализации. Маркер NESP55 в ряде случаев экспрессировался в ОТ и в ОЛ, но всегда в О. Экспрессия CART была ассоциирована только с О (в 4/10 случаев), а MTNR1b и рГПП1 с О (в 6/10 и 10/10 соответственно) и ОЛ (в 5/9 и 9/9 соответственно). Таким образом, CART, MTNR1b и рГПП1 экспрессировались в О и ОЛ,

Таблица 2. Циркулирующие маркеры до операции и через 2–12 месяцев после оперативного лечения инсулиномы

ЦМ	Все пациенты (n=41)		p**	Агрессивная О (n=23)		p**	Неагрессивная О (n=18)		p**
	до	после		до	после		до	после	
цCART, пг/мл	278,8 [240,9; 344,4]*	278,8 [229,2; 413,5]	0,464	288,9 [240,9; 437,7]	328,8 [246,9; 566,8]	0,287	275,4 [229,2; 310,1]	257,7 [191,3; 317,3]	0,811
цХрВ, нг/мл	65,8 [56,9; 83,8]	67,6 [55,3; 78,3]	0,403	64,6 [56,6; 83,8]	58,4 [50,9; 71,7]	0,584	66,6 [56,9; 86,4]	76,2 [63,5; 91,5]	0,085
цNESP55, нг/мл	0,3 [0,3; 4,4]	0,3 [0,3; 4,6]	0,808	0,3 [0,3; 4,9]	0,3 [0,3; 5,5]	0,594	0,5 [0,3; 4,1]	0,3 [0,3; 2,7]	0,374
цМелатонин, пг/мл	7,0 [4,0; 11,5]	7,5 [4,6; 14,2]	0,433	7,5 [3,7; 14,8]	5,7 [4,6; 16,3]	0,761	6,7 [4,8; 11,4]	8,1 [4,1; 11,9]	0,356
цAA-NAT, нг/мл	0,1 [0,1; 0,8]	0,1 [0,1; 0,5]	0,459	0,1 [0,1; 0,8]	0,1 [0,1; 0,7]	0,670	0,1 [0,1; 0,8]	0,1 [0,1; 0,5]	0,600
цГПП1, пмоль/л	n=27		0,285	n=17		0,130	n=10		0,878
	1,5 [0,9; 4,5]	1,7 [1,1; 2,4]		1,5 [1,3; 4,5]	1,6 [1,1; 2,2]		1,8 [0,5; 3,4]	1,8 [1,1; 2,4]	

**Сокращения:** ЦМ — циркулирующие маркеры; цCART — циркулирующий кокаин- и амфетаминарегулируемый транскрипт, цМелатонин — циркулирующий мелатонин, цХрВ — циркулирующий хромогранин В, цNESP55 — циркулирующий нейроэндокринный секреторный протеин 55, цAA-NAT — циркулирующая арилалкиламин-N-ацетилтрансфераза; цГПП1 — циркулирующий глюкагоноподобный пептид 1 типа.

\*Me [Q1; Q3];

\*\*парный критерий Вилкоксона.

но не в ОТ (0%, 95% ДИ (0%; 31%)). Экспрессия CART, MTNR1b и рГПП1 в О представлена на рисунках 2–4.

При сопоставлении особенностей опухоли с наличием/интенсивностью экспрессии изучаемых маркеров обнаружено, что только при множественной инсулиноме (n=2) маркер NESP55 никогда не экспрессировался в ОТ и ОЛ, а CART никогда не экспрессировался в О; экспрессия маркеров ХрВ в О составляла 3, а экспрессия маркеров ХрВ и TPD52 в ОТ и ОЛ одинаково для каждого маркера составляла 3 и 2 балла соответственно. При рецидивирующей инсулиноме (n=2) экспрессия маркера ХрВ в О составляла 2 балла. При рецидивирующей и множественной инсулиноме экспрессия маркеров NESP55 и TPD52 в О составляла 1 балл.

С учетом полученных результатов проведен поиск взаимосвязи между наличием экспрессии маркера, интенсивностью окрашивания (в баллах), локализацией экспрессии и агрессивностью инсулиномы (табл. 4).

По результатам анализа, значимого предиктора агрессивной инсулиномы не выявлено.

Проведен сравнительный анализ до- и послеоперационного (через 2–11 месяцев) уровня ЦМ у 10 пациентов с экспрессией соответствующего маркера в О (табл. 5).

Изменения уровня ЦМ после проведения хирургического вмешательства не обнаружены.

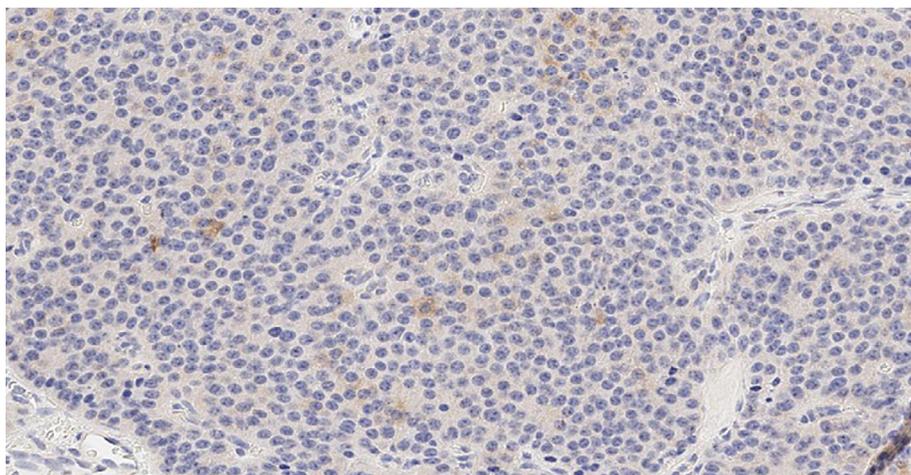
## ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты согласуются с данными других авторов в отношении возраста манифестации инсулиномы, преобладания пациентов женского пола [28] и медианы размера О [29]. Множественная инсулинома наблюдалась с той же частотой, что и в других исследованиях: 17% (7%; 32%) в нашем исследовании, 10,3% [28] и 8% [29] случаев. В отличие от работ Crippa S et al. [29],

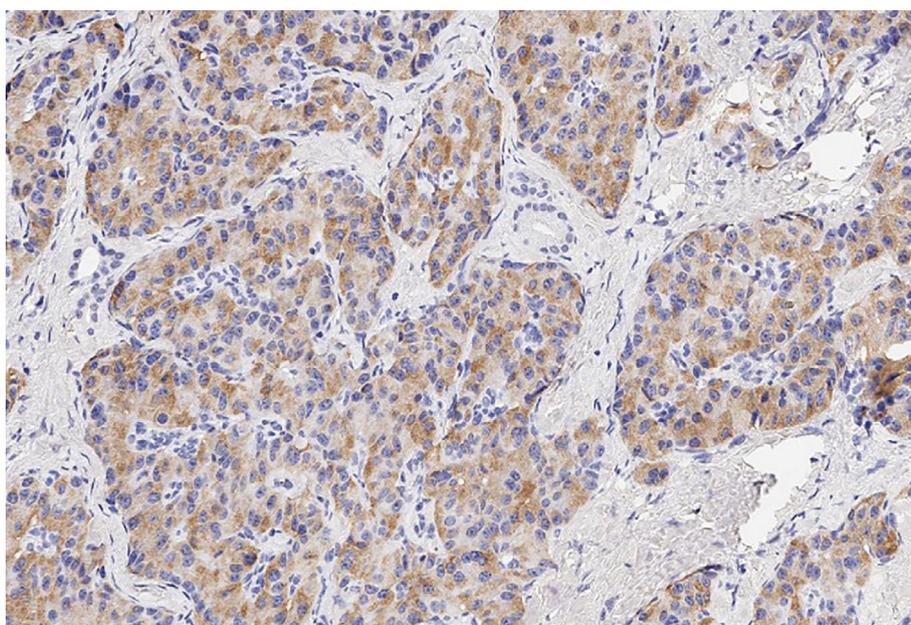
а также Iglesias P et al. [28], не отмечалось преобладание О класса G1, однако, в отличие от выборки Wu H. et al. [30], в обследованной нами когорте чаще встречались О с Ki-67  $\geq 3\%$  (39% против 11,1%). Наиболее вероятно, именно эта особенность обуславливает относительно высокую частоту рецидивов в нашем исследовании (так, в работах Hasanov R. et al. [31] и Crippa S et al. [29] этот показатель составил 14,2% и 3% соответственно). Не исключается также, что более высокая выявляемость рецидивов в нашем исследовании объясняется применением высокочувствительных инструментальных методов диагностики.

Мы впервые оценили возможность применения в качестве опухолевых маркеров CART, ХрВ, NESP55, TPD52, MTNR1b, мелатонина, AA-NAT, рГПП1, цГПП1 исключительно в выборке пациентов с инсулиномой, а не в когорте больных с различными НЭО, как в других работах. При этом изучение большинства маркеров проводилось как в послеоперационном материале, так и в образцах сыворотки до и после операции. Более того, нами впервые исследованы уровни цМелатонина, AA-NAT и цГПП1 у пациентов с инсулиномой.

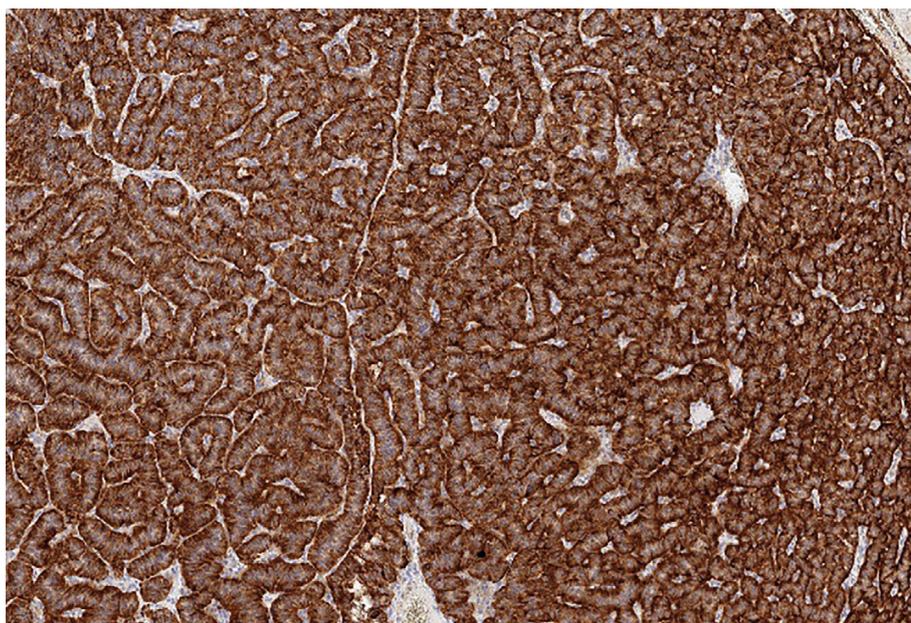
Значимого ИГХ предиктора агрессивной инсулиномы не выявлено, и это, возможно, связано с малыми выборками в нашем исследовании. Но в случаях, когда у всех пациентов присутствовал только какой-либо один признак, а другой полностью отсутствовал (т.е. результат равнялся нулю), мы позволили себе высказывать предположения о возможном наличии ассоциации этой особенности с агрессивным/неагрессивным течением заболевания. Небольшим числом участников, включенных в исследование, возможно, объясняется и отсутствие значимых отличий в уровне циркулирующих маркеров до и после операции, даже при условии их экспрессии в ткани опухоли.



**Рисунок 2.** Экспрессия в опухоли маркера CART (1 балл).



**Рисунок 3.** Экспрессия в опухоли маркера MTNR1b (1 балл).



**Рисунок 4.** Экспрессия в опухоли маркера rGPP1 (3 балла).

Таблица 3. Экспрессия маркеров при иммуногистохимическом исследовании опухоли и окружающей ее ткани, в том числе островков Лангерганса (в баллах)

№ пациента	Характеристика опухоли	Агрессивная И (да/нет)	Локализация	CART	ХрВ	NESP55	TPD52	рГПП1	MTNR1b
1.	Ki67 12%; G 2; n (И) 1; рец-	да	О	1	2	1	2	1	1
			ОТ	0	3	0	1	0	0
			ОЛ	0	3	0	1	2	0
2.	Ki67 8; G 2%; n (И) 1; рец+; n (М) 3	да	О	1	2, неравномерная	1	1	1, неравномерная	1, неравномерная
			ОТ	0	1	0	1	0	0
			ОЛ	0	2	0	1	2	0
3.	Ki67 <2%; G 1; n (И) 2; рец-	да	О	0	3	1	1	3	1
			ОТ	0	3	0	2	0	0
			ОЛ	0	3	0	2	2	0
4.	Ki67 <2%; G 1; n (И) 1; рец-	нет	О	0	3	1	2	2	1
			ОТ	0	3	1	2	0	0
			ОЛ	0	3	1	2	2	1
5.	Ki67 6; G 2%; n (И) 2; рец-	да	О	0	3	1	1	2	1
			ОТ	0	3	0	2	0	0
			ОЛ	0	3	0	2	2	1
6.	Ki67 <2%; G 1; n (И) 1; рец-; n (М) <2	да	О	1	2	2	3	1	0
			ОТ	0	3	1	1	0	0
			ОЛ	0	3	1	1	2	0
7.	Ki67 <2%; G 1; n (И) 1; рец-; n (М) <2	да	О	0	2	1	2	1	0
			ОТ	0	3	0	2	0	0
			ОЛ	0	3	0	2	2	1
8.	Ki67 4%; G 2; n (И) 1; рец+; n (М) 2	да	О	0	2	1	1	2	0
			ОТ	0	3	1	2	0	0
			ОЛ	0	3	1	2	2	1
9.	Ki67 10%; G 2; n (И) 1; рец-	да	О	0	3	2	2	1	0
			ОТ	нет	нет	нет	нет	нет	нет
			ОЛ	нет	нет	нет	нет	нет	нет
10.	Ki67 6,4%; G 2; n (И) 1; рец-; n (М) 3	да	О	1	3	1	2	3	1
			ОТ	0	3	0	2	0	0
			ОЛ	0	3	0	2	2	1

Сокращения: И — инсулинома; Рец+ — наличие признаков рецидива; Рец- — отсутствие признаков рецидива; О — опухоль; ОТ — окружающая ткань; ОЛ — островки Лангерганса; Нет — образец отсутствует, М — митозы.

### CART, цCART

Экспрессия CART в нашем исследовании выявлена только в ткани О и только в некоторых образцах (в 40% случаев — все с солитарной инсулиномой), в отличие от условно здоровых лиц без инсулиномы и больных СД2 в ранее опубликованном исследовании [32], у которых определялась экспрессия CART в ОЛ. Возможно, этот признак является особенностью пациентов с инсулин-продуцирующими О.

Мы показали, что уровень цCARTу пациентов с экспрессией маркера в ткани О значимо не менялся после хирургического лечения, однако у всех пациентов отмечено его снижение, в т.ч. у пациента с рецидивом заболевания. В перспективе при увеличении выборки пациентов с экспрессией CART в ткани О мы предполагаем, что возможно и определение диагностического порога для данного ЦМ. В пользу этого предположения свидетельствуют и данные Bech PR et al. [6], которые выявили

**Таблица 4.** Экспрессия маркеров агрессивного течения заболевания у 10 пациентов с инсулиномой и при разделении на группы с агрессивной и неагрессивной опухолью с учетом степени и локализации экспрессии иммуногистохимического маркера

ИГХ маркер	Экспрессия (баллы)	Агресс. инс. (n=7)	Неагресс. инс. (n=3)	P, ТКФ <sub>2</sub>
CART, экспрессия в О	0 1	4 3	2 1	1,000
CART, экспрессия в ОТ и ОЛ* (n=9)	0	6	3	1,000
ХрВ, экспрессия в О	2 3	3 4	2 1	1,000
ХрВ, экспрессия в ОТ (n=9)	1 3	1 5	0 3	0,667
ХрВ, экспрессия в ОЛ (n=9)	2 3	1 5	0 3	0,667
NESP55, экспрессия в О	1 2	6 1	2 1	1,000
NESP55, экспрессия в ОТ и ОЛ* (n=9)	0 1	5 1	1 2	0,226
TPD52, экспрессия в О	1 2 3	4 3 0	0 2 1	0,249, КФХ
TPD52, экспрессия в ОТ и ОЛ* (n=9)	1 2	2 4	1 2	1,000
рГПП1, экспрессия в О	1 2 3	3 2 2	2 1 0	0,999, КФХ
рГПП1, экспрессия в ОТ (n=9)	0	6	3	1,000
рГПП1, экспрессия в ОЛ (n=9)	2	6	3	1,000
MTNR1b, экспрессия в О	0 1	2 5	2 1	0,500
MTNR1b, экспрессия в ОТ (n=9)	0	6	3	1,000
MTNR1b, экспрессия в ОЛ (n=9)	0 1	3 3	1 2	1,000

**Сокращения:** CART — кокаин- и амфетаминрегулируемый транскрипт; MTNR1b — рецепторы к мелатонину MT2; TPD52 — опухолевый протеин D52; ХрВ — хромогранин В; NESP55 — нейроэндокринный секреторный протеин 55; рГПП1 — рецептор глюкагоноподобного пептида 1 типа; О — опухоль; ОТ — окружающая ткань; ОЛ — островки Лангганса.

\* экспрессия в ОТ и ОЛ идентична.

**Таблица 5.** Циркулирующие маркеры до и после оперативного лечения у пациентов с экспрессией соответствующего маркера в О

ЦМ	До операции	Через 2–11 мес. после операции	P, критерий Вилкоксона
цCART, пг/мл (n=4)	258,2 [230,8; 313,8]	227,7 [212,6; 241,1]	0,068
цХрВ, нг/мл (n=10)	70,8 [59,3; 87,8]	62,7 [56,1; 71,7]	0,203
цNESP55, нг/мл (n=10)	1,9 [0,3; 12,7]	0,3 [0,3; 4,7]	0,173
цМелатонин, пг/мл (n=6)	24,4 [11,0; 50,8]	6,6 [5,6; 19,0]	0,075
цAA-NAT, нг/мл (n=6)	0,7 [0,1; 0,8]	0,1 [0,1; 0,5]	0,225
цГПП1, пмоль/л (n=10)	1,7 [1,2; 2,5]	1,1 [0,6; 1,9]	0,114

**Сокращения:** ЦМ — циркулирующие маркеры; цCART — циркулирующий кокаин- и амфетаминрегулируемый транскрипт; цХрВ — циркулирующий хромогранин В; цNESP55 — циркулирующий нейроэндокринный секреторный протеин 55; цГПП1 — циркулирующий глюкагоноподобный пептид 1 типа; цМелатонин — циркулирующий мелатонин; цAA-NAT — циркулирующая арилалкиламинN-ацетилтрансфераза.

повышение цCART в 95% случаев прогрессирующих П-НЭО (всего обследовано 20 больных). Однако, так как авторы не указывают, какие по гормональной активности П-НЭО вошли в выборку, эти данные следует интерпретировать с осторожностью.

#### **ХрВ, цХрВ**

Согласно данным литературы [33], ХрВ играет важную роль в регуляции транспорта секреторных гранул в  $\beta$ -клетках. Потеря его экспрессии приводит к нарушению глюкозозависимой секреции инсулина и процессинга проинсулина с увеличением его высвобождения. В нашей работе, как и в исследованиях других авторов, была подтверждена экспрессия маркера в ОЛ [34], при этом неагрессивной инсулиномы обнаружена выраженная экспрессия как в ОЛ, так и в ОТ. Данный маркер мы выявили во всех образцах О, но в качестве ЦМ результаты получены неоднозначные. Необходимо отметить, что информация из литературных источников об экспрессии в П-НЭО ХрВ противоречива: так, Sekiya K. et al. [35] обнаружили этот маркер в 4 из 9 образцов инсулином, тогда как Kimuro N. et al. [36] — напротив, не выявили экспрессию ни в одной П-НЭО, включая 8 инсулином. Наиболее вероятно, расхождения в результатах обусловлены использованием различных наборов антител или особенностями конкретных опухолей.

#### **NESP55, цNESP55**

В ранее опубликованных работах сообщалось об экспрессии NESP55 в ОЛ ПЖ [37], а также в ткани инсулиномы, в т.ч. метастатической [38]. Нами подтверждена экспрессия NESP55 в ОЛ ПЖ при солитарной инсулиноме, а также в ткани О. Необходимо отметить, что маркер выявлен во всех образцах О. Однако, в отличие от Jakobsen A-M. et al. [38], в исследованных нами образцах данный маркер также выявлен в ОТ ПЖ при солитарной инсулиноме. Таким образом, в отношении данного маркера также получены неоднозначные результаты.

#### **TPD52**

Как и в работах других авторов, нами подтверждена экспрессия маркера в ОЛ ПЖ, а также ассоциация более низкого уровня (1–2 балла) экспрессии TPD52 в О с ее агрессивным течением [16, 26]. Но поскольку маркер экспрессировался и в ОТ, его ассоциация с инсулиномой остается сомнительной.

#### **рГПП1, цГПП1**

Нами также подтверждена экспрессия рГПП1 в ОЛ (не всегда) и в ткани О [39–45]. В обследованной нами группе обращает на себя внимание отсутствие высокоинтенсивного окрашивания на рГПП1 при неагрессивной инсулиноме. В то же время, согласно данным литературы, экспрессия рГПП1 является признаком преимущественно неагрессивных опухолей, хотя степень экспрессии в этом исследовании не уточняется [17].

Учитывая отсутствие значимого изменения уровня цГПП1 после операции как в изучаемой группе 41 пациента, так и у пациентов с доказанной экспрессией его рецептора в О, можно сделать вывод, что наличие инсулиномы не влияет на секрецию ГПП1.

#### **MTNR1b, цМелатонин, цAA-NAT**

Согласно полученным результатам, экспрессия MTNR1b выявлена нами в 60% образцов О и в 56% образцов ОЛ, что подтверждает данные ранее опубликованных исследований [23, 46]. Значимых отличий уровня цМелатонина (как и уровня цAA-NAT) у пациентов с агрессивной и неагрессивной инсулиномой не выявлено. Таким образом, возможно, данный гормон не играет патогенетической роли при инсулиоме.

Таким образом, мы выявили перспективные опухолевые маркеры (CART, MTNR1b и рГПП1), которые требуют дальнейшего изучения. Согласно полученным результатам, прочие маркеры (TPD52, ХрВ, NESP55, мелатонин, AA-NAT) не отличаются селективностью в отношении инсулиномы. В силу малой выборки пациентов, полученные данные несут предположительный характер, необходимо увеличение исследуемой популяции, а также более широкая линейка как потенциальных иммуногистохимических маркеров инсулиномы, так и соответствующих им циркулирующих.

#### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Впервые исключительно на выборке пациентов с инсулиномой исследованы маркеры CART, ХрВ, NESP55, TPD52, MTNR1b, мелатонин, рГПП1, цCART, цХрВ, цNESP55, цAA-NAT, цГПП1.

CART экспрессировался только в О, а рГПП1 и MTNR1b — в О и ОЛ, но не в ОТ, в связи с чем именно данные маркеры представляют значительный интерес для дальнейшего изучения на большей выборке пациентов. Другие маркеры не отличались селективностью (TPD52, ХрВ, NESP55 экспрессировались не только в О и ОЛ, но и в ОТ; уровни мелатонина и AA-NAT, как и остальные ЦМ, значимо не менялись у пациентов до и после оперативного вмешательства), что делает их неперспективными в отношении изучения при инсулин-продуцирующей опухоли. Требуется проведение исследований, направленных на поиск новых как циркулирующих, так и ИГХ маркеров, с целью ранней диагностики манифестации заболевания и его рецидива, более точного определения злокачественного и пролиферативного потенциала опухоли.

#### **ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ**

**Финансирование.** Исследование выполнено при поддержке гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075–15–2022–310 от 20.04.2022).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Юкина М.Ю. — анализ литературных данных; разработка концепции и дизайна исследования; проведение обследования пациентов; сбор материала; участие в проведении лабораторных исследований; получение, анализ и интерпретация результатов; написание статьи; Трошина Е.А. — помощь в разработке концепции и дизайна исследования; внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи; одобрение финальной версии рукописи; Урусова Л.С. — помощь в проведении патоморфологических и иммуногистохимических исследований; Нуралиева Н.Ф. — помощь в сборе материала; подготовка статьи к публикации; Иоутси В.А. — помощь в исследовании уровня мелатонина;

Никанкина Л.В. — помощь в проведении прочих лабораторных исследований; Реброва О.Ю. — внесение существенной (важной) правки в анализ и интерпретацию результатов; Мокрышева Н.Г. — внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи, одобрение финальной версии рукописи.

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

- Хацимова Л.С., Каронова Т.Л., Цой У.А., Яневская Л.Г., Гринева Е.Н. Инсулинома: диагностические подходы и врачебная тактика // *Проблемы эндокринологии*. — 2017. — Т. 63. — №4. — С. 212—218. doi: <https://doi.org/10.14341/probl2017634212-218>. Khacimova L.S., Karonova T.L., Tsoy U.A., lanevskaia L.G., Grineva E.N. Insulinoma: diagnostic features and treatment management. *Problems of Endocrinology*. 2017;63(4):212-218. doi: <https://doi.org/10.14341/probl2017634212-218>
- Кривко А.А., Ремизов О.В., Солдатова Т.В., Лейтес Ю.Г. Особенности топической диагностики инсулином // *Consilium Medicum*. — 2014. — Т. 16. — №4. — С. 54–55. Krivko A.A., Remizov O.V., Soldatova T.V., Leites Yu.G. Features of topical diagnostics of insulinomas. *Consilium Medicum*. 2014; 16 (4): 54–55
- Chang L, Bi X, Li S, et al. The comparison of three different molecular imaging methods in localization and grading of insulinoma. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023;14:1163176. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1163176>
- Mo S, Wang Y, Wu W, et al. Identifying target ion channel-related genes to construct a diagnosis model for insulinoma. *Front Genet*. 2023;14:1181307. doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2023.1181307>
- Ardill JES, O'Dorisio TM. Circulating biomarkers in neuroendocrine tumors of the enteropancreatic tract: application to diagnosis, monitoring disease, and as prognostic indicators. *Endocrinol Metab Clin N Am*. 2010;39(4):777–790. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2010.09.001>
- Bech P, Winstanley V, Murphy KG, et al. Elevated cocaine- and amphetamine-regulated transcript immunoreactivity in the circulation of patients with neuroendocrine malignancy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(4):1246–1253. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2007-1946>
- Ramachandran R, Bech P, Murphy KG, et al. Comparison of the utility of cocaine- and amphetamine-regulated transcript (CART), chromogranin A, and chromogranin B in neuroendocrine tumor diagnosis and assessment of disease progression. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;100(4):1520–1528. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3640>
- Jensen PB, Kristensen P, Clausen JT, et al. The hypothalamic satiety peptide CART is expressed in anorectic and non-anorectic pancreatic islet tumors and in the normal islet of Langerhans. *FEBS Lett*. 1999;447(2–3):139–143. doi: [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(99\)00291-4](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(99)00291-4)
- Abels M, Riva M, Shcherbina L, et al. Overexpressed beta cell CART increases insulin secretion in mouse models of insulin resistance and diabetes. *Peptides*. 2022;151:170747. doi: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2022.170747>
- Wierup N, Sundler F. CART is a novel islet regulatory peptide. *Peptides*. 2006;27(8):2031–2036. doi: <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2006.02.011>
- Bargsten G. Cytological and immunocytochemical characterization of the insulin secreting insulinoma cell line RINm5F. *Arch Histol Cytol*. 2004;67(1):79–94. doi: <https://doi.org/10.1679/aohc.67.79>
- Ángel J, Pérez D, Freixas MC. Chromogranin A and neuroendocrine tumors. *Endocrinol Nutr*. 2013;60(7):386–395. doi: <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2012.10.003>
- Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Лебедева А.В., Кушлинский Н.Е. Хромогранин А и хромогранин В при нейроэндокринных опухолях поджелудочной железы // *Медицинский алфавит*. — 2020. — №8. — С. 26–28. doi: <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-8-26-28> Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S., Lebedeva A.V., Kushlinsky N.E. Chromogranin A and chromogranin B in pancreatic neuroendocrine tumors. *Medical alphabet*. 2020;(8):26-28. (In Russ.) <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2020-8-26-28>
- Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Лебедева А.В., Кушлинский Н.Е. Сравнительное исследование хромогранина А и хромогранина В у больных с нейроэндокринными опухолями желудка и поджелудочной железы // *Успехи молекулярной онкологии*. — 2021. — Т. 8. — №3. — С. 8–13. [Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S., Lebedeva A.V., Kushlinsky N.E. Comparative assay of chromogranin A and chromogranin B in patients with pancreatic and gastric neuroendocrine tumors. *Uspekhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology* 2021;8(3):8–13. (In Russ.)]. doi: [10.17650/2313-805X-2021-8-3-8-13](https://doi.org/10.17650/2313-805X-2021-8-3-8-13).
- Гуревич Л.Е., Казанцева И.А. Современные подходы к морфологической диагностике нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы и прогнозированию их клинического течения на основе анализа собственной базы данных // *Альманах клинической медицины*. — 2018. — Т. 46. — №4. — С. 298–313. [Gurevich LE, Kazantseva IA. Current approaches to the morphological diagnosis of pancreatic neuroendocrine tumors and prediction of their clinical course based on the analysis of our own database. *Almanac of Clinical Medicine*. 2018;46(4):298–313]. doi: [10.18786/2072-0505-2018-46-4-298-313](https://doi.org/10.18786/2072-0505-2018-46-4-298-313).
- Alkatout I, Friemel J, Sitek B, et al. Novel prognostic markers revealed by a proteomic approach separating benign from malignant insulinomas. *Mod Pathol*. 2015;28(1):69–79. doi: <https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.82>
- Waser B, Blank A, Karamitopoulou E, et al. Glucagon-like-peptide-1 receptor expression in normal and diseased human thyroid and pancreas. *Mod Pathol*. 2015;28(3):391–402. doi: <https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.113>
- Korner M. Specific biology of neuroendocrine tumors: peptide receptors as molecular targets. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2016;30(1):19–31. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2016.01.001>
- Vesterinen T, Peltola E, Leijon H, Hannula P, Huhtala H, et al. Immunohistochemical Glucagon-like Peptide-1 Receptor Expression in Human Insulinomas. *Int. J. Mol. Sci*. 2023;24:15164. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms242015164>
- Wang Z, You J, Xu S, et al. Colocalization of insulin and glucagon in insulinoma cells and developing pancreatic endocrine cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2015;461:598–604. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2015.04.072>
- Jung E-M, Joo S-S, Yoo Y-M. Nanomolar melatonin influences insulin synthesis and secretion in rat insulinoma INS-1E cells. *J Physiol Pharmacol*. 2020;71(5). doi: <https://doi.org/10.26402/jpp.2020.5.10>
- Mühlbauer E, Albrecht E, Bazwinsky-Wutschke I, Peschke E. Melatonin influences insulin secretion primarily via MT(1) receptors in rat insulinoma cells (INS-1) and mouse pancreatic islets. *J Pineal Res*. 2012;52(4):446–459. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-079X.2012.00959.x>
- Li Y, Wu H, Liu N, et al. Melatonin exerts an inhibitory effect on insulin gene transcription via MTNR1B and the downstream Raf-1/ERK signaling pathway. *Int J Mol Med*. 2018;41(2):955–961. doi: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2017.3305>
- Peschke E, Mühlbauer E. New evidence for a role of melatonin in glucose regulation. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2016;24(5):829–841. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.09.001>
- Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E. Melatonin and pancreatic islets: interrelationships between melatonin, insulin and glucagon. *Int J Mol Sci*. 2013;14(4):6981–7015. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms14046981>
- Cavalcanti MS, Gönen M, Klimstra DS. The ENETS/WHO grading system for neuroendocrine neoplasms of the gastroenteropancreatic system: a review of the current state, limitations and proposals for modifications. *Int J Endoc r Oncol*. 2016;3(3):203-219. doi: <https://doi.org/10.2217/ije-2016-0006>
- American joint committee on cancer. *AJCC cancer staging manual*. Seventh Edition. Springer. 2010
- Iglesias P, Lafuente C, Almendra MÁM, et al. Insulinoma: a multicenter, retrospective analysis of three decades of experience (1983-2014). *Endocrinol Nutr*. 2015;62(7):306-13. doi: <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2015.04.004>

29. Crippa S, Zerbi A, Boninsegna L, et al. Surgical management of insulinomas: short- and long-term outcomes after enucleations and pancreatic resections. *Arch Surg*. 2012;147(3):261-6. doi: <https://doi.org/10.1001/archsurg.2011.1843>
30. Wu H, Zhao D, Mei M, Chen J. Expression and significance of Ki-67 in insulinoma. *Chinese Journal of Gastroenterology*. 2008;13(4):209-212
31. Hasanov R, Samadov E, Bayramov N, et al. Surgical management of insulinomas at the Azerbaijan Medical University: a retrospective study of 21 cases over a 10-year period. *Turk J Med Sci*. 2020;50(5):1262-1269. doi: <https://doi.org/10.3906/sag-2001-150>
32. Abels M, Riva M, Bennet H, et al. CART is overexpressed in human type 2 diabetic islets and inhibits glucagon secretion and increases insulin secretion. *Diabetologia*. 2016;59(9):1928-37. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-016-4020-6>
33. Bearrows SC, Bauchle CJ, Becker M, Haldeman JM, Swaminathan S, Stephens SB. Chromogranin B regulates early-stage insulin granule trafficking from the Golgi in pancreatic islet  $\beta$ -cells. *J Cell Sci*. 2019;132(13):jcs231373. doi: <https://doi.org/10.1242/jcs.231373>
34. Lukinius A, Stridsberg M, Wilander E. Cellular expression and specific intragranular localization of chromogranin A, chromogranin B, and synaptophysin during ontogeny of pancreatic islet cells: an ultrastructural study. *Pancreas*. 2003;27(1):38-46. doi: <https://doi.org/10.1097/00006676-200307000-00006>
35. Sekiya K, Ghatei MA, Salahuddin MJ, et al. Production of GAWK (chromogranin-B 420-493)-like immunoreactivity by endocrine tumors and its possible diagnostic value. *J Clin Invest*. 1989;83(6):1834-42. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI114089>
36. Kimura N, Pilichowska M, Okamoto H, Kimura I, Aunis D. Immunohistochemical expression of chromogranins A and B, prohormone convertases 2 and 3, and amidating enzyme in carcinoid tumors and pancreatic endocrine tumors. *Mod Pathol*. 2000;13(2):140-6. doi: <https://doi.org/10.1038/modpathol.3880026>
37. Maffei A, Liu Z, Witkowski P, et al. Identification of tissue-restricted transcripts in human islets. *Endocrinology*. 2004;145(10):4513-21. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2004-0691>
38. Jakobsen AM, Ahlman H, Ko L. NESP55, a novel chromogranin-like peptide, is expressed in endocrine tumours of the pancreas and adrenal medulla but not in ileal carcinoids. *Br J Cancer*. 2003;88(11):1746-1754. doi: <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6600924>
39. Jansen TJP, van Lith SAM, Boss M, et al. Exendin-4 analogs in insulinoma therapeutics. *J Labelled Comp Radiopharm*. 2019;62(10):656-672. doi: <https://doi.org/10.1002/jlcr.3750>
40. Sidrak MMA, Maria De Feo S, Corica F, et al. Role of Exendin-4 Functional Imaging in Diagnosis of Insulinoma: A Systematic Review. *Life (Basel)*. 2023;13(4):989. doi: <https://doi.org/10.3390/life13040989>
41. Parihar AS, Vadi SK, Kumar R, et al. 68Ga DOTA-Exendin PET/CT for Detection of Insulinoma in a Patient With Persistent Hyperinsulinemic Hypoglycemia. *Clin Nucl Med*. 2018;43(8):e285-e286. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000002155>
42. Antwi K, Nicolas G, Fani M, et al. 68Ga-Exendin-4 PET/CT Detects Insulinomas in Patients With Endogenous Hyperinsulinemic Hypoglycemia in MEN-1. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019;104(12):5843-5852. doi: <https://doi.org/10.1210/je.2018-02754>
43. Campbell SA, Johnson J, Light PE. Evidence for the existence and potential roles of intra-islet glucagon-like peptide-1. *Islets*. 2021;13(1-2):32-50. doi: <https://doi.org/10.1080/19382014.2021.1889941>
44. Michalski K, Laubner K, Stoykow C, et al. Detection of Insulinomas Using Dual-Time-Point 68Ga-DOTA-Exendin 4 PET/CT. *Clin Nucl Med*. 2020;45(7):519-524. doi: <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000003093>
45. Luo Y, Chen X. Imaging of Insulinoma by Targeting Glucagonlike Peptide-1 Receptor. *PET Clin*. 2021;16(2):205-217. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cpet.2020.12.008>
46. Mulder H, Nagorny CLF, Lyssenko V, Groop L. Melatonin receptors in pancreatic islets: good morning to a novel type 2 diabetes gene. *Diabetologia*. 2009;52(7):1240-9. doi: <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1359-y>

Рукопись получена: 10.05.2024. Одобрена к публикации: 05.06.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\*Юкина Марина Юрьевна, к.м.н. [Marina Yu. Yukina, MD, PhD]; адрес: 117292, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11 [address: 11, Dm. Ulyanova street, 117292 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8771-8300>; SPIN-код: 4963-8340; e-mail: [yukina.marina@endocrincentr.ru](mailto:yukina.marina@endocrincentr.ru)

Трошина Екатерина Анатольевна, д.м.н., профессор [Ekaterina A. Troshina, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8520-8702>; SPIN-код: 8821-8990

Урсова Лилия Сергеевна, д.м.н. [Liliya S. Urusova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6891-0009>; SPIN-код: 5151-3675

Нуралиева Нурана Фейзуллаевна, к.м.н. [Nurana F. Nuralieva, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6876-3336>; SPIN-код: 7373-2602

Никанкина Лариса Вячеславовна, к.м.н. [Larisa V. Nikankina, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3199-4998>

Иоутси Виталий Алексеевич, к.х.н. [Vitaliy A. Ioutsy, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9002-1662>

Реброва Ольга Юрьевна, д.м.н. [Olga Yu. Rebrova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6733-0958>; SPIN-код: 7360-3254

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., профессор [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; SPIN-код: 5624-3875

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Юкина М.Ю., Трошина Е.А., Урсова Л.С., Нуралиева Н.Ф., Никанкина Л.В., Иоутси В.А., Реброва О.Ю., Мокрышева Н.Г. Поиск новых иммуногистохимических и циркулирующих маркеров инсулиномы // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 15-26. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13466>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Yukina MY, Troshina EA, Urusova LS, Nuralieva NF, Nikankina LV, Ioutsy VA, Rebrova OY, Mokrysheva NG Search for new immunohistochemical and circulating markers of insulinoma. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):15-26. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13466>

## ТРАНСКОРТИН: ЕГО СВОЙСТВА И ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ РОЛЬ В ОРГАНИЗМЕ ЧЕЛОВЕКА



© А. Шевз\*, М.М. Гаджимурадова, Д.Г. Бельцевич, А.Н. Романова, К.Ш. Бегова, Х.В. Багирова, А.К. Эбзеева, Г.А. Мельниченко

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Стероидные гормоны принимают активное участие в целом комплексе физиологических процессов, которые являются основополагающими для нормального развития и функционирования организма. В кровяном русле основная масса стероидных гормонов находится в связанном со специфическими транспортными белками состоянии, в частности с транскортином. Вопросы глюкокортикоидно-белкового комплексообразования при различных состояниях активно изучались во второй половине XX века, однако в настоящее время данная проблематика оттеснена на второй план разработкой более точных диагностических методов определения стероидных гормонов. Настоящий обзор литературы представляет накопленные данные о физико-химических свойствах транскортина, генетических факторах, влияющих на его синтез и секрецию. Детально проанализированы опубликованные данные о его физиологическом значении в организме человека в рамках не только гипотезы «свободных гормонов», но и недавно выдвинутой резервуарной гипотезы. Результаты исследований показали, что синтез транскортина был обнаружен в некоторых внепеченочных тканях, в том числе в надпочечниках, однако его роль неизвестна.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** транскортин; гормоны; связывающие белки; глюкокортикостероиды; буферная система; физиологические механизмы человека.

### THE FUNCTIONAL ROLE AND PROPERTIES OF TRANSCORTIN IN THE HUMAN BODY

© Anastassia Chevais\*, Mansurat M. Gadzhimuradova, Dmitriy G. Beltsevich, Alina N. Romanova, Kamila Sh. Begova, Hanum V. Bagirova, Aminat K. Ebzееva, Galina A. Melnichenko

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Steroid hormones take an active part in a whole complex of physiological processes that are fundamental for the normal development and functioning of the human body. In the bloodstream steroid hormones are bind with specific transport proteins, in particular with transcortin. The matter of changes in hormone-protein complex in various conditions were actively studied in the second half of the twentieth century, but currently this issue has been taken a back seat by the development of high-precision diagnostic methods of steroid hormones determining. This literature review presents accumulated data on the physicochemical properties of transcortin, genetic factors affecting its synthesis and secretion. Published data on its physiological significance in the human body are analyzed in detail within the framework of not only the “free hormone” hypothesis, but also the reservoir hypothesis. Research results have shown that the synthesis of transcortin has been detected in some extrahepatic tissues, including the adrenal glands, however, its role is unknown.

**KEYWORDS:** transcortin; hormones; binding protein; glucocorticosteroid; buffer system; human physiological mechanisms.

Кортизол-связывающий белок, также известный как транскортин (ТК) или серпин А6, является основным транспортером глюкокортикостероидов (ГКС), в частности кортизола. Около 95% кортизола связано с белками-переносчиками, остальные 5% находятся в свободном или активном состоянии и способны связываться со специфическими рецепторами в клетках. Белки-переносчики кортизола представлены ТК (до 80–90%), обладающим высокой аффинностью, но низкой емкостью и альбумином (до 10%), который, в свою очередь, имеет низкую аффинность и значительно большую буферную емкость [1].

ТК был открыт в 1956 г. двумя независимыми группами ученых, Daughaday et al. и Bush et al., которые продемонстрировали методом равновесного диализа присутствие в плазме крови специфических глобулинов, обладающих

очень высоким сродством к кортикостероидам [2, 3]. Впоследствии его роль в качестве переносчика была тщательно исследована в равной степени, как и корреляция объема буферной системы и уровня циркулирующего кортизола, а также факторов, оказывающих влияние на его концентрацию и аффинность.

Известно, что стероидогенез, в частности выработка ГКС, есть у всех позвоночных, включая рыб, однако ТК вырабатывается лишь у наземных позвоночных животных и водных млекопитающих. Несмотря на то, что аффинность ТК к ГКС широко варьируется между различными видами животных, основной функцией у всех остается регулирование уровней несвязанных или «свободных» ГКС, циркулирующих в нормальном физиологическом состоянии. Учитывая, что емкость ТК в нормальной плазме человека превышает концентрацию

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



кортикостероидов в состоянии покоя, он действует как буфер, направленный на нивелирование сильных колебаний уровня кортизола, вызванных пульсирующими циркадными ритмами секреции.

### СТРУКТУРА

ТК — это транспортный гликопротеин с массой 50–60 кДа [4]. Человеческий ТК производится гепатоцитами в виде предшественника, который состоит из 405 аминокислотных остатков, включающих 22-аминокислотных пептида. При его отщеплении образуется зрелый полипептид (содержащий 383 аминокислотных остатка), который циркулирует в концентрации от 30 до 52 пг/мл. Каждая молекула ТК содержит пять активных сайтов N-гликозилирования. Различная 2- и 3-антенарная структура объясняет гетерогенность ТК (размер и заряд). Гликозилирование в Asp<sup>238</sup> необходимо для образования третичной структуры белка и создания активного сайта связывания стероидов. Каждая молекула ТК имеет один такой сайт, в котором триптофан в 371 позиции (Trp<sup>371</sup>) напрямую участвует в связывании стероидов. Многократное увеличение концентрации ТК во время беременности обусловлено гликозилированием в 3-антенарном участке, что приводит к увеличению содержания сиаловых кислот и к уменьшению клиренса сиало-гликопротеиновых рецепторов в печени [5].

По текущим данным базы NCBI Protein отмечается относительно низкая степень сходства последовательностей между ТК разных видов млекопитающих (60% сходства между человеческим и крысиным ТК) по сравнению с ГК рецептором (91%). Важно отметить, что в зрелом полипептиде ТК человека наиболее плохо сохранившийся участок (участок с низкой степенью сохранности) (49%) соответствует 330–360 аминокислотным остаткам, включающим петлю реакционного центра [6].

### ТРАНСКОРТИН КАК ПРЕДСТАВИТЕЛЬ СЕМЕЙСТВА SERPIN

Считается, что суперсемейство белков SERPIN (сокр. serpine protease inhibitors, «ингибиторы сериновых протеаз») претерпело дивергентную эволюцию более 600 миллионов лет назад и встречается у всех многоклеточных эукариот, причем большинство из данных полипептидов, как следует из названия, ингибирует сериновые протеазы [7]. Все типы SERPIN имеют сходную вторичную структуру, которая включает три β-слоя (листа), 8–9 α-спиралей и домен, содержащий полуконсервативный активный центр. Часть активного центра представлена вариабельным сайтом связывания (важнейший компонент селективности SERPIN) с протеазами. Активные SERPIN существуют в метастабильном состоянии и претерпевают конформационные изменения в более стабильные формы для выполнения различных функций. В результате уникального и обширного конформационного изменения, которое достигается путем отщепления серина, происходит разрушение каталитического центра, что предотвращает высвобождение протеазы из комплекса, а также ведет к ее структурным изменениям [8]. Протеаза, которая теряет свою структурную целостность, подвержена атаке и деградации дру-

гими протеазами. Таким образом, большинство SERPIN способствуют более быстрому обороту родственных протеаз и контролируют специфическую протеазную активность [9]. Результатом конформационных изменений является значительное (~10-кратное) снижение аффинности ТК к кортизолу [6, 10].

Это суперсемейство участвует в различных физиологических процессах, включая фагоцитоз, коагуляцию, активацию комплемента, фибринолиз, воспаление и др. [8]. У эукариот серпины делятся на две подгруппы: ингибирующие и неингибирующие серпины. В отличие от большинства членов семейства, ТК (SERPINA6) и тироксин-связывающий глобулин (SERPINA7) действуют как неингибирующие молекулы транспорта гормонов [10].

Ген *SERPINA6* содержит 5 экзонов, имеет длину в 19-kb и расположен на коротком плече 14 хромосомы (14q32.1) среди нескольких смежных высоко гомологичных генов, которые происходят от одного предкового гена. Промотор *SERPINA6* содержит TATA-бокс и CAAT-бокс, а также другие элементы высококонсервативной последовательности ДНК, которые, по-видимому, обуславливают его специфическую печеночную экспрессию [11]. Ген экспрессируется в почках, легких, плаценте и поджелудочной железе [4, 12].

Уровень общего кортизола у людей на 30–60% является наследственно детерминированным, однако ранее не было идентифицировано никакого конкретного генетического компонента, объясняющего межиндивидуальные различия в уровне утреннего кортизола сыворотки крови. В 2014 г. был организован консорциум CORTisol NETwork (CORNET), целью которого было проведение полногеномного ассоциативного метаанализа (GWAMA). В ходе GWAMA проводился анализ генетических детерминант межиндивидуальных вариаций гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси (ГГНО) у 12 597 участников европеоидной расы. Результаты показывают, что <1% дисперсии кортизола в плазме объясняется генетической изменчивостью в одном участке 14 хромосомы. Данный локус охватывает ранее описанный *SERPINA6* и *SERPINA1*, который кодирует α1-антитрипсин, ингибирующий расщепление петли реактивного центра ТК. В пределах данного региона были идентифицированы различия последовательностей ДНК в одинаковых участках хромосом на один нуклеотид, а именно три однонуклеотидных полиморфизма (Single-Nucleotide Polymorphism) или SNP. Дальнейшие исследования в данной области выявили, что эти SNP ассоциированы с изменениями кортизол-связывающей способности ТК, влияют на общие концентрации ТК, а также на иммунореактивность петли активного центра ТК [21, 22].

### ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ ТК

Первоначально считалось, что роль ТК заключается в транспорте нерастворимого в воде кортизола в сыворотке крови. Однако около 20 лет назад в ходе сравнительного анализа молекулярного поля начали использовать закон действующих масс применительно к гормон-связывающим глобулинам плазмы (ГСГ) (L + R ↔ LR), что обычно делается в биомедицинских исследованиях. Закон действующих масс гласит, что

количество свободного или связанного гормона в плазме зависит от количества гормона (L), количества связывающего глобулина (R) или сродства одного к другому (двунаправленная стрелка) [13]. В связи с этим возникли разногласия относительно роли ГСГ в регулировании доступа гормонов к тканям.

Существуют три классические гипотезы относительно эффекта ГСГ на доступность гормонов: гипотеза «общего гормона», «свободного гормона» и «связанного гормона». Относительно недавно Malisch и Breuner (2010 г.) представили резервуарную гипотезу, которая является модификацией гипотезы «свободных гормонов» [14].

Согласно гипотезе «общего гормона», присутствующий в плазме гормон свободно поступает в ткани и связывается с рецепторами, следовательно, 100% стероидов плазмы обладают биологической активностью. Стероиды липофильны, поэтому не могут существовать в высоких концентрациях в организме. Таким образом, предполагается, что связывающие глобулины являются простыми транспортными молекулами, функция которых сводится к доставке гормона в ткани по мере прохождения комплекса через капилляры (рис. 1) [15].

В свою очередь приверженцы гипотезы «свободных гормонов» утверждают, что только несвязанная (свободная) фракция гормона попадает в ткани и оказывает физиологическое воздействие. ТК обычно имеет размер 50–60 кДа [4]. В нормальных гомеостатических условиях пространства между эндотелиальными клетками, выстилающими стенки капилляров, слишком малы для прохождения больших молекул. ТК, являясь гидрофильной молекулой с большой массой, не может диффундировать через мембраны в клетки, следовательно, кортизол, связанный с ТК, не может проникать в интерстициальную жидкость и остается в плазме. Таким образом, потенциально ограничивается (регулируется) доступ гормонов к тканям. Доказательства в пользу данной гипотезы были продемонстрированы в исследовании *in vivo* Qian et al., которые сравнивали уровни общего и свободного кортизола в плазме и тканях у мышей в состоянии покоя и при физической нагрузке. По результатам работы изменение уровня кортизола в тканях зеркально отражалось в изменении концентрации свободного кортизола плазмы во времени и сильно отличалось от уровня общего гормона плазмы [24].

Резервуарная гипотеза, как дополнение к вышеуказанной теории, предполагает биологическую активность как свободной, так и связанной фракции гормона [14]. В случае, когда и связывающая способность ТК, и его аффинность уменьшаются, связанный гормон высвобождается и становится биологически активными. ТК плазмы образуют буферную белковую систему, действующую в плазме как резервуар ГКС, которые могут быть непосредственно транспортированы к тканям-мишеням (рис. 1) [16, 17]. При различных патологических состояниях, например, лихорадке, сродство ТК к ГКС снижается, в результате чего происходит системное резкое увеличение количества биодоступной фракции гормона [16, 18]. В дополнение к его основной роли ТК опосредует адресную доставку ГКС к очагам воспаления (рис. 1) [6, 19]. Адресная доставка ГКС, обладающих противовоспалительным эффектом, осуществляется посредством расщепления ТК протеазами, присутствующими в местах

воспаления, например, эластазой, высвобождаемой активированными нейтрофилами [6, 10]. Аффинность ТК к ГКС снижается в непосредственной близости к сосудистой сети, в результате чего свободная фракция гормона возрастает в 5–10 раз в этом локальном участке [20]. В работе Perogamvros et al. с помощью биоанализа ГКС (исследования показателей клеточного метаболизма *in vitro*) исследовалась роль ТК в пререцепторном регулировании биодоступности ГКС. Предполагалось, что в случае, когда ТК регулирует доступ ГКС к тканям, изменение уровня ТК должно влиять на активность ГКС на клеточном уровне. Это оценивалось путем погружения клеток HeLa в 10, 20, 50 или 100% сыворотку крови человека, лишенную эндогенного гормона и обогащенную кортизолом. Таким образом, одинаковое количество общего кортизола было доступно вне клеток, однако емкость ТК десятикратно варьировалась. Был зафиксирован гораздо более низкий уровень свободного гормона в 100% сыворотке, что означало: разведение сыворотки приводило к большей доступности свободного кортизола. Такие эффекты разбавления могут быть физиологически значимы при гемодилюции, а также на тканевом уровне при воспалении, сопровождающемся отеком тканей или в синовиальной жидкости, где концентрация ТК определяется тремя процессами: более легким проникновением путем экстравазации, усилением элиминации вследствие расщепления эластазой и дилуцией из-за отека, вызванного воспалением. Эти изменения будут способствовать увеличению концентрации свободного кортизола в местах воспаления, что говорит о достоверности резервуарной теории [23].

## БИОСИНТЕЗ ТК И ЛОКАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ В РАЗЛИЧНЫХ ОРГАНАХ

### Синтез ТК в печени

Впервые вывод о синтезе ТК плазмы гепатоцитами сделан Weiser et al., которые продемонстрировали, что гепатоциты крыс синтезируют белок с аналогичными свойствами, как и ТК [25]. Впоследствии печеночный синтез ТК был подтвержден реакцией трансляции *in vitro* с использованием мРНК печени, полученной от морских свинок и крыс [26, 27]. Предположение, что ТК человека может синтезироваться в печени, было выдвинуто намного ранее (Doe et al. в 1964 г.) и основывалось на том, что концентрация ТК в сыворотке была низкой у больных циррозом печени [28]. Доказательством производства ТК плазмы человека гепатоцитами являются результаты работ Sueda et al. и Khan et al., в которых было показано, что человеческий ТК может быть синтезирован из бесклеточной трансляции печеночной мРНК и клетками HepG2 (клеточная линия гепатомы человека) [29, 30].

### Внепеченочный синтез ТК

За последнее десятилетие было проведено несколько ключевых исследований, которые продемонстрировали убедительные доказательства, что ТК может синтезироваться не только в печени, но и в головном мозге, гипофизе, сердце, легких, надпочечниках, яичках, плаценте и др. [31, 32, 33]. Точная роль ТК в этих тканях до конца не изучена.

В настоящее время изучается непосредственная роль ТК в регуляции действия ГКС, в частности локально в тканях. Guflo et al. сконцентрировались на более детальном изучении надпочечников, одной из наиболее важных структур, обеспечивающих физиологический ответ на стресс. В работе Guflo et al., первоначальной целью которой было выяснение влияния дефицита ТК на секреторно-синтетическую эндокринную активность надпочечников, были выявлены признаки внутриадrenalовой продукции ТК. Иммуногистохимический (ИГХ) анализ показал наличие ТК не только внутри клеток клубочковой и пучковой зон, но и в медуллярной зоне [31]. Возможное объяснение состоит в том, что ТК играет роль в регуляции ГКС, влияющих в свою очередь на синтез катехоламинов. Известно, что ГНС участвует в регуляции синтеза катехоламинов в симпатических ганглиях и мозговом веществе надпочечников за счет индукции различных ферментов. Увеличение АКТГ способствует экспрессии тирозингидроксилазы и допамин-β-гидроксилазы в симпатических ганглиях, но не влияет на их экспрессию в мозговом веществе надпочечников, поскольку MC2R присутствует только в корковом слое надпочечников. В свою очередь в медуллярном слое надпочечников конверсия L-норадреналина в L-адреналин происходит за счет фермента фенилэтиламин-N-метилтрансферазы, которая индуцируется кортизолом [34]. В связи с этим ТК можно считать внутриклеточным переносчиком, который способен регулировать внутриадrenalовую концентрацию ГКС и опосредованно обеспечивать адекватное реагирование организма на стресс (рис. 1). Это неожиданное открытие требует дальнейших исследований, необходимых для изучения влияния ТК на функцию надпочечников.

Впервые в центральной нервной системе (ЦНС) человека ТК был обнаружен в результате иммуноанализа спинномозговой жидкости в конце 80-х. Наиболее ранние работы исследовали наличие данного белка у других млекопитающих (крыс, морских свинок) [35, 36]. В дальнейших исследованиях было обнаружено, что в гипоталамусе человека иммунореактивность ТК была локализована с классическими нейрогипофизарными пептидами — вазопрессинном и окситоцином. Кроме того, ТК был обнаружен в аксональных варикозных расширениях на всем протяжении латеральной области гипоталамуса, перивентрикулярном ядре, во внутренней зоне срединного возвышения, воронке гипоталамуса, а также в нейрогипофизе [37]. Было предположено, что ТК подвергается аксоплазматическому транспорту в крупноклеточных нейронах паравентрикулярного ядра и терминальному высвобождению в портальную или системную циркуляцию вместе с двумя важными стрессовыми пептидами — вазопрессинном и окситоцином и тем самым участвует в изменениях ГНО во время стресса. Длительное время не было достаточных данных о том, обусловлено ли присутствие ТК в нейронах и глиальных клетках его синтезом непосредственно клетками головного мозга или же его наличие было следствием транспорта данного белка из печени. В более поздней работе Sivukhina et al. выявлено, что один и тот же ген (*SERPINA6*) кодирует ТК как в печени, так и в головном мозге. При секвенировании гипоталамического ТК была выявлена полная его гомология с ТК печени. мРНК ТК,

локально вырабатываемая в различных областях головного мозга, исключает теорию транспорта ТК из крови непосредственно в структуры мозга [33].

Наличие внепеченочной экспрессии *SERPINA6* на низком уровне было отмечено в легочной ткани человека [12], однако на сегодняшний день ее роль не изучена. В работе Caldwell et al. и Schafer et al. в ходе ИГХ было обнаружено, что реакция «антиген–антитело» к ТК присутствовала почти во всех кардиомиоцитах (цитоплазма, клеточная мембрана). Наиболее выраженная иммунореактивность к ТК обнаружена в волокнах Пуркинье и гладкомышечных клетках артериальной стенки, при этом белок был локализован с минералокортикоидными рецепторами [32, 38]. В ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР-тест) мРНК *SERPINA6* также была обнаружена в кардиомиоцитах [32]. Авторы отмечают, что обилие ТК в этих клетках указывает на их локальную функциональную важность. Установлено, что экспрессия ТК изменяется при некоторых сердечно-сосудистых заболеваниях. Известная чувствительность кровеносных сосудов к повышенному уровню стероидов связана с такими заболеваниями, как артериальная гипертензия (АГ) и атеросклеротическое поражение кровеносных сосудов. Хронически высокая системная концентрация кортизола связана с увеличением тропонина Т в плазме, что указывает на повреждение кардиомиоцитов. С учетом того, что ТК действует как буфер для ГКС, регулируя количество свободного гормона, было предположено, что кардиопротекция может быть одной из функций ТК (рис. 1) [39]. При высоких концентрациях кортизол связывается с минералокортикоидными рецепторами с аффинностью, равной аффинности альдостерона, что создает чрезмерный окислительный стресс в кардиомиоцитах у пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Повышенный уровень свободного кортикостерона является дополнительным предиктором риска неблагоприятных сердечно-сосудистых событий у пациентов с ХСН. Более того, уровни циркулирующих стероидов повышаются при различных патологических состояниях, в том числе при инфаркте миокарда (ИМ), при котором данные гормоны являются независимыми предикторами сердечно-сосудистой смерти [40].

У женщин доказательства экспрессии *SERPINA6* были продемонстрированы в различных структурах — эндометрии, желтом теле [41]. Misao et al. продемонстрировали наличие мРНК ТК и самого белка в плацентарных клетках. Стероидные гормоны и различные белки в амниотической жидкости человека происходят из децидуальной оболочки и хорионического трофобласта [42, 43]. Свободная диффузия стероидов через амнион ограничена. Это представляет из себя один из механизмов защиты эмбриона от нежелательного воздействия биологически активных стероидов (избыток ГКС приводит к задержке внутриутробного развития). В дополнение к этому, у млекопитающих существует две изоформы 11β-гидроксистероиддегидрогеназы (HSD). 11β-HSD1 взаимопревращает биологически активный кортизол и неактивный кортизон, тогда как 11β-HSD2 преобразует только кортизол в кортизон. Плацентарный 11β-HSD необходим для защиты плода от высоких уровней материнских ГКС [44]. Белок 11βHSD2 локализован в синцитиотрофобластах человека [45]. При ИГХ-исследовании

со специфическими антителами к ТК человека Misao et al. также выявили окрашивание синцитиотрофобластов, что позволяет сделать вывод о том, что человеческая плацента также продуцирует ТК, который участвует в гормональной регуляции во время гестации (рис. 1). Кроме того, человеческий амнион, хорион и децидуальная оболочка играют важную роль в возникновении и развитии схваток, в частности, происходит выработка большого количества простагландинов, необходимых для сокращения миометрия [46, 47]. ГКС вовлечены в регуляцию продукции простагландинов этими тканями. Challis et al. выявили, что потенциальное значение ГКС состоит в увеличении образования простагландинов посредством стимуляции простангландин-Н-синтазы при одновременном снижении их метаболизма путем ингибирования экспрессии простангландиндегидрогеназы [46]. Таким образом, производство ТК in situ плацентой потенциально может быть одним из ключевых факторов регуляции этого процесса.

Любопытно, что ТК можно также обнаружить в носу млекопитающих. Dölz et al. обнаружили этот белок как в вомероназальном органе (якобсонов орган, ВНО), так и в основной обонятельной системе [48]. ВНО относится к периферическому отделу дополнительной обонятельной системы и играет важную роль в формировании полового поведения путем обнаружения феромонов. ВНО хорошо развит у змей, ящериц и большинства млекопитающих. Считается, что у людей данный орган является временной эмбриональной структурой, однако в незначительной части случаев может быть развит в различной степени и у взрослых людей и представляет собой углубление в носовой полости [49, 50, 51]. Детальное изучение результатов научных исследований позволило сде-

лать вывод об утрате ВНО своей роли в ходе эволюции и постепенном транзите некоторых его функций в другие ткани организма. Несмотря на то, что в большинстве случаев во взрослом возрасте ВНО не функционирует, восприятие феромонов происходит через основную обонятельную систему. В качестве кандидатов на роль феромонов человека выступило несколько соединений стероидной природы, производных прогестерона, например, андростенон или андростадиенон [52]. В связи с тем, что ВНО почти не содержит ядерных стероидных рецепторов, было предположено, что известные эффекты ГКС в ВНО опосредованы ТК [52, 53]. Caldwell et al. выдвинули гипотезу, что ТК, вырабатываемый боуменовыми железами и бокаловидными клетками, секретируется в носовую слизь и, помимо ГКС, может связывать прогестиноподобные феромоны (рис. 1). У крыс, связанный с ГКС или прогестиноподобными феромонами ТК, интернализуется как в сенсорных, так и в несенсорных клетках ВНО. Более того, аксоны, содержащие ТК, были обнаружены и в основной обонятельной луковице [48], в связи с чем было предположено, что ТК транспортирует ГКС или феромоны на всем пути к обонятельной луковице. В свою очередь митральные клетки обонятельной луковицы могут передавать информацию о периферических ГКС или феромонах в лимбическую систему. Поскольку ТК-содержащие отростки в обонятельной луковице часто примыкают к кровеносным сосудам, авторы постулируют, что митральные клетки идеально расположены для опосредованной активации центрального и эндокринного ответа на стресс. Однако на сегодняшний день исследования, демонстрирующие физиологические эффекты предполагаемых стероидных феромонов у людей, не смогли подтвердить заявленные результаты [52].

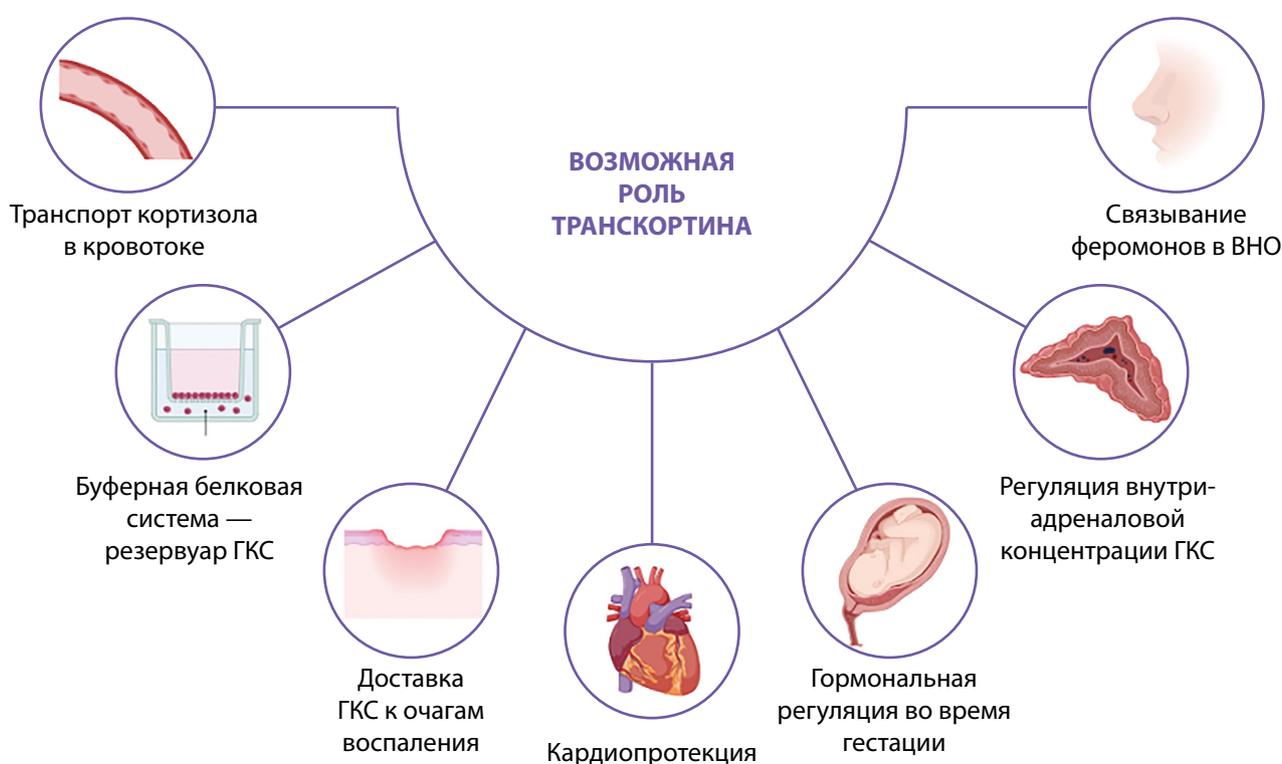


Рисунок 1. Возможная роль транскортина в организме человека.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные в обзорной статье данные указывают на важную, но неизученную роль ТК, обеспечивающего синтез и доставку стероидов, и открывают путь к дальнейшим исследованиям.

Измерение ТК может играть практическую роль в оценке активной фракции кортизола, что потенциально может быть полезно в клинической практике, когда уровни ТК или аффинность связывания кортикостероидов могут значительно меняться, однако исследования, посвященные изменениям ТК при различных патологиях надпочечников, весьма ограничены. Кроме этого, получены данные о синтезе ТК непосредственно в надпочечниках, выявлено влияние ТК на экспрессию рецепторов АКГГ на мембране адреналовых клеток. Предполагается, что ТК также влияет на ГНО во время стресса. Полученные результаты указывают на то, что остается неизученной роль ТК в функционировании надпочечников, синтезе и секреции стероидов. При этом с целью дальнейшего использования полученных данных в практике при анализе результатов необходимо учитывать межвидовую гетерогенность свойств ТК.

Несмотря на то, что был достигнут прогресс в понимании механизмов регуляции уровней ТК в плазме и тканях, которые происходят во время воспаления, на сегодняшний день наши представления о роли и влиянии ТК весьма

ограничены, в связи с чем необходимо проведение дополнительных исследований. На данный момент исследования, изучающие механизмы, ответственные за изменения ТК во время воспаления, были выполнены лишь на грызунах и, следовательно, должны быть исследованы у людей. Кроме того, пока остаются неясными роль ТК в процессе восстановления и сроки нормализации уровней ТК в плазме при различных состояниях. Наконец, с растущими доказательствами важности ТК в воспалительных реакциях, негативного влияния высоких уровней ГК на течение различных сердечно-сосудистых заболеваний, заслуживающими внимания представляются исследования, изучающие потенциал лечения плазменным ТК.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания «Разработка новых технологий диагностики и мониторинга опухолей коры надпочечников с использованием метаболомных и протеомных технологий». Регистрационный номер 123021300098-7

**Конфликт интересов.** Конфликт интересов отсутствует.

**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

- Bae YJ, Kratzsch J. Corticosteroid-binding globulin: modulating mechanisms of bioavailability of cortisol and its clinical implications. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015;29(5):761-772. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.09.001>
- Daughaday WH. Binding of corticosteroids by plasma proteins. I. Dialysis equilibrium and renal clearance studies. *J Clin Invest.* 1956;35(12):1428-1433. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI103400>
- Westphal U, Devenuto F. Steroid-protein interactions. XI. Electrophoretic characterization of corticosteroid-binding proteins in serum of rat, man and other species. *Biochim Biophys Acta.* 1966;115(1):187-196. doi: [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(66\)90063-8](https://doi.org/10.1016/0304-4165(66)90063-8)
- Hammond GL. Molecular properties of corticosteroid binding globulin and the sex-steroid binding proteins. *Endocr Rev.* 1990;11(1):65-79. doi: <https://doi.org/10.1210/edrv-11-1-65>
- Torpy DJ, Ho JT. Corticosteroid-binding globulin gene polymorphisms: clinical implications and links to idiopathic chronic fatigue disorders. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;67(2):161-167. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2007.02890.x>
- Hammond GL, Smith CL, Paterson NA, et al. A role for corticosteroid-binding globulin in delivery of cortisol to activated neutrophils. *J Clin Endocrinol Metab.* 1990;71(1):34-39. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-71-1-34>
- Hunt LT, Dayhoff MO. A surprising new protein superfamily containing ovalbumin, antithrombin-III, and alpha 1-proteinase inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1980;95(2):864-871. doi: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(80\)90867-0](https://doi.org/10.1016/0006-291x(80)90867-0)
- Huntington JA, Read RJ, Carrell RW. Structure of a serpin-protease complex shows inhibition by deformation. *Nature.* 2000;407(6806):923-926. doi: <https://doi.org/10.1038/35038119>
- Cohen M, Davydov O, Fluhr R. Plant serpin protease inhibitors: specificity and duality of function. *J Exp Bot.* 2019;70(7):2077-2085. doi: <https://doi.org/10.1093/jxb/ery460>
- Pemberton PA, Stein PE, Pepys MB, et al. Hormone binding globulins undergo serpin conformational change in inflammation. *Nature.* 1988;336(6196):257-258. doi: <https://doi.org/10.1038/336257a0>
- Underhill DA, Hammond GL. Organization of the human corticosteroid binding globulin gene and analysis of its 5'-flanking region. *Mol Endocrinol.* 1989;3(9):1448-1454. doi: <https://doi.org/10.1210/mend-3-9-1448>
- Hammond GL, Smith CL, Goping IS, et al. Primary structure of human corticosteroid binding globulin, deduced from hepatic and pulmonary cDNAs, exhibits homology with serine protease inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1987;84(15):5153-5157. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.84.15.5153>
- Deviche P, Breuner C, Orchinik M. Testosterone, corticosterone, and photoperiod interact to regulate plasma levels of binding globulin and free steroid hormone in dark-eyed juncos, *Junco hyemalis*. *Gen Comp Endocrinol.* 2001;122(1):67-77. doi: <https://doi.org/10.1006/gcen.2001.7613>
- Malisch JL, Breuner CW. Steroid-binding proteins and free steroids in birds. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;316(1):42-52. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2009.09.019>
- Vergara RC, Torres-Araneda A, Villagra DA, et al. Erratum: Are eavesdroppers multimodal? Sensory exploitation of floral signals by a non-native cockroach. *Blatta orientalis*. *Curr Zool.* 2017;67(3):353. doi: <https://doi.org/10.1093/cz/zox050>
- Henley DE, Lightman SL. New insights into corticosteroid-binding globulin and glucocorticoid delivery. *Neuroscience.* 2011;180:1-8. doi: <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.02.053>
- Cizza G, Rother KI. Cortisol binding globulin: more than just a carrier? *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(1):77-80. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3090>
- Mickelson KE, Forsthoefel J, Westphal U. Steroid-protein interactions. Human corticosteroid binding globulin: some physicochemical properties and binding specificity. *Biochemistry.* 1981;20(21):6211-6218. doi: <https://doi.org/10.1021/bi00524a047>
- Hammond GL, Smith CL, Underhill DA. Molecular studies of corticosteroid binding globulin structure, biosynthesis and function. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1991;40(4-6):755-762. doi: [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(91\)90300-t](https://doi.org/10.1016/0960-0760(91)90300-t)

20. Breuner CW, Beyl HE, Malisch JL. Corticosteroid-binding globulins: Lessons from biomedical research. *Mol Cell Endocrinol*. 2020;514:110857. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110857>
21. Bolton JL, Hayward C, Direk N, et al. Genome wide association identifies common variants at the SERPINA6/SERPINA1 locus influencing plasma cortisol and corticosteroid binding globulin. *PLoS Genet*. 2014;10(7):e1004474. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004474>
22. Van Baelen H, Power SG, Hammond GL. Decreased cortisol-binding affinity of transcortin Leuven is associated with an amino acid substitution at residue-93. *Steroids*. 1993;58(6):275-277. doi: [https://doi.org/10.1016/0039-128x\(93\)90072-u](https://doi.org/10.1016/0039-128x(93)90072-u)
23. Perogamvros I, Kayahara M, Trainer PJ, et al. Serum regulates cortisol bioactivity by corticosteroid-binding globulin-dependent and independent mechanisms, as revealed by combined bioassay and physicochemical assay approaches. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;75(1):31-38. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2011.04003.x>
24. Qian X, Droste SK, Gutiérrez-Mecinas M, et al. A rapid release of corticosteroid-binding globulin from the liver restrains the glucocorticoid hormone response to acute stress. *Endocrinology*. 2011;152(10):3738-3748. doi: <https://doi.org/10.1210/en.2011-1008>
25. Weiser JN, Do YS, Feldman D. Synthesis and secretion of corticosteroid-binding globulin by rat liver. A source of heterogeneity of hepatic corticosteroid-binders. *J Clin Invest*. 1979;63(3):461-467. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI109323>
26. Perrot-Applanat M, Milgrom E. Messenger ribonucleic acid for corticosteroid-binding globulin. Translation and preliminary characterization. *Biochemistry*. 1979;18(25):5732-5737. doi: <https://doi.org/10.1021/bi00592a033>
27. Wolf G, Armstrong EG, Rosner W. Synthesis in vitro of corticosteroid-binding globulin from rat liver messenger ribonucleic acid. *Endocrinology*. 1981;108(3):805-811. doi: <https://doi.org/10.1210/endo-108-3-805>
28. Doe RP, Fernandez R, Seal US. Measurement of corticosteroid-binding globulin in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1964;24:1029-1039. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-24-10-1029>
29. Sueda K, Seo H, Matsui N. Human transcortin synthesis by a cell-free translation of hepatic mRNA. *Endocrinol Jpn*. 1985;32(2):295-303. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj1954.32.295>
30. Khan MS, Aden D, Rosner W. Human corticosteroid binding globulin is secreted by a hepatoma-derived cell line. *J Steroid Biochem*. 1984;20(2):677-678. doi: [https://doi.org/10.1016/0022-4731\(84\)90142-0](https://doi.org/10.1016/0022-4731(84)90142-0)
31. Gulfo J, Castel R, Ledda A, et al. Corticosteroid-Binding Globulin is expressed in the adrenal gland and its absence impairs corticosterone synthesis and secretion in a sex-dependent manner. *Sci Rep*. 2019;9(1):14018. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-50355-1>
32. Schäfer HH, Gebhart VM, Hertel K, et al. Expression of corticosteroid-binding globulin CBG in the human heart. *Horm Metab Res*. 2015;47(8):596-599. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0034-1389957>
33. Sivukhina EV, Jirikowski GF. Adrenal steroids in the brain: role of the intrinsic expression of corticosteroid-binding globulin (CBG) in the stress response. *Steroids*. 2014;81:70-73. doi: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2013.11.001>
34. Kvetnansky R, Sabban EL, Palkovits M. Catecholaminergic systems in stress: structural and molecular genetic approaches. *Physiol Rev*. 2009;89(2):535-606. doi: <https://doi.org/10.1152/physrev.00042.2006>
35. Predine J, Brailly S, Delaporte P, et al. Protein binding of cortisol in human cerebrospinal fluid. *J Clin Endocrinol Metab*. 1984;58(1):6-11. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-58-1-6>
36. Schwarz S, Pohl P. Steroid hormones and steroid hormone binding globulins in cerebrospinal fluid studied in individuals with intact and with disturbed blood-cerebrospinal fluid barrier. *Neuroendocrinology*. 1992;55(2):174-182. doi: <https://doi.org/10.1159/000126112>
37. Sivukhina EV, Jirikowski GF, Bernstein HG, et al. Expression of corticosteroid-binding protein in the human hypothalamus, co-localization with oxytocin and vasopressin. *Horm Metab Res*. 2006;38(4):253-259. doi: <https://doi.org/10.1055/s-2006-925346>
38. Caldwell JD, Jirikowski GF. An active role for steroid-binding globulins: an update. *Horm Metab Res*. 2013;45(7):477-484. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0033-1334945>
39. Lazzarino AI, Hamer M, Gaze D, et al. The association between cortisol response to mental stress and high-sensitivity cardiac troponin T plasma concentration in healthy adults. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(18):1694-1701. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2013.05.070>
40. Yamaji M, Tsutamoto T, Kawahara C, et al. Serum cortisol as a useful predictor of cardiac events in patients with chronic heart failure: the impact of oxidative stress. *Circ Heart Fail*. 2009;2(6):608-615. doi: <https://doi.org/10.1161/CIRCHEARTFAILURE.109.868513>
41. Misao R, Nakanishi Y, Fujimoto J, et al. Levels of sex hormone-binding globulin and corticosteroid-binding globulin mRNAs in corpus luteum of human subjects: correlation with serum steroid hormone levels. *Gynecol Endocrinol*. 1999;13(2):82-88. doi: <https://doi.org/10.3109/09513599909167537>
42. Misao R, Iwagaki S, Sun WS, et al. Evidence for the synthesis of corticosteroid-binding globulin in human placenta. *Horm Res*. 1999;51(4):162-167. doi: <https://doi.org/10.1159/000023351>
43. Atkinson G, Campbell DJ, Cawood ML, et al. Steroids in human intrauterine fluids of early pregnancy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996;44(4):435-440. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2265.1996.710532.x>
44. Shams M, Kilby MD, Somerset DA, et al. 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 2 in human pregnancy and reduced expression in intrauterine growth restriction. *Hum Reprod*. 1998;13(4):799-804. doi: <https://doi.org/10.1093/humrep/13.4.799>
45. Sun K, Yang K, Challis JR. Differential expression of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase types 1 and 2 in human placenta and fetal membranes. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(1):300-305. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.82.1.3681>
46. Gibb W. The role of prostaglandins in human parturition. *Ann Med*. 1998;30(3):235-241. doi: <https://doi.org/10.3109/07853899809005850>
47. Ng PC. The fetal and neonatal hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 2000;82(3):F250-F254. doi: <https://doi.org/10.1136/fn.82.3.f250>
48. Dölz W, Eitner A, Caldwell JD, et al. Expression of corticosteroid binding globulin in the rat olfactory system. *Acta Histochem*. 2013;115(4):376-381. doi: <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2012.09.012>
49. Trotier D, Eloit C, Wassef M, et al. The vomeronasal cavity in adult humans. *Chem Senses*. 2000;25(4):369-380. doi: <https://doi.org/10.1093/chemse/25.4.369>
50. Bhatnagar KP, Smith TD. The human vomeronasal organ. III. Postnatal development from infancy to the ninth decade. *J Anat*. 2001;199(Pt 3):289-302. doi: <https://doi.org/10.1046/j.1469-7580.2001.19930289.x>
51. D'Aniello B, Semin GR, Scandurra A, et al. The Vomeronasal Organ: A Neglected Organ. *Front Neuroanat*. 2017;11:70. doi: <https://doi.org/10.3389/fnana.2017.00070>
52. Khaustov SA, Dubynin VA. Human pheromones: An analysis of misconceptions, problems and study perspectives (review). *Sci Educ Today*. 2022;12(2):172-192. doi: <https://doi.org/10.15293/2658-6762.2202.09>
53. Robinson AM, Kern RC, Foster JD, Fong KJ, Pitovski DZ. Expression of glucocorticoid receptor mRNA and protein in the olfactory mucosa: Physiologic and pathophysiologic implications. *Laryngoscope*. 1998;108(8):1238-1242. doi: <https://doi.org/10.1097/00005537-199808000-00026>

Рукопись получена: 02.07.2023. Одобрена к публикации: 01.08.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\*Шевэ Анастасия, к.м.н. [Anastassia Chevais, MD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036, Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5592-4794>; SPIN-код: 2459-0540; e-mail: anastassia93@gmail.com

Гаджимурадова Мансурат Мурадовна, аспирант [Mansurat M. Gadzhimuradova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-0918-0544>; e-mail: mansurat@mail.ru

**Бельцевич Дмитрий Германович**, д.м.н., профессор [Dmitry G. Beltsevich, MD, PhD];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7098-4584>; SPIN-код: 4475-6327; e-mail: belts67@gmail.com

**Романова Алина Николаевна** [Alina N. Romanova, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4994-2456>;  
e-mail: [himmel98@mail.ru](mailto:himmel98@mail.ru)

**Бегова Камила Шамильевна** [Kamila Sh. Begova]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-5232-6440>;  
e-mail: [kamila\\_super9@mail.ru](mailto:kamila_super9@mail.ru)

**Багирова Ханум Вугаровна** [Hanum V. Bagirova]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-0383-5583>;  
e-mail: [hb1998@mail.ru](mailto:hb1998@mail.ru)

**Эбзеева Аминат Канаматовна** [Aminat K. Ebzeeva, MD]; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3951-4338>;  
e-mail: [ebzeeva3007@gmail.com](mailto:ebzeeva3007@gmail.com)

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

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Шевэ А., Гаджимурадова М.М., Бельцевич Д.Г., Романова А.Н., Багирова Х.В., Бегова К.Ш., Эбзеева А.К., Мельниченко Г.А. Транскортин его свойства и функциональная роль в организме человека // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 27-34. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13482>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Chevais A, Gadzhimuradova MM, Beltsevich DG, Romanova AN, Begova KS, Bagirova HV, Ebzeeva AK, Melnichenko GA. The functional role and properties of transcortin in the human body. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):27-34. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13482>

## МЕТАСТАТИЧЕСКАЯ ФЕОХРОМОЦИТОМА ПРИ СИНДРОМЕ МНОЖЕСТВЕННОЙ ЭНДОКРИННОЙ НЕОПЛАЗИИ 2А ТИПА



© Д.В. Реброва<sup>1</sup>, В.Ф. Русаков<sup>1</sup>, Л.М. Краснов<sup>1</sup>, Е.А. Федоров<sup>1</sup>, И.К. Чинчук<sup>1</sup>, Н.В. Ворохобина<sup>3</sup>, Ш.Ш. Шихмагомедов<sup>1</sup>, А.А. Семенов<sup>1</sup>, Р.А. Черников<sup>1</sup>, И.В. Слепцов<sup>1</sup>, Г.И. Гафтон<sup>2</sup>, Е.Н. Имянитов<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup>Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Петрова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>3</sup>Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Феохромоцитома (Фхц) — редкая нейроэндокринная опухоль, исходящая из хромаффинных клеток мозгового вещества надпочечников. Эмбриологически, морфологически и функционально Фхц является симпатической надпочечниковой параганглиомой. По современным представлениям, Фхц относится к нейроэндокринным злокачественным новообразованиям в связи с возможным непредсказуемым проявлением агрессивного роста с метастазированием и инвазией в соседние органы и сосуды. До 25% всех случаев Фхц — это семейные формы. Одной из наиболее часто встречающихся семейных форм Фхц является синдром множественной эндокринной неоплазии 2А типа (синдром Сиппла, МЭН2А). При синдроме МЭН2А Фхц встречается с пенетрантностью до 50% — как одно- так и двусторонние, однако метастазы встречаются крайне редко. В подавляющем большинстве случаев при синдроме МЭН2А первичным источником отдаленных метастазов является медуллярная карцинома щитовидной железы (МКЩЖ), что затрудняет дифференциальную диагностику и поиск первичной опухоли.

Мы представляем описание пациентки 40 лет с синдромом МЭН2А (мутация RET-протоонкогена p.Cys634Tyr) с дважды проведенным оперативным лечением МКЩЖ в анамнезе, с ежедневными симпато-адреналовыми кризами и критической артериальной гипертензией, с гигантской двусторонней Фхц (до 200 мм справа и до 150 мм слева), а также с синхронным крупным метастазом Фхц (до 50 мм) в лонную кость с деструкцией последней. Кроме того, диагностирован первичный гиперпаратиреоз. Пациентке поэтапно выполнены двусторонняя адреналэктомия, затем двусторонняя ревизия шеи, удаление правой верхней и правой нижней околощитовидных желез, остаточной ткани щитовидной железы, далее — резекция правой лонной кости с опухолью.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** феохромоцитома; синдром множественной эндокринной неоплазии 2 типа; метастатическая феохромоцитома; злокачественная феохромоцитома; синдром МЭН2А; синдром МЭН.

## METASTATIC PHEOCHROMOCYTOMA IN MULTIPLE ENDOCRINE NEOPLASIA TYPE 2A

© Dina V. Rebrova<sup>1\*</sup>, Vladimir F. Rusakov<sup>1</sup>, Leonid M. Krasnov<sup>1</sup>, Elisey A. Fedorov<sup>1</sup>, Igor K. Chinchuk<sup>1</sup>, Natalya V. Vorokhobina<sup>3</sup>, Shamil Sh. Shikhmagomedov, Arseny A. Semenov<sup>1</sup>, Roman A. Chernikov<sup>1</sup>, Ilya V. Sleptsov<sup>1</sup>, Georgy I. Gafton<sup>2</sup>, Evgeny N. Imyanitov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Saint Petersburg State University, Saint Petersburg State University Hospital, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup>National Medical Research Center of Oncology n.a. N.N. Petrov, St. Petersburg, Russia

<sup>3</sup>North-Western State Medical University n.a. I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

Pheochromocytoma (PHEO) currently is considered to be malignant due to metastatic potential. One of the most common familial forms of PHEO is multiple endocrine neoplasia syndrome (MEN) type 2. The penetrance of PHEO in MEN2 syndrome is up to 50% of cases. It may be one- or two-sided, but metastases occur extremely rare. The fact that in majority of cases of MEN2 syndrome the source of distant metastases is medullary thyroid carcinoma (MTC) complicates differential diagnosis in case of PHEO metastasis.

Isolated cases of PHEO with metastases to the lymph nodes, lungs, liver, bones, brain in MEN2 patients were described. In the available literature, we have found a description of 31 cases of metastatic PHEO in MEN2 syndrome. The available data of those cases is presented as a table in the article.

We present a description of a 40-year-old woman with MEN2A syndrome (mutation of the RET proto-oncogene p.Cys634Tyr), with a history of twice-performed surgical treatment of MTC, with daily crises of arterial hypertension accompanied by vegetative symptoms, with a giant bilateral PHEO (up to 200 mm on the right and up to 150 mm on the left) with synchronous large metastasis (up to 50 mm) into the pubic bone with the destruction. The patient underwent several surgeries: bilateral adrenalectomy, then a bilateral revision of the neck, removal of the right upper and right lower parathyroid glands, residual thyroid tissue, then resection of the right pubic bone with a tumor.

**KEYWORDS:** pheochromocytoma; metastatic pheochromocytoma; malignant pheochromocytoma; multiple endocrine neoplasia type 2; MEN syndrome; MEN2A syndrome.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



## АКТУАЛЬНОСТЬ

Феохромоцитома/параганглиома (Фхц/ПГ) — нейроэндокринная опухоль из хромоаффинной ткани мозгового вещества надпочечника. Фхц является частным случаем симпатической надпочечниковой ПГ. С 2017 г., в соответствии с классификацией опухолей эндокринных органов ВОЗ 4-го пересмотра, Фхц/ПГ отнесены к злокачественным новообразованиям, в связи с чем термины «злокачественная» и «доброкачественная» заменены на «метастатическую» и «неметастатическую» [1].

Метастазы Фхц/ПГ определяются как депозиты, выявляемые в локализациях, где в норме не встречается хромоаффинная ткань [2]. Принято считать, что около 10% Фхц и около 40% симпатических ПГ обладают метастатическим потенциалом [3].

По современным представлениям, до 50% Фхц/ПГ ассоциированы с наличием генетических мутаций, как герминальных, так и соматических [4]. Одной из наиболее часто встречающихся семейных форм заболевания является синдром множественной эндокринной неоплазии 2 А типа (синдром Сиппла, МЭН2А). При синдроме МЭН2А Фхц встречается с различной пенетрантностью в зависимости от экзона, в котором произошла мутация, и достигает 50% случаев семейных форм. Наблюдаются как односторонние, так и двусторонние опухоли мозговой ткани надпочечников, однако вненадпочечниковая локализация и появление метастазов не характерно для данной группы пациентов [5]. При синдроме МЭН2А пенетрантность развития медуллярной карциномы щитовидной железы (МКЩЖ) составляет практически 100%, при этом нередко наблюдается метастазирование, в связи с чем выявленные отдаленные метастазы Фхц у данной категории пациентов могут ошибочно расцениваться как метастазы МКЩЖ, что может существенно повлиять на выбор правильной диагностической и лечебной тактики.

В литературе описаны единичные случаи Фхц при МЭН2 с наличием отдаленных метастазов в лимфатические узлы, легкие, печень, кости, головной мозг. Мы представляем описание пациентки с синдромом МЭН2А с двусторонней Фхц с крупным метастазом в лонную кость, а также обзор литературы подобных редких клинических случаев.

## ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Пациентка К., 40 лет, поступила в Клинику высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова Санкт-Петербургского государственного университета (КВМТ СПбГУ) с жалобами на приступообразное повышение артериального давления (АД) максимально до 210/120 мм рт.ст., общую слабость, утомляемость. Приступы сопровождались выраженным сердцебиением, ощущением жара, профузной потливостью, чувством тревоги и страха, побледнением кончиков пальцев рук. Подобные эпизоды с различной степенью выраженности вегетативных и неврологических проявлений возникали 1–2 раза в день, длились 5–15 минут, купировались самостоятельно с последующей выраженной общей слабостью, снижением уровня АД до 90–100/60 мм рт.ст. В межприступный период показатели АД — в пределах нормальных значений: 110–120/70–80 мм рт.ст. без гипотензивной терапии.

Из анамнеза известно, что в 1993 г. пациентке выполнена гемитиреоидэктомия справа по поводу узлового нетоксического зоба. В 2009 г. при ультразвуковом исследовании (УЗИ) выявлен узел в левой доле ЩЖ, прооперирована в объеме левосторонней гемитиреоидэктомии с удалением паратрахеальной клетчатки слева. Выписные справки и гистологические заключения операций в 1993 и 2009 гг. утеряны, под наблюдением онколога не состояла с 2009 г. принимает левотироксин в заместительной дозе 100 мкг в сутки. В 2010 г. при плановом УЗИ шеи выявлен увеличенный лимфатический узел слева, проведена левосторонняя лимфаденэктомия. Гистологическое заключение: вторичный лимфаденит медуллярного строения. Несмотря на молодой возраст дебюта МКЩЖ у пациентки, наличие семейных форм заболевания не предполагалось и обследование на ее возможность не проводилось.

В течение года до поступления в КВМТ, появились эпизоды кризового повышения артериального давления до 210 и 120 мм рт.ст. с выраженной вегетативной симптоматикой, в связи с чем и обратилась к терапевту по месту жительства. В рамках комплексного обследования по поводу артериальной гипертензии было выполнено УЗИ органов брюшной полости, при котором выявлены образования обоих надпочечников крупных размеров. При компьютерной томографии (КТ) органов брюшной полости в области обоих надпочечников визуализированы крупные многоузловые солидные образования с гетерогенной структурой, размером до 121x115x210 мм справа и 117x97x159 мм слева, сдавливающие и оттесняющие кпереди печень, без признаков инвазии в паренхиму последней. В правой лонной кости на уровне лонного сочленения выделен остеолитический очаг с небольшим параоссальным компонентом размером до 38 мм.

Проведена позитронно-эмиссионная томография, совмещенная с КТ (ПЭТ–КТ) от затылочной кости до средней трети бедра с 18-фтордезоксиглюкозой (18-ФДГ). В проекции обоих надпочечников определены неоднородные образования с участками повышенной и пониженной плотности и мелкими единичными кальцинатами, с повышенной метаболической активностью ФДГ ( $SUV_{max}=5,5$ ), размерами до 98 мм, смещающие все соседние органы. В лобковой кости справа определяется образование размерами 31x35 мм, с повышенной метаболической активностью ФДГ ( $SUV_{max}=6,2$ ), вызывающее частичную деструкцию кости. Заключение: ПЭТ–КТ-картина объемных образований забрюшинного пространства специфического характера, метастатическое поражение правой лобковой кости с повышенной метаболической активностью ФДГ.

Амбулаторно по месту жительства выполнена трепан-биопсия образования надпочечника с проведением иммуногистохимического исследования (ИГХ). Микроскопически: материал крайне скудный, представлен точечными фрагментами опухоли солидно-трабекулярного строения из полиморфных округло-овальных клеток крупных и средних размеров. Опухолевые клетки экспрессируют виметин, CD56, хромогранин А, синаптофизин; единичные мелкие клетки экспрессируют протеин S100. Индекс пролиферативной активности Ki67 — 3–5%. Заключение: иммуноморфологическая картина наиболее соответствует феохромоцитоме; с учетом наличия вторичных очагов опухоли — злокачественной.

При обследовании кортизол крови утром натощак повышен до 32,41 мкг/дл (6,2–19,4), кальцитонин — 9,4 пмоль/л (до 5).

С целью дообследования и уточнения дальнейшей тактики ведения направлена в КВМТ СПбГУ.

При поступлении состояние пациентки удовлетворительное. Рост — 169 см, вес — 57 кг, индекс массы тела (ИМТ) — 19,8 кг/м<sup>2</sup>, температура тела — 36,7 °С. Кожные покровы чистые, естественной окраски, обычной влажности, отсутствуют ганглионевромы, лихеноидный амилоидоз на коже. Видимые слизистые оболочки чистые, обычной окраски. Щитовидная железа не пальпируется, послеоперационные рубцы на передней поверхности шеи. Регионарные и периферические лимфоузлы не увеличены. Тоны сердца ясные, ритмичные. Артериальное давление — 140/90 мм рт.ст., пульс — 88 уд/мин, ритмичный. Число дыханий — 18 в 1 мин. Дыхание везикулярное, хрипов нет. При поверхностной пальпации живот мягкий, безболезненный во всех отделах. Глубокая пальпация живота не проводилась в связи с угрозой провоцирования симпатоадреналового криза. Физиологические отправления в норме. Отеков нет.

При лабораторном обследовании в клиническом анализе крови патологических отклонений выявлено не было, скорость оседания эритроцитов (СОЭ) ускорена до 26 мм/ч (1–20). В биохимическом анализе крови отмечалось повышение уровня гамма-глутамилтрансферазы (ГГТ) до 42,8 Е/л (до 38). АСТ, АЛТ, билирубин, креатинин находились в пределах референсных значений. В коагулограмме отмечено небольшое повышение международного нормализованного отношения (МНО) до 1,22 (0,8–1,2), значимое повышение уровня фибриногена до 7,1 г/л (2–4), остальные показатели без патологических изменений. В общем анализе мочи отклонений от нормы не было.

При исследовании фосфорно-кальциевого обмена в крови обнаружено повышение паратгормона до 13,1 пмоль/л (1,3–9,3) в сочетании с повышенным ионизированным кальцием до 1,38 ммоль/л (1,13–1,31). Адренкортикотропный гормон (АКТГ) был 2,487 пмоль/л (1,034–10,736), базальный кортизол — 421,5 нмоль/л (185–624), альдостерон — 38,9 пг/мл (18,8–256,7), прямой ренин — 74,29 мкМЕ/мл (2,8–39,9), альдостерон-рениновое соотношение (АРС) — 0,52, дегидроэпиандростерон (ДЭА)-сульфат — 0,5 мкмоль/л (0,62–7,22), тиреотропный гормон (ТТГ) — 7,442 мкМЕ/мл (0,4–4,0). Определено значимое повышение уровней фракционированных метанефринов плазмы: метанефрин >3600 пг/мл (до 65), норметанефрин >7200 пг/мл (до 196). В суточной моче кортизол составил 550,25 нмоль/сут (160–1112), экскреция общих метанефринов с мочой (LS-MS) была >600 мкг/сут (до 350). На фоне ночного супрессивного теста с 1 мг дексаметазона кортизол — 239,95 нмоль/л (отсутствие супрессии, по-видимому, вследствие гиперстимуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы гиперконцентрацией катехоламинов). Уровень кальцитонина был повышен и составил 15,7 пг/мл (норма для некурящих до 4,8).

При исследовании маркеров нейроэндокринных опухолей в крови раковый эмбриональный антиген (РЭА) находился в пределах референсных значений и составил 1,15 нг/мл (норма для некурящих до 3), но были повыше-

ны уровни хромогранина А до 3182,4 мкг/л (до 125) и нейроспецифической энлазы (NSE) до 27,39 мкг/л (до 18,3).

При электрокардиографии (ЭКГ): синусовый ритм с частотой сердечных сокращений (ЧСС) 83 уд/мин, умеренное нарушение реполяризации, характерное для ЭКГ-признаков гипертрофии левого желудочка (ЛЖ) и диффузных неспецифических изменения миокарда ЛЖ.

По данным эхокардиографии: полости сердца не расширены, миокард ЛЖ утолщен (масса миокарда 167 г), индекс массы миокарда повышен до 101,8 г/м<sup>2</sup>, отмечался гиперкинез миокарда желудочков с ускорением кровотока на всех клапанах сердца, гипертрофия миокарда ЛЖ.

Гиперкальциемия, гиперпаратиремия у пациентки МКШЖ и новообразованием обоих надпочечников с чрезвычайно высоким содержанием метанефринов стали основанием заподозрить синдром МЭН2А.

При повторной КТ органов шеи, грудной клетки, брюшной полости и малого таза с болюсным контрастным усилением: КТ-признаков патологических образований органов грудной клетки и шеи не выявлено, визуализируется участок разрежения костной ткани рукоятки грудины, без четких контуров, патологических образований переднего средостения не выявлено, желчный пузырь в размерах не увеличен, в просвете — рентгенконтрастные конкременты до 6 мм в диаметре и плотностью +700 HU. Левый надпочечник увеличен за счет многоузлового образования размерами 110x90x150 мм, плотностью +30 HU. В I фазу накопление контрастного вещества до +60 HU, во II фазу — до +60 HU, через 10 минут плотность образования +50 HU. Правый надпочечник увеличен за счет многоузлового образования размерами 120x120x200 мм, плотностью +30 HU. В I фазу накопление контрастного вещества — до +80 HU, во II фазу — до +75 HU, через 10 минут плотность образования +50 HU. Структура образований обоих надпочечников неоднородная за счет многочисленных зон некроза в центре. Образование обильно васкуляризованы. Надпочечниковые вены широкие, до 10 мм в диаметре (рис. 1). Данных за инвазию окружающих структур, сосудов не получено. Данных за тромбоз нижней полой вены не получено. Лимфатические узлы не увеличены. Очаг остеолитической деструкции в правой лонной кости с наличием мягкотканного компонента размерами 50x40x40 мм (рис. 2).

Для визуализации околощитовидных желез проведены полипозиционная сцинтиграфия околощитовидных желез с Tc99-технетрилом и однофотонная эмиссионная КТ (ОФЭКТ) грудной клетки, по данным которых выделяется зона фиксации радиофармпрепарата (РФП) размером примерно 25x15 мм в проекции рукоятки грудины, левее срединной линии (паратиреоидная ткань?). Кроме того, отмечено повышенное накопление РФП в проекции подключичных лимфоузлов с обеих сторон. В проекции костей таза зон патологической фиксации РФП не выявлено.

По данным обследования установлен диагноз: «Синдром множественной эндокринной неоплазии 2А типа (синдром Сиппла), клинически. Феохромоцитомы обоих надпочечников сT3NxM1 (os pub.), пароксизмальная форма. Симптоматическая артериальная гипертензия с частыми симпатоадреналовыми кризами. Дисметаболическая миокардиодистрофия. Хроническая сердечная недостаточность 2А стадии, II функциональный класс по классификации Нью-Йоркской ассоциации

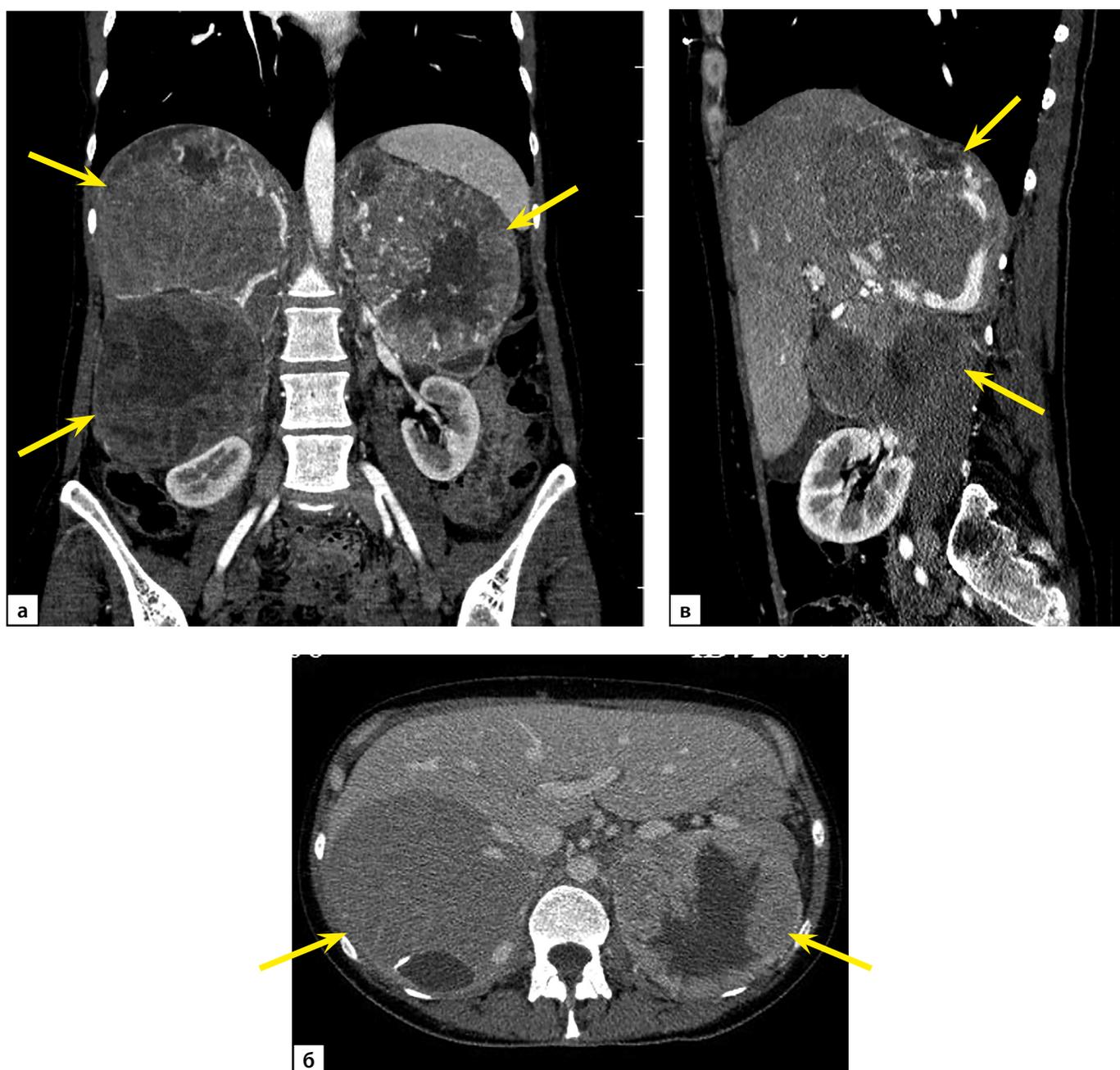
сердца. Медуллярная карцинома щитовидной железы pT4aN1bM0, ст.IVa. Гемитиреоидэктомия от 1993 г., экстирпация культи щитовидной железы с удалением паратрахеальной клетчатки от 2009 г., шейная лимфаденэктомия слева от 2010 г. Первичный гиперпаратиреоз, бессимптомная форма. Гиперкальциемия легкой степени.

Желчнокаменная болезнь. Хронический калькулезный холецистит, вне обострения».

В стационаре проводилась стандартная для пациентов с Фхц подготовка альфа1-адреноблокатором (доксазозин) с постепенным повышением дозировки до 8 мг в сутки. На этом фоне достигнуто прекращение симпатoadреналовых приступов, показатели АД не превышало 150/100 мм рт.ст., пульс — 62–78 удара в минуту. Бета-адреноблокаторы в процессе предоперационной подготовки не назначались.

Пациентке выполнена двусторонняя адреналэктомия открытым доступом с удалением лимфатических узлов брыжейки и парааортальной клетчатки. Из отдельного разреза на уровне лонного сочленения выполнена биопсия костного дефекта лонной кости, сделан мазок детрита. На фоне мобилизации как левого, так и правого надпочечников отмечался подъем уровня АД до 210–230/100–110 мм рт.ст., частоты сердечных сокращений (ЧСС) до 98 ударов в минуту, что корректировалось введением нитроглицерина и эсмолола. После адреналэктомии слева и справа отмечалось резкое транзитное снижение уровня АД до 63–55/38–42 мм рт.ст., что корректировалось введением инфузионных сред, дофамина, адреналина и норадреналина.

По данным гистологического заключения операционного материала: феохромоцитомы правого и левого надпочечников (20 см и 15 см), с очагами некроза



**Рисунок 1.** Компьютерная томография органов брюшной полости с контрастированием: а — артериальная фаза, коронарная плоскость; б — венозная фаза, аксиальная плоскость; в — артериальная фаза, сагиттальная плоскость. Стрелками отмечены гигантские множественные феохромоцитомы обоих надпочечников.

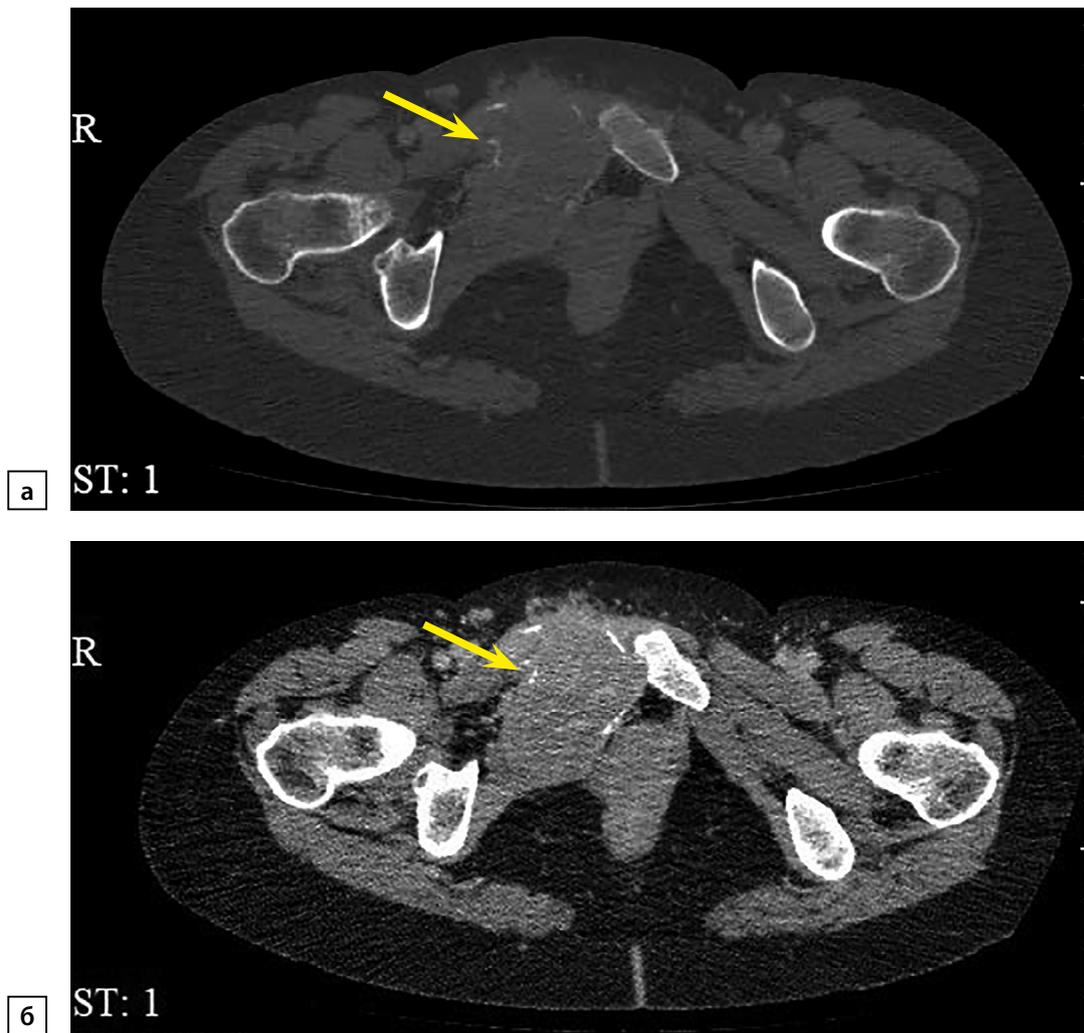


Рисунок 2. Компьютерная томография органов малого таза с контрастированием: а — артериальная фаза, костное окно, аксиальная плоскость; б — отсроченная фаза, мягкотканное окно, аксиальная плоскость. Стрелками отмечен метастаз феохромоцитомы в лонную кость.

и сосудистой инвазии; в лимфатических узлах брыжейки и парааортальной клетчатки без метастатического поражения, умеренная лимфофолликулярная гиперплазия, синусовый гистиоцитоз. ИГХ: опухолевые клетки интенсивно экспрессируют Chromogranin A, Synaptophysin; sustentокулярные клетки визуализируются S100 протеином, распределены неравномерно, выявляются обширные сливающиеся поля без наличия sustentоцитов; экспрессия p53 в 1%, p21 в 1–5%; индекс пролиферативной активности Ki67 1–5%.

Цитологическое заключение биоптата дефекта лонной кости: в материале обилие крупных мнорморфных клеток с зернистой цитоплазмой и с крупными подчеркнута округло-овальными гиперхромными ядрами, с умеренным клеточно-ядерным полиморфизмом, что соответствует метастазу солидной крупноклеточной опухоли с нейроэндокринной дифференцировкой. ИГХ из парафинового блока препарата трепан-биопсии: опухолевые клетки интенсивно экспрессируют Chromogranin A, Synaptophysin, не экспрессируют S100 протеин, Calcitonin, TTF1. Индекс пролиферативной активности Ki67 составил 7–10%. Цитологическая картина и иммунофенотип опухоли лонной кости соответствуют метастазу феохромоцитомы.

Послеоперационный период протекал гладко, без осложнений. При контроле АД в течение двух суток

после операции отмечалась умеренная гипертензия до 145 и 90 мм рт.ст. с последующей нормализацией АД. Выписана на 9-е сутки для амбулаторного лечения под наблюдением онколога, хирурга, эндокринолога с рекомендацией постоянного приема левотироксина 125 мкг в сутки, доксазозина 4 мг, гидрокортизона 45 мг в сутки, флудрокортизона 0,1 мг в сутки, алендроната 70 мг в неделю. Прием доксазозина в уменьшенной дозировке под контролем АД решено сохранить в связи с возможной гиперсекрецией катехоламинов костным метастазом Фхц.

По данным молекулярно-генетического исследования, выявлена мутация RET-протоонкогена с.1901G>A (p.Cys634Tyr). У пациентки двое детей, рекомендовано их генетическое типирование на носительство выявленной мутации.

Через 2 месяца осуществлена повторная госпитализация в КВМТ СПбГУ с целью оперативного лечения по поводу первичного гиперпаратиреоза.

При поступлении состояние удовлетворительное. На фоне проводимой заместительной и гипотензивной терапии показатели гемодинамики в пределах нормальных значений, вегетативные проявления отсутствуют. Паратгормон — 129 пг/мл (15–65), кальций ионизированный — 1,44 ммоль/л (1,13–1,31), кальцитонин — 5 пг/мл (до 5), метанефрин — 15,1 пг/мл (до 65),

Таблица 1. Клинические случаи метастатической феохромоцитомы (ФЕО) при синдроме множественной эндокринной неоплазии (МЭН) 2 типа

№ п/п	Публикация	Пол	Возраст	Тип МЭН	Мутация в кодоне RET	Латерализация ФЕО	Максимальный размер первичной опухоли, см	Оперативное удаление первичной опухоли	Локализация метастазов	Смерть от заболевания
1	Carney J.A. и соавт. (1976) [12]	Ж	29	2A		Двустор.	13	+		+
2		Ж	23	2B		Двустор.		+		+
3		Ж*	28	2A		Двустор.	12	+		
4		Ж*	18	2A		Двустор.	5	+		
5	Wilson R.A., Ibanez M.L. (1978) [13]	Ж	53	2A		Двустор.	12	+	Печень	- (умерла от прободной язвы желудка)
6		Ж	38	2A		Двустор.	15	+	Печень	- (умерла от РМЖ)
7	Westfried M. и соавт. (1978) [14]	М	49	2			19		Легкие, перикард	
8	Sissin J.C. и соавт. (1984) [15]	Ж	26	2A		Двустор.	11		Печень	
9	Sparen H. и соавт. (1989) [16]	Ж	37	2A		Двустор.		+	Легкие	
10	Oishi S. и соавт. (1990) [8]	Ж	40			Двустор.				+
11		М	26			Левостор.				
12	Namba H. и соавт. (1992) [17]	М	33	2A		Левостор.			Легкие, печень	
13	Bonnin F. и соавт. (1994) [18]	М	35	2A		Двустор.	6	+	Лимфатические узлы	
14	Sasaki M. и соавт. (1994) [19]	Ж	39	2A		Двустор.			Легкие, печень	+
15	Scopsi L. и соавт. (1996) [20]	М	28	2B		Двустор.	12	+	Кости	
16	Hinze R. и соавт. (2000) [21]	М**	53	2A	634	Двустор.	9,4	+	Печень	
17	Gentle S. и соавт. (2001) [22]	Ж	31	2A		Левостор.		+	Головной мозг	
18	Hamdan A. и соавт. (2002) [23]	М	47	2A	634	Двустор.	7	+	Кости, печень	

Продолжение таблицы 1

№ п/п	Публикация	Пол	Возраст	Тип МЭН	Мутация в кодоне RET	Латерализация ФЕО	Максимальный размер первичной опухоли, см	Оперативное удаление первичной опухоли	Локализация метастазов	Смерть от заболевания
19	Ishida E. и соавт. (2004) [24]	М***	65	2A		Двустор.	8	-	Печень	+
20	Gullu S. и соавт. (2005) [25]	Ж	34	2A	634	Двустор.		-	Поджелудочная железа	
21	Duquia R.P. и соавт. (2006) [26]	М	41	2B		Двустор.		+	Кожа	+ (послеоперационный сепсис)
22	Szalat A. и соавт. (2011) [27]	Ж	24	2B		Двустор.		+		+
23	Crona J. и соавт. (2014) [28]	М	65	2A	804	Одностор.	9,5	+		
24	Lang B.H.H. и соавт. (2015) [29]	Ж	47	2A	634	Правостор.	10	+	Кости	-
25	Martins A.F. и соавт. (2016) [30]	Ж	55	2A	531	Двустор.			Печень, паравертебрально	-
26	Kotecka-Blicharz A. и соавт. (2016) [9]	Ж	39	2	791	Одностор.	10	+	Лимфатические узлы	-
27	Pal R. и соавт. (2018) [31]	Ж	45	2A	634	Двустор.		+	По брюшине, под почками, в печени	
28	Ma X. и соавт. (2020) [32]	Ж	25	2A	634	Двустор.	8	+		
29	Jester G. и соавт. (2021) [33]	М	19	2B	918	Правостор.	11		Кости, легкие	+
30	Kumar S. и соавт., (2021) [10]	Ж	54	2A	618	Правостор.	6,1		Кости	-
31		Ж	45	2A	634	Двустор.	8,3		Печень	+
32	Описанный случай	Ж	40	2A	634	Двустор.	20	+	Кости	

\* — сестры с семейным анамнезом метастатической ФЕО в рамках МЭН2А;

\*\* — сочетание метастазов МКЩЖ и ФЕО в печень, установлено по биопсии с ИГХ;

\*\*\* — сочетание с метастазами рака предстательной железы, верификация по аутопсии по результатам гистологии с ИГХ.

норметанефрин — 2412,9 пг/мл (до 196), хромогранин А — 654,7 мкг/л (до 125). Экскреция с суточной мочой общих метанефринов составила 5,6 мкг/сут (до 350).

Повышение уровня норметанефрина расценено как результат гиперпродукции костным метастазом Фхц норадреналина. Обращает внимание нормализация концентрации кальцитонина, что можно объяснить паранеопластической секрецией кальцитонина удаленными феохромоцитомами.

При КТ шеи с контрастированием вдоль передней поверхности щитовидного хряща, слева от срединной линии, выявлено образование 15х9х6 мм, интенсивно накапливающее контрастное вещество, увеличенных и структурно измененных лимфатических узлов не обнаружено, трахея не деформирована.

Пациентке выполнена двусторонняя ревизия шеи, удаление правой верхней и правой нижней околощитовидных желез, остаточной ткани щитовидной железы, имплантация участка околощитовидной железы в *musculus brachioradialis*. По результатам срочного интраоперационного гистологического исследования во всех фрагментах определены множественные микрофолликулярные и ацинарные комплексы мономорфных эпителиальных клеток, местами с признаками онкоцитарной дифференцировки, соответствующие ткани околощитовидных желез. Был проведен интраоперационный контроль уровня паратгормона: проба 1 (прединцизионная) — 16,4 пмоль/л (1,3–9,3), проба 2 (предэксцизионная) — 15,2 пмоль/л, проба 3 (через 10 минут после удаления) — 3,4 пмоль/л. При гистологическом исследовании подтверждено наличие аденомы правой верхней околощитовидной железы (0,7 см), фрагмента ткани правой нижней околощитовидной железы с признаками гиперплазии (0,8 см), нормофолликулярного строения.

Послеоперационный период протекал гладко, без осложнений. Достигнута нормокальциемия.

При контроле КТ органов малого таза с контрастированием отмечен рост патологического образования, вызывающего деструкцию верхней и нижней ветвей правой лонной кости, размером 80х57х55 мм (ранее 50х40х40 мм) с пролабацией в полость таза. Выявлена деформация правой стенки мочевого пузыря, прилежащая жировая клетчатка не инфильтрирована.

Пациентка выписана из стационара. На момент выписки рекомендован прием доксазозина 4 мг в сутки, гидрокортизона 35 мг в сутки, карбоната кальция 1000 мг в сутки, альфакальцидола 1 мкг в сутки.

Через 2 месяца в НМИЦ онкологии им. Н.Н. Петрова выполнена резекция правой лонной кости с опухолью. По результатам гистологического исследования подтверждено, что опухоль является метастазом феохромоцитомы.

Через 1 месяц после выписки при телефонном контакте с пациенткой она сообщила об улучшении общего самочувствия. Еще через 1 месяц состоялся контакт по электронной почте: состояние стабильное, было рекомендовано контрольное обследование через 1 месяц. Дальнейший контакт с пациенткой был утерян.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Метастатическая Фхц в рамках синдрома МЭН 2 типа встречается крайне редко. По результатам ретроспек-

тивного анализа историй 272 пациентов с метастатической Фхц/ПГ с 1960 по 2016 гг. в исследовании Hamidi O. и соавт. (2017 г.) из клиники Мейо США только у 2 больных был диагностирован синдром МЭН2А, тогда как синдром МЭН 2В типа не был выявлен ни в одном из случаев [6]. В работе Thosani S. и соавт. (2013 г.) из 319 пациентов с синдромом МЭН 2 типа только у 85 была выявлена Фхц, при этом в процессе динамического наблюдения ни одного случая метастатического поражения установлено не было [7]. Схожие данные получены Oishi S. и соавт. (1990 г.) в оценке 90 случаев синдрома МЭН 2 типа в Японии [8]. В исследовании Kotecka-Blicharz A. и соавт. (2016 г.) из 228 RET-положительных пациентов Фхц была выявлена у 18% из них, 1 случай с метастазами в лимфатические узлы [9]. По данным анализа Kumar S. и соавт. (2021 г.) базы 450 случаев Фхц/ПГ, у 23 пациентов (5,1%) был установлен синдром МЭН 2 типа (19 — с МЭН 2А, 4 — с МЭН 2В), у 2 пациентов с МЭН 2А типа была выявлена метастатическая Фхц [10]. В ретроспективном одноцентровом исследовании Rajan S. и соавт. (2016 г.) историй 208 пациентов с Фхц синдром МЭН 2 типа диагностирован у 24 больных, при этом не было выявлено ни одной метастатической Фхц в группе пациентов с МЭН 2 типа по сравнению с 7 случаями из 132 (5,3%) спорадических форм [11]. По результатам метаанализа литературы 3063 пациентов с Фхц/ПГ распространенность метастатических форм, ассоциированных с синдромом МЭН 2 типа, составила всего 0,05% [10].

В доступной литературе найдено описание 31 случая МЭН 2 типа с метастатической Фхц, подобных представленному нами, информация о которых обобщена в таблице 1. Кроме того, имеется случай успешного лечения 21-летней пациентки с МЭН 2А типа с инвазивным ростом Фхц с распространением опухолевого тромба в нижнюю полую вену и правое предсердие, без метастазов [29, 34].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На современном этапе развития хирургической и анестезиологической службы при стандартной предоперационной подготовке смертность от осложнений Фхц/ПГ снизилась до единичных случаев. Однако наличие отдаленных метастазов Фхц/ПГ существенно ухудшает прогноз пациентов. Редкость метастатической Фхц при синдроме МЭН 2 типа, трудность дифференциальной диагностики источника метастазов (МКЩЖ или Фхц) у данной категории больных представляет практический интерес для врачей различных специальностей.

## 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

- Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, Rosai J, editors (2017). WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs (4th edition). IARC: Lyon, 2017
- Lam AK. Update on Adrenal Tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of Endocrine Tumours. *Endocr Pathol*. 2017;28:213–227. doi: <https://doi.org/10.1007/s12022-017-9484-5>
- Ayala-Ramirez M, Feng L, Johnson MM, et al. Clinical risk factors for malignancy and overall survival in patients with pheochromocytomas and sympathetic paragangliomas: primary tumor size and primary tumor location as prognostic indicators. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(3):717–725. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2010-1946>
- Fishbein L. Pheochromocytoma/Paraganglioma: Is This a Genetic Disorder? *Curr Cardiol Rep*. 2019;21(9):104. doi: <https://doi.org/10.1007/s11886-019-1184-y>
- Реброва Д.В., Ворохобина Н.В., Имянитов Е.Н. и др. Клиническо-лабораторные особенности наследственных феохромоцитом и параганглиом. *Проблемы эндокринологии*. 2022;68(1):8–17. doi: <https://doi.org/10.14341/probl12834>
- Hamidi O, Young WF, Iniguez-Ariza NM, et al. Malignant pheochromocytoma and paraganglioma: 272 patients over 55 years. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(9):3296–3305. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2017-00992>
- Thosani S, Ayala-Ramirez M, Palmer L, et al. The characterization of pheochromocytoma and its impact on overall survival in multiple endocrine neoplasia type 2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(11):E1813–1819. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-1653>
- Oishi S, Sasaki M, Yamauchi J, et al. Analysis of eight Sipple's syndrome patients and review of eighty-two cases from the Japanese literature. *Jpn J Clin Oncol*. 1990;20(4):392–406
- Kotecka-Blicharz A, Hasse-Lazar K, Jurecka-Lubieniecka B, et al. Occurrence of pheochromocytoma tumours in RET mutation carriers - a single-centre study. *Endokrynol Pol*. 2016;67(1):54–8. doi: <https://doi.org/10.5603/EP.2016.0008>
- Kumar, Lila AR, Memon SS, et al. Metastatic cluster 2-related pheochromocytoma/paraganglioma: a single-center experience and systematic review. *Endocr Connect*. 2021;10(11):1463–1476. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-21-0455>
- Rajan S, Zaidi G, Agarwal G, et al. Genotype-phenotype correlation in Indian patients with MEN2-associated pheochromocytoma and comparison of clinico-pathological attributes with apparently sporadic adrenal pheochromocytoma. *World J Surg*. 2016;40(3):690–6. doi: <https://doi.org/10.1007/s00268-015-3255-6>
- Carney JA, Sizemore GW, Sheps SG. Adrenal medullary disease in multiple endocrine neoplasia, type 2: pheochromocytoma and its precursors. *Am J Clin Pathol*. 1976;66(2):279–90. doi: <https://doi.org/10.1093/ajcp/66.2.279>
- Wilson RA, Ibanez ML. A comparative study of 14 cases of familial and nonfamilial pheochromocytomas. *Hum Pathol*. 1978;9(2):181–8. doi: [https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(78\)80109-9](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(78)80109-9)
- Westfried M, Mandel D, Alderete MN, et al. Sipple's syndrome with a malignant pheochromocytoma presenting as a pericardial effusion. *Cardiology*. 1978;63(5):305–11. doi: <https://doi.org/10.1159/000169909>
- Sissin JC, Shapiro B, Beierwaltes WH. Scintigraphy with I-131 MIBG as an aid to the treatment of pheochromocytomas in patients with the multiple endocrine neoplasia type 2 syndromes. *Henry Ford Hosp Med J*. 1984;32(4):254–61
- Spapen H, Gerlo E, Achten E, et al. Pre- and perioperative diagnosis of metastatic pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2a. *J Endocrinol Invest*. 1989 Nov;12(10):729–31. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03350044>
- Namba H, Kondo H, Yamashita S, et al. Multiple endocrine neoplasia type 2 with malignant pheochromocytoma—long term follow-up of a case by 131I-meta-iodobenzylguanidine scintigraphy. *Ann Nucl Med*. 1992;6(2):111–5. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03164652>
- Bonnin F, Schlumberger M, Gardet P, et al. Screening for adrenal medullary disease in patients with medullary thyroid carcinoma. *J Endocrinol Invest*. 1994;17(4):253–7. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03348970>
- Sasaki M, Iwaoka T, Yamauchi J, et al. A case of Sipple's syndrome with malignant pheochromocytoma treated with 131I-metaiodobenzyl guanidine and a combined chemotherapy with cyclophosphamide, vincristine and dacarbazine. *Endocr J*. 1994;41(2):155–60. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.41.155>
- Scopsi L, Castellani MR, Gullo F, et al. Malignant pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2B syndrome. Case report and review of the literature. *Tumori*. 1996;82(5):480–4. doi: <https://doi.org/10.1177/030089169608200514>
- Hinze R, Machens A, Schneider U, et al. Simultaneously occurring liver metastases of pheochromocytoma and medullary thyroid carcinoma—a diagnostic pitfall with clinical implications for patients with multiple endocrine neoplasia type 2a. *Pathol Res Pract*. 2000;196(7):477–81. doi: [https://doi.org/10.1016/S0344-0338\(00\)80049-7](https://doi.org/10.1016/S0344-0338(00)80049-7)
- Gentle S, Rainero I, Savi L, et al. Brain metastasis from pheochromocytoma in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2A. *Panminerva Med*. 2001;43(4):305–6
- Hamdan A, Hirsch D, Green P, et al. Pheochromocytoma: unusual presentation of a rare disease. *Isr Med Assoc J*. 2002 Oct;4(10):827–8
- Ishida E, Nakamura M, Shimada K, et al. Autopsy case prostate cancer with multiple endocrine neoplasia 2A. *Pathol Int*. 2004;54(12):918–23. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1827.2004.01773.x>
- Gullu S, Gursoy A, Erdogan MF, et al. Multiple endocrine neoplasia type 2A/localized cutaneous lichen amyloidosis associated with malignant pheochromocytoma and ganglioneuroma. *J Endocrinol Invest*. 2005;28(8):734–7. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03347557>
- Duquia RP, Almeida HL, Traesel M, Janke HA. Cutaneous metastasis of pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia IIb. *J Am Acad Dermatol*. 2006;55(2):341–4. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2005.11.1080>
- Szalat A, Fraenkel M, Doviner V, et al. Malignant pheochromocytoma: predictive factors of malignancy and clinical course in 16 patients at a single tertiary medical center. *Endocr*. 2011;39:160–166. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-010-9422-5>
- Crona J, Nordling M, Maharjan R, et al. Integrative genetic characterization and phenotype correlations in pheochromocytoma and paraganglioma tumours. *PLoS One*. 2014;9(1):e86756. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086756>
- Lang BHH, Yu HW, Lo CY, et al. Bilateral pheochromocytomas in MEN2A syndrome: a two-institution experience. *World J Surg*. 2015;39(10):2484–91. doi: <https://doi.org/10.1007/s00268-015-3117-2>
- Martins AF, Martins JM, Vale S, et al. A rare missense variant in RET exon 8 in Portuguese family with atypical multiple endocrine neoplasia type 2A. *Hormones*. 2016;15(3):435–440. doi: <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1691>
- Pal R, Rastorgi A, Kumar S, Bhansali A. Metastatic pheochromocytoma in MEN 2A: a rare association. *BMJ Case Rep*. 2018;2018:bcr2017222758. doi: <https://doi.org/10.1136/bcr-2017-222758>
- Ma X, Li M, Tong A, et al. Genetic and clinical profiles of pheochromocytoma and paraganglioma: a single center study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:574662. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.574662>
- Jester G, Hassanein H, El-Far A. Late Diagnosis of metastatic pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia 2B with rapid clinical decline. *BMJ Case Rep*. 2021;14(2):e240488. doi: <https://doi.org/10.1136/bcr-2020-240488>
- Ku CF, Lo CY, Chan WF, et al. Resection of pheochromocytoma extending into the right atrium in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2A. *Hong Kong Med J*. 2005;11:59–62

Рукопись получена: 27.07.2023. Одобрена к публикации: 26.02.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\*Реброва Дина Владимировна, к.м.н. [Dina V. Rebrova, MD, PhD]; адрес: Россия, 190103, Санкт-Петербург, набережная реки Фонтанки, д. 154 [address: 154 Fontanka river embankment, 190103, Saint Petersburg, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7840-4174>; SPIN-код: 6284-9008; e-mail: [endocrinology@list.ru](mailto:endocrinology@list.ru)

**Ворохобина Наталья Владимировна**, д.м.н., профессор [Natalya V. Vorokhobina, MD, PhD, Prof.];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9574-105X>; SPIN-код: 4062-6409; e-mail: natvorokh@mail.ru

**Русаков Владимир Федорович**, к.м.н. [Vladimir F. Rusakov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6807-778X>;

SPIN-код: 1345-3530; e-mail: rusvf@mail.ru

**Краснов Леонид Михайлович**, д.м.н. [Leonid M. Krasnov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4449-0251>;

SPIN-код: 355848; e-mail: krasnov.surg@mail.ru

**Слепцов Илья Валерьевич**, д.м.н. [Ilya V. Sleptsov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1903-5081>;

SPIN-код: 2481-4331; e-mail: newsurgery@yandex.ru

**Черников Роман Анатольевич**, д.м.н. [Roman A. Chernikov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3001-664X>;

SPIN-код: 7093-1088; e-mail: yaddd@yandex.ru

**Федоров Елисей Александрович**, к.м.н. [Elisey A. Fedorov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1294-811X>;

SPIN-код: 5673-2633; e-mail: elick@yandex.ru

**Чинчук Игорь Константинович**, к.м.н. [Igor K. Chinchuk, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6986-1034>;

SPIN-код: 6252-6710; e-mail: dr.chinchuk@bk.ru

**Шихмагомедов Шамиль Шамсутдинович** [Shamil S. Shikmagomedov, MD];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3876-6306>; SPIN-код: 3262-7588; e-mail: shikmagomedov@yandex.ru

**Семенов Арсений Андреевич**, к.м.н. [Arseny A. Semenov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6760-0025>;

SPIN-код: 6724-2170; e-mail: arseny@thyro.ru

**Имянитов Евгений Наумович**, член-корреспондент РАН, д.м.н., проф. [Evgeny N. Imyanitov, MD, PhD,

Prof., Corresponding Member of RAS]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4529-7891>; SPIN-код: 1909-7323;

e-mail: evgeny@imyanitov.spb.ru

**Гафтон Георгий Иванович**, д.м.н., профессор [Georgy I. Gavton, MD, DSc, Prof.];

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3172-2201>; e-mail: doc-tor@mail.ru

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Реброва Д.В., Русаков В.Ф., Краснов Л.М., Федоров Е.А., Чинчук И.К., Ворохобина Н.В., Слепцов И.В., Черников Р.А., Шихмагомедов Ш.Ш., Семенов А.А., Имянитов Е.Н., Гафтон Г.И. Метастатическая феохромоцитома при синдроме множественной эндокринной неоплазии 2А типа // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 35-44. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13332>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Rebrova DV, Rusakov VF, Krasnov LM, Fedorov EA, Chinchuk IK, Vorokhobina NV, Shikmagomedov SS, Semenov AA, Chernikov RA, Sleptsov IV, Gafton GI, Imyanitov EN. Metastatic pheochromocytoma in multiple endocrine neoplasia type 2A. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):35-44. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13332>

## КОРРЕКЦИЯ ОБЩЕГО КАЛЬЦИЯ В КРОВИ НА АЛЬБУМИН: ЕСТЬ ЛИ ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ?



© Е.О. Мамедова\*, О.О. Голоунина, Ж.Е. Белая

Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

Кальций является самым распространенным минералом в организме человека. Около 99% кальция депонируется в костной ткани в виде солей гидроксиапатита и только 1% находится во внутриклеточном и внеклеточном пространстве. Биологически активным является ионизированный кальций, составляющий примерно 50% от общего количества циркулирующего кальция, остальная часть связана с белками плазмы (40%, при этом в 90% случаев это альбумин, в 10% — глобулины) или находится в комплексе с анионами (10%), такими как цитрат, лактат, бикарбонат, фосфат. Гипо- и гиперкальциемия — частые состояния, с которыми сталкиваются врачи различных специальностей. Первичный гиперпаратиреоз и злокачественные новообразования являются наиболее распространенными причинами гиперкальциемии, тогда как гипокальциемия чаще всего обусловлена гипопаратиреозом, мальабсорбцией, дефицитом витамина D или хронической болезнью почек. Интерпретация результатов определения уровня кальция в крови влияет на постановку правильного диагноза, необходимость назначения дальнейшего обследования, выбор лечения. Определение уровня ионизированного кальция считается более точным показателем истинного статуса кальция по сравнению с концентрацией общего кальция, однако его измерение затруднено ввиду строгих преаналитических и аналитических требований. В середине 1970-х годов появились уравнения корректировки содержания кальция, широко используемые в настоящее время. Однако некоторые исследования позволили усомниться в достаточной надежности и чувствительности соответствующих корректировочных формул. Диагностическая точность широко используемых формул коррекции в некоторых клинических ситуациях отличается от диагностической точности нескорректированного общего кальция в худшую сторону. В обзоре обсуждается история возникновения формул коррекции общего кальция на альбумин, факторы, влияющие на результат коррекции, а также ее целесообразность при различных состояниях.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кальций; общий кальций; ионизированный кальций; альбумин; гипокальциемия; гиперкальциемия; хроническая болезнь почек; первичный гиперпаратиреоз; критические состояния.

## ALBUMIN ADJUSTMENT OF TOTAL SERUM CALCIUM — IS IT WORTH DOING?

© Elizaveta O. Mamedova\*, Olga O. Golounina, Zhanna E. Belaya

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

Calcium is the most abundant mineral in the human body. About 99% of calcium is deposited in the bones in the form of hydroxyapatite and only 1% is located in the intracellular and extracellular fluid. Ionized calcium, which makes up about 50% of the total amount of circulating calcium, is biologically active; the remaining percentage is bound to plasma proteins (40%, of which albumin accounts for 90%, and globulins for 10%), or is in complex with anions (10%) such as citrate, lactate, bicarbonate, phosphate. Hypo- and hypercalcemia are common conditions treated by physicians of various specialities. Primary hyperparathyroidism and malignant tumors are the most common causes of hypercalcemia, whereas hypocalcemia is most often caused by hypoparathyroidism, malabsorption, vitamin D deficiency or chronic kidney disease. The interpretation of blood calcium concentration results affects the correct diagnosis, the need for further examination, and the choice of treatment. Concentration of ionized calcium is considered a more accurate indicator of the true status of calcemia compared to the concentration of total calcium, but its measurement is difficult due to strict preanalytical and analytical requirements. In the mid-1970s, calcium adjustment equations appeared, which are widely used today. However, some studies have expressed doubts about the sufficient reliability and sensitivity of the corresponding adjustment formulas. The diagnostic accuracy of widely used correction formulas in some clinical situations is lower than the diagnostic accuracy of uncorrected total calcium. The review discusses the history of the formulas for correcting total calcium for albumin, the factors influencing the result of correction, as well as its suitability in various conditions.

**KEYWORDS:** calcium; total calcium; ionized calcium; albumin; hypocalcemia; hypercalcemia; chronic kidney disease (CKD); primary hyperparathyroidism (PHPT); critical illness.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



## ВВЕДЕНИЕ

Кальций является самым распространенным минералом в организме человека [1]. Около 99% кальция депонируется в костной ткани в виде солей гидроксипапатита и только 1% находится во внутриклеточном и внеклеточном (кровь и интерстициальная жидкость) пространстве [2]. Биологически активным является ионизированный кальций, составляющий примерно 50% от общего количества циркулирующего кальция, остальная часть связана с белками плазмы (40%, при этом в 90% случаев это альбумин, в 10% — глобулины) или находится в комплексе с анионами (10%), такими как цитрат, лактат, бикарбонат, фосфат [1, 2]. Гипо- и гиперкальциемия — частые состояния, с которыми сталкиваются врачи различных специальностей. Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) и злокачественные новообразования являются наиболее распространенными причинами гиперкальциемии, тогда как гипокальциемия чаще всего обусловлена гипопаратиреозом, мальабсорбцией, дефицитом витамина D или хронической болезнью почек (ХБП) [2]. Интерпретация результатов определения уровня кальция в крови влияет на постановку правильного диагноза, необходимость назначения дальнейшего обследования, выбор лечения. В обзоре обсуждается история возникновения формул коррекции общего кальция на альбумин, факторы, влияющие на результат коррекции, а также ее целесообразность при различных состояниях.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ КАЛЬЦИЯ В КРОВИ И ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕЗУЛЬТАТ

В сыворотке крови можно измерить концентрацию как общего, так и ионизированного («свободного») кальция. Совокупность фракций ионизированного кальция и кальция, связанного с анионами, обозначается как «способный к диффузии» или «ультрафильтрованный» кальций [3]. Исследование уровня общего кальция методами спектрофотометрии стало широкодоступным с 1970-х гг., когда появились автоматические биохимические анализаторы, позволившие внедрить его в рутинную практику [1]. Однако поскольку биологически активным является ионизированный кальций, считается, что именно его концентрация отражает истинное содержание кальция в крови, и его уровень является «золотым стандартом» для оценки кальциемии по сравнению с концентрацией общего кальция в крови [1, 3]. Измерение ионизированного кальция затруднено ввиду строгих преаналитических и аналитических требований, что ограничивает его использование в широкой клинической практике [1, 3], однако не все исследователи согласны с тем, что это должно быть препятствием к его определению [4–6]. Ионизированный кальций измеряется только методом потенциометрии с помощью ион-селективных электродов, и до сих пор по техническим причинам в крупные биохимические анализаторы опция прямого измерения ионизированного кальция не встроена, что также ограничивает доступность его определения [1].

В целом, в норме все три фракции кальция в крови (ионизированный, связанный с белками и находящийся в комплексе с анионами) находятся в равновесии,

однако в ряде случаев (изменения в концентрации альбумина, изменения pH крови, жирные кислоты, связывающие альбумин, присутствие в сыворотке патологических белков, например, моноклональных иммуноглобулинов, наличие анионов, способных связывать кальций) равновесие между общим и ионизированным кальцием может быть нарушено [1]. Кроме того, на уровень общего кальция влияют изменение положения тела и длительное сдавление вены жгутом [7]. Основные причины несоответствия общего и ионизированного кальция представлены в таблице 1 (адаптировано из [8]).

## ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ КОРРЕКТИРУЮЩИХ ФОРМУЛ

Еще в 1935 г. МакЛин и Гастингс опубликовали номограмму, позволявшую вычислить концентрацию ионизированного кальция исходя из концентрации общего кальция и белка (табл. 2) [9]. В последующем от использования номограмм отказались, и их место заняли формулы по расчету «скорректированного» кальция. При этом в качестве переменных в этих формулах использовались уровни белка; альбумина; альбумина и глобулинов; альбумина, глобулинов и pH (табл. 2). В целом, использование формул по коррекции уровня общего кальция преследует одну цель — более точное отражение уровня ионизированного кальция в крови для диагностики гипо-, нормо- или гиперкальциемии (т.е. заменить исследование ионизированного кальция неким суррогатным маркером, более простым в измерении). В 1971 г. Оррелл опубликовал статью «Альбумин как помощник в интерпретации уровня кальция в крови», где указал, что, по наблюдениям в их лаборатории, корреляция между общим кальцием и альбумином в два раза лучше, чем корреляция между общим кальцием и общим белком [10]. Автор исследовал 954 образца сыворотки крови как госпитализированных, так и амбулаторных пациентов на уровень общего кальция, белка и альбумина независимо от возраста и диагноза. При этом образцы с концентрацией кальция менее 7 мг/дл (около 1,75 ммоль/л) и более 11 мг/дл (около 2,75 ммоль/л) были исключены из исследования. Автор рассчитал коэффициент регрессии кальция на альбумин и вывел формулу коррекции кальция на альбумин:

$$Ca \text{ (скорр)} \text{ (мг/100 мл)} = \text{общий кальций (мг/100 мл)} - 0,71 \times [\text{альбумин (г/100 мл)} - 3,4]$$

При этом автор отметил, что точность измерения скорректированного кальция не так хороша, как общего кальция, поскольку лабораторная погрешность при измерении как общего кальция, так и альбумина вносят вклад в итоговый результат, однако не считал это критичным [10].

Однако основоположником формулы по расчету кальция, скорректированного на альбумин, считается британский химик Брайан Р. Пейн. В 1973 г. Пейн и соавт. опубликовали статью, поднимающую вопрос об интерпретации уровня общего кальция в крови у пациентов с гипергаммаглобулинемией [11]. В исследование авторы включили 200 образцов крови, присланных в лабораторию для определения печеночных проб (то есть

у пациентов не предполагалось наличие нарушений обмена кальция, и при этом не брались образцы крови пациентов из отделений нефрологии), и измерили концентрацию общего кальция, белка и альбумина. Целью было создание формулы для скрининга пациентов с патологической концентрацией белка, чтобы иметь возможность учитывать эффект изменения связанного с белком кальция на измерение общего кальция. Авторы выявили, что уровень общего кальция хорошо коррелирует с уровнем альбумина ( $r=0,867$ ) и хуже — с уровнем общего белка ( $r=0,682$ ), и предложили следующую формулу для коррекции уровня общего кальция на альбумин:

$$Ca \text{ (скорр)} \text{ (мг/100 мл)} = \text{общий кальций (мг/100 мл)} - \text{альбумин (г/100 мл)} + 4,0$$

или:

$$Ca \text{ (скорр)} \text{ (ммоль/л)} = \text{общий кальций (ммоль/л)} - [0,025 \times \text{альбумин (г/л)}] + 1,0$$

(в исходной статье [11] была допущена ошибка (был указан коэффициент 0,25, в последующем заменен на 0,025 [12]), а далее в статьях эта формула трансформировалась в

$$Ca \text{ (скорр)} \text{ (ммоль/л)} = \text{общий кальций (ммоль/л)} + 0,025 \times [40 - \text{альбумин (г/л)}] \text{ или же } Ca \text{ (скорр)} \text{ (мг/дл)} = \text{общий кальций (мг/дл)} + 0,8 \times [4,0 - \text{альбумин (г/дл)}] - \text{прим. авт.})$$

Авторы сделали вывод, что невозможно интерпретировать уровень кальция в крови, не зная уровень белка, и что поправка должна осуществляться с учетом уровня альбумина, а не общего белка [11].

Примечательно, что в этом же номере журнала от 1973 г. была опубликована статья Берри и соавт., в которой описывалось исследование в крови у 25 здоровых мужчин в возрасте 21–35 лет общего кальция, общего белка, альбумина, удельной плотности и ионизированного кальция до и после сдавливания руки жгутом [7]. Авторы вывели свое уравнение коррекции кальция

Таблица 1. Возможные причины несоответствия между измеренным общим кальцием и ионизированным кальцием (адаптировано из [8])

Общий кальций	Ионизированный кальций	Причины	Пояснение
↓	N	Гипоальбуминемия (например, печеночная недостаточность, нефротический синдром)	Снижение фракции кальция, связанного с альбумином
↑	N	Гиперальбуминемия (например, длительное наложение жгута, диета с высоким содержанием белка, длительное и выраженное обезвоживание)	Увеличение фракции кальция, связанного с альбумином
		Множественная миелома	В редких случаях моноклональные глобулины связывают кальций, вызывая повышение общего содержания кальция В большинстве случаев при множественной миеломе преобладает истинная гиперкальциемия
N	↓	Хроническая болезнь почек	Сопутствующий метаболический ацидоз и почечная недостаточность
		Острый респираторный алкалоз	Ионизированный кальций связывается с альбумином вместо ионов водорода
↑ / N	↓	Хронический респираторный алкалоз	Почечная резистентность к паратиреоидному гормону вызывает гиперкальциемию
		Хелатирование цитратом (например, пациенты на заместительной почечной терапии)	Сопутствующее хелатирование ионизированного кальция и образование комплексов цитрата кальция
↑	↑↑	Первичный гиперпаратиреоз	Снижение связывания ионизированного кальция с альбумином сопровождается повышением отношения ионизированного кальция к общему кальцию

Таблица 2. Формулы для коррекции общего кальция, опубликованные в 1930–1970-е гг. (адаптировано из [24])

Автор (ссылка в работе Ladenson)	Алгоритм
<b>Коррекция, основанная на уровне общего белка</b>	
Dent (10)	$Ca_c = Ca_t - 0,675 \times (P - 7,2)$
Parfitt (11)	$Ca_c = Ca_t / (0,6 + 0,0541 \times P)$
Parfitt (12)	$Ca_c = Ca_t / (0,55 + 0,062 \times P)$
Husdan (4, 6)	$Ca_c = Ca_t / (0,6 + 0,0515 \times P)$
Экстраполированный кальций	
Christiansen (13)	$(Ca_c) = Ca_t \times \left[ \frac{1}{\left(\frac{\alpha}{7,5}\right) \times P + 1 - \alpha} \right]$ <p>Где <math>\alpha</math> — фракция, связанная с белком. Если принять <math>\alpha</math> за 40%, уравнение будет выглядеть так:  <math>Ca_c = Ca_t / (0,6 + 0,0533 \times P)</math></p>
Zeisler (14)	$Ca_{++} = (6 \times Ca_t - P/3) / (P + 6)$
Kelly (15)	$Ca \text{ index} = (Ca_t - 6) / (0,5 \times P)$
<b>Коррекция, основанная на уровне альбумина</b>	
Orrell (16)	$Ca_c = Ca_t - 0,707 \times (A - 3,4)$
Berry (7)	$Ca_c = Ca_t - 0,91 \times (A - 4,6)$
Payne (8)	$Ca_c = Ca_t - 0,989 \times A + 4,0$
<b>Коррекция, основанная на уровне общего белка и альбумина</b>	
Pottgen & Davis (17)	$Ca_c = \frac{6Ca_t - \left[ \frac{(0,19 \times P) + A}{3} \right]}{0,19 \times P + A + 6}$
<b>Коррекция, основанная на уровне альбумина, глобулина и pH</b>	
Moore (2)	$Ca_c = Ca_t - [Ca - P],$ <p>где <math>[Ca - P]</math></p> $= 4 \times \left\{ \left[ 0,0019 \times A - \left[ (0,42) \times \frac{A}{473} \right] \times (7,42 - pH) + 0,0004 \times G - \left[ (0,42) \times \frac{G}{250} \times (7,42 - pH) \right] \right\}$
<b>Алгоритм для предсказания уровня ионизированного кальция</b>	
McLean&Hastings (1)	$Ca_{++} = \left[ \left( \frac{25 \times Ca_t}{99 - 0,188 \times Ca_t} \right) \times \left( \frac{121 + 5 \times P}{99 - 0,75 \times P} \right) - 6,02 \right] \times 2 +$ $2 \times \sqrt{\frac{602 \times Ca_t}{99 - 0,188 \times Ca_t} + \left[ \left( \frac{121,5 \times P}{99 - 0,75 \times P} \right) - \frac{25 \times Ca_t}{99 - 0,188 \times Ca_t} + 6,02 \right]^2}$

Примечания:  $Ca_c$  — скорректированный кальций;  $Ca_t$  — общий кальций (г/дл); A — альбумин (г/дл); P — общий белок (г/дл); G — глобулин = P-A

на альбумин, по которому нужно вычитать 0,09 мг/100 мл кальция на каждое увеличение на 0,1 г в уровне альбумина выше 46 г/100 мл, и добавлять, соответственно, при уровне альбумина меньше 46 г/100 мл (табл. 2). Также авторы обнаружили, что концентрация ионизированного кальция, в отличие от общего кальция, не изменяется при длительном сдавлении вены жгутом [7].

После публикации Пейна появились различные комментарии с критикой формулы [13–16], в частности, что приведенное уравнение не применимо в случаях гипо- и гиперкальциемии [14], на некоторые из которых авторы давали комментарии [17–19], в том числе указывали, что разработали уравнение как скрининговую процедуру для того, чтобы выбрать среди пациентов с отклоняющимися от нормы значениями альбумина

тех, кому может потребоваться дальнейшее исследование гомеостаза кальция [19]. В последующем появились многочисленные исследования, ставящие под сомнение целесообразность использования этой формулы (см. ниже). Примечательно, что спустя почти 50 лет после публикации оригинальной работы, Пейн продолжал активное участие в обсуждении вопроса коррекции кальция на альбумин [20].

В 1977 г. в том же журнале, где была опубликована формула Пейна, вышла статья, в которой предлагалось, с учетом разброса поправочных коэффициентов в опубликованных работах (0,018, 0,019, 0,020, 0,021, 0,022, 0,023, 0,025), использование поправочного коэффициента 0,02, то есть увеличение концентрации общего кальция на 0,02 ммоль/л на каждый грамм снижения

концентрации альбумина по сравнению с исходным значением 40 г/л (и наоборот):  $Ca$  (скорр) (ммоль/л) = общий кальций (ммоль/л) +  $0,02 \times [40 - \text{сывороточный альбумин (г/л)}]$  [3]. Автор статьи отмечал, что выбранное референсное значение альбумина должно быть в середине референсного интервала для используемого метода определения альбумина, и для большинства существующих (на тот момент) методов это значение равно 40. Кроме того, автор отмечал, что референсный интервал для «скорректированного» кальция каждая лаборатория должна определять самостоятельно [3]. За этой статьей также последовала критика, поскольку индивидуальный разброс поправочных коэффициентов может быть гораздо шире [21], и дальнейшая дискуссия [22, 23]. Тем не менее именно эта формула используется наиболее часто в настоящее время под названием модифицированной формулы Пейна.

Ладенсон и соавт. в 1978 г. проанализировали все опубликованные на тот момент алгоритмы для коррекции уровня кальция (табл. 2), включая формулу Пейна, а также локально выведенный алгоритм на большой выборке как здоровых добровольцев, так и больных с различными патологиями (включая гиперкальциемию, злокачественные заболевания, ХБП и пр.), и убедились, что скорректированный кальций ни по одному из алгоритмов не предсказывал уровень ионизированного кальция правильнее, чем общий кальций [24].

В 1979 г. Пейн и соавт. проанализировали результаты 1673 образцов крови, отправленных на анализ по поводу костной или печеночной патологии, при этом исключались образцы из нефрологического отделения [25]. Для расчета альбумин-скорректированного кальция авторы использовали свою же формулу [11], при этом анализу подверглись две группы: 115 человек, у которых общий кальций был значительно ниже ( $<2,0$  ммоль/л) или значительно выше ( $>2,75$  ммоль/л) референсного интервала, и 74 пациента, имевшие «нормальный» уровень общего кальция, который переставал быть «нормальным» после коррекции. В первой группе после коррекции кальций отклонялся от нормы только у 24 пациентов (21%). Во второй группе ни у кого кальций не был ниже 2 ммоль/л, но был выше 2,75 ммоль/л у 6 больных. Из них у двух, по выводам авторов, альбумин был ошибочно занижен лабораторией, у остальных имелись злокачественные заболевания, тяжелое поражение печени или первичный гиперпаратиреоз. Примечательно, что в качестве контроля авторы не использовали ионизированный кальций, поэтому полученные выводы о достоверности результатов сомнительны. В этой же работе авторы обращают внимание на то, что корректировочная формула разработана для определения альбумина методом бромкрезолового зеленого (см. ниже) [25]. В последующем Барт и соавт. (в соавторстве с Пейном) подтвердили наблюдения других авторов (Эшби и соавт., см. ниже), что соотношение кальция и альбумина становятся нелинейными при низком уровне альбумина, что уравнения регрессии отличаются при использовании одинаковых приборов и методов исследования в разных лабораториях, и пришли к выводу, что каждая лаборатория должна рассчитывать свое уравнение регрессии кальция на альбумин из своих баз данных и проверять их достоверность время от време-

ни [26]. В дальнейшем были предложены другие формулы для расчета альбумин-скорректированного кальция, преимущественно для больных с ХБП (табл. 3), однако именно модифицированная формула Пейна до сих пор применяется чаще всего.

Интересен вопрос референсного интервала для альбумин-скорректированного кальция. В целом общепринято, что он совпадает с референсным интервалом для общего кальция. Однако в 2020 г. Шини и соавт. опубликовали исследование, в котором рассчитали 99% референсный интервал для альбумин-скорректированного кальция [27]. Авторы проанализировали базу данных из 502 524 мужчин и женщин в возрасте от 40 до 69 лет, и отобрали группу из 178 377 человек без ХБП и дефицита витамина D. При расчете референсный интервал для общего кальция составил 2,15–2,6 ммоль/л. Альбумин-скорректированный кальций рассчитывался по выведенной авторами формуле:

$$Ca \text{ (скорр) (ммоль/л)} = \text{общий кальций (ммоль/л)} + 0,0177 \times [45,2 - \text{альбумин (г/л)}].$$

Референсный интервал для альбумин-скорректированного кальция составил 2,19–2,56 ммоль/л, при этом при расчете отдельно для женщин в менопаузе верхняя граница референсного интервала составила 2,59 ммоль/л, для молодых женщин — 2,57 ммоль/л, а для всех мужчин — 2,55 ммоль/л [27].

#### **ЗАВИСИМОСТЬ ПОКАЗАТЕЛЯ АЛЬБУМИН-СКОРРЕКТИРОВАННОГО КАЛЬЦИЯ ОТ ФАКТОРОВ, СВЯЗАННЫХ С АЛЬБУМИНОМ**

На молекуле альбумина находится около 30 мест связывания кальция [35], и этот кальциевый буфер сильно зависит от pH. Снижение pH приводит к повышению уровня ионизированного кальция, а повышение pH — к его снижению [1]. Концепция поправки кальция на альбумин предполагает постоянный коэффициент связывания кальция с альбумином (так, модифицированная формула Пейна предполагает добавление или вычитание 0,02 ммоль/л кальция на каждый г/л альбумина, на который альбумин в крови меньше или больше 40 г/л). Однако в работе Бесараб и соавт. было показано *in vitro*, что константа связывания значительно изменяется в зависимости от концентрации альбумина в диапазоне от 1 до 9 г/дл [28]. При постоянной концентрации альбумина концентрация кальция, связанного с альбумином, изменялась непосредственно с концентрацией ультрафильтруемого кальция. При постоянной концентрации ультрафильтруемого кальция концентрация кальция, связанного с альбумином, была обратно пропорциональна концентрации альбумина при уровне альбумина более 3 г/дл. В результате авторы делают вывод, что связывание кальция с альбумином — сложный процесс, характеризующийся наличием множества мест связывания, чья аффинность и способность к связыванию различается, и что использование простых формул с фиксированной константой связывания кальция с альбумином может быть некорректно, особенно при гипоальбуминемии [28]. В последующем этими же авторами в исследовании *in vivo* было показано, что количество

Таблица 3. Формулы для коррекции общего кальция, опубликованные после работы Пейна

Формула	Число пациентов	Авторы, год	Ссылка
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) + 0,018 \times (35 - \text{альбумин} (\text{г/л}))$	50 пациентов на программном гемодиализе	Clase C.M. et al., 2000	[44]
$\text{Ионизированный кальций} (\text{ммоль/л}) = 0,592 - 0,00449 \times \text{белок} (\text{г/л}) + 0,410 \times \text{общий кальций} (\text{ммоль/л})$	294 пациента 80 лет и старше с уровнем альбумина менее 35 г/л	Pfitzenmeyer P. et al., 2007	[82]
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) + 0,01 \times (30 - \text{альбумин} (\text{г/л}))$	Разработка формулы: 60 пациентов на программном гемодиализе Подтверждение формулы: 237 пациентов на программном гемодиализе	Jain A. et al., 2008	[67]
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) + 0,012 \times (39,9 - \text{альбумин} (\text{г/л}))$	Разработка формулы: 4613 амбулаторных пациентов Подтверждение формулы: дополнительные 1538 человек	James M.T. et al., 2008	[42]
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) + 0,015 \times (40 - \text{альбумин} (\text{г/л})) + 0,07 \times (1,5 - \text{фосфор} (\text{ммоль/л}))$	84 пациента на программном гемодиализе	Ferrari P. et al., 2009	[75]
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) + 0,03 \times (37,33 - \text{альбумин} (\text{г/л}))$	Разработка формулы: 450 здоровых лиц 35–65 лет Подтверждение формулы: 125 здоровых лиц 35–65 лет	Pawade Y.R. et al., 2012	[64]
$\text{Ca (скорр)} (\text{мг/дл}) = \text{общий кальций} (\text{мг/дл}) + 0,25 \times (4 - \text{альбумин} (\text{г/дл})) + 4 \times (7,4 - \text{pH}) + 0,1 \times (6 - \text{фосфор} (\text{мг/дл})) + 0,22$	1922 пациента с хронической болезнью почек 3–5 стадии	Kaku Y. et al., 2015	[76]
$\text{Ca (скорр)} (\text{мг/дл}) = \text{общий кальций} (\text{мг/дл}) + 0,25 \times (4 - \text{альбумин} (\text{г/дл})) + 0,1 \times (6 - \text{фосфор} (\text{мг/дл})) + 0,05 \times (24 - \text{HCO}_3^- (\text{мг/дл})) + 0,35$	+ 341 пациент с хронической болезнью почек на программном гемодиализе		
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = 1,35 \times \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) - 0,7 \times \text{альбумин} (\text{г/л}) - 0,25 \times \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) - 0,65 \times \text{альбумин} (\text{г/л}) - 0,15 \times \text{фосфор} (\text{ммоль/л}) - 0,25$	Разработка формулы: 242 пациента на программном гемодиализе	Obi Y. et al., 2016	[73]
$\text{Ca (скорр)} (\text{ммоль/л}) = 1,35 \times \text{общий кальций} (\text{ммоль/л}) - 0,55 \times \text{альбумин} (\text{г/л}) - 0,15 \times \text{фосфор} (\text{ммоль/л}) - 0,005 \times \text{альбумин} (\text{г/л}) \times \text{HCO}_3^- (\text{ммоль/л}) + 0,4$	Подтверждение формулы: 566 пациентов на программном гемодиализе		

кальция, связанного с 1 г альбумина, обратно коррелирует с концентрацией альбумина: снижение с 2 до 1 мг кальция на грамм альбумина с увеличением концентрации альбумина с 1,7 до 3,1 г/дл [29]. Это исследование доказывает, что использование корректировочных формул с константой связывания кальция с альбумином у лиц с гипоальбуминемией приводит к ложному завышению у них уровня кальция, т.е. у лиц с низким уровнем ионизированного кальция ложно диагностируют нормокальциемию [29].

Сродство связывания кальция с альбумином также имеет значительные индивидуальные различия. Фактически индивидуальные поправочные коэффициенты (коэффициенты регрессии) составляют от 0,013 до 0,044 [30]. Факторы, влияющие на связывание кальция с альбумином, могут различаться у амбулаторных пациентов и при состояниях, требующих неотложного медицинского вмешательства. Пациенты, страдающие каким-либо заболеванием, могут иметь даже большие различия в связывающей способности кальция с альбумином, чем здоровые

люди, что делает использование «среднего» поправочного коэффициента 0,02 еще более сомнительным [30]. Имеются ограниченные данные, что концентрация альбумина изменяется в зависимости от пола, возраста и между популяциями, однако не все исследования согласуются между собой. Например, в работе МакПерсон и соавт. продемонстрировано снижение уровня альбумина на 10% в возрастном диапазоне 18–65 лет у 1000 здоровых доноров крови. Значения сывороточного альбумина были ниже в среднем на 2 г/л у женщин до возраста менопаузы [31]. В другом исследовании, включившем 1 079 193 результата анализа сывороточного альбумина от 482 607 мужчин и 596 586 женщин, показано увеличение средней концентрации альбумина до максимальной примерно в возрасте 20 лет, а затем постепенное ее снижение, причем у женщин наблюдалось более быстрое уменьшение альбумина к возрасту 60 лет [32].

В 1986 г. Эшби и соавт. проанализировали базу данных из 687 000 образцов крови, при этом были исключены образцы с отклоняющимися от нормы уровнями мочевины, фосфора, глобулинов, щелочной фосфатазы и печеночных ферментов [33]. Коэффициенты регрессии кальция на альбумин изменялись значительно на различных приборах, даже если аналитические принципы используемых методов оставались одинаковыми. Кроме того, взаимосвязь общего кальция и альбумина отклонялась от линейной при уровне альбумина менее 30 г/л. Также авторы отметили, что при использовании большой базы данных можно вычислить референсный интервал для альбумин-скорректированного кальция вместо того, чтобы каждый раз рассчитывать скорректированный кальций [33]. В последующем Барт и соавт. подтвердили, что взаимосвязь кальция и альбумина отклоняется от линейной при низких показателя альбумина, что в различных лабораториях поправочные коэффициенты варьируют от 0,016 до 0,0232 [26].

Коррекция кальция на альбумин затруднена в связи с существованием различных наборов для определения концентрации альбумина [34, 35]. Концентрация альбумина обычно измеряется фотометрическими методами, при этом в качестве красителя используется либо бромкрезоловый пурпурный (БКП), либо бромкрезоловый зеленый (БКЗ) (следует отметить, что в работе Пейна для определения альбумина использовался БКЗ). При этом «золотым стандартом» измерения уровня альбумина являются иммунохимические методы (иммунотурбидиметрия и иммунонефелометрия), однако они более трудозатратные и дорогие [34]. Примечательно, что, особенно у больных на гемодиализе, показатели альбумина, измеренные методами БКП и БКЗ, отличаются от измеренных иммунохимическими методами: метод БКП занижает показатели альбумина, а БКЗ завышает, особенно при гипоальбуминемии (в связи с тем, что связывает в небольшом количестве еще и глобулины) [36, 37]. Таким образом, значение кальция, скорректированного на альбумин, зависит от набора, которым определяли уровень альбумина: при использовании БКП уровень скорректированного кальция может быть завышен, а при использовании БКЗ — занижен. В исследовании Лабриола и соавт. изучали зависимость уровня альбумин-скорректированного кальция от метода измерения альбумина у пациентов на гемодиализе [34]. В исследование включили

89 больных, уровень альбумина составил  $3,78 \pm 0,24$  г/дл методом БКЗ и  $3,12 \pm 0,27$  г/дл методом БКП ( $p < 0,0001$ ). Основываясь на уровне альбумина, измеренного методом БКЗ, было 12 случаев «гипокальциемии» (8,6 мг/дл), 3 случая «гиперкальциемии» ( $> 10$  мг/дл) и 74 случая «нормокальциемии». Основываясь на уровне альбумина, измеренного методом БКП, у одного пациента была «гипокальциемия», у 21 — «гиперкальциемия» и у 67 — «нормокальциемия». Таким образом, в зависимости от метода измерения альбумина (БКП или БКЗ) — разногласия в результатах в одной и той же когорте больных получены в 29 случаях (32,6%) [34]. Авторы делают вывод, что при измерении уровня альбумина лаборатории должны указывать метод, каким он был измерен [34]. В исследовании де Рой ван Зюйдевейн и соавт. измеряли уровень альбумина методом БКП у 331 пациента и методом БКЗ у 175 пациентов на гемодиализе [35]. В группе БКП уровень альбумина был ниже ( $34,5 \pm 4,2$  против  $40,3 \pm 3,1$  г/л,  $p < 0,0005$ ). Уровень общего кальция не отличался между группами ( $2,32 \pm 0,18$  ммоль/л и  $2,34 \pm 0,17$  ммоль/л в группах БКП и БКЗ соответственно ( $p = 0,26$ )), тогда как после коррекции на альбумин кальций стал значительно выше в группе БКП ( $2,45 \pm 0,18$  против  $2,33 \pm 0,18$  ммоль/л,  $p < 0,0005$ ) [35]. Авторы приходят к выводу, что не следует корректировать уровень кальция на альбумин у больных на гемодиализе при выборе фосфат-биндеров [35]. Схожие данные по различиям в концентрации альбумина, исследованной методами БКЗ и БКП, и, соответственно, по альбумин-скорректированному кальцию у пациентов на гемодиализе также получены в исследовании Като и соавт. [38]. В исследовании Карневале и соавт. исследовали уровень общего кальция, общего белка и альбумина, измеренного двумя методами — колориметрическим и электрофоретическим — у 170 госпитализированных больных [39]. При колориметрическом методе уровень альбумина был значимо ниже, чем при электрофоретическом, и, соответственно, уровень альбумин-скорректированного кальция по формуле Пейна был значимо ниже во втором случае, что в конечном итоге влияло на частоту выявленных случаев гиперкальциемии [39]. В двух исследованиях Джэссэм и соавт. как показатели альбумина, так и показатели кальция значительно изменялись в зависимости от используемого оборудования и реагентов, что может сильно влиять на конечный результат альбумин-скорректированного кальция [40, 41].

С учетом того, что в корректировочных формулах, разработанных в 1970-х гг. (табл. 2), для определения альбумина использовался БКЗ, в 2008 г. Джеймс и соавт. разработали формулу для БКП (табл. 3) [42].

### **В КАКИХ КЛИНИЧЕСКИХ РЕКОМЕНДАЦИЯХ РЕКОМЕНДУЮТ КОРРЕКТИРОВАТЬ ОБЩИЙ КАЛЬЦИЙ НА АЛЬБУМИН**

#### **Минеральные и костные нарушения при ХБП**

Как гипокальциемия, так и гиперкальциемия — предикторы смертности у больных на гемодиализе, от их наличия зависит выбор лечения (назначение активных метаболитов витамина D, назначение кальций-содержащих или не содержащих фосфат-биндеров) [43]. В рекомендациях K/DOQI от 2003 г. указано (рекомендация 6, стр. S77): «В большинстве случаев воспроизводимость

измерений ионизированного кальция хуже, чем общего кальция; методика является времязатратной и более дорогой по сравнению с измерением общего кальция. По этой причине, а также потому, что ионизированный кальций не измеряется в рутинной практике, Рекомендации будут основаны на уровне общего кальция в крови. Последний отражает концентрацию ионизированного кальция, если уровень белка в крови находится в норме. Если уровень альбумина низкий, необходимо проводить коррекцию измеренного уровня общего кальция. Несколько формул было разработано для коррекции общего кальция на отклоняющийся от нормы альбумин как у здоровых лиц, так и у пациентов с ХБП, но все они имеют ограничения» [43]. В рекомендациях приведены две формулы для коррекции общего кальция на альбумин. Одна из них взята из исследования Клейз и соавт. [44]:

$$Ca \text{ (скорр)} \text{ (мг/дл)} = \text{общий кальций (мг/дл)} + 0,0704 \times [34 - \text{альбумин (г/л)}],$$

где альбумин измерялся на автоматическом анализаторе методом БКЗ, общий кальций методом фотометрии с арсеназо III, а ионизированный кальций — ион-селективными электродами.

При этом авторы рекомендаций отмечают, что использование других методов для измерения как альбумина, так и кальция, может приводить к другим корреляциям, нежели в приведенном уравнении. И для рутинной клинической интерпретации уровня кальция в крови у пациентов с ХБП авторы рекомендаций предлагают использовать модифицированную формулу Пейна. В указанной главе формула приведена в следующем контексте: «Дегидратация или гемоконцентрация при венепункции могут повысить уровень альбумина и ложно завязать уровень общего кальция. Даже при нормальном уровне альбумина, изменения pH крови нарушают константу равновесия комплекса кальций-альбумин, при этом ацидоз уменьшает связывание, а алкалоз усиливает. Соответственно, глобальные сдвиги в концентрации белка и pH требуют прямого измерения ионизированного кальция для определения физиологического уровня кальция» [43].

В клинических рекомендациях KDIGO, опубликованных в 2006 г., указано, что судить об уровне кальция у пациентов с ХБП необходимо либо по уровню ионизированного кальция, либо по альбумин-скорректированному кальцию [45]. При этом авторы отмечают, что измерение ионизированного кальция является методом выбора. Однако сложности, связанные с обработкой образца, и стоимость исследования могут препятствовать его рутинному измерению. Уровень общего кальция должен быть «скорректирован» на уровень альбумина при низком уровне кальция, однако не существует стандартизации используемых формул для определения «скорректированного кальция» [45]. При формулировке этих утверждений авторы ссылаются на рекомендации K/DOQI. Среди вопросов, необходимых для изучения в дальнейшем, приводят следующий: обеспечивают ли существующие формулы, используемые для «корректировки» общего кальция в крови, и основанные на уровне альбумина в крови, более точное отображение уровня кальция в крови по сравнению с некорректированным уровнем общего кальция [45].

В последующем в рекомендациях KDIGO, опубликованных в 2009 г., было указано (глава 3.1, раздел 3.1.6, стр. S27): «При наличии гипоальбуминемии ионизированный кальций повышается относительно общего кальция и, таким образом, показатель общего кальция может недооценить уровень биологически активного (ионизированного) кальция [46]. Формула «скорректированного кальция» рутинно используется во многих лабораториях у пациентов на гемодиализе и в большинстве клинических исследований. К сожалению, последние данные показывают, что она не дает преимуществ по сравнению с уровнем общего кальция и менее специфична по сравнению с исследованием ионизированного кальция. Набор, используемый для измерения альбумина, может повлиять на оценку скорректированного кальция. К тому же измерение ионизированного кальция не доступно в рутинной практике и может требовать дополнительных затрат. В настоящее время большинство баз данных уже используют формулу для коррекции кальция и нет данных, показывающих разницу в лечебном подходе или клинических исходах при использовании скорректированного против общего или ионизированного кальция. Рабочая группа не рекомендует избегать коррекции кальция на альбумин. Кроме того, использование ионизированного кальция в настоящее время не считается практичным и экономически эффективным» [46]. В последних опубликованных рекомендациях KDIGO от 2017 г. не указано, какой именно кальций необходимо измерять у больных с ХБП [47].

#### Первичный гиперпаратиреоз

В международных рекомендациях от 2002 г. указано, что концентрация общего кальция должна быть скорректирована на концентрацию альбумина по модифицированной формуле Пейна. Панель экспертов не рекомендовала использовать ионизированный кальций, поскольку у большинства клиницистов нет возможности его измерить [48]. В рекомендациях от 2008 г. коррекция кальция на альбумин не упоминается [49]. В рекомендациях от 2013 г. указано, что концентрация общего кальция корректируется, чтобы отразить любые отклонения в уровне альбумина. Рекомендуется использовать модифицированную формулу Пейна. Уровень ионизированного кальция может быть измерен, однако у большинства центров нет возможности для оценки ионизированного кальция. Таким образом, рекомендуется использовать скорректированную концентрацию общего кальция [50]. В рекомендациях от 2023 г. указано следующее: «Рекомендуется корректировать общий кальций на уровень альбумина при диагностике первичного гиперпаратиреоза. Коррекцию необходимо проводить при уровне альбумина менее 4 г/дл. Необходимость коррекции при уровне альбумина более 4 г/дл остается спорной. Если доступен анализатор для определения ионизированного кальция, спорные вопросы, связанные с уровнем альбумина, могут быть разрешены. Исследование уровня ионизированного кальция тем более актуально, когда уровень общего кальция в норме, а уровень паратгормона (ПТГ) повышен» [51]. В российских рекомендациях по первичному гиперпаратиреозу также рекомендуется корректировать уровень общего кальция на альбумин [52].

Примечательно, что во всех вышеперечисленных редакциях рекомендаций по ПГПТ как одно из показаний для хирургического лечения асимптомного ПГПТ выбран уровень кальция выше 0,25 ммоль/л (1 мг/дл) от верхней границы нормы, а уровень ионизированного кальция не рассматривается как показание к операции. При этом существует как минимум одно исследование, показывающее, что именно уровень ионизированного, а не общего кальция лучше коррелирует с тяжестью заболевания [53]. Кроме того, неясно, соответствует ли верхняя граница референсного интервала для альбумин-скорректированного кальция той же границе референсного интервала для общего кальция, указываемого лабораторией, а от этого зависит показание к оперативному вмешательству.

### Гипопаратиреоз

В международных рекомендациях от 2016 г. указано, что для диагностики гипопаратиреоза авторы рекомендуют использовать ионизированный или альбумин-скорректированный кальций, при этом для коррекции используют ту же модифицированную формулу Пейна. Авторы упоминают все те же недостатки в измерении ионизированного кальция и рекомендуют корректировать общий кальций на альбумин [54]. В рекомендациях от 2022 г. указано, что для диагностики гипопаратиреоза, а также для мониторинга эффективности терапии рекомендуется использовать ионизированный кальций или альбумин-скорректированный кальций, при этом не указано, по какой формуле необходимо корректировать кальций [55]. В российских рекомендациях по гипопаратиреозу рекомендуется измерять альбумин-скорректированный кальций [56].

### Другие рекомендации

Поскольку у большинства пациентов с множественной миеломой наблюдаются как гиперкальциемия, так и гипоальбуминемия, Альянс National Comprehensive Cancer Network (NCCN) рекомендует использовать определение общего кальция в сыворотке крови с поправкой на концентрацию альбумина в данной популяции больных [57]. В европейских рекомендациях по купированию гиперкальциемии [58] и гипокальциемии [59] при острых состояниях также рекомендуется корректировать общий кальций на альбумин.

### ЦЕЛЕСООБРАЗНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ОБЩЕГО КАЛЬЦИЯ НА АЛЬБУМИН ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СОСТОЯНИЯХ

В литературе опубликовано достаточно большое количество исследований из разных стран, ставящих под сомнение целесообразность коррекции общего кальция в крови на альбумин. Все исследования в целом построены по одному принципу. В качестве «золотого стандарта» брался уровень ионизированного кальция и исследовалось, насколько общий и альбумин-скорректированный кальций соответствовали уровню ионизированного кальция. При этом преобладал ретроспективный дизайн исследований, когорты исследуемых отличались по наличию различных заболеваний и по количеству.

### Неоднородные когорты пациентов и здоровых лиц

Во Франции Паран и соавт. ретроспективно проанализировали результаты 74 пациентов, у которых исследовались кальций общий, кальций ионизированный, скорректированный на pH 7,4, альбумин, и проводился расчет альбумин-скорректированного кальция по двум модификациям формулы Пейна (0,02/40 и 0,025/40) [60]. В результате обе формулы занижали уровень кальция при уровне альбумина более 40 г/л, достигая разницы в 0,2 ммоль/л при уровне альбумина более 44 г/л. Использование этих формул также «маскировало» гиперкальциемию [60]. В Канаде Стин и соавт. ретроспективно проанализировали уровни общего кальция, альбумина и ионизированного кальция в 678 пробах от 420 госпитализированных пациентов независимо от диагноза [61]. Диагностическая точность альбумин-скорректированного кальция по формуле Пейна и нескорректированного общего кальция оценивалась в когорте госпитализированных пациентов с острым, но не критическим состоянием. Согласно полученным результатам, чувствительность и специфичность общего кальция в выявлении гипо- и гиперкальциемии составили 61% и 92%, 69% и 95% соответственно, тогда как коррекция общего кальция на альбумин по формуле Пейна демонстрировала чувствительность и специфичность в отношении выявления гипо- и гиперкальциемии — 95% и 76%, 20% и 99% соответственно. В то время как нескорректированный кальций неверно классифицировал статус кальция в 24% случаев, применение поправочной формулы на альбумин завышало значения кальция у 56% пациентов. При расчете альбумин-скорректированного кальция различные коэффициенты корреляции были выше для общего и ионизированного кальция по сравнению с альбумин-скорректированным и ионизированным кальцием. Среди ограничений своей работы авторы отмечают то, что среди госпитализированных (тяжело больных) чаще преобладает гипокальциемия, поэтому выборка в данном исследовании была смещена в сторону гипокальциемии, и полученные выводы могут не распространяться на пациентов с гиперкальциемией. Кроме того, ретроспективный дизайн работы не позволял проверить правильность забора и транспортировки образцов крови [61]. В Швеции Ридфельт и соавт. ретроспективно проанализировали результаты проб 20 003 пациентов, при этом для расчета альбумин-скорректированного кальция авторы использовали разработанную в лаборатории формулу (табл. 3) и семь других различных формул, опубликованных в литературе [62]. Авторы делают вывод, что уровень общего кальция лучше коррелирует с ионизированным кальцием (внутриклассовый коэффициент корреляции (interclass correlation coefficient, ICC) 0,85), чем альбумин-скорректированный кальций, рассчитанный по всем формулам (ICC варьировал в диапазоне от 0,45 до 0,81). По уровню общего кальция пациенты были верно классифицированы как имеющие гипер-, нормо- или гипокальциемию в 82% случаев, а результат по альбумин-скорректированному кальцию не стал лучше. Только в группе пациентов с гипоальбуминемией (альбумин менее 30 г/л) локальная формула классифицировала пациентов немного корректнее. Авторы делают вывод, что коррекция общего кальция на альбумин не добавляет значимой информации, и такой практики следует избегать. Следует отдавать предпочтение измерению ионизированного

кальция, когда получены отклонения в уровне общего кальция, а также у пациентов с гипоальбуминемией [62]. В Австралии Смит и соавт. ретроспективно проанализировали 13 604 результата анализов от 5553 госпитализированных пациентов, а также проспективно — 1113 образцов от 450 пациентов [63]. В этой работе также было показано, что альбумин-скорректированный кальций хуже коррелировал с ионизированным кальцием и превышал уровень кальция у пациентов с гипоальбуминемией (уровень альбумина менее 3 г/дл) и у больных с почечной недостаточностью [63]. В ретроспективном исследовании во Франции Алан-Жела и соавт. среди 210 пациентов, госпитализированных в общетерапевтическое отделение, по результатам определения концентрации ионизированного кальция у 46 (22%) выявлена гипокальциемия, у 124 (59%) — нормокальциемия и у 40 (19%) — гиперкальциемия [64]. Концентрация общего кальция имела хорошую специфичность 94% (95% доверительный интервал (ДИ) 89–97%), но низкую чувствительность 52% (95% ДИ 37–67%) для диагностики гипокальциемии. Снижение уровня общего кальция указывало на гипокальциемию с хорошим уровнем достоверности (отношение правдоподобия положительного результата (positive likelihood ratio, PLR) 8,6 (95% ДИ 4,4–17)), однако нормальная концентрация общего кальция не исключала гипокальциемию (отношение правдоподобия отрицательного результата (negative likelihood ratio, NLR) 0,51 (95% ДИ 0,38–0,69)). Поправка на концентрацию альбумина с использованием формулы Пейна значительно улучшала специфичность ( $p=0,008$ ), но снижала чувствительность ( $p=0,001$ ). Для диагностики гиперкальциемии общий кальций имел хорошую чувствительность 93% (95% ДИ 80–98%) и специфичность 89% (95% ДИ 83–93%). Высокая концентрация общего кальция указывала на гиперкальциемию (PLR 8,3 (95% ДИ 5,4–13)), в то время как нормальный уровень общего кальция в сыворотке крови исключал гиперкальциемию (NLR 0,08 (95% ДИ 0,03–0,25)) с хорошим уровнем достоверности. Однако коррективка общего кальция по концентрации альбумина не увеличивала, а иногда, наоборот, снижала точность диагностики ( $p<0,001$ ). Таким образом, нескорректированный общий кальций столь же чувствителен, как и общий кальций с поправкой на альбумин, для выявления гиперкальциемии, однако измерение общего кальция, с коррекцией по уровню альбумина или без таковой, не во всех случаях позволяет диагностировать гипокальциемию. Приведенное исследование свидетельствует о том, что корректирующие формулы с использованием концентрации сывороточного альбумина и общего белка не повышают точность отражения истинного уровня кальция для диагностики гипокальциемии и даже ухудшают точность выявления гиперкальциемии [64].

Один из недостатков вышеперечисленных исследований — их ретроспективный дизайн. Однако схожие данные были получены и в проспективном исследовании Мир и соавт. [65]. В 254 образцах крови, присланных в лабораторию местного госпиталя (без уточнения диагнозов), измеряли уровень общего кальция, белка, альбумина, а также ионизированного кальция, при этом обязательным условием было нормальное значение pH в образце. Все образцы были разделены на три подгруппы: гипоальбуминемия ( $n=145$ ), нормоальбуминемия ( $n=98$ ) и гиперальбуминемия ( $n=11$ ), и в каждой из подгрупп авторы рассчитывали

скорректированный кальций по формулам Берри, Оррелла и Пейна, и рассчитывали ионизированный кальций как 50% от полученного результата. В итоге измеренный ионизированный кальций значимо отличался от расчетного по всем трем формулам ионизированного кальция в группе гипоальбуминемии ( $n=145$ ), а также суммарно по всем образцам ( $n=254$ ). Схожие результаты по измеренному и расчетному кальцию были получены только для расчета по формуле Оррелла в группе нормоальбуминемии и по формуле Берри в группе гиперальбуминемии. Авторы делают вывод, что лучше измерять ионизированный кальций, а при использовании формул необходимо помнить о всех присущих им ограничениях [65]. В проспективном исследовании Паваде и соавт. исследовали образцы 575 здоровых лиц 35–65 лет на общий кальций, ионизированный кальций и альбумин [66]. Авторы вывели собственное уравнение линейной регрессии для коррекции кальция на альбумин (табл. 3) и сравнили полученный результат с результатом расчета по формуле Пейна. В результате полученные значения по двум разным формулам значимо отличались друг от друга, из чего авторы делают вывод, что каждая лаборатория должна рассчитывать собственные уравнения регрессии, и, кроме того, подобные уравнения, полученные на группах амбулаторных больных, не применимы к госпитализированным больным или к больным в тяжелом состоянии [66]. В проспективном многоцентровом исследовании Тод и соавт. с участием 1213 пациентов с подозрением на различные отклонения в обмене кальция диагностическое несоответствие между общим кальцием и ионизированным кальцием сыворотки крови обнаружено у 31% больных [67]. При расчете общего кальция с поправкой на альбумин и сопоставлении с уровнем ионизированного кальция у тех же пациентов выявленное несоответствие уменьшилось до 17,9%, при этом диагностическое несоответствие, которое объясняется аналитической неточностью, составило всего 6,7%. Можно предположить, что некоторым пациентам с повышенным уровнем общего кальция или кальция, скорректированного на альбумин, как следствие, будут проведены обследования, несмотря на нормальные значения ионизированного кальция, тогда как у других пациентов, вероятно, не будет дальнейшего обследования, несмотря на наличие гиперкальциемии, определяемой по уровню ионизированного кальция [67].

#### Минеральные и костные нарушения при ХБП

Формула Пейна не была разработана для больных с нарушением функции почек, более того, при ее разработке такие больные специально не включались в исследование [11]. Тем не менее именно эта формула рекомендуется для расчета альбумин-скорректированного кальция у больных с ХБП [43]. В связи с этим проводились различные исследования об эффективности ее применения у больных с ХБП, а также попытки разработки других корректировочных формул. В исследовании Клейз и соавт. измеряли уровень ионизированного кальция, общего кальция, альбумина, общего белка и pH у 50 пациентов на гемодиализе в стабильном состоянии, и далее рассчитывали ИСС между ионизированным кальцием и общим кальцием [44], а также кальцием, скорректированным по формулам Оррелла [10], Берри [7], Пейна [11], Маршалла и Ходжкинсона [68]. В результате ИСС был

выше для формул Оррелла и Маршала и Ходжкинсона, а также для общего кальция, но не для кальция, рассчитанного по формуле Пейна. Также авторы предлагают собственную разработанную формулу (табл. 3), которая очень близка к формуле Оррелла. Авторы делают вывод, что у пациентов на гемодиализе не следует проводить коррекцию общего кальция на альбумин, а в сомнительных случаях следует измерять ионизированный кальций [44]. В исследовании Джейн и соавт. на выборке из 60 пациентов на гемодиализе в стабильном состоянии и в дальнейшем при валидации на большей выборке из 237 пациентов на гемодиализе была разработана новая формула для расчета альбумин-скорректированного кальция (табл. 3), однако по показателю ИСС эта формула значимо не превосходила формулы Оррелла, Клейза, а также показатель общего кальция [69]. В исследовании Горанссон и соавт. измеряли общий кальций, ионизированный кальций и альбумин-скорректированный кальций у 34 пациентов на гемодиализе [70]. При расчете альбумин-скорректированного кальция один пациент (3%) был отнесен в группу гипокальциемии, а 10 пациентов (26%) — в группу гиперкальциемии, тогда как по уровню ионизированного кальция пять пациентов (15%) и три пациента (9%) были отнесены в группы гипо- и гиперкальциемии соответственно. Таким образом, семь пациентов (21%) были неправильно классифицированы как имевшие гиперкальциемию по альбумин-скорректированному кальцию, и только 19 пациентов (56%) были классифицированы как имевшие нормокальциемию по обоим измерениям. Авторы приходят к выводу, что коррекция кальция на альбумин приводит к недооценке гипокальциемии и увеличению частоты гиперкальциемии в этой когорте больных [70]. В исследовании Гаучи и соавт. был включен 691 пациент с ХБП 3–5 стадии с целью изучения возможности общего кальция и альбумин-скорректированного кальция прогнозировать низкие, нормальные и высокие концентрации ионизированного кальция, и авторы пришли к выводу, что альбумин-скорректированный кальций не превосходит общий кальций в диагностике отклонений значений ионизированного кальция, и что общий кальций имеет низкую чувствительность в диагностике как гипо-, так и гиперкальциемии: только около трети пациентов с гипокальциемией и одна пятая пациентов с гиперкальциемией были правильно классифицированы на основании уровня общего кальция [71]. Кроме того, низкий уровень  $tCO_2$  у пациентов с ХБП 3–5 (метаболический ацидоз) является независимым фактором риска занижения уровня кальция, однако этот показатель не включен в корректировочные формулы. Авторы рекомендуют измерять ионизированный кальций и pH у пациентов с ХБП 3–5 и низким  $tCO_2$  и/или альбумином в крови [71]. В обзоре Мортон и соавт., посвященном коррекции кальция на альбумин у больных на гемодиализе, опубликованном в 2010 г., авторы приходят к выводу о нецелесообразности коррекции кальция на альбумин у таких больных [72].

В 2015 г. в проспективном исследовании Джин и соавт. на выборке из 160 пациентов на гемодиализе было показано, что гипокальциемия по уровню ионизированного кальция наблюдалась в 40% случаев, а гиперкальциемия — в 1,8% [73]. При этом общий кальций верно предсказывал гипокальциемию в 48,4% случаях, а аль-

бумин-скорректированный кальций по формуле Пейна — в 17,2%. Общий кальций не отражал гиперкальциемию, а альбумин-скорректированный кальций отражал в 2/3 случаев. Для выявления нормокальциемии общий кальций был точен в 92,4% случаев, а альбумин-скорректированный — в 88,1% [73]. В 2019 г. Пекар и соавт. ретроспективно проанализировали результаты 5055 образцов крови, где одновременно определялись общий кальций, альбумин, ионизированный кальций, pH и СКФ, при этом альбумин-скорректированный кальций далее рассчитывался по формулам Пейна, Клейза, Джейна и Ридфелта, и далее оценивалась согласованность результатов общего кальция и альбумин-скорректированного кальция, при этом «золотым стандартом» считался уровень ионизированного кальция [74]. Пациентов разделили на две группы: с альбумином менее 35 г/л ( $n=3049$ ) и более 35 г/л ( $n=2006$ ), и далее проводился анализ в подгруппах в зависимости от СКФ и pH. У пациентов с низким уровнем альбумина или отклонениями в значениях pH альбумин-скорректированный кальций по формуле Пейна превышал уровень кальция до 80% случаев. Общий кальций показывал хорошую согласованность с ионизированным кальцием в случаях гипоальбуминемии и не отличался от рассчитанного по формуле Пейна при нормальном уровне альбумина. Кальций, рассчитанный по формулам Клейза, Джейна и Ридфелта, лучше отражал уровень ионизированного кальция, но не превосходил общий кальций [74].

Несмотря на большое количество различных формул коррекции значения уровня кальция (табл. 2 и 3), сравнительно недавно оценку вновь разрабатываемым уравнениям стали давать не только по улучшению чувствительности и специфичности корректирующей формулы, но и с учетом предсказания определенных конечных исходов. Так, например, в исследовании Оби и соавт. с участием 874 пациентов на заместительной почечной терапии было показано, что больные с гиперкальциемией по уровню ионизированного кальция более 1,32 ммоль/л в 88% и 70% находились в нормальном диапазоне при оценке по скорректированному и нескорректированному общему кальцию [75]. В сравнении с пациентами с концентрацией ионизированного кальция в диапазоне от 1,16 до 1,24 ммоль/л больные с уровнем более 1,32 ммоль/л имели высокие риски летального исхода (отношение рисков (ОР) 1,77; 95% ДИ 1,13–2,75). Кроме того, пациенты со скрытой гиперкальциемией (повышенные уровни ионизированного кальция, но нормальные значения скорректированного и нескорректированного общего кальция) также имели высокие риски летального исхода — ОР 1,75 (95% ДИ 1,11–2,75) и ОР 1,80 (95% ДИ 1,11–2,90), соответственно. Авторы приходят к выводу, что большинство пациентов с терминальной стадией ХБП и повышенным содержанием ионизированного кальция ошибочно классифицируются как нормокальциемические при рутинном определении общего содержания кальция и имеют более высокий риск неблагоприятного исхода [75].

В более позднем ретроспективном исследовании Лайан и соавт., включившем 6549 пациентов, проводилось сравнение диагностической точности кальция, скорректированного на альбумин, рассчитанного по формуле

$$Ca \text{ (скорр)} \text{ (ммоль/л)} = \text{общий кальций (ммоль/л)} + \text{коэффициент} \times (40 - \text{альбумин (г/л)}),$$

где коэффициент для каждой подгруппы пациентов с расчетной скоростью клубочковой фильтрации (рСКФ) выше или ниже 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>, выводился с использованием модели множественной линейной регрессии), с нескорректированным общим кальцием и шестью другими формулами, доступными в литературе [76]. При множественной линейной регрессии у пациентов с рСКФ  $\geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и концентрацией альбумина  $< 30$  г/л скорректированный коэффициент регрессии был на 32,5% выше, чем у пациентов с рСКФ  $\geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и альбумином  $\geq 30$  г/л. Примечательно, что у пациентов с рСКФ  $\geq 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> нескорректированный уровень кальция не уступал любым формулам с поправкой на альбумин в диагностике гипокальциемии, тогда как при рСКФ  $< 60$  мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> нескорректированный кальций превзошел все формулы с поправкой на альбумин в диагностике гипокальциемии ( $p < 0,001$ ). Таким образом, диагностическая точность нескорректированного кальция в целом превосходит точность альбумин-скорректированного кальция у пациентов на разных стадиях ХБП. Однако при диагностике гиперкальциемии нескорректированный кальций оказался несколько хуже, чем некоторые формулы с поправкой на альбумин. Авторы также делают вывод, что уровня общего кальция достаточно для оценки кальциемии и использование корректировочных формул нецелесообразно, а если клиницист не доверяет уровню общего кальция, необходимо измерять уровень ионизированного кальция [76].

В 2009 г. Феррари и соавт. предложено включить в корректировочную формулу для пациентов на гемодиализе показатель фосфора в крови (табл. 3) [77], а позднее Каку и соавт. [78] соединили в одной формуле возможность поправки одновременно на уровень альбумина, фосфора и pH (табл. 3).

Кроме того, в исследовании Эвенпоэль и соавт. было показано, что измерение общего кальция «маскирует» гиперкальциемию у пациентов после трансплантации почки (у 58% — гиперкальциемия по ионизированному кальцию vs 13% по общему кальцию), и коррекция общего кальция на альбумин не улучшала диагностическую точность [79].

Таким образом, как общий, так и альбумин-скорректированный кальций, имеют низкую чувствительность (40–50%) но высокую специфичность (около 90%) для диагностики гипокальциемии и очень низкую чувствительность (20–30%) и высокую специфичность (90–100%) для диагностики гиперкальциемии у больных ХБП [64, 71, 73].

#### Пожилые пациенты и больные в тяжелом состоянии

У пациентов в тяжелом состоянии несоответствие между общим, альбумин-скорректированным и ионизированным кальцием может быть частично объяснено гипоальбуминемией и/или метаболическим ацидозом (табл. 1). Залога и соавт. проанализировали, насколько ионизированный кальций, рассчитанный по номограмме Маклина-Гастингса совпадает с ионизированным кальцием у больных в реанимации после хирургических

вмешательств [80]. Авторы пришли к выводу, что из 156 пациентов только у 12% имелась истинная гипокальциемия по измеренному ионизированному кальцию, тогда как 71% и 58% соответственно, была по общему и расчетному ионизированному кальцию. В подобных случаях для выявления гиперкальциемии или гипокальциемии рекомендуется прямое измерение ионизированного кальция [80].

В нескольких работах изучалась точность определения уровня общего кальция и его скорректированного значения для прогнозирования гипокальциемии или гиперкальциемии у больных в тяжелом состоянии. В работе Зулкуфи и соавт. проанализировали результаты 281 пациента, госпитализированного в тяжелом состоянии в ОРИТ. По результатам, альбумин-скорректированный кальций не являлся оптимальным показателем в данной когорте больных и показал значительные разногласия с концентрацией ионизированного кальция [8]. Согласно результатам исследования, нормокальциемия по результатам расчета кальция, скорректированного на альбумин, наблюдалась у 60,9% пациентов, тогда как определение уровня ионизированного кальция выявило гипокальциемию у 92,2% больных. Коррекция кальция на альбумин по формуле Пейна неверно классифицировала статус кальция у 66,4% пациентов с гипокальциемией, отнеся к категории нормальных или высоких значений скорректированного уровня кальция; общая точность составила 37,7%. Опубликованные в литературе уравнения для расчета скорректированного кальция у пациентов в критическом состоянии продемонстрировали более низкую точность в диапазоне от 19,9 до 37%. На момент забора крови 65,1% пациентов находились на искусственной вентиляции легких, 18,1% — на гемодиализе и 37,4% переливались компоненты крови в предшествующие 24 часа, однако статистически значимой связи между перечисленными клиническими состояниями и измеренным уровнем ионизированного кальция не наблюдалось [8]. В исследовании Дикерсон и соавт. при обследовании 100 пациентов после политравмы, находящихся в отделении интенсивной терапии, в 27% случаях отмечалась гипо- или гиперкальциемия по ионизированному кальцию [81]. При сравнении ионизированного кальция со скорректированным кальцием по опубликованным в литературе 22 алгоритмам было обнаружено, что все эти алгоритмы обладают низкой чувствительностью и дают очень высокую долю ложноотрицательных результатов (75%±32%), и авторы также рекомендуют измерять ионизированный кальций у больных в тяжелом состоянии [81]. Схожие данные получены в исследованиях Сломп и соавт. [82] и Бирнс и соавт. [83].

Пфитценмайер и соавт. в 2007 г. предложили новую формулу для расчета ионизированного кальция у больных в возрасте старше 80 лет и с уровнем альбумина менее 35 г/л [84]:

$$\text{Ионизированный кальций (ммоль/л)} = 0,592 - 0,00449 \times \text{белок (г/л)} + 0,410 \times \text{общий кальций (ммоль/л)}$$

Однако Бйоркман и соавт. исследовали уровень ионизированного кальция и кальция, скорректированного на альбумин, по формуле Пейна и на общий белок

по формуле Пфитзенмайера у тяжелобольных пожилых пациентов и в общей популяции людей старшего возраста и пришли к выводу, что оба суррогатных показателя плохо предсказывают истинную кальциемию в этих группах [85].

В совокупности полученные результаты позволяют сделать вывод, что кальций, скорректированный на альбумин, не является оптимальным показателем концентрации ионизированного кальция у больных в тяжелом состоянии и пожилых больных. Ионизированный кальций рекомендуется определять пациентам с подозрением на гипокальциемию, а полученные результаты следует интерпретировать вместе с показателями pH крови.

### Гиперкальциемия

ПГПТ и злокачественные новообразования являются двумя самыми частыми причинами гиперкальциемии [2]. Гленденнинг и соавт. в ретроспективном исследовании 60 гистологически верифицированных случаев ПГПТ показали, что у 22% имелся нормальный уровень альбумин-скорректированного кальция, тогда как у 98% имелась гиперкальциемия по ионизированному кальцию [86]. В ретроспективном исследовании Онг и соавт., включившем 5490 пациентов, у 927 больных концентрация ионизированного кальция и/или общего кальция выходила за пределы референсного интервала [87]. В целом диагностическая дискордантность при классификации статуса кальция наблюдалась у 692 (12,6%) из 5490 пациентов. При определении только общего кальция было пропущено 156 (45%) из 346 случаев гиперкальциемии по ионизированной фракции. В когорте с ПТГ-зависимой гиперкальциемией у 130 (41%) из 315 больных на момент постановки диагноза наблюдалась изолированная гиперкальциемия по уровню ионизированного кальция. Среди 143 пациентов с гистологически верифицированной гиперплазией, аденомой или карциномой околощитовидной железы у 34 больных (24%) на момент постановки диагноза выявлено изолированное повышение уровня ионизированного кальция. Примечательно, что эти пациенты были моложе ( $p=0,022$ ), имели более низкие концентрации ПТГ ( $p\leq 0,001$ ) и кальция, скорректированного на альбумин ( $p\leq 0,001$ ), а также лучшую функцию почек ( $p\leq 0,001$ ) в сравнении с пациентами с одновременным повышением общего и ионизированного кальция. Кроме того, у больных с солитарными аденомами и высокими значениями обеих фракций кальция средний вес удаленной околощитовидной железы был выше, чем у пациентов с изолированным повышением ионизированного кальция (0,945 г против 0,521 г,  $p=0,006$ ) [87].

В проспективном исследовании Рианчо и соавт. исследовали показатели кальция крови у 188 пациентов с различными злокачественными заболеваниями, при этом около 50% имели отдаленные метастазы, из них у 17% — в кости [88]. Корреляция общего кальция с ионизированным кальцием не улучшалась при использовании нескольких корректировочных формул, в том числе формулы Пейна. В 57% случаев общий кальций не смог предсказать гиперкальциемию по уровню ионизированного кальция, однако авторы делают вывод, что, поскольку умеренная гиперкальциемия не была ассоциирована с плохим прогнозом по сравнению с выраженной гиперкальциемией, измерение ионизированного

кальция у таких больных нецелесообразно [88]. В проспективном исследовании Иджаз и соавт. исследовали уровень ионизированного, общего и альбумин-скорректированного кальция у 97 пациентов с различными онкологическими заболеваниями и у 39 здоровых лиц, подобранных по полу и возрасту [89]. Гиперкальциемия злокачественных заболеваний была зафиксирована в 38% случаев по ионизированному кальцию, что было значимо выше по сравнению с общим кальцием (8,4%) и альбумин-скорректированным кальцием (10,6%) ( $p<0,001$ ) [89].

Таким образом, для диагностики гиперкальциемических состояний определение ионизированного кальция более информативно, по сравнению с исследованием общего кальция и с поправкой на альбумин.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Единственная цель, заложенная в концепцию определения альбумин-скорректированного кальция, — сделать так, чтобы этот показатель лучше отражал концентрацию ионизированного кальция, то есть расчет некоего суррогатного маркера, который можно использовать вместо прямого измерения ионизированного кальция. В настоящее время существуют противоречия между основными рекомендациями по различным нарушениям фосфорно-кальциевого обмена, в которых рекомендуется корректировать уровень общего кальция на альбумин, и большим количеством исследований, доказывающих нецелесообразность такой коррекции. Среди ключевых спорных моментов можно перечислить следующие. Практикующий врач, вводя показатели альбумина и общего кальция в калькуляторы, размещенные в сети Интернет, зачастую не знает, какая именно формула заложена в основу калькулятора, а также не знает, какими методами измерялись общий кальций и альбумин, особенно если пациент пришел на амбулаторный прием. Так, формула Пейна разрабатывалась при определении альбумина методом БКЗ, тогда как в настоящее время в лабораториях также используется метод БКП, что влияет на результат определения альбумина. Также различные лаборатории могут предоставлять различные референсные интервалы для общего кальция и для альбумина, и использование верхней границы референсного интервала общего кальция для альбумин-скорректированного кальция вызывает сомнение. В приведенных выше исследованиях утверждается, что разработанные формулы могут быть применимы только к определенным когортам больных [44], или только для определенных методов исследования [34], что каждая лаборатория должна разрабатывать свое уравнение регрессии [26]. Некоторые исследователи выдвинули гипотезу, согласно которой формулы корректировки основаны на неправильно построенных регрессионных моделях. Согласно мнению этих ученых, существующие формулы в основном рассчитаны методом простой линейной регрессии и не предполагают поправку на другие переменные кроме альбумина [76].

Интересен вопрос, в каких случаях предполагается корректировать общий кальций на альбумин: нужно ли это делать во всех случаях, в том числе и при нормальном уровне общего кальция в крови, или только при

отклонениях от референсного интервала уровня кальция или уровня альбумина? В большинстве приведенных выше исследований авторы приходят к выводу, что такая коррекция нецелесообразна. В случае гипоальбуминемии коррекция будет искажать результат [63, 75], хотя в рекомендациях по ХБП рекомендуют корректировать кальций именно у больных с гипоальбуминемией. При гипоальбуминемии может быть снижен уровень общего кальция, при этом уровень ионизированного кальция остается в норме. Цель корректировочных формул как раз выявить это несоответствие, однако при гипоальбуминемии формулы хуже предсказывают уровень ионизированного кальция [90]. Из недостатков некоторых исследований можно перечислить ретроспективный дизайн, не позволяющий оценить качество исследования ионизированного кальция, смешение выборок пациентов из отделений реанимаций и других отделений [63, 74], а также смешение амбулаторных и стационарных пациентов [62, 76]. Не во всех исследованиях указаны чувствительность, специфичность и отношения правдоподобия для общего и альбумин-скорректированного кальция при гипо- и гиперкальциемии.

В 2015 г. Ассоциацией клинической биохимии и лабораторной медицины (Великобритания) была предпринята попытка создания проекта консенсуса о коррекции кальция на альбумин [91]. Было сформулировано десять рекомендаций, включая необходимость систематического обзора литературы по данной проблеме, необходимость каждой лаборатории разрабатывать свое уравнение регрессии в соответствии с используемыми методами определения кальция и альбумина, а не использовать формулы из литературы, и периодически проверять достоверность своей формулы, а также необходимость для лабораторий, предоставляющих результат альбумин-скорректированного кальция, наличие внешнего контроля качества [91]. В целом в работе ставится больше вопросов, на которые необходимо ответить в будущем, а из ее недостатков можно отметить

слишком небольшое количество источников литературы (всего 11) [91].

Таким образом, при анализе вышеперечисленных исследований можно сделать вывод, что определение ионизированного кальция более информативно по сравнению с исследованием общего кальция при некоторых патологических состояниях, связанных с изменением содержания белков и pH крови, при обследовании пациентов с заболеваниями почек, а также для диагностики гиперкальциемических состояний. Диагностическая точность широко используемых корректировочных формул в некоторых клинических ситуациях может быть даже хуже диагностической точности нескорректированного общего кальция. Применение формул коррекции у пациентов с гипоальбуминемией может привести к завышению уровня кальция. Возможно, целесообразно верифицировать формулы коррекции общего кальция на альбумин в российской популяции на базе лабораторий ведущих федеральных центров. При наличии подозрения на нарушения обмена кальция и при возникновении сомнений в точности общего кальция целесообразно измерять уровень ионизированного кальция с соблюдением всех преаналитических и аналитических правил.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания «Новые технологии диагностики и дифференциальной диагностики первичного и вторичного остеопороза на фоне эндокринопатий и орфанных заболеваний скелета» № 124020700097-8.

**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

- Baird GS. Ionized calcium. *Clin Chim Acta*. 2011;412(9-10):696-701. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.01.004>
- Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5 Suppl 1:S23-S30. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.05910809>
- Anonymous. Correcting the calcium. *Br Med J*. 1977;1(6061):598
- Larsson L, Magnusson P. Ionized calcium or corrected total calcium? *J Bone Miner Res*. 2003;18(8):1554-1556. doi: <https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.8.1554>
- Minisola S, Pepe J, Cipriani C. Measuring serum calcium: Total, albumin-adjusted or ionized? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2021;95(2):267-268. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.14362>
- Glendenning P. It is time to start ordering ionized calcium more frequently: preanalytical factors can be controlled and postanalytical data justify measurement. *Ann Clin Biochem*. 2013;50(Pt 3):191-193. doi: <https://doi.org/10.1177/0004563213482892>
- Berry EM, Gupta MM, Turner SJ, Burns RR. Variation in plasma calcium with induced changes in plasma specific gravity, total protein, and albumin. *Br Med J*. 1973;4(5893):640-643. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.4.5893.640>
- Zulkufli NS, Jamaluddin FA, Tengku Yazid TN. Limitations of calculated ionised calcium & adjusted calcium in critically ill patients: Time to consider measured ionised calcium. *Malays J Pathol*. 2020;42(3):385-394
- Mclean FC, Hastings AB. Clinical estimation and significance of calcium-ion concentrations in the blood. *The American Journal of The Medical Sciences*. 1935;189, 21-612
- Orrell DH. Albumin as an aid to the interpretation of serum calcium. *Clin Chim Acta*. 1971;35(2):483-489. doi: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(71\)90224-5](https://doi.org/10.1016/0009-8981(71)90224-5)
- Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Br Med J*. 1973;4(5893):643-646. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.4.5893.643>
- Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Adjustment of Serum Calcium Measurements: a Correction. *Br Med J*. 1974;4(5943):531
- Sanderson C. Correction of Serum Calcium Measurements. *Br Med J*. 1974;1(5901):245 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5901.245>
- Parfitt AM. Letter: Correction of plasma calcium measurements. *Br Med J*. 1974;1(5906):520. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5906.520>
- Hodkinson HM. Correction of Plasma Calcium Measurements. *Br Med J*. 1974;2(5912):223.
- Marshall RW, Nordin BE. Letter: Adjustment of plasma calcium measurements. *Br Med J*. 1974;2(5921):729-730. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5921.729-c>
- Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Letter: Correction of plasma calcium measurements. *Br Med J*. 1974;1(5904):393. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.5904.393-c>

18. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Letter: Adjustment of plasma calcium measurements. *Br Med J*. 1974;2(5917):504-5. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5917.504-e>
19. Payne RB, Little AJ, Williams RB, Milner JR. Letter: Adjustment of plasma calcium measurements. *Br Med J*. 1974;3(5926):345. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.3.5926.345>
20. Payne RB. Clinical interpretation of population-specific adjusted calcium values. *Ann Clin Biochem*. 2022;59(5):381-382. doi: <https://doi.org/10.1177/00045632221090410>
21. Pain RW, Rowland KM, Phillips PJ, Duncan BM. Current «corrected» calcium concept challenged. *Br Med J*. 1975;4(5997):617-619. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.4.5997.617>
22. Phillips P, Pain R. Correcting the calcium. *Br Med J*. 1977;1(6074):1473. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.1.6074.1473-a>
23. Ramsay LE, Shelton JR. Letter: «Corrected» calcium concept. *Br Med J*. 1976;1(6003):219-220
24. Ladenson JH, Lewis JW, Boyd JC. Failure of total calcium corrected for protein, albumin, and pH to correctly assess free calcium status. *J Clin Endocrinol Metab*. 1978;46(6):986-993. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-46-6-986>
25. Payne R, Carver M, Morgan D. Interpretation of serum total calcium: effects of adjustment for albumin concentration on frequency of abnormal values and on detection of change in the individual. *J of Clin Pathol*. 1979, 32:56-60
26. Barth JH, Fiddy JB, Payne RB. Adjustment of serum total calcium for albumin concentration: effects of non-linearity and of regression differences between laboratories. *Ann Clin Biochem*. 1996;33 (Pt1):55-58. doi: <https://doi.org/10.1177/000456329603300108>
27. Schini M, Hannan FM, Walsh JS, Eastell R. Reference interval for albumin-adjusted calcium based on a large UK population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2021;94:34-39. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.14326>
28. Besarab A, DeGuzman A, Swanson JW. Effect of albumin and free calcium concentrations on calcium binding in vitro. *J Clin Pathol*. 1981;34(12):1361-1367. doi: <https://doi.org/10.1136/jcp.34.12.1361>
29. Besarab A, Caro JF. Increased absolute calcium binding to albumin in hypoalbuminaemia. *J Clin Pathol*. 1981;34(12):1368-1374. doi: <https://doi.org/10.1136/jcp.34.12.1368>
30. Larsson L, Magnusson P. Ionized calcium or corrected total calcium? *J Bone Miner Res*. 2003;18(8):1554-1556. doi: <https://doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.8.1554>
31. McPherson K, Healy MJ, Flynn FV, Piper KA, Garcia-Webb P. The effect of age, sex and other factors on blood chemistry in health. *Clin Chim Acta*. 1978;84(3):373-397. doi: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(78\)90254-1](https://doi.org/10.1016/0009-8981(78)90254-1)
32. Weaving G, Batstone GF, Jones RG. Age and sex variation in serum albumin concentration: an observational study. *Ann Clin Biochem*. 2016;53(Pt 1):106-111. doi: <https://doi.org/10.1177/0004563215593561>
33. Ashby JP, Wright DJ, Rinsler MG. The adjusted serum calcium concept—a reappraisal. *Ann Clin Biochem*. 1986;23 (Pt5):533-537. doi: <https://doi.org/10.1177/000456328602300508>
34. Labriola L, Wallemacq P, Gulbis B, Jadoul M. The impact of the assay for measuring albumin on corrected («adjusted») calcium concentrations. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(6):1834-1838. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn747>
35. de Roij van Zuijdewijn CLM, de Haseth DE, van Dam B, et al. Role of Albumin Assay on Calcium Levels and Prescription of Phosphate Binders in Chronic Hemodialysis Patients. *Nephron*. 2018;140(3):211-217. doi: <https://doi.org/10.1159/000492238>
36. Mabuchi H, Nakahashi H. Underestimation of serum albumin by the bromocresol purple method and a major endogenous ligand in uremia. *Clin Chim Acta*. 1987;167(1):89-96. doi: [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(87\)90089-1](https://doi.org/10.1016/0009-8981(87)90089-1)
37. Carfray A, Patel K, Whitaker P, Garrick P, Griffiths GJ, Warwick GL. Albumin as an outcome measure in haemodialysis in patients: the effect of variation in assay method. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(11):1819-1822. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/15.11.1819>
38. Kato A, Takita T, Furuhashi M, et al. Influence of the assay for measuring serum albumin on corrected total calcium in chronic hemodialysis patients. *Ther Apher Dial*. 2011;15(6):540-546. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2011.00997.x>
39. Carnevale V, Pipino M, Antonacci M, et al. Prevalence of hypercalcemia in hospitalised patients: effects of «correction» for serum albumin values. *J Endocrinol Invest*. 2005;28(5):RC15-RC17. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03347215>
40. Jassam N, Thomas A, Hayden K, Dearman R, Barth JH. The impact of the analytical performance specifications of calcium and albumin on adjusted calcium. *Ann Clin Biochem*. 2020;57(5):382-388. doi: <https://doi.org/10.1177/0004563220944426>
41. Jassam N, Narayanan D, Turnock D, et al. The effect of different analytical platforms and methods on the performance of population-specific adjusted calcium equation. *Ann Clin Biochem*. 2020;57(4):300-311. doi: <https://doi.org/10.1177/0004563220931876>
42. James MT, Zhang J, Lyon AW, Hemmelgarn BR. Derivation and internal validation of an equation for albumin-adjusted calcium. *BMC Clin Pathol*. 2008;8:12. doi: <https://doi.org/10.1186/1472-6890-8-12>
43. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2003;42(4 Suppl 3):S1-S201
44. Clase CM, Norman GL, Beecroft ML, Churchill DN. Albumin-corrected calcium and ionized calcium in stable haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15(11):1841-1846. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/15.11.1841>
45. Moe S, Drüeke T, Cunningham J et al. Definition, evaluation and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006;69:1945–1953
46. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 2009;(113):S1-S130. doi: <https://doi.org/10.1038/ki.2009.188>
47. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) [published correction appears in *Kidney Int Suppl* (2011). 2017;7(3):e1]. *Kidney Int Suppl* (2011). 2017;7(1):1-59. doi: <https://doi.org/10.1016/j.kisu.2017.04.001>
48. Bilezikian JP, Potts JT Jr, Fuleihan Gel-H, et al. Summary statement from a workshop on asymptomatic primary hyperparathyroidism: a perspective for the 21st century. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87(12):5353-5361. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021370>
49. Eastell R, Arnold A, Brandi ML, et al. Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the third international workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(2):340-350. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2008-1758>
50. 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>
51. Bilezikian JP, Khan AA, Silverberg SJ, et al. Evaluation and Management of Primary Hyperparathyroidism: Summary Statement and Guidelines from the Fifth International Workshop. *J Bone Miner Res*. 2022;37(11):2293-2314. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4677>
52. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Мокрышева Н.Г. и др. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению первичного гиперпаратиреоза у взрослых пациентов. // *Эндокринная хирургия*. — 2022. — Т. 16. — № 4. — С. 5-54. [Dedov II, Mel'nichenko GA, Mokrysheva NG et al. Draft of clinical guidelines for the diagnosis and treatment of primary hyperparathyroidism in adult patients. *Endokrinnyaya kirurgiya*. 2022;16(4):5-54. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/serg12790>
53. Tee MC, Holmes DT, Wiseman SM. Ionized vs serum calcium in the diagnosis and management of primary hyperparathyroidism: which is superior? *Am J Surg*. 2013;205(5):591-596. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2013.01.017>
54. Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback D, et al. Management of Hypoparathyroidism: Summary Statement and Guidelines. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(6):2273-2283. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3907>
55. Khan AA, Bilezikian JP, Brandi ML, et al. Evaluation and Management of Hypoparathyroidism Summary Statement and Guidelines from the Second International Workshop. *J Bone Miner Res*. 2022;37(12):2568-2585. doi: <https://doi.org/10.1002/jbmr.4691>

56. Ковалева Е.В., Еремкина А.К., Маганева И.С. и др. Обзор проекта обновленных клинических рекомендаций по гипопаратиреозу. // *Эндокринная хирургия*. — 2024. — Т. 18. — № 2. — С. 4-22. — [Kovaleva EV, Eremkina AK, Maganeva IS et al. Review of clinical practice guidelines for hypoparathyroidism. *Endokrinnyaya hirurgiya*. 2024;18(2):4-22. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/serg12950>
57. Kumar SK, Callander NS, Adekola K, et al. Multiple Myeloma, Version 3.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*. 2020;18(12):1685-1717. doi: <https://doi.org/10.6004/jnccn.2020.0057>
58. Walsh J, Gittoes N, Selby P; Society for Endocrinology Clinical Committee. SOCIETY FOR ENDOCRINOLOGY ENDOCRINE EMERGENCY GUIDANCE: Emergency management of acute hypercalcaemia in adult patients. *Endocr Connect*. 2016;5(5):G9-G11. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-16-0055>
59. Turner J, Gittoes N, Selby P; Society for Endocrinology Clinical Committee. SOCIETY FOR ENDOCRINOLOGY ENDOCRINE EMERGENCY GUIDANCE: Emergency management of acute hypocalcaemia in adult patients. *Endocr Connect*. 2016;5(5):G7-G8. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-16-0056>
60. Parent X, Spielmann C, Hanser AM. Calcémie «corrigée»: sous-estimation du statut calcique des patients sans hypoalbuminémie et des patients hypercalcémiques [«Corrected» calcium: calcium status underestimation in non-hypoalbuminemic patients and in hypercalcemic patients]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2009;67(4):411-418. doi: <https://doi.org/10.1684/abc.2009.0348>
61. Steen O, Clase CM, Don-Wauchope AC. Corrected calcium formula in routine clinical use does not accurately reflect ionized calcium in hospital patients. *Can Journ Gen Int Med*. 2016;11(3):14-21. doi: <https://doi.org/10.22374/cjgim.v11i3.150>
62. Ridefelt P, Helmersson-Karlqvist J. Albumin adjustment of total calcium does not improve the estimation of calcium status. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017;77(6):442-447. doi: <https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1336568>
63. Smith JD, Wilson S, Schneider HG. Misclassification of calcium status based on albumin-adjusted calcium: studies in a tertiary hospital setting. *Clin Chem*. 2018;64(12):1713-1722. doi: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.291377>
64. Alhenc-Gelas M, Lefevre G, Bachmeyer C, et al. Poor performance of albumin or protein-adjusted plasma calcium to diagnose dyscalcemia in hospitalized patients: A confirmatory study in a general internal medicine department. *La Revue de Médecine Interne*. 2022;43(4): 206-211. doi: <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2021.11.006>
65. Mir AA, Goyal B, Datta SK, Ikkurthi S, Pal A. Comparison Between Measured and Calculated Free Calcium Values at Different Serum Albumin Concentrations. *J Lab Physicians*. 2016;8(2):71-76. doi: <https://doi.org/10.4103/0974-2727.180785>
66. Pawade YR, Ghangale SS, Dahake HS. Albumin-adjusted calcium: are previously published regression equations reliable for your laboratory? — A pilot study. *International Journal of Medical Science and Public Health*. 2013;2(2):217-222. doi: <https://doi.org/10.5455/ijmsph.2013.2.209-214>
67. Thode J, Juul-Jørgensen B, Bhatia HM, et al. Comparison of serum total calcium, albumin-corrected total calcium, and ionized calcium in 1213 patients with suspected calcium disorders. *Scand J Clin Lab Invest*. 1989; 49(3): 217-223
68. Marshall RW, Hodgkinson A. Calculation of plasma ionized calcium from total calcium, proteins and pH: comparison with measured values. *Clin Chim Acta*. 1983;127(2):305-310. doi: [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(83\)80016-3](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(83)80016-3)
69. Jain A, Bhayana S, Vlasschaert M, House A. A formula to predict corrected calcium in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(9):2884-2888. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn186>
70. Gøransson LG, Skadberg Ø, Bergrem H. Albumin-corrected or ionized calcium in renal failure? What to measure? *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(10):2126-2129. doi: <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh988>
71. Gauci C, Moranne O, Fouqueray B, et al. Pitfalls of measuring total blood calcium in patients with CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19(8):1592-1598. doi: <https://doi.org/10.1681/ASN.2007040449>
72. Morton AR, Garland JS, Holden RM. Is the calcium correct? Measuring serum calcium in dialysis patients. *Semin Dial*. 2010;23(3):283-289. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2010.00735.x>
73. Jean G, Granjon S, Zaoui E, et al. Usefulness and feasibility of measuring ionized calcium in haemodialysis patients. *Clin Kidney J*. 2015; 8(4): 378-387. doi: <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv039>
74. Pekar J-D, Grzych G, Durand G, et al. Calcium state estimation by total calcium: the evidence to end the never-ending story. *Clin Chem Lab Med*. 2020; 58(2): 222-231. doi: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0568>
75. Obi Y, Mehrotra R, Rivara MB, et al. Hidden Hypercalcemia and Mortality Risk in Incident Hemodialysis Patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(6):2440-2449. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1369>
76. Lian IA, Åsberg A. Should total calcium be adjusted for albumin? A retrospective observational study of laboratory data from central Norway. *BMJ Open*. 2018;8(4):e017703. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-017703>
77. Ferrari P, Singer R, Agarwal A, Hurn A, Townsend MA, Chubb P. Serum phosphate is an important determinant of corrected serum calcium in end-stage kidney disease. *Nephrology (Carlton)*. 2009;14(4):383-388. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2009.01121.x>
78. Kaku Y, Ookawara S, Miyazawa H, et al. New Method for the Approximation of Corrected Calcium Concentrations in Chronic Kidney Disease Patients. *Ther Apher Dial*. 2016;20(1):46-52. doi: <https://doi.org/10.1111/1744-9987.12351>
79. Evenepoel P, Bammens B, Claes K, Kuypers D, Meijers BK, Vanrenterghem Y. Measuring total blood calcium displays a low sensitivity for the diagnosis of hypercalcemia in incident renal transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(11):2085-2092. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.02460310>
80. Zaloga GP, Chernow B, Cook D, Snyder R, Clapper M, O'Brien JT. Assessment of calcium homeostasis in the critically ill surgical patient. The diagnostic pitfalls of the McLean-Hastings nomogram. *Ann Surg*. 1985;202(5):587-594. doi: <https://doi.org/10.1097/0000658-198511000-00009>
81. Dickerson RN, Alexander KH, Minard G, Croce MA, Brown RO. Accuracy of methods to estimate ionized and «corrected» serum calcium concentrations in critically ill multiple trauma patients receiving specialized nutrition support. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2004;28(3):133-141. doi: <https://doi.org/10.1177/0148607104028003133>
82. Slomp J, van der Voort PH, Gerritsen RT, Berk JA, Bakker AJ. Albumin-adjusted calcium is not suitable for diagnosis of hyper- and hypocalcemia in the critically ill. *Crit Care Med*. 2003;31(5):1389-1393. doi: <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000063044.55669.3C>
83. Byrnes MC, Huynh K, Helmer SD, Stevens C, Dort JM, Smith RS. A comparison of corrected serum calcium levels to ionized calcium levels among critically ill surgical patients. *Am J Surg*. 2005;189(3):310-314. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2004.11.017>
84. Pfitzenmeyer P, Martin I, d'Athis P, et al. A new formula for correction of total calcium level into ionized serum calcium values in very elderly hospitalized patients. *Arch Gerontol Geriatr*. 2007;45(2):151-157. doi: <https://doi.org/10.1016/j.archger.2006.10.006>
85. Björkman MP, Sorva AJ, Tilvis RS. Calculated serum calcium is an insufficient surrogate for measured ionized calcium. *Arch Gerontol Geriatr*. 2009;49(3):348-350. doi: <https://doi.org/10.1016/j.archger.2008.11.014>
86. Glendenning P, Gutteridge DH, Retallack RW, Stuckey BG, Kermod DG, Kent GN. High prevalence of normal total calcium and intact PTH in 60 patients with proven primary hyperparathyroidism: a challenge to current diagnostic criteria. *Aust N Z J Med*. 1998;28(2):173-178
87. Ong GS, Walsh JP, Stuckey BG, et al. The importance of measuring ionized calcium in characterizing calcium status and diagnosing primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(9):3138-3145. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2012-1429>
88. Riancho JA, Arjona R, Sanz J, et al. Is the routine measurement of ionized calcium worthwhile in patients with cancer? *Postgrad Med J*. 1991;67(786):350-353. doi: <https://doi.org/10.1136/pgmj.67.786.350>
89. Ijaz A, Mehmood T, Qureshi AH, et al. Estimation of ionized calcium, total calcium and albumin corrected calcium for the diagnosis of hypercalcaemia of malignancy. *J Coll Physicians Surg Pak*. 2006;16(1):49-52
90. Kenny CM, Murphy CE, Boyce DS, Ashley DM, Jahanmir J. Things We Do for No Reason™: Calculating a «Corrected Calcium» Level. *J Hosp Med*. 2021;16(8):499-501. doi: <https://doi.org/10.12788/jhm.3619>
91. O'Kane M. Albumin-adjusted calcium: a position paper. Association for Clinical Biochemistry & Laboratory Medicine. 2015, <https://www.acb.org.uk/resource/adjusted-calcium-position-paper-march-2015-pdf.html> (2015 accessed 26 April 2023)

Рукопись получена: 14.08.2024. Одобрена к публикации: 13.11.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\***Мамедова Елизавета Октаевна**, к.м.н. [**Elizaveta O. Mamedova**, MD, PhD]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9783-3599>; SPIN-код: 3904-6017; e-mail: [lilybet@mail.ru](mailto:lilybet@mail.ru)

**Голоунина Ольга Олеговна** [Olga O. Golounina]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2320-1051>; SPIN-код: 7793-2123; e-mail: [olga.golounina@mail.ru](mailto:olga.golounina@mail.ru)

**Белая Жанна Евгеньевна**, д.м.н., профессор [Zhanna E. Belaya, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6674-6441>; SPIN-код: 4746-7173; email: [jannabelaya@gmail.com](mailto:jannabelaya@gmail.com)

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Мамедова Е.О., Голоунина О.О., Белая Ж.Е. Коррекция общего кальция в крови на альбумин: есть ли целесообразность? // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т.70. — №6. — С. 45-61. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13503>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Mamedova EO, Golounina OO, Belaya ZE Albumin adjustment of total serum calcium – is it worth doing? *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):45-61. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13503>

# KI-67 AS A PREDICTIVE INDICATOR OF PAPILLARY THYROID CANCER IN IRAQI PATIENTS



© Noor Mohammed Naji Al-Timimi\*, Abed Hassan Baraaj

Uniuniversity of Baghdad, Baghdad, Iraq

**BACKGROUND.** Ki-67 (MKI-67 in humans) is a protein able to bind to DNA which contributes to cell growth and cell proliferation. Ki-67 is currently considered as a biomarker that is widely utilized as prognostic indicator for evaluating cell proliferation, diagnosing diseases, and conducting research. Several different kinds of cancer have high Ki-67 expression, which simplifying the choice of treatment for individuals with various cancer types.

**AIM.** The objective was to evaluate the expression of Ki67 in patients suffering papillary thyroid cancer (PTC) also the association between patients age and gender and Ki67 expression.

**MATERIALS AND METHODS.** To undertake an in-depth investigation of Ki67 in malignant and normal tissues, we used thyroid tissue sections to analyze Ki67 expression in 70 samples, 50 different PTC (44 female and 6 male), and 20 normal types (10 for each gender). Each group's average age is between 20 and 60.

**RESULTS.** The analysis of the data revealed a substantial difference in the expression of ki67 between the patients and control groups. Ki67 expression and either gender or age did not significantly correlate.

**CONCLUSION.** This study suggest that Ki67 may be a crucial marker for assessing the aggressiveness of tumors and inflammatory diseases.

**KEYWORDS:** *Immuohistochemistry, Iraqi patients, Ki-67, MKI-67, papillary thyroid carcinoma.*

## RATIONALE

The thyroid malignancy represent the most typical endocrine malignancy, affecting few than 1 to 2% of the cancer cases [1, 2]. The histological characteristics enabled the categorization of thyroid cancer which involve anaplastic thyroid cancer, medullary thyroid cancer, poorly differentiated thyroid cancer, follicular thyroid cancer and papillary thyroid cancer [3].

Cancer in thyroid is usually diagnosed by several technique for example ultrasonography, magnetic resonance imaging (MRI), fine needle aspiration, computed tomography (CT) and radionuclide imaging. As stated by the patients reports throughout the diagnosis age, sex, lymph node, tumor size, metastases, and the cancer pathological differentiation are considered as prognosis risk factors [4]. Yet, no studies available that employ biomarkers to predict thyroid cancer prognosis. Proliferation of cells has the most important effect on the biological behavior of cancers. The marker Ki-67 is an antigen in nucleus, which can performs in cell nuclei through active phases (G1, S, G2, and mitosis) excepting those in the quiescent cells phase (G0). These characteristics make the Ki-67 antigen a highly effective marker for the detection of cells that are rapidly proliferating in both normal and malignant cell populations.

Numerous techniques may be used to measure cellular proliferation, however immunohistochemical staining for the Ki-67 antigen is the one that is most often investigated. It is now frequently utilized in histology, notably as a proliferation marker in different tumor types. Overexpression of Ki-67 has been demonstrated to be related with neoplasms ranging from thyroid, breast, prostate, lung, bladder, kidney, as well as neuroendocrine tumors in major human investigations [5]. Ki-67 staining index, or the ratio of immunoreactive

cell nuclei, has been utilized to direct treatment decisions in cases of hormone susceptible breast cancer, in addition to its usage in diagnostic and prognosis investigations of different neoplasms [6].

Despite this, only a few researchers investigated the link between Ki67 marker and thyroid cancer. The study of Lindfors et al. [7] studied the prediction utility of the Ki67 marker staining index in the papillary thyroid cancer which found that patients with PTC who would survive and not develop any illness had a different prognostic factor. Somuncu [8] found that the intensity of expression of Ki67 were higher in papillary thyroid cancer and microcarcinoma groups than in benign thyroid disease group. However, the aim of this research was to detect the Ki-67 expression levels in Iraqi patients with papillary thyroid carcinoma along the relationship between gender and age and this marker (Ki-67).

## AIM OF THE STUDY

The aim was to evaluate the Ki-67 biomarker expression in papillary thyroid carcinoma patients in Iraq as well as detection of the age and gender relation to this biomarker (ki67).

## MATERIALS AND METHODS

### Site and time of the study

The study took place between 2022 and 2023 at the biology department of the college of science at Baghdad University and the pathology department of the college of medicine at Al-Nahrain University. The thyroid tissue samples utilized in this study were paraffin blocks acquired from the laboratories of AlKindi Teaching Hospital,

\*Corresponding author.



Teaching Laboratories of Medical City, Forensic Medicine of Medical City, and Alshariqa private laboratory between 2019 and 2022.

### Study populations (one or more)

In this study, 70 paraffin blocks containing thyroid tissues were employed, comprising 20 thyroid gland tissues used as negative controls (10 males and 10 females) and 50 papillary thyroid cancer (6 male and 44 female) to detect the Ki67 using immunohistochemistry approach. The ages of each group range from 20 to 60.

### Sampling method from the study population (or several sampling methods from several study populations)

Negative control and thyroid tissue samples were sliced to a thickness of 5  $\mu$ m and put on positive charge slides for immunohistochemistry to determine the expression level of Ki-67 using the abcam data sheet.

### Study design

The design of this study involved the following:

1. Two sections from each paraffin block (healthy controls and patients).
2. The first section was routinely stained with hematoxyline & eosin stain.
3. The second section was placed into charged slide and stained with Ki-67.
4. The samples were examined, diagnosed and recorded as scoring.

### Statistical analysis

Then the data was analyzed by using SPSS program. Categorical variables were presented as numbers and percentages. The Chi-square test was performed to assess the connection between categorical variables, and any necessary changes were made. To compare the mean values of two groups the Mann Whitney U Test and the *t*-Test was used.

### Ethical review

The ethics committee of the Iraqi college of science at Baghdad University gave its approval to this research. (Number CSEC/0922/0095 in 26/September/2022).

## RESULTS

### KI-67 expression

The expression levels of Ki-67 varies significantly ( $P \geq 0.001$ ) between PTC patients and healthy controls. Depending on the level of expression, this marker's intensity changed (Table 1). This marker was strongly expressed in 20 cases, or 40% of the patients (Figure 2 D), moderate expression was observed in 12 cases, or 24% of the total number of patients (Figure 2 C), and low expression was shown in 17 cases, or 23% of the patients (Figure 2 B). One instance, which represented 2% of patients had negative Ki-67 expression (Figure 1 B). All cases of the healthy controls representing 100% had negative Ki-67 expression (Table 1; Figure 1, 2 A).

### KI-67 Expression in relation to the gender of patients

The gender of patients suffering from papillary thyroid malignant do not differ significantly in the expression level of Ki-67 (Table 2). Females expressed this marker at different intensities, with high intensity in 20 cases, middle intensity in 11, low intensity in 12, and negative intensity in one case. Only two intensities of Ki-67 expression were present in males: moderate in one case and low in five cases (Table 2).

### Expression of Ki-67 according to patients age

There was no discernible correlation between patient age and Ki-67 expression (Table 3). Among those under the age of 25: high (3 cases) and moderate (2 cases). Ages 26 to 35 show high intensity (9 cases), intermediate (5 cases), and low intensity (6 cases).

Table 1. Ki-67 scores between patients and healthy control

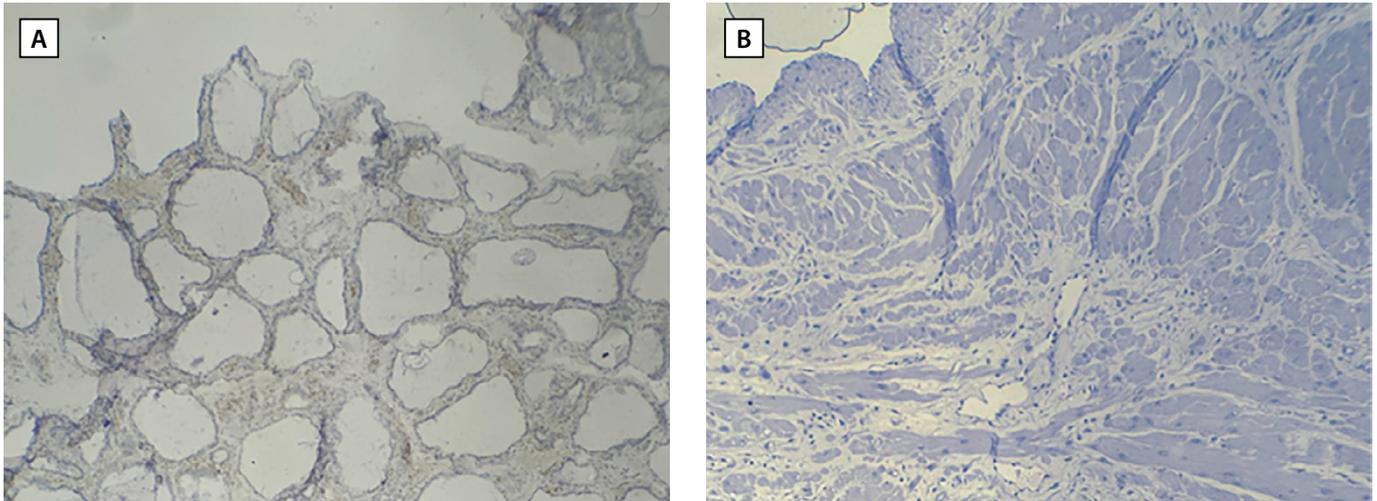
Score	Patients N=50	Control N=20	P value
KI-67	High; N (%)	20 (40.0)	<0.001*
	Intermediate; N (%)	12 (24.0)	
	Low; N (%)	17 (34.0)	
	Negative; N (%)	1 (2.0)	

\* P value by Yates chi square test

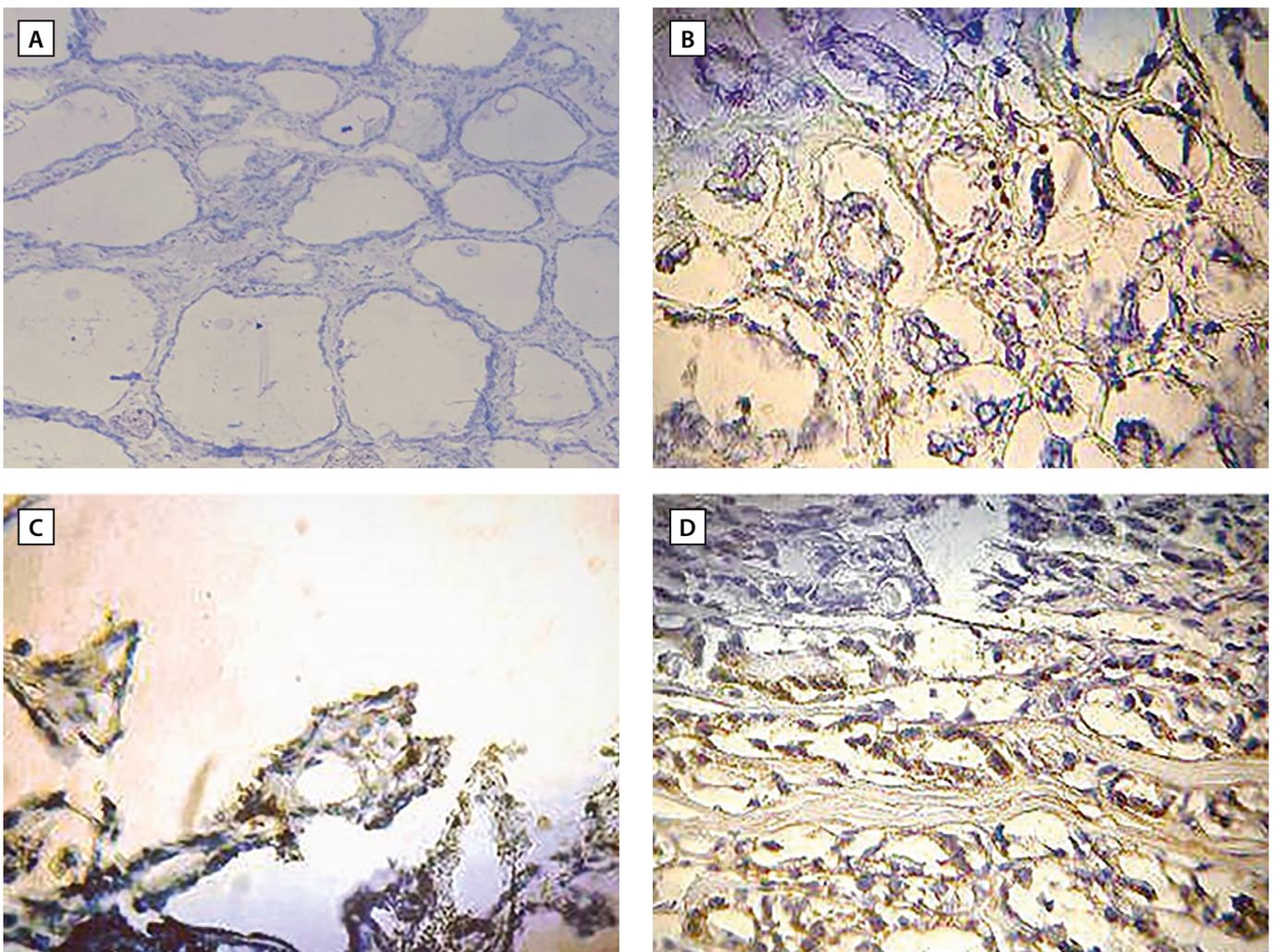
Table 2. Scores of Ki-67 expression according to sex in patients group

Score	Male N=6	Female N=44	P value
KI-67	High; N (%)	0 (0.0)	0.092*
	Intermediate; N (%)	1 (16.7)	
	Low; N (%)	5 (83.3)	
	Negative; N (%)	0 (0.0)	

\* P value by Yates chi square test



**Figure 1.** Cross section of thyroid tissue in (A) healthy tissue (B) malignant papillary thyroid tissue by using IHC that revealed negative expression of Ki 67 (less than 5%).10X



**Figure 2.** Cross section of thyroid tissue in (A) control showed negative expression of Ki-67 (less than 5%). (B) Patient with PTC showed low expression of Ki-67 (less than 5%). (C) Patient with PTC showed intermediate expression of Ki-67 represent (5-10%). (D) Patient with PTC showed high expression of Ki67 represent more than 10%. 40X

Patients between the ages of 36 and 45 have showed the marker at all levels of intensity. One case was negative, nine had low expression, two had moderate expression, and five had high expression. Over 45 patients had the marker expressed, with three having strong expression, three having moderate expression, and two having low expression (Table 3).

## DISCUSSION

The biological activity of malignant cells is assumed to be largely influenced by cell proliferation, tumor genesis is considered critically impacted when there is an imbalance between apoptosis and cell proliferation. The proliferation of cell may be measured via the IHC method, which is used

**Table 3.** Ki-67 scores according to age groups in patients group

Score	Age (yr)				P value	
	≤25 N=5	26-35 N=20	36-45 N=17	>45 N=8		
KI-67	High; N (%)	3 (60.0)	9 (45.0)	5 (29.4)	3 (37.5)	0.750*
	Intermediate; N (%)	2 (40.0)	5 (25.0)	2 (11.8)	3 (37.5)	
	Low; N (%)	0 (0.0)	6 (30.0)	9 (52.9)	2 (25.0)	
	Negative; N (%)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (5.9)	0 (0.0)	

\* P value by Yates chi square test

to identify an antigens specific to cycle. The tumor cell ability to proliferate can be determined by the biomarker Ki-67/ MIB-1 and the high level of this biomarker is related to metastasis in numerous malignancies [9].

#### Expression of Ki-67

The current finding revealed a significant difference in the expression value of Ki-67 between patients with PTC and healthy controls. The strength of this marker varied with the degree of expression. In patients with PTC, the Ki-67 expression relevance may be partially explained by its biological mechanism. Ki-67, a well-known biomarker of cell proliferation in various cancers [10,11,12], is essential for mitosis because it controls chromatin recombinant.

Ki67 is a protein bonded to DNA present in the nucleus, which is linked to growth of cell. This marker has been greater utilized in medications and researches of numerous types of cancer as its one of the key evidence of cell proliferation. The principle function of this marker is to protect the structure of DNA throughout cell division. In cell division process the Ki67 protein is phosphorylated and dephosphorylated, and it is also subjected to proteases and monitored by proteolytic pathways [13]. In addition, the Ki67 structure is resembles to that of certain proteins that regulate the cell cycle and is lost in quiescent cells (G0), but it begins to emerge in the nucleus during the G1 stage [14]. Then, throughout the S and G2 stages of cell cycle, Ki67 protein levels progressively rises reaching the top during the M phase, before rapidly declining in the late M phase [14]. Because of the direct linkage between the expressions of Ki67 marker and tumor cell proliferation or growth, therefore, this marker is used as a marker in routine pathological research. According to research by Davey et al. [10] and Maia et al. [11] found that the greater Ki-67 expression is typically associated to bad prognosis in cases of breast and prostate cancer. However, just a few studies have examined Ki67 in thyroid where there it was cancer or disease. Ito et al [7] investigated the prognostic relevance of a Ki-67 staining index in papillary thyroid cancer and demonstrated that Ki67 was a predictive factor of PTC patients for disease-free survival.

The current results are in line with a study by [8], which found that the PTC group's Ki67 expression density was much greater than the group with benign thyroid illness. Another study that supported our findings showed that the thyroid tissues with benign papillary hyperplasia (BPH) and PTC had significantly different levels of Ki67 expression [15].

#### Expression of Ki-67 according to patient's gender

The expression level of Ki-67 in patients with PTC does not differ significantly across sexes and different intensities of this marker were expressed in female than in male. This difference in Ki67 expression between males and females may be related to environmental, menstrual, and reproductive variables. The current result is consistent with a study by [16] that revealed women are more likely than men to develop papillary thyroid cancer.

#### Expression of Ki-67 according to patient's ages

The current finding found that the age of patient did not appear to be correlated with Ki-67 expression. This could suggest that Ki-67 is used to predict the prognosis of any tumor. Ki-67 may be found in all proliferating cells and serves as a proliferation marker. One of the risk factors for the prognosis of thyroid cancer is age upon diagnosis [17].

Lei et al [18] found that Ki-67 mRNA expression levels in PTC patients were higher in the older age group (55) than in the younger age group (55). This could be related to the deficiency of immune system in older patient. Whereas, Siironen et al [19] observed that Ki-67 expression considerably rises with aging, suggesting that tumors in older patients may develop more quickly. This increased proliferative activity might explain the worse prognosis in these patients.

The present results concur with those of Zhou et al [15] who observed no significant correlation between genders, age, or the intensity of Ki67 expression and positive expression rates in PTMC. Deng-hua Pan et al [20] disagree with the present finding, who found statistical correlation between Ki-67 and age (odds ratio =1.71, 95% confidence interval: 1.14-2.57, P=0.010).

#### CONCLUSION

Today, the most significant indicator of cell proliferative activity is Ki-67, which has been shown to be a valid predictor of tumor malignancy, prognosis, and course of treatment. The group of patients with papillary thyroid cancer is varied in terms of the biological characteristics of the tumor and, consequently, the prognosis. Therefore, the topic has been little studied, although there is a significant need for it.

The expression of Ki-67 was found to be significant between the patients and the healthy group in the current investigation, and it was not found to be influenced by the age or gender of the patients undergoing compression. To further corroborate our findings, however, carefully planned prospective studies are needed.

## ADDITIONAL INFORMATION

**Funding.** No funding

**Conflict of interest.** The authors declare no obvious and potential conflicts of interest related to the content of this article

**Contribution of authors.** Before publishing, the manuscript was reviewed and authorized by all writers, who also acknowledged that they

were accountable for every component of the work, which implied that any concerns about the accuracy or integrity of any portion of the work would be properly examined and resolved.

**Acknowledgment.** For those who helped me with any kind of encouragement, warmly advice or knowledge and where the sparkling light through the dark days epically Dr. Genan Adnan Al-bairuty, Dr. Mohammed Naji Taha, Dr. Khalid Waleed Qassim and Dr. Atta Awad Al-timimi.

## REFERENCES

1. Khachatryan MA, Mkhitarian LM. Papillary thyroid cancer, Hashimoto's thyroiditis, adenomatoid hyperplasia. Do they have any connection? *Problems of Endocrinology*. 2016;62(5):55-56. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201662555-56>
2. Doubi A, Al-Qannass A, Al-Angari SS, Al-Qahtani KH, Alessa M, Al-Dhahri S. Trends in thyroid carcinoma among thyroidectomy patients: A 12-year multicenter study. *Ann Saudi Med*. 2019. doi: <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2019.345>
3. Lloyd RV, Osamura RY, Kloppel G, et al. WHO classification of tumours of endocrine organs. *Lyon: (IARC)*. 2017. Available from: <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Who-Classification-Of-Tumours/WHO-Classification-Of-Tumours-Of-Endocrine-Organs-2017>
4. Mao J, Zhang Q, Zhang H, Zheng K, Wang R, Wang G. Risk Factors for Lymph Node Metastasis in Papillary Thyroid Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00265>
5. Dwivedi SS. Study of Immunohistochemical Markers (CK-19, CD-56, Ki-67, p53) in Differentiating Benign and Malignant Solitary Thyroid Nodules with special Reference to Papillary Thyroid Carcinomas. *J Clin DIAGNOSTIC Res*. 2016. doi: <https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/22428.9114>
6. LI LT, JIANG G, CHEN Q, ZHENG JN. Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (Review). *Mol Med Rep*. 2015;11(3):1566-1572. doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2014.2914>
7. Lindfors H, Karlsen M, Karlton E, et al. Thyroglobulin expression, Ki-67 index, and lymph node ratio in the prognostic assessment of papillary thyroid cancer. *Sci Rep*. 2023;13(1):1070. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-27684-3>
8. Somuncu E. What is the meaning of ki67 expression in papillary thyroid cancer? *Biomed. Res*. 2021:S49-S52. Available from: <https://www.alliedacademies.org/articles/what-is-the-meaning-of-ki67-expression-in-papillary-thyroid-cancer.pdf>
9. Ahmed S, Rashed H, Hegazy A, Mohamed AM, Elmesallamy W. Prognostic value of ald1, ezh2 and ki-67 in astrocytic gliomas. *Turkish J Pathol*. 2016. doi: <https://doi.org/10.5146/tjpath.2015.01344>
10. Davey MG, Hynes SO, Kerin MJ, Miller N, Lowery AJ. Ki-67 as a Prognostic Biomarker in Invasive Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 2021;13(17):4455. doi: <https://doi.org/10.3390/cancers13174455>
11. MAIA R, SANTOS GA DOS, REIS S, et al. Can we use Ki67 expression to predict prostate cancer aggressiveness? *Rev Col Bras Cir*. 2022;49. doi: <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20223200-en>
12. Suhaimi SNA, Shuhaili MA, Isa NM, Puad SHM, Shah SA, Mohammad R. The Missing Link between Ki-67 and Papillary Thyroid Carcinoma. *World J Endocr Surg*. 2020;12(2):80-85. doi: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10002-1287>
13. Sun X, Kaufman PD. Ki-67: more than a proliferation marke. *Chromosoma*. 2018;127(2):175-186. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5945335/>
14. Remnant L, Kochanova NY, Reid C, Cisneros-Soberanis F, Earnshaw WC. The intrinsically disorderly story of Ki-67. *Open Biol*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1098/rsob.210120>
15. Zhou Y, Jiang H-G, Lu N, Lu B-H, Chen Z-H. Expression of Ki67 in Papillary Thyroid Microcarcinoma and its Clinical Significance. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2015;16(4):1605-1608. doi: <https://doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.4.1605>
16. Tran QL, Davies L. Thyroid cancer incidence differences between men and women. *Curr Opin Endocr Metab Res*. 2023. doi: <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2023.100472>
17. Yu L, Hong H, Han J, Leng SX, Zhang H, Yan X. Comparison of Survival and Risk Factors of Differentiated Thyroid Cancer in the Geriatric Population. *Front Oncol*. 2020;10. doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00042>
18. Lei Y, Zhao X, Feng Y, He D, Hu D, Min Y. The Value of Ki-67 Labeling Index in Central Lymph Node Metastasis and Survival of Papillary Thyroid Carcinoma: Evidence From the Clinical and Molecular Analyses. *Cancer Control*. 2023;30. doi: <https://doi.org/10.1177/10732748231155701>
19. Siironen P, Nordling S, Louhimo J, Haapiainen R, Haglund C. Immunohistochemical expression of Bcl-2, Ki-67, and p21 in patients with papillary thyroid cancer: Increased Ki-67 expression in older patients. *Tumor Biol*. 2005. doi: <https://doi.org/10.1159/000084340>
20. Pan DH, Wen DY, Luo YH, et al. The diagnostic and prognostic values of Ki-67/ MIB-1 expression in thyroid cancer: A meta-analysis with 6,051 cases. *Onco Targets Ther*. 2017. doi: <https://doi.org/10.2147/OTT.S135593>

Рукопись получена: 22.11.2023. Одобрена к публикации: 07.03.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

## AUTHORS INFO

\***Noor Mohammed Naji Al-Timimi**, MSc student; Dept. Biology, Coll. of Science, Univ. of Baghdad, Baghdad, Iraq (00964); <https://orcid.org/0009-0006-8959-8505>; [noonmnaji@gmail.com](mailto:noonmnaji@gmail.com)

**Abed Hassan Baraaj**, Professor Dr.; Dept. Biology, Coll. of Science, Univ. of Baghdad, Baghdad, Iraq (00964); [abed.baraaj@sc.uobaghdad.edu.iq](mailto:abed.baraaj@sc.uobaghdad.edu.iq)

## TO CITE THIS ARTICLE:

Noor Mohammed Naji Al-Timimi, Abed Hassan Baraaj. Ki-67 as a predictive indicator of papillary thyroid cancer in Iraqi patients. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):62-66. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13410>

## РАЗРАБОТКА ПРОГНОСТИЧЕСКИХ КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ РИСКА ФОРМИРОВАНИЯ НИЗКОГО УРОВНЯ МИНЕРАЛЬНОЙ ПЛОТНОСТИ КОСТНОЙ ТКАНИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕЙРОСЕТЕВОГО ОБУЧЕНИЯ



© Б.И. Ялаев<sup>1\*</sup>, А.В. Новиков<sup>1</sup>, И.Р. Миннихметов<sup>1</sup>, Р.И. Хусаинова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

**ОБОСНОВАНИЕ.** Остеопороз является распространенным возраст-зависимым заболеванием с инвалидизирующими последствиями, ранняя диагностика которого осложнена ввиду длительного и скрытого течения, что зачастую приводит к постановке диагноза только после случая перелома. В этой связи большие надежды возлагаются на передовые разработки в области технологий машинного обучения, направленные на прогнозирование остеопороза на ранней стадии развития, в том числе с применением больших массивов данных, содержащих информацию о генетических и клинических предикторах заболевания. Тем не менее включение ДНК-маркеров в модели прогнозирования сопряжено с рядом трудностей, связанных со сложной полигенной и гетерогенной природой заболевания. На данный момент прогностическая сила нейросетевых моделей недостаточна для их внедрения в современные протоколы диагностики остеопороза. Исследования в этой области единичны, но являются широко востребованными, поскольку их результаты представляют огромную значимость для профилактической медицины. Это приводит к необходимости поиска наиболее эффективных подходов машинного обучения и оптимизации отбора генетических маркеров в качестве входных параметров в нейросетевые модели.

**ЦЕЛЬ:** оценить эффективность машинного обучения и нейросетевого анализа для разработки прогностических моделей риска развития остеопороза на основе клинических предикторов и ДНК-маркеров остеопоротических переломов.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Прогностические модели обучены с использованием данных генотипов по 152 полиморфных ДНК-локусов и клинических параметров 701 женщины и 501 мужчины из Волго-Уральского региона России. В качестве входных параметров в модели включены антропометрические показатели, данные о гендерной принадлежности, уровне минеральной плотности костной ткани (МПКТ), а также результаты генотипирования полиморфных локусов генов-кандидатов и локусов репликации полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) консорциума GEFOS.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что наиболее высокой эффективности ( $AUC=0,81$  для мужчин и  $AUC=0,82$  для женщин на независимом датасете (англ. dataset — обработанный и структурированный массив данных)) достигает модель прогнозирования низкого уровня минеральной плотности костной ткани, в которую вошли 6 полиморфных вариантов гена остеопротегерина (*OPG*) (*rs2073618*, *rs2073617*, *rs7844539*, *rs3102735*, *rs3134069*) и 5 полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК в мРНК целевых генов, участвующих в костном метаболизме (*COL11A1* — *rs1031820*, *FGF2* — *rs6854081*, *miR-146* — *rs2910164*, *ZNF239* — *rs10793442*, *SPARC* — *rs1054204* и *VDR* — *rs11540149*).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Результаты подтверждают перспективность применения машинного обучения для прогнозирования риска развития остеопороза на доклинической стадии заболевания на основе анализа клинических и генетических факторов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** остеопороз; машинное обучение; нейросеть; генетика.

## DEVELOPMENT OF PROGNOSTIC CLINICAL AND GENETIC MODELS OF THE RISK OF LOW BONE MINERAL DENSITY USING NEURAL NETWORK TRAINING

© Bulat I. Yalaev<sup>1\*</sup>, Andrey V. Novikov<sup>1</sup>, Ildar R. Minniakhmetov<sup>1</sup>, Rita I. Khusainova<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Institute of Biochemistry and Genetics-Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

**BACKGROUND:** Osteoporosis is a common age-related disease with disabling consequences, the early diagnosis of which is difficult due to its long and hidden course, which often leads to diagnosis only after a fracture. In this regard, great expectations are placed on advanced developments in machine learning technologies aimed at predicting osteoporosis at an early stage of development, including the use of large data sets containing information on genetic and clinical predictors of the disease. Nevertheless, the inclusion of DNA markers in prediction models is fraught with a number of difficulties due to the complex polygenic and heterogeneous nature of the disease. Currently, the predictive power of neural network models is insufficient for their incorporation into modern osteoporosis diagnostic protocols. Studies in this area are sporadic, but are

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



widely demanded, as their results are of great importance for preventive medicine. This leads to the need to search for the most effective machine learning approaches and optimise the selection of genetic markers as input parameters to neural network models.

**AIM:** to evaluate the effectiveness of machine learning and neural network analysis to develop predictive risk models for osteoporosis based on clinical predictors and genetic markers of osteoporotic fractures.

**MATERIALS AND METHODS:** The predictive models were trained using a database of genotyping and clinical characteristics of 701 women and 501 men living in the Volga-Ural region of Russia. Anthropometric parameters, data on gender, bone mineral density level, and the results of genotyping of 152 polymorphic loci of candidate genes and replication loci of the GEFOS consortium's full genome-wide association search were included as input parameters.

**RESULTS:** It was found that the model for predicting low bone mineral density, including 6 polymorphic variants of the *OPG* gene (rs2073618, rs2073617, rs7844539, rs3102735, rs3134069) and 5 polymorphic variants of microRNA binding sites in the mRNA of genes involved in bone metabolism (*COL11A1* — rs1031820, *FGF2* — rs6854081, *miR-146* — rs2910164, *ZNF239* — rs10793442, *SPARC* — rs1054204 and *VDR* — rs11540149) (AUC=0.81 for men and AUC=0.82 for women).

**CONCLUSION:** The results confirm the promising application of machine learning to predict the risk of osteoporosis at the preclinical stage of the disease based on the analysis of clinical and genetic factors.

**KEYWORDS:** osteoporosis; machine learning; neural network; genetics.

## ОБОСНОВАНИЕ

Остеопороз (ОП) является одним из наиболее распространенных многофакторных заболеваний современности, ежегодно приводящий к более 9 млн низкотравматичных переломов [1]. Известно, что остеопорозу подвержено более 1 млрд человек [2]. В России заболевание диагностируется примерно у 34% женщин и 27% мужчин при проведении денситометрического обследования на независимых или случайных выборках [3–5]. Ранняя диагностика развития ОП осложнена ввиду длительного и скрытого течения заболевания, что приводит к низкой доле выявляемости ОП и отсутствию ранней профилактики переломов. Остеопороз является социально значимым заболеванием с инвалидизирующим течением, и, ввиду этого, необходима разработка способов ранней диагностики, профилактики и лечения.

При остеопорозе резорбция костной ткани преобладает над минерализацией и анаболическими процессами, что приводит к нарушению прочности костей из-за уменьшения минеральной плотности и увеличению риска переломов, даже от незначительных падений или ударов [6]. У подавляющей доли пациентов остеопороз диагностируется только после перелома, это определяется острой нехваткой методов ранней диагностики на скрининговом уровне.

Геномные и мультиомиксные проекты демонстрируют, что остеопороз в значительной мере ассоциирован с наследственными факторами [7]. Известное исследование с проведенным метаанализом результатов полногеномного поиска ассоциаций (GWAS) выявило порядка 56 локусов, ассоциированных с низким уровнем минеральной плотности костной ткани (МПКТ) и 14 локусов, связанных с риском переломов [8]. Но стадия репликация данного GWAS не подтвердила большую часть выявленных маркеров в популяциях России, проведенное на выборках женщин с остеопорозом из Волго-Уральского региона [8].

Тем не менее достоверно установлено, что наследственность определяет до 65% вариативности уровня МПКТ и около 25% риска переломов [9], но в то же время число ДНК-локусов с высоким рисковым эффек-

том ( $OR > 3$ ) невелико [10]. В совокупности подобные факторы создают сложности при разработке способов ранней диагностики ОП и профилактики переломов с использованием данных генетического анализа. Таким образом, несмотря на то что исследования генетики остеопороза ведутся активно уже на протяжении 15 лет, потенциал накопленных данных в качестве диагностического инструментария остается нереализованным [11].

С этой точки зрения многообещающими и внушающими перспективы являются технологии машинного обучения и искусственного интеллекта, получающих все более широкое распространение в области клинической и предиктивной медицины. В отличие от рутинных статистических методов и моделей, технологии на базе машинного обучения (МО) и нейросетевого анализа (НА) позволяют обнаруживать скрытые связи и закономерности в изначально разнородных данных. Следует заметить, что модели на основе искусственного интеллекта нашли применение при остеопорозе как в качестве моделирования риска перелома, так и для анализа рентгеновских изображений [12].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность машинного обучения и нейросетевого анализа для разработки прогностических моделей риска развития остеопороза на основе клинических предикторов и ДНК-маркеров остеопоротических переломов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и время проведения исследования

**Место проведения.** Исследование проведено в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

**Время исследования.** В исследование включены пациенты, которые прошли медицинское обследование в период с 2004 по 2011 гг. на базе городских клинических больниц №5, №21 и №22 г. Уфы и Областной клинической больницы №1 из г. Екатеринбургa.

### Исследуемые популяции

В исследовании приняли участие 701 женщина в постменопаузе (средний возраст =  $61,95 \pm 7,94$ ) и 501 мужчина (средний возраст  $62 \pm 10,8$ ). Этнический состав женщин: русские — 516, татары — 185. Этнический состав мужчин: русские — 470, татары — 31.

**Критерии включения:** выборку пациентов составили люди с остеопорозом, в контрольную группу вошли люди без переломов и с нормальным уровнем минеральной плотности костной ткани в возрасте от 60 до 70 лет. Учитывалось наличие остеопоротических переломов в стандартных локализациях (аксиальная часть бедра, поясничный отдел позвоночника) в целом и по отдельности, а также в сочетании с любыми другими переломами скелета.

**Критерии исключения:** наличие каких-либо семейных групп и родственников на основе анкетирования и данных семейного анамнеза, злоупотребление алкоголем и наркотиками в анамнезе, текущее лечение острых заболеваний, а также наличие хронических заболеваний, которые влияют на метаболизм костной ткани (бронхиальная астма, заболевания щитовидной железы, аутоиммунные заболевания).

### Дизайн исследования

Работа является одноцентровым одномоментным исследованием. Выборка сформирована в соответствии с критериями включения и исключения.

На **первом** этапе была определена группа мужчин и женщин старше 50 лет, для которых описан клинический анамнез и проведено генотипирование полиморфных ДНК-локусов, включая данные репликации GWAS-исследования консорциума GEFOS/GENOMOS, а также данные предыдущих ген-кандидатных исследований

на данной когорте пациентов. Клинические характеристики групп представлены в таблице 1. Характеристики включенных в исследование ДНК-локусов приведены в таблице 2.

На **втором** этапе проведена подготовка данных для машинного обучения. Для этого создан актуальный датасет в виде таблицы в формате *xlsx*. В таблице представлено 1202 образца обезличенных данных. То есть номеру строки/образца соответствует идентификатор определенного пациента.

На **третьем** этапе построены модели CatBoostClassifier в составе платформы CatBoost (использует метод повышения градиента с итеративной постройкой множества деревьев решений, когда каждое последующее дерево улучшает результат предыдущего, что приводит к лучшим результатам) и нейросетевая модель на основе полносвязных слоев (Dense). Проведенные эксперименты условно можно разделить на две категории.

- Предсказание перелома на данных, включающих значение уровня МПКТ и ДНК-локусы. При этом в качестве обучающей метки класса использовалось наличие или отсутствие перелома у пациента в прошлом.
- Предсказание диагноза «остеопороз» на данных, включающих ДНК-локусы и ряд других характеристик, а в качестве обучающей метки применялся диагноз, поставленный врачом (классифицированный показатель МПКТ).

На **четвертом** этапе после обучения моделей CatBoostClassifier для обеих групп пациентов была проведена кросс-валидация для оценки качества работы модели, помогающая сравнить между собой различные модели и выбрать наилучшую для прогнозирования первичного остеопороза в исследованных выборках мужчин и женщин.

Таблица 1. Характеристики исследования по фенотипическим подгруппам

Выборка женщин (N=701)			
Группы сравнения	N	Возраст, Ме±SD	ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Ме±SD
С переломами	280	62,16±7,95	27,00±3,60
Без переломов	421	60,14±8,01	27,80±3,81
С низким уровнем МПКТ	324	62,17±7,95	27,04±3,60
С нормальным уровнем МПКТ	172	60,23±7,97	28,10±4,90
С нормальным уровнем МПКТ и без переломов	239	61,76±7,96	28,90±3,70
Выборка мужчин (N=501)			
С переломами	145	62,30±10,83	27,54±2,73
Без переломов	356	59,20±9,02	27,59±4,90
С низким уровнем МПКТ	304	62,17±6,90	27,04±3,60
С нормальным уровнем МПКТ	197	61,23±9,01	27,61±4,60
С нормальным уровнем МПКТ и без переломов	168	61,57±6,97	27,82±2,70

Таблица 2. Характеристика полиморфных вариантов, включенных в модели обучения

№	ID локуса	№	ID локуса	№	ID локуса	№	ID локуса
1	rs1061947	39	rs6532023	77	rs6231	115	rs5952638
2	rs11540149	40	rs6830890	78	rs3736228	116	rs4492531
3	rs1042673	41	rs1366594	79	rs2887571	117	rs964181
4	rs1054204	42	rs4957742	80	rs11048046	118	rs1514348
5	rs9659030	43	rs17284960	81	rs7953528	119	rs3020314
6	rs1031820	44	rs9466056	82	rs1282108	120	rs1062033
7	rs5854	45	rs11755164	83	rs2016266	121	rs28757190
8	rs2910164	46	rs13204965	84	rs736825	122	rs1801725
9	rs11614913	47	rs4869742	85	rs1053051	123	rs1801197
10	rs2120461	48	rs7751941	86	rs9533090	124	rs182549
11	rs2295294	49	rs7788807	87	rs7326472	125	rs4988235
12	rs7521902	50	rs28425	88	rs1286083	126	rs2036417
13	rs6426749	51	rs10226308	89	rs3748317	127	rs9630182
14	rs12137389	52	rs6959212	90	rs11623869	128	rs7125774
15	rs17482952	53	rs2282930	91	rs2118784	129	rs3102734
16	rs12407028	54	rs4727338	92	rs129333	130	rs2073618
17	rs11809524	55	rs13245690	93	rs9921222	131	rs2073617
18	rs7417366	56	rs3801387	94	rs13336428	132	rs7844539
19	rs479336	57	rs7812088	95	rs4985155	133	rs3102735
20	rs12120297	58	rs1670346	96	rs1564981	134	rs3134069
21	rs13413210	59	rs1405534	97	rs1566045	135	rs198470
22	rs7584262	60	rs7017914	98	rs1048146	136	rs10793442
23	rs4233949	61	rs13272568	99	rs4790881	137	rs10518716
24	rs730402	62	rs2062377	100	rs4792909	138	rs17054320
25	rs17040773	63	rs10756362	101	rs227584	139	rs1712
26	rs1878526	64	rs11788458	102	rs1864325	140	rs2745426
27	rs13464	65	rs4240467	103	rs7226305	141	rs6854081
28	rs11675051	66	rs7851693	104	rs7217932	142	rs2228570
29	rs12995369	67	rs3905706	105	rs4796995	143	rs7975232
30	rs6436440	68	rs13734	106	rs884205	144	rs1544410
31	rs10510373	69	rs7071206	107	rs2717096	145	rs731236
32	rs2291296	70	rs2784767	108	rs7257450	146	rs1107946
33	rs7427438	71	rs7084921	109	rs10416218	147	rs2412298
34	rs430727	72	rs11602954	110	rs3790160	148	rs180012
35	rs1026364	73	rs7108738	111	rs4817775	149	rs545382
36	rs344081	74	rs10835187	112	rs4820539	150	rs2277268
37	rs3755955	75	rs163879	113	rs5934507	151	rs9340799
38	rs4832734	76	rs7932354	114	rs5926033	152	rs2234693

### Описание медицинского вмешательства

Уровень МПКТ измеряли методом двухфазной абсорбционной рентгеновской денситометрии (DEXA) с использованием системы Hologic QDR 4500/A DXA (США) в стандартных локализациях (шейка бедра и поясничный отдел позвоночника). Согласно критериям Всемирной организации здравоохранения общая выборка была разделена в соответствии с Т-критерием — значения от +2,5 до -0,9 стандартных отклонений (SD) — нормальная МПКТ, меньше -1 и больше -2,5 SD — остеопения, остеопороз — от -2,5 SD и ниже ( $\leq 2,5$  SD) [13–14].

### Методы

#### Подготовка данных для машинного обучения

В качестве целевой переменной выбиралась колонка «диагноз», которая имеет два значения: нормальный уровень МПКТ (нет риска), низкий уровень МПКТ (высокий риск). Датасет содержит 4 численных переменных: возраст, вес, рост, индекс массы тела, а также 152 локуса (табл. 2), пол и наличие случаев перелома у пациента. Каждый локус характеризуется набором пар нуклеотидов в таблице в виде сочетания двух латинских букв. Датасет содержит уникальные сочетания пар нуклеотидов (при последующем перекодировании в One Hot Encoding (ONE) учтены все возможные сочетания, с учетом потенциального наполнения датасета дополнительными локусами с расширенным набором пар нуклеотидов в будущем. Пол закодирован как 0 — мужчины; 1 — женщины. Перелом (Fracture) закодирован как 0 — отсутствие перелома; 1 — наличие как минимум одного перелома. Файл исходных данных сначала конвертировался из формата «xlsx» в «csv» и затем подавался на анализ и предобработку в рабочую среду. Ввиду полового диморфизма в этиопатогенезе остеопороза, различий в эндокринной регуляции метаболизма костной ткани у мужчин и женщин, исходный датасет был разделен на два по половому признаку для применения в обучении двух разных моделей. При этом пол исключается из набора переменных для дальнейшей обработки. Особое внимание уделено проверке отсутствия пропусков данных, симметричности выборок по категориям, наличию корреляции между переменными в датасете и применению соответствующих методов компенсации. Категориальные переменные (включая метки) преобразовывались в вид ONE либо применяемой платформой МО, либо с помощью соответствующей программной функции в случае обучения нейросети. Численные переменные подвергались масштабированию в диапазон чисел от 0 до 1. В машинные модели обучения в качестве зависимой и независимой переменной был включен показатель «Низкий уровень МПКТ», который объединял пациентов с остеопорозом и остеопенией. Подготовка данных, обучение модели, проверка и тестирование проводились в среде Google Colab на платформе с открытым исходным кодом TensorFlow, а также на платформе CatBoost. В качестве высокоуровневого интерфейса прикладного программирования для TensorFlow применялся API Keras. Язык программирования — Python 3. Основные модули, примененные в работе, включают в себя pandas (работа с табличными данными), numpy (работа с массивами), scikit-learn (подготовка данных и формирование матрицы ошибок), matplotlib (отображение графиков), Plotly (дина-

мическое отображение графиков), SweetVIZ (для первичного анализа). Далее в результатах будут использоваться термины «тестовая выборка» и «проверочная выборка».

1. Тестовая — выборка, по которой оценивается качество обученной нейросети.
2. Проверочная выборка — выборка, по которой осуществляется выбор наилучшей модели нейросети из всех разработанных моделей.

#### Этическая экспертиза

Все участники подписали информированное согласие на включение в исследование в соответствии со стандартами, разработанными Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием людей в качестве субъектов исследования» и с одобрения локального биоэтического комитета Института биохимии и генетики УФИЦ РАН (протокол №14 от 15.09.2016).

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Для обеих групп экспериментов оценивались два подхода — обработка данных с помощью модели на основе полносвязных нейронных слоев (Dense) и модель CatBoostClassifier. При этом использование CatBoostClassifier дало более точные результаты (средняя точность классификации 64,5% для мужчин и 73% для женщин) на независимом датасете и выглядит несколько проще, так как метод выполняет предварительную обработку данных как часть алгоритма. В рамках данной статьи мы решили сосредоточиться на описании методики и результатов предсказания низкого уровня МПКТ.

Для второй группы экспериментов проводилось разделение на 2 класса (нормальный уровень МПКТ (нет риска)/низкий уровень МПКТ (высокий риск)). Такой подход выглядит оправданным при первичной оценке эффективности метода в силу простоты и малого размера исходной базы данных. Кроме того, модели, строящиеся на малом наборе данных, склонны к переобучению, и, чтобы избежать эффекта переобучения, применялся метод раннего прекращения обучения моделей. Для повышения стабильности результатов при обучении модели использовалось перемешивание данных и соблюдение пропорций при разделении исходного набора данных на обучающий и тестовый, а также контроль весов классов при делении данных на мини-пакеты.

Особенностью нашего исследования является то, что в моделях прогнозирования последовательно, методом включения и исключения из изначально большого набора данных, была сформирована отдельная модель из небольшого числа значимых маркеров, которые, по всей видимости, являются значимыми предикторами в модели машинного обучения. Это может обосновываться тем, что модели прогнозирования лучше всего предсказывают низкий уровень МПКТ именно при включении качественно значимых предикторов, в то время как при анализе крупных массивов снижается качество обучения моделей из-за наличия рискованных аллелей с низким эффектом. В частности, мы начали с исследования результатов работы моделей для 152 ДНК-маркеров без включения других клинически значимых показателей,

например, рост и вес пациентов. Влияние каждой из переменных на результат оказалось слишком «шумным», т.е. простые модели не смогли выделить закономерности, связывающие всю совокупность комбинаций нуклеотидов в изначально выбранной широкой группе локусов с высокой вероятностью низкого уровня МПКТ и перелома, показатели чувствительности и специфичности моделей при включении всех ДНК-локусов не превышали 60%. Анализируя различные варианты моделей, мы установили, что наиболее высокой эффективности (составляющей AUC = 0,81 для мужчин и AUC = 0,82 для женщин на независимом датасете) достигает модель прогнозирования низкого уровня минеральной плотности костной ткани, в которую вошли 6 полиморфных вариантов гена остеопротегерина (*OPG*) (*rs2073618*, *rs2073617*, *rs7844539*, *rs3102735*, *rs3134069*) и 5 полиморфных вариантов сайтов связывания микроРНК в мРНК таргетных генов, участвующих в костном метаболит-

ме (*COL11A1* — *rs1031820*, *FGF2* — *rs6854081*, *miR-146* — *rs2910164*, *ZNF239* — *rs10793442*, *SPARC* — *rs1054204* и *VDR* — *rs11540149*).

Далее в каждой из выборок мужчин и женщин исследуемые предикторы были использованы для обучения нейросети с дальнейшей кросс-валидацией.

#### Нейросетевой анализ датасета выборки мужчин

Процесс и результаты обучения представлены на рисунках 1–3.

Средняя точность классификации по 2-м классам достигла 62,5%. При этом класс пониженного уровня МПКТ определяется лучше, чем нормальный уровень как на проверочной части датасета, так и на тестовой. Истинно-положительный результат (True-Positive) для нормального уровня МПКТ был зафиксирован лишь в 58% случаев, тогда как для пониженного уровня МПКТ — в 67% случаев.

График процесса обучения модели

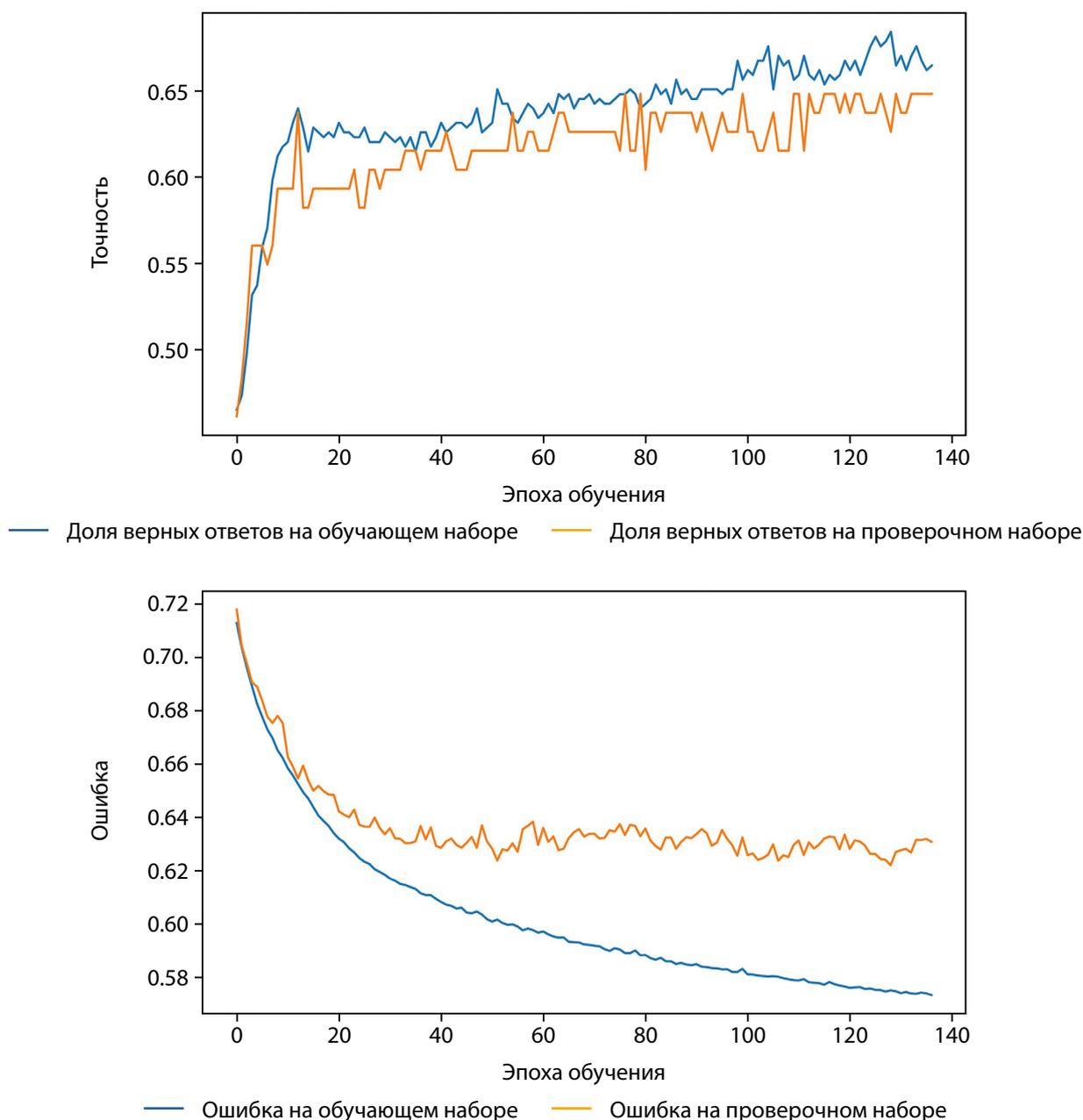


Рисунок 1. График процесса обучения (слева — точность, справа — ошибка).

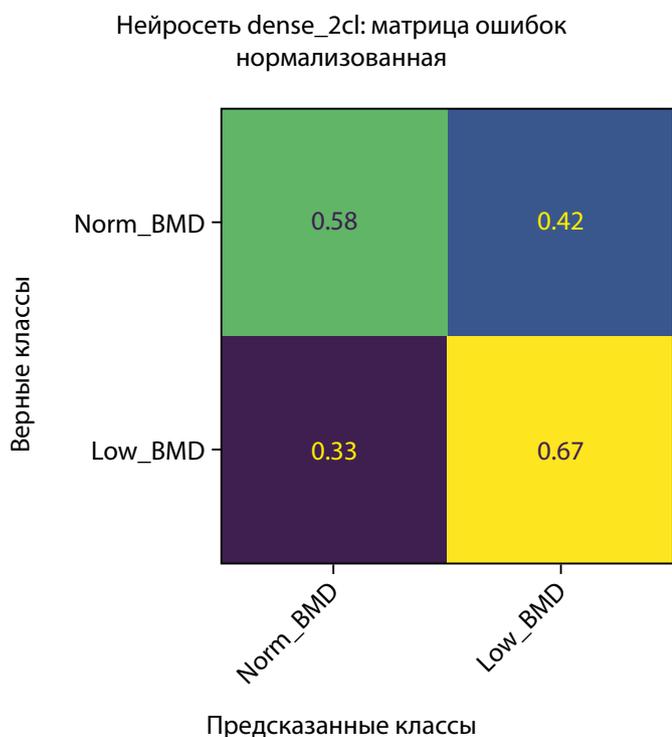


Рисунок 2. Нормализованная матрица ошибок предсказания двух классов МПКТ на проверочной выборке (мужчины).

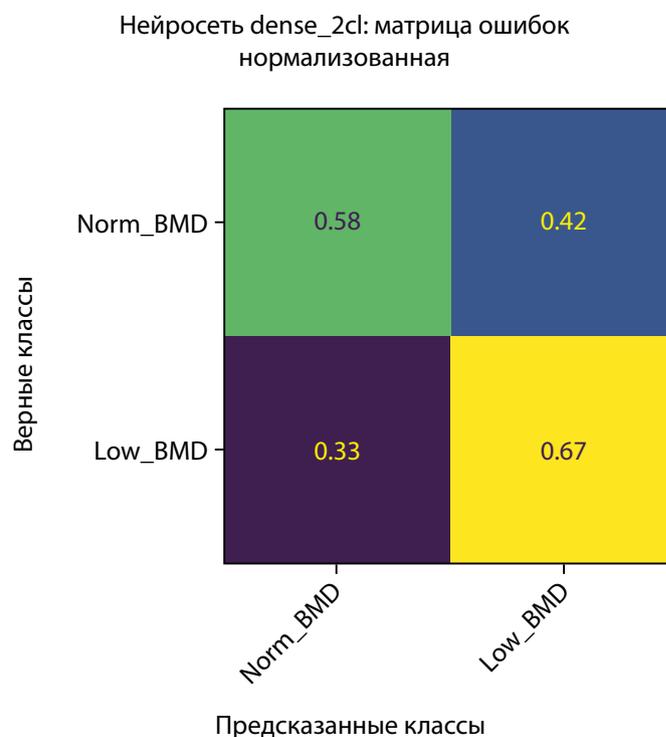


Рисунок 3. Нормализованная матрица ошибок предсказания двух классов МПКТ на тестовой выборке (мужчины).

Для оценки качества бинарной классификации применен ROC-анализ (рис. 4). ROC-кривая отображает соотношение между долей истинно-положительных классификаций (True Positive Rate), называемой чувствительностью алгоритма классификации, и долей ложно-положительных классификаций. Показатель AUC (площадь под кривой) у мужчин достиг 0,68 (рис. 4).

#### Нейросетевой анализ датасета выборки женщин

Процесс обучения нейросети в выборке женщин представлены на рисунке 5.

Средняя точность классификации по 2-м классам достигла 73%. При этом класс пониженного уровня МПКТ определяется несколько лучше, чем нормальный уровень как на проверочной части датасета, так

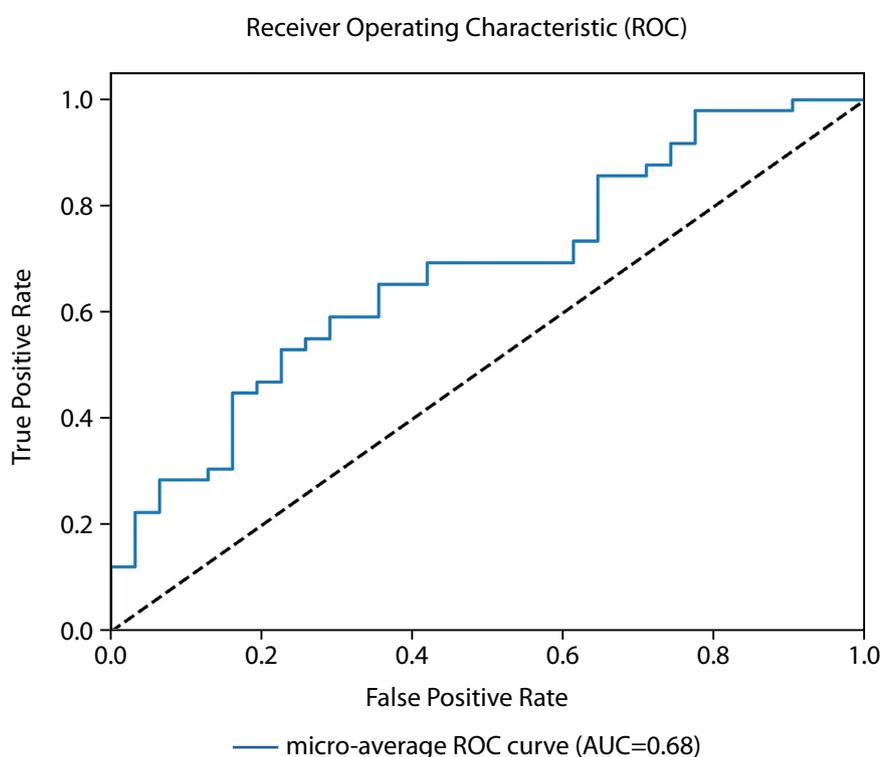


Рисунок 4. ROC-кривая, построенная по предсказаниям тестовой выборки (мужчины).

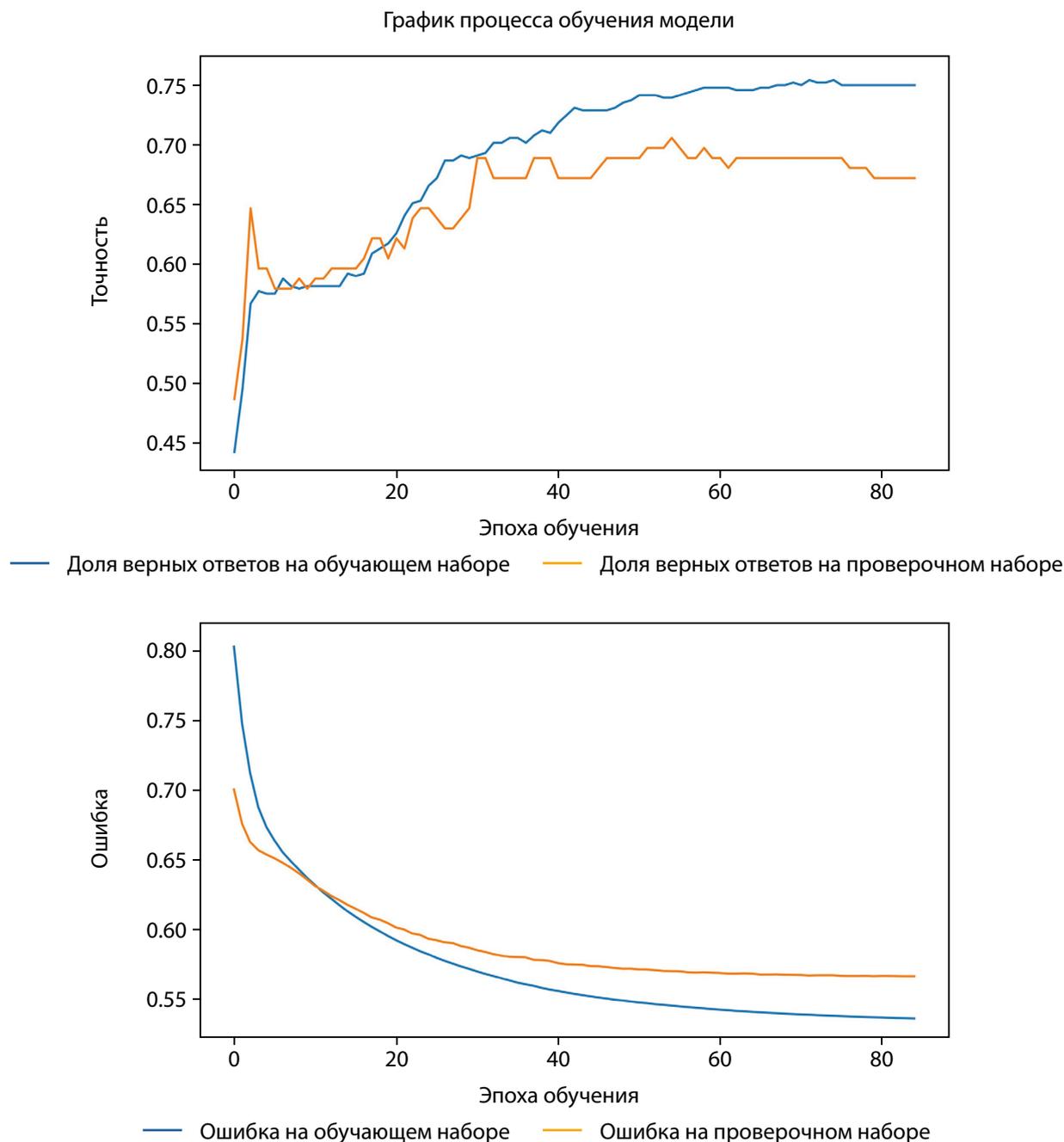


Рисунок 5. График процесса обучения.

и на тестовой. Однако разброс в точности определения классов ниже, чем на датасете мужчин (4% против 9%). Предположительно, это объясняется большей корреляцией параметров датасета с диагнозом и большей выборкой датасета женщин. Истинно-положительный результат (True Positive) для нормального уровня МПКТ был зафиксирован лишь в 71% случаев, тогда как для пониженного уровня МПКТ — в 75%. ROC-кривая для модели, построенной для датасета женщин, заметно ближе к идеальной чем для модели, построенной для датасета мужчин (AUC=0,78 против 0,68) (рис. 6).

#### Применение инструмента CatBoost на датасете выборки мужчин

Обучение модели на датасете мужчин с помощью модели CatBoostClassifier показало наилучшие резуль-

таты с большинством базовых гиперпараметров. Как и при обучении нейросети, точность и стабильность результатов предсказания оказались хуже, чем в модели, построенной на датасете женщин. При обучении также использовался метод ранней остановки обучения, чтобы избежать переобучения (рис. 7–8).

На рисунке 8 по оси «ординат» отображена метрика функции «логарифмическая потеря», которая отражает логарифмическую вероятность истинных меток с учетом прогнозируемых вероятностей. Более низкие значения указывают на лучшую производительность, при этом 0 соответствует идеальной модели. Эта метрика используется для оптимизации модели во время обучения и оценки ее точности.

С помощью модели CatBoostClassifier нам удалось увеличить среднюю точность предсказания на тестовом

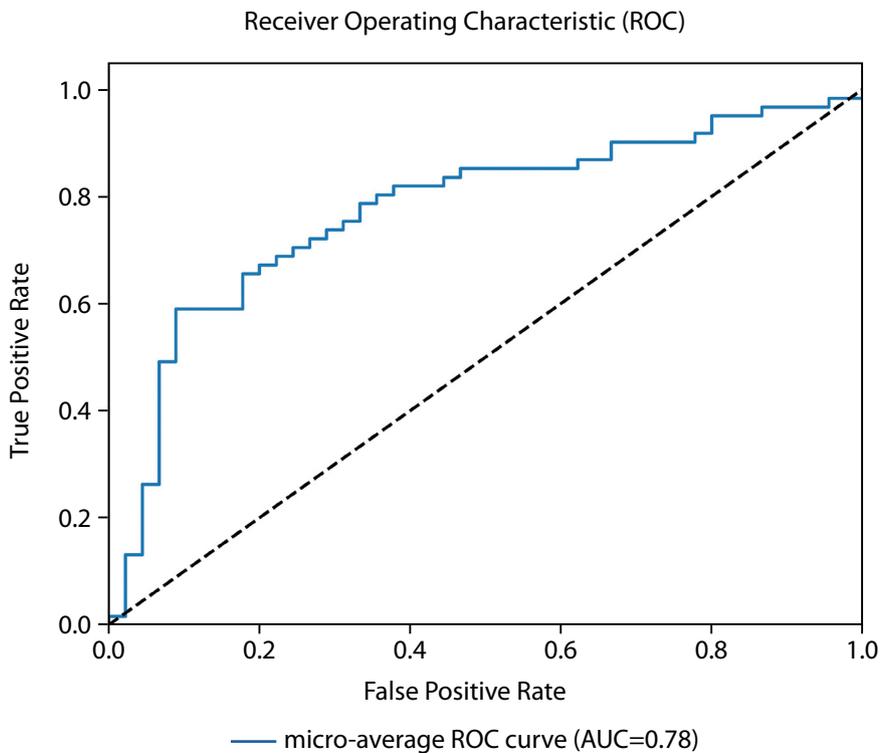


Рисунок 6. ROC-кривая, построенная по предсказаниям тестовой выборки (женщины).



Рисунок 7. График точности при обучении модели CatBoostClassifier (мужчины).

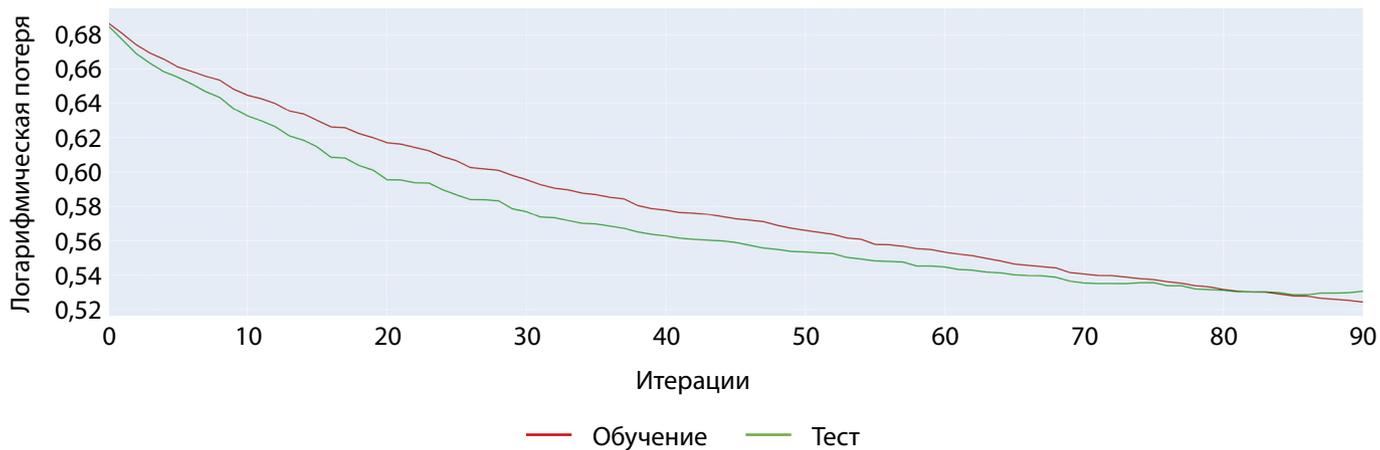
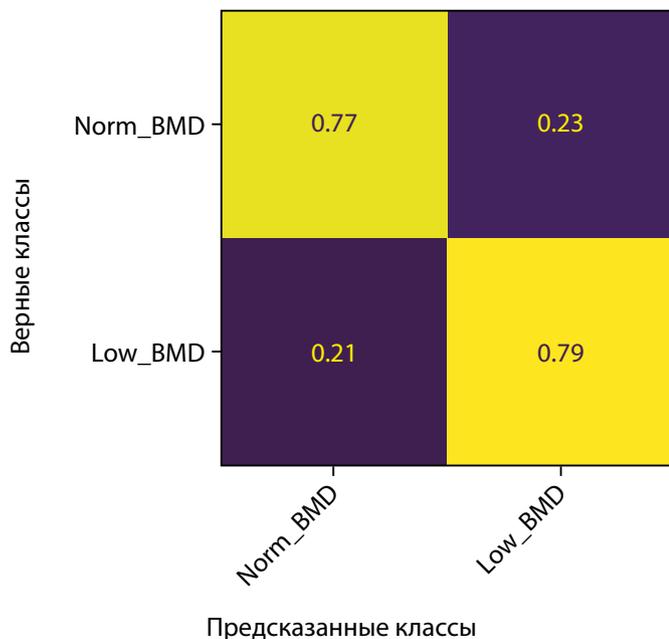
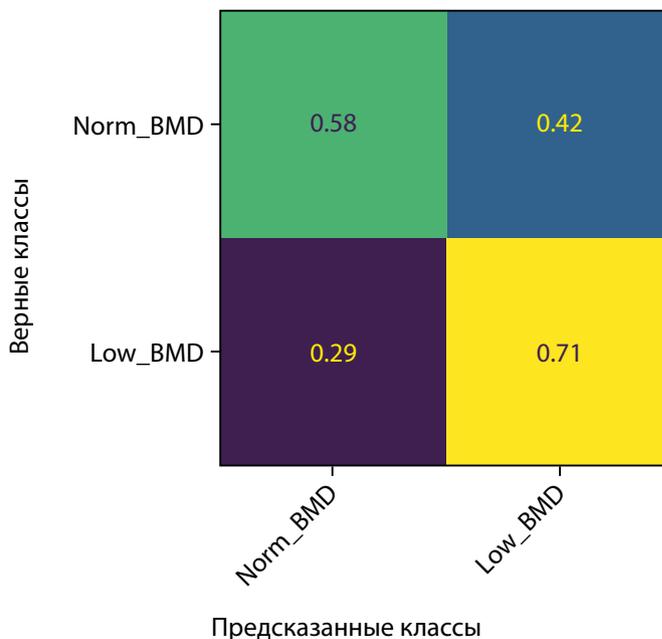


Рисунок 8. График ошибки при обучении модели CatBoostClassifier (мужчины).

Нейросеть Fracture prediction: матрица ошибок нормализованная

**Рисунок 9.** Нормализованная матрица ошибок предсказания двух классов МПКТ на проверочной выборке (мужчины).

Нейросеть Fracture prediction: матрица ошибок нормализованная

**Рисунок 10.** Нормализованная матрица ошибок предсказания двух классов МПКТ на тестовой выборке (мужчины).

наборе данных на 2% (64,5% против 62,5%). Однако, как показывает разница результатов в матрицах ошибок, построенных на проверочной и тестовой выборках (ср. рисунки 9–10), текущие данные слишком неоднородны, что приводит к более значимой вариативности точности предсказаний диагноза у мужчин. Это же подтверждается и результатами кросс-валидации (ср. рисунок 19–20).

В то же время наблюдается заметное увеличение качества модели (AUC=0,81 против 0,64) (рис. 11).

Модель CatBoostClassifier имеет встроенный функционал, помогающий определить желаемый порог решающего правила бинарной классификации. График на рисунке 12 построен на данных проверочного набора. Проекция точки пересечения графиков функций FPR и FNR на ось Threshold (порог) дает рекомендуемый оптимальный порог решающего правила, который может быть намеренно смещен в ту или иную сторону (обычно в сторону большей вероятности определения заболевания).

Специфика такого смещения довольно часто используется при ранней первичной диагностке.

#### Применение инструмента CatBoost на датасете выборки женщин

Обучение модели на датасете женщин с помощью модели CatBoostClassifier также показало наилучшие результаты с большинством базовых гиперпараметров. Как видно на рисунках 13 и 14 обучение на данном наборе шло более успешно и достигло более значимых показателей точности.

Обучение было остановлено в момент достижения минимума ошибки, и параметры модели были сохранены именно в этом состоянии. На рисунке 15 показана пол-

ная симметричность истинно-положительных и ложноположительных результатов. Это достигнуто благодаря выбору рекомендованного порога решающего правила, рассчитанного на проверочных данных. На данный момент в датасете женщин также присутствует некоторая неоднородность, которая проявляется в несимметричности истинно-положительных и ложноположительных результатов, полученных на тестовой выборке (рис. 16).

Показатель качества модели AUC в модели CatBoostClassifier на датасете женщин также получил улучшение по сравнению с моделью на основе нейросети (AUC=0,82 против 0,78) (рис. 17–18).

#### Кросс-валидация полученных результатов

В данной работе мы провели оценку работы двух моделей, одной модели для мужчин и одной модели для женщин, чтобы убедиться в качестве работы этих моделей с разными данными разделив исходный датасет на 5 частей встроенными средствами платформы CatBoost. Кривая на рисунках 19 и 20 на фоне закрашенной области показывает среднее значение точности модели для датасетов, а сама закрашенная область характеризует девиацию точности при кросс-валидации.

Аналогично кривые на рисунке 20 на фоне закрашенной области показывают среднее значение ошибки (Loss) модели для датасетов, а сама закрашенная область характеризует девиацию ошибки при кросс-валидации.

Как видно из сравнения графиков, модель для датасета женщин показывает большую стабильность и меньшую вариативность предсказаний диагноза. Отчасти это объясняется разницей в размерах датасетов. В любом случае, модель для женщин ближе к возможности практического применения для диагностики.

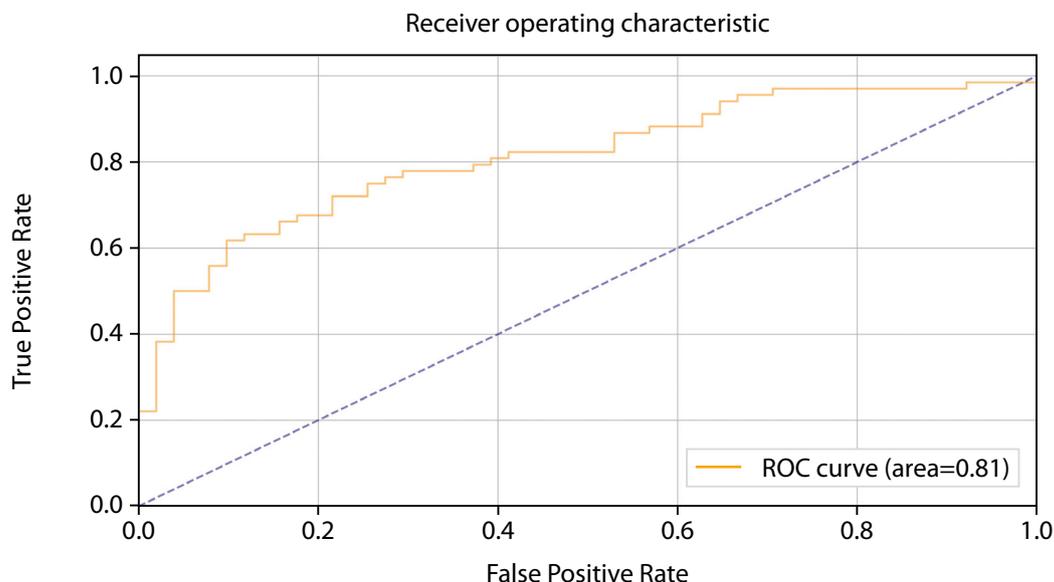


Рисунок 11. ROC-кривая, построенная по предсказаниям тестовой выборки (мужчины).

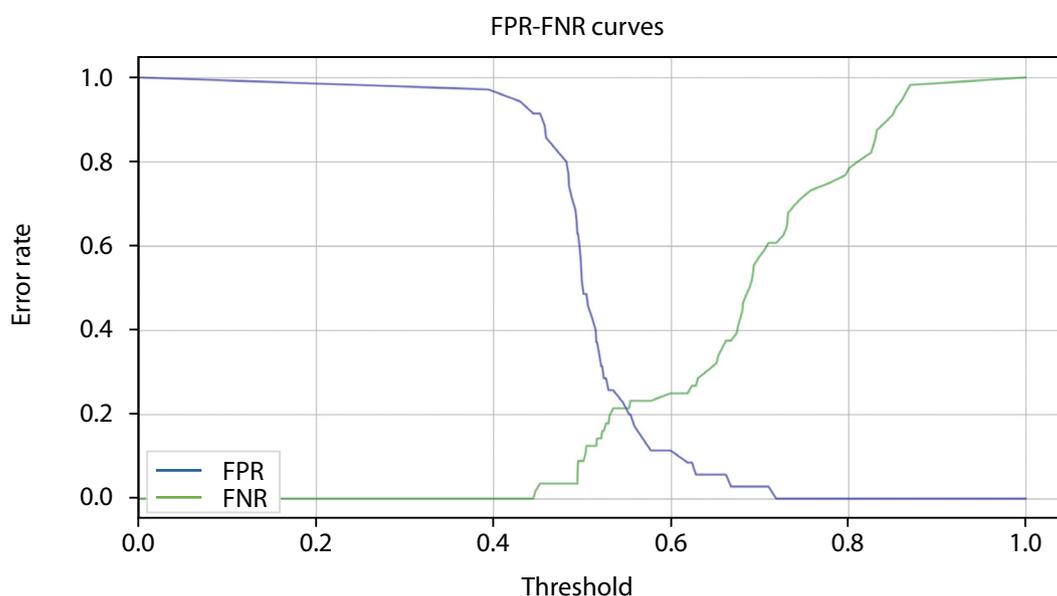


Рисунок 12. Определение порога бинарной классификации в модели CatBoostClassifier по пересечению кривых FPR и FNR (мужчины).

## ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании впервые в России применены подходы машинного обучения, в том числе нейросетевого анализа, для разработки модели прогнозирования риска развития остеопороза. Выявленные в ходе работы модели прогнозирования и оценка диагностической эффективности методом МО показали, что для поставленной цели достаточно нескольких слоев полносвязной архитектуры НС или применения алгоритмов МО, таких как CatBoostClassifier с правильно подобранными гиперпараметрами и функциями активации. Проведенное исследование подтвердило перспективность применения новых методов обработки данных на основе МО и НС, а также определило дальнейшие направления работы для увеличения точности диагностирования остеопороза в зависи-

мости от генетической предрасположенности и ряда других характеристик. ДНК-маркеры риска, идентифицированные в GWAS и метаанализах, представляют собой проблему в традиционном статистическом анализе, поскольку величина их эффекта риска очень мала. Каждый ассоциированный с остеопорозом однонуклеотидный полиморфизм вносит минимальный вклад в варибельность уровня минеральной плотности костной ткани (МПКТ), поэтому использование машинного обучения представляет высокую ценность как инструмент, позволяющий учитывать множество предикторов с малым эффектом.

### Репрезентативность выборок

Исследование выполнено на репрезентативной выборке, позволяющей получить статистически релевантные результаты.

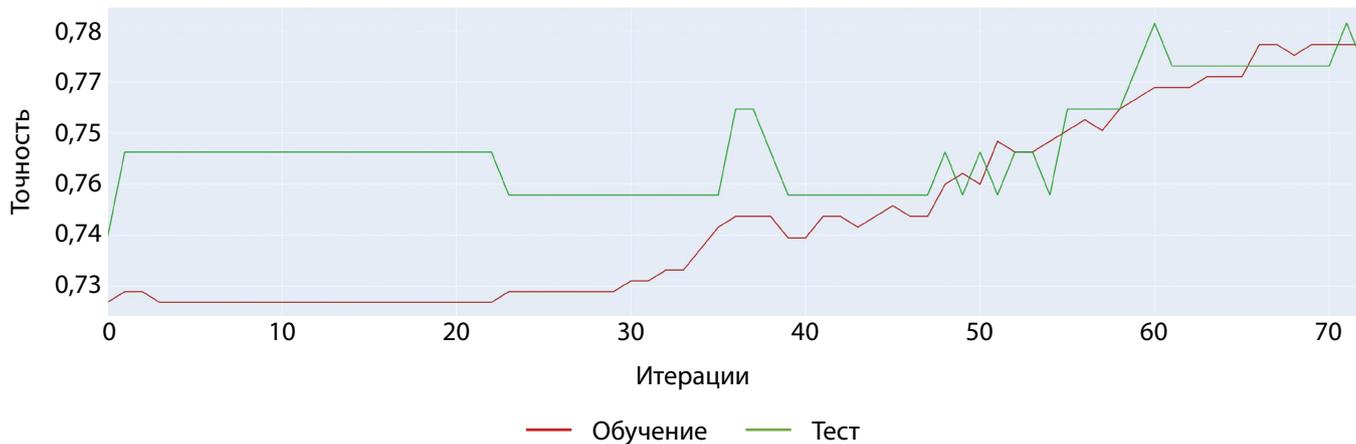


Рисунок 13. График точности при обучении модели CatBoostClassifier (женщины).

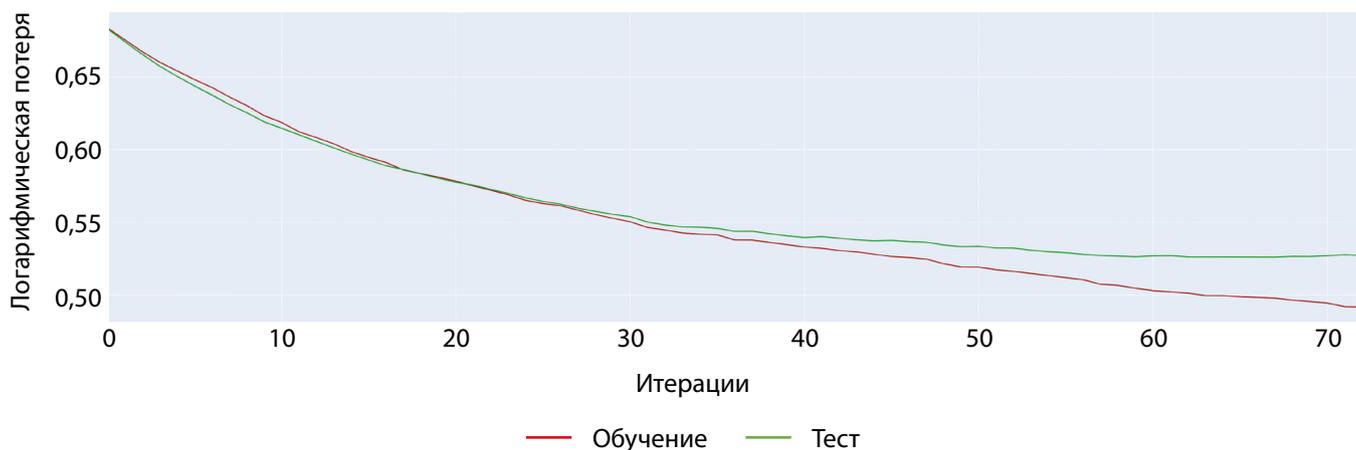


Рисунок 14. График ошибки при обучении модели CatBoostClassifier (женщины).

Нейросеть Fracture prediction: матрица ошибок нормализованная

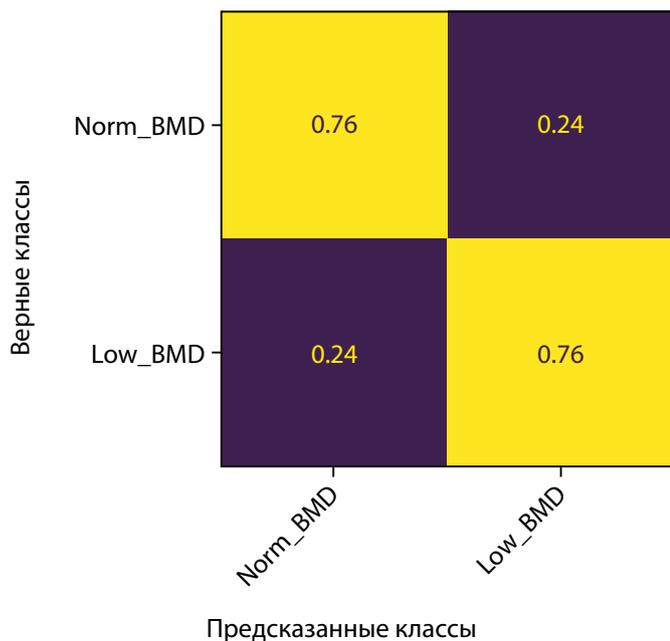


Рисунок 15. Нормализованная матрица ошибок предсказания двух классов МПКТ на проверочной выборке (женщины).

Нейросеть Fracture prediction: матрица ошибок нормализованная

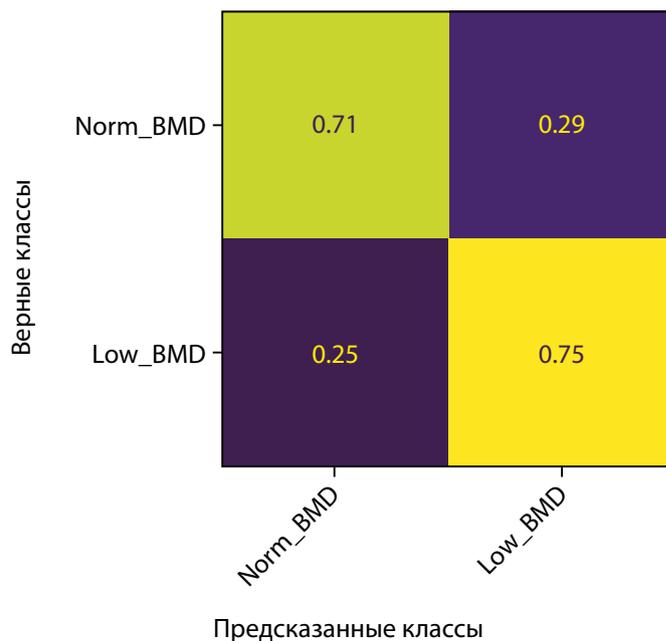


Рисунок 16. Нормализованная матрица ошибок предсказания двух классов МПКТ на тестовой выборке (женщины).

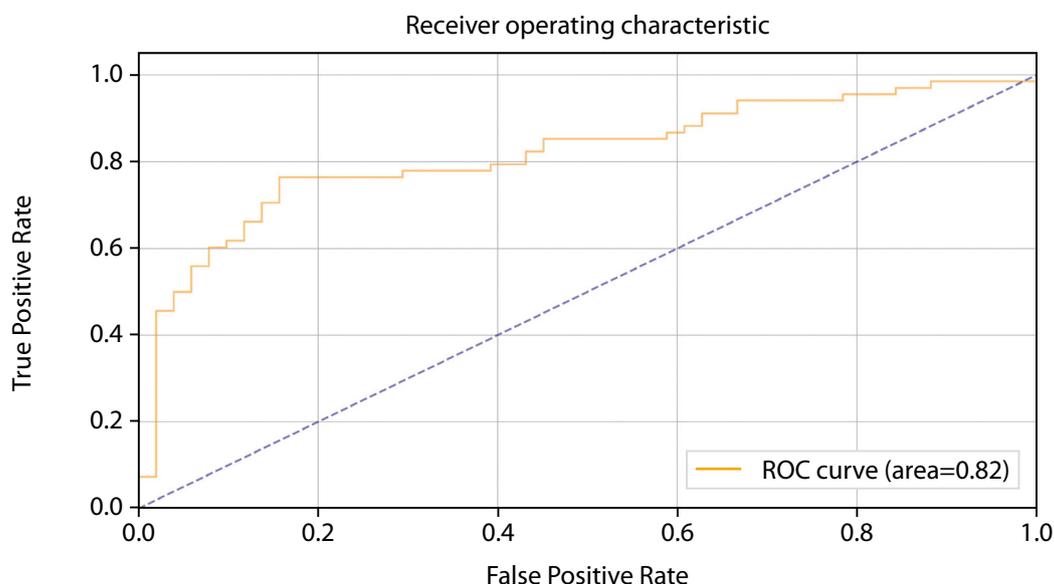


Рисунок 17. ROC-кривая, построенная по предсказаниям тестовой выборки (женщины).

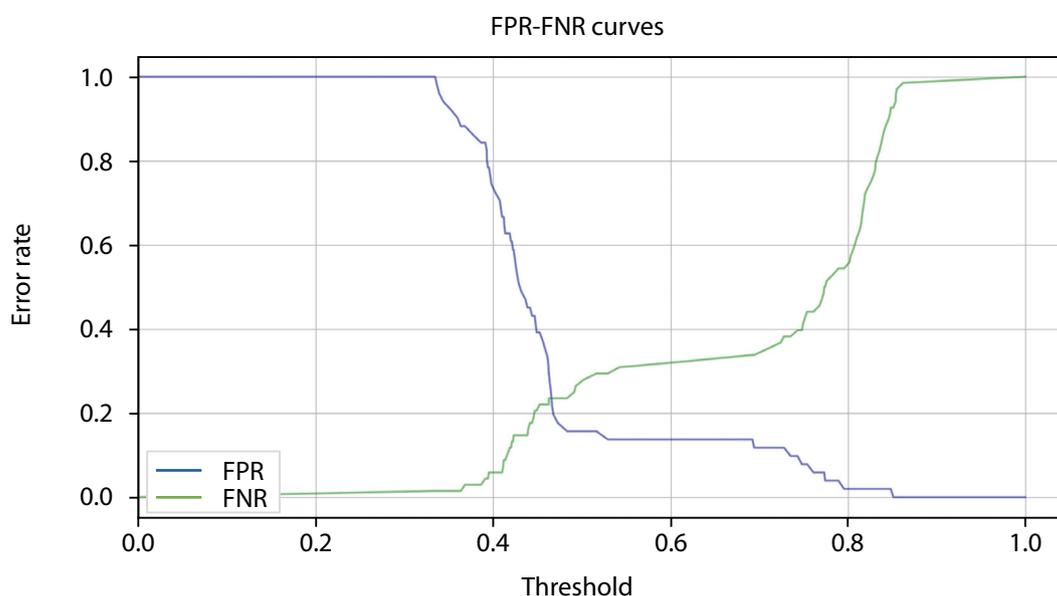


Рисунок 18. Определение порога бинарной классификации в модели CatBoostClassifier по пересечению кривых FPR и FNR (женщины).

### Сопоставление с другими публикациями

Хорошо зарекомендовавшие себя методы линейной и логистической регрессии до сих пор используются при моделировании прогноза риска переломов, однако модели машинного обучения также нашли свое применение при изучении остеопороза и могут предложить более перспективные системы прогнозирования риска развития ОП. Так, научной группе Ho-Le с соавт. (2017 г.) удалось добиться значимого результата, разработав чувствительные модели прогнозирования риска переломов шейки бедра на основе нейросетевого анализа (с показателем AUC до 0,7–0,85) [15]. Ferizi с соавт. (2019 г.) использовали данные магнитно-резонансной томографии (МРТ) 32 женщин с предшествующими переломами и, сравнив 15 так называемых классификаторов машинного обучения, пришли к выводу, что логистическая регрессия, линейный дискриминант или алгоритм «усиленных деревь-

ев принятия решений» обеспечивают наилучший баланс чувствительности и специфичности для прогнозирования остеопоротических переломов, а также то, что инструмент прогнозирования переломов FRAX может быть улучшен только технологией машинного обучения [16]. Интересным представляется исследование Wu Q. с соавт. (2021 г.), которые применили подходы МО для прогнозирования уровня МПКТ с использованием генетических (1103 SNP) и фенотипических данных пожилых мужчин (N=5130). Они установили, что модели МО проявили себя гораздо эффективнее линейной регрессии с регуляризацией лассо, а метод «повышения градиента» показал лучшие результаты. Наибольшей прогностической силы их модель достигла, когда вклад SNP-маркеров учитывался дискретно без поправки на коэффициент полигенного риска, однако это создало помехи при оценке общего вклада генетических предикторов [17].

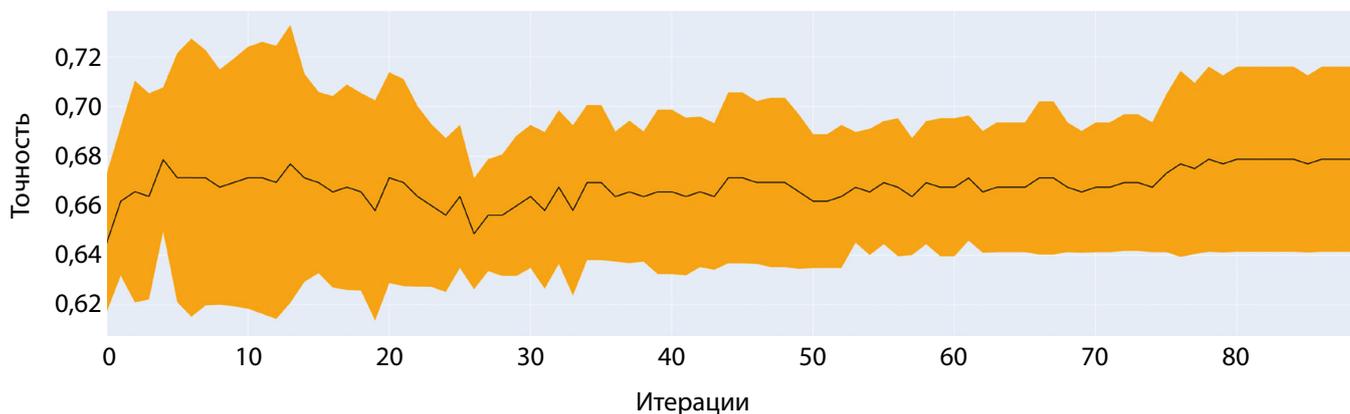


Рисунок 19. Точность на тестовых наборах при пятикратной кросс-валидации (мужчины).

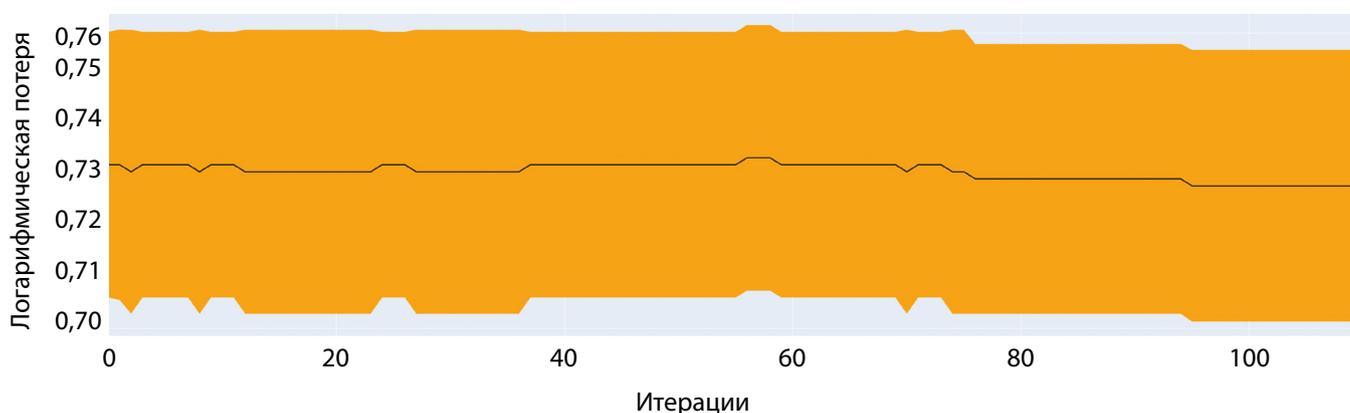


Рисунок 20. Точность на тестовых наборах при пятикратной кросс-валидации (женщины).

Тем не менее полигенную оценку риска (PRS) следует относить к наиболее передовым подходам при разработке прогностических моделей, ввиду того, что эффекты риска (OR/beta) могут быть объединены в полигенную шкалу риска, отражающую часть индивидуальной восприимчивости человека к остеопорозу с учетом специфики генофонда изучаемой популяции [18–19]. Ранее, на основе PRS анализа, мы разработали модели прогнозирования риска переломов у женщин в постменопаузе из Волго-Уральского региона России с эффективностью 74% (AUC=0,740; OR=2,9 (95% ДИ 2,353–3,536)), формирования низкого уровня МПКТ с эффективностью 79% (AUC=0,790; OR=3,94 (95% ДИ 2,993–5,337)), а также риска переломов в сочетании с низким уровнем МПКТ с точностью 85% (AUC=0,850; OR=6,6 (95% ДИ 4,411–10,608)) [11]. Интересным представляются результаты работы Chen с соавт. (2021 г.), которые провели анализ профиля экспрессии генов с использованием машинного обучения, изучили модель из 176 генов, которые, по прогнозам, были ассоциированы с возникновением ОП. Всего были идентифицированы 50 ключевых генов. Затем из них 22 гена были проверены на основе поэтапного регрессионного анализа, после чего 9 генов были дополнительно проверены с использованием многомерного регрессионного анализа с порогом значимости  $p < 0,01$ . На этой основе ими была разработана модель с высокой предсказательной ценностью на основе значимых полиморфных локусов 9 генов: *LCK* (протоонкоген *LCK*, тирозинкиназа семейства *Src*), *LY9* (антиген лимфоцитов 9), *CD5* (молекула *CD5*), *P2RY8* (член семейства 8-рецепторов *P2Y*), *KCTD7* (Домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий

7), *MDN1* (Домен тетрамеризации калиевого канала, содержащий 7), *ITK* (киназа Т-клеток, индуцируемая IL2), *CAPN2* (кальпаин 2) и *HTT* (гентингтин) [20]. Однако результаты не были воспроизведены.

#### Направления дальнейших исследований

Несмотря на то, что подход машинного обучения улучшает способность прогнозирования, метод требует дальнейшей апробации на расширенной выборке с использованием большего охвата анализируемых параметров. Прогностические модели риска остеопороза требуют дальнейшего совершенствования. Для современной предиктивной медицины внедрение методов МО является приоритетной задачей. Это объясняется ростом распространенности социально значимых заболеваний в мире, а это, в свою очередь, ложится огромным экономическим бременем на государство при финансировании реабилитационных центров и других структур здравоохранения, ответственных за лечение пациентов с остеопоротическими переломами. На сегодняшний день лишь несколько моделей МО прогнозируют остеопоротические переломы и улучшают прогнозирование переломов бедра за пределами логистической регрессии [21]. Также алгоритмы МО применены для определения вероятности переломов бедра, продолжительности реабилитации и продолжительности последующего ухода за пациентами с переломом бедра [22]. Необходимо проведение сравнительного анализа и проверки эффективности машинного обучения нейросетей в способности улучшать модели прогнозирования риска развития остеопороза на основе клиничко-генетических данных.

Машинное обучение направлено на реализацию программных алгоритмов, способных довести точность прогнозирования того или иного исхода на основе сложных данных до 70–80%, кроме того, для этого метода характерна способность моделировать сложные взаимосвязи большого количества переменных. Повышение градиента, метод «случайного леса» и сверточная нейронная сеть — широко используемые подходы МО для моделирования сложных медицинских данных [23]. Однако эффективность этих моделей машинного обучения для прогнозирования риска переломов остается в значительной степени неизвестной.

### Значимость результатов

Основываясь на наших предыдущих научных исследованиях, мы выделили наиболее значимые для прогнозирования вероятности низкого уровня МПКТ ДНК-маркеры и клинически значимые характеристики, которые в совокупности повышают возможности даже простых моделей выполнять медицинский скрининг, помогая первичному звену медицинской помощи принимать квалифицированное решение о необходимости направить пациента на дополнительные и дорогостоящие исследования. Однако в то же время проект является пилотным с точки зрения исследования остеопороза с использованием клинико-генетических данных на основе технологий нейросетевого анализа, поэтому расширение выборки для усиления потенциала обучения моделей и включение дополнительных ДНК-маркеров будет продолжено.

На сегодняшний день существуют две основные проблемы внедрения технологии машинного обучения в область диагностической медицины для прогнозирования риска остеопоротических переломов.

- Проблема «полигенности» остеопороза: с данным заболеванием ассоциировано множество локусов (более 100), однако обучение нейросетей показывает, что модель лучше работает при ограниченном количестве ДНК-маркеров.
- Проблема переобучения моделей на малых выборках: несмотря на кросс-валидационный анализ и проверку чувствительности модели. Для более точной проверки требуется воспроизведение результатов исследования на больших выборках.

Для решения этих проблем существует 2 пути:

- 1) поиск новых алгоритмов анализа массивов генетической информации, в том числе с использованием глубокого машинного обучения и современных нейросетевых моделей, которые позволили бы учесть больше ДНК-маркеров без потери качества и прогностической мощности моделей;
- 2) обучение нейросетевых моделей на полногеномных данных из выборок пациентов с первичным остеопорозом, проживающих на территории России, для учета специфики генофонда российских популяций.

Мы установили, что метод классификации на основе алгоритма «решающих деревьев» опережает решение на основе нейронной сети, но мы знаем, что с накоплением большего количества данных нейронная сеть будет работать не хуже, благодаря расширению потенциала обучения. Важно помнить, что важным преимуществом перед классическими статистическими методами является то, что методы МО способны обрабатывать данные большого размера и включать различные нелинейные взаимодействия между генетическими вариантами/предикторами, которые не могут быть выявлены традиционными методами моделирования. В данной работе удалось добиться лучших результатов используя метод классификации на основе алгоритма «решающих деревьев». Мы надеемся, что в результате дальнейшей работы могут быть получены более точные результаты и с применением методов на основе нейросетей. Таким образом, подходы МО обладают большим потенциалом для улучшения прогнозирования риска переломов и уровня МПКТ и способны служить подспорьем для прикладных разработок в медицине.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного исследования мы разработали прогностическую модель на основе CatBoostClassifier и модель на основе полносвязных слоев нейросетей, предсказывающие риск формирования низкого уровня минеральной плотности костной ткани с учетом клинико-генетических данных с эффективностью, достигающей AUC=0,81 для мужчин и AUC=0,82 для женщин на независимом датасете. Метод машинного обучения следует рассматривать как инструмент для обеспечения лучшей стратификации риска ОП для выявления лиц с высоким риском перелома, особенно с учетом того, что генетические данные являются значимым предикторами первичного остеопороза.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2022-310 от 20 апреля 2022 г.).

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

**Участие авторов.** Ялаев Б.И. — написание статьи, обобщение и интерпретация результатов с сопутствующим анализом зарубежной литературы по теме исследования, внесение в рукопись существенной правки с целью повышения научной ценности статьи; Новиков А.В. — оптимизация алгоритмов машинного обучения, подбор программных протоколов для улучшения прогностической ценности моделей; Миннихметов И.Р. — администрирование проекта, редактирование статьи; Хусаинова Р.И. — руководство, концептуализация и администрирование проекта, редактирование статьи.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Pisani P, Renna MD, Conversano F, et al. Major osteoporotic fragility fractures: Risk factor updates and societal impact. *World J Orthop.* 2016;7(3):171-181 doi: <https://doi.org/10.5312/wjo.v7.i3.171>
2. Salari N, Ghasemi H, Mohammadi L, et al. The global prevalence of osteoporosis in the world: a comprehensive systematic review and meta-analysis. *J Orthop Surg Res.* 2021;16(1):609. doi: <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02772-0>

3. Заигрова Н.К., Уряшев О.М., Шаханов А.В., Твердова Л.В. Возможности инструмента FRAX в диагностике остеопороза // *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова*. — 2017. — Т. 25. — №1. — С. 62-68. [Zaigrova NK, Uryashev OM, Shahanov AV, Tverdova LV. *Vozmozhnosti instrumenta FRAX v diagnostike osteoporoz. Rossijskij mediko-biologicheskij vestnik imeni akademika I.P. Pavlova*. 2017;25(1):62-68 (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.23888/pavlovj2017162-68>
4. Вербовой А.Ф., Пашенцева А.В., Шаронова Л.А. Остеопороз: современное состояние проблемы // *Терапевтический архив*. — 2017. — Т. 89. — №5. — С. 90-97. [Verbovoj AF, Pashenceva AV, Sharonova LA. *Osteoporoz: sovremennoe sostoyanie problemy. Terapevticheskij arhiv*. 2017.89(5):90-97 (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2016.048>
5. Лесняк О.М., Баранова И.А., Белова К.Ю., Гладкова Е.Н., Евстигнеева Л.П. и др. Остеопороз в Российской Федерации: эпидемиология, медико-социальные и экономические аспекты проблемы (обзор литературы) // *Травматология и ортопедия России*. — 2018. — Т. 24. — №1. — С.155-168. [Lesnyak OM, Baranova IA, Belova KYu, Gladkova EN, Evstigneeva LP. *Osteoporoz v Rossijskoj Federacii: epidemiologiya, mediko-social'nye i ekonomicheskie aspekty problemy (obzor literatury). Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2018;24(1):155-168.(In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.21823/2311-2905-2018-24-1-155-168>
6. Foger-Samwald U, Dvojak P, Azizi-Semrad U, et al. Osteoporosis: Pathophysiology and therapeutic options. *EXCLI J*. 2020;19:1017-1037 doi: <https://doi.org/10.17179/excli2020-2591>
7. Makitie RE, Costantini A, Kampe A et al. New insights into monogenic causes of osteoporosis. *Front. Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:70. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00070>
8. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E. et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet*. 2012;44(5):491-501 doi: <https://doi.org/10.1038/ng.2249>
9. Howard GM, Nguyen TV, Harris M, et al. Genetic and environmental contributions to the association between quantitative ultrasound and bone mineral density measurements: A twin study. *J Bone Miner Res*. 1998;13(8):1318-1327. doi: <https://doi.org/10.1359/jbmr.1998.13.8.1318>
10. Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet*. 2009;41(11):1199-1206. doi: <https://doi.org/10.1038/ng.446>
11. Yalaev B, Tyurin A, Prokopenko I, et al. Using a polygenic score to predict the risk of developing primary osteoporosis. *Int J Mol Sci*. 2022;23(17):10021. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms231710021>
12. Ferizi U, Honig S, Chang G. Artificial intelligence, osteoporosis and fragility fractures. *Curr Opin Rheumatol*. 2019;31(4):368-375. doi: <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000607>
13. Kanis JA on behalf of the World Health Organization Scientific Group (World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK). Assessment of osteoporosis at the primary health-care level. *Technical Report*. 2007. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield
14. Kanis J, McCloskey EV, Johansson H, et al. A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone*. 2008;42(3):467-75. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2007.11.001>
15. Ho-Le TP, Center JR, Eisman JA, et al. Prediction of hip fracture in post-menopausal women using artificial neural network approach. *Proc Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc*. 2017;2017:4207-4210. doi: <https://doi.org/10.1109/EMBC.2017.8037784>
16. Ferizi U, Besser H, Hysi P, et al. Artificial intelligence applied to osteoporosis: a performance comparison of machine learning algorithms in predicting fragility fractures from MRI data. *J Magn Reson Imaging*. 2019;49(4):1029-1038. doi: <https://doi.org/10.1002/jmri.26280>
17. Wu Q, Nasoz F, Jung J, et al. Machine learning approaches for the prediction of bone mineral density by using genomic and phenotypic data of 5130 older men. *Sci Rep*. 2021;11(1):4482. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83828-3>
18. Lewis CM, Vassos E. Polygenic risk scores: from research tools to clinical instruments. *Genome Med*. 2020;12(44):1-11. doi: <https://doi.org/10.1186/s13073-020-00742-5>
19. Choi SW, Mak TSH, O'Reilly PF. Tutorial: a guide to performing polygenic risk score analyses. *Nat Protoc*. 2020;15(9):2759-2772. doi: <https://doi.org/10.1038/s41596-020-0353-1>
20. Chen X, Liu G, Wang S, et al. Machine learning analysis of gene expression profile reveals a novel diagnostic signature for osteoporosis. *J Orthop Surg Res*. 2021;16(1):189. doi: <https://doi.org/10.1186/s13018-021-02329-1>
21. Kruse C, Eiken P, Vestergaard P. Machine learning principles can improve hip fracture prediction. *Calcif Tissue Int*. 2017;100(4):348-360. doi: <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0238-7>
22. Rahim F, Zadeh AZ, Javanmardi P, et al. Machine learning algorithms for diagnosis of hip bone osteoporosis: a systematic review and meta-analysis study. *Biomed Eng Online*. 2023;22(1):68. doi: <https://doi.org/10.1186/s12938-023-01132-9>
23. Hsieh CH, Lu RH, Lee NH, et al. Novel solutions for an old disease: diagnosis of acute appendicitis with random forest, support vector machines, and artificial neural networks. *Surgery*. 2011;149(1):87-93. doi: <https://doi.org/10.1016/j.surg.2010.03.023>

Рукопись получена: 18.12.2023. Одобрена к публикации: 24.01.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

**\*Ялаев Булат Илдусович**, к.б.н. [Yalaev B. Ildusovich, PhD]; адрес: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11 [11 Dmitriya Ulyanov str., Moscow, 117292]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4337-1736>; SPIN-код: 2546-1425; e-mail: [yalaev.bulat@yandex.ru](mailto:yalaev.bulat@yandex.ru)

**Новиков Андрей Викторович** [Novikov A. Viktorovich]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0002-7768-5223>; e-mail: [eandnov@gmail.com](mailto:eandnov@gmail.com)

**Миннихметов Илдар Рамилевич**, к.б.н. [Minniakhmetov I. Ramilevich, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7045-8215>; SPIN-код: 8643-7056; e-mail: [minniakhmetov.ildar@endocrincentr.ru](mailto:minniakhmetov.ildar@endocrincentr.ru)

**Хусаинова Рита Игоревна**, д.б.н., проф. [Khusainova R. Igorevna, PhD, professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8643-850X>; SPIN-код: 4091-9326; e-mail: [ritakh@mail.ru](mailto:ritakh@mail.ru)

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Ялаев Б.И., Новиков А.В., Миннихметов И.Р., Хусаинова Р.И. Разработка прогностических клинико-генетических моделей риска развития первичного остеопороза с использованием нейросетевого обучения // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 67-82. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13421>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Yalaev BI, Novikov AV, Minniakhmetov IR, Khusainova RI. Development of prognostic clinical and genetic models of the risk of low bone mineral density using neural network training. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):67-82. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13421>

## ЗНАЧИМОСТЬ И МЕТОДОЛОГИЯ МОНИТОРИНГА Кальциемии ПРИ НАРУШЕНИЯХ МИНЕРАЛЬНОГО ОБМЕНА: ВЫЗОВЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ



© К.А. Чубакова\*, Е.М. Каменских, Т.В. Саприна

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Россия

Нарушения кальций-фосфорного обмена могут вызывать тяжелые соматические патологии, требующие медикаментозной коррекции, в том числе в стационарных условиях. При этом распространенность заболеваний, сопровождающихся нарушениями кальциевого обмена, варьирует от низкой до средней. Например, первичный гиперпаратиреоз как одна из наиболее частых причин патологических изменений метаболизма кальция вследствие гиперсекреции паратиреоидного гормона встречается с частотой от 85 до 233 случаев на 100 тыс. человек. В странах, где рутинно измерение кальция крови не проводится, данное заболевание и сходные состояния диагностируются реже, и на более поздних стадиях с превалированием манифестных и осложненных форм. Однако нарушения кальциевого обмена требуют своевременного выявления и коррекции с целью предотвращения осложнений. При этом в ряде клинических ситуаций стандартный лабораторный анализ не является оптимальным диагностическим вариантом в связи с длительностью и сложностью проведения. В частности, развитие острой гипер- и гипокальциемии требует более быстрого получения результата исследования крови. Также при ведении больных с хроническими нарушениями метаболизма кальция, особенно на этапе подбора лекарственной терапии и титрации доз, перспективно применение способов определения уровня кальция, позволяющих оценить актуальный уровень кальциемии непосредственно на врачебном приеме. В связи с этим при необходимости длительного мониторинга или в экстренных ситуациях потенциальную пользу можно получить при использовании портативных устройств формата Point-of-Care (POC) или нательных биосенсоров ("wearable biosensors"). В данном обзоре рассмотрены клинические и методологические аспекты мониторинга уровня кальция, их возможности и практические ограничения, а также освещены перспективы разработки и внедрения устройств типа POC и биосенсоров, чувствительных к ионизированному кальцию.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** кальций; гипокальциемия; первичный гиперпаратиреоз; нарушения кальциевого обмена; устройства Point-of-Care; нательные электронные устройства.

## SIGNIFICANCE AND METHODOLOGY OF MONITORING CALCEMIA IN DISORDERS OF MINERAL METABOLISM: CHALLENGES AND PROSPECTS

© Ksenya A. Chubakova\*, Ekaterina M. Kamenskikh, Tatiana V. Saprina

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia

Disorders of calcium and phosphorus metabolism can cause severe complications that require changing of therapeutic strategies and a long treatment in a hospital. The prevalence of diseases accompanied by calcium metabolism disorders varies from low to moderate. For example, primary hyperparathyroidism, as one of the most common causes of pathological changes in calcium metabolism due to parathyroid hormone hypersecretion, occurs with a frequency of 85 to 233 cases per 100 thousand people. In countries where blood calcium measurements are not routinely carried out, this disease and similar conditions are diagnosed less frequently, and at later stages, with a predominance of manifest and complicated forms. However, calcium metabolism disorders require timely detection and correction in order to prevent complications. At the same time, in a number of clinical situations, standard laboratory analysis is not the optimal diagnostic option due to the duration and complexity of its implementation. In particular, the development of acute hyper- and hypocalcemia requires faster obtaining of blood test results. It is promising to apply technologies allowing to quick assess the current level of calcium directly at a doctor's appointment especially in cases of drug doses adjustment for patients with chronic disorders of calcium metabolism. In this regard, when long-term monitoring of calcemia is required or in emergency situations, the potential benefit can be obtained by using portable Point-of-Care (POC) devices or wearable biosensors. This review examines the clinical and methodological aspects of monitoring calcium levels, their capabilities and practical limitations, and also highlights the prospects for the development and implementation of POC devices and biosensors for ionized calcium.

**KEYWORDS:** calcium; hypocalcemia; primary hyperparathyroidism; calcium metabolism disorders; Point-of-Care systems; wearable electronic devices.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



## ВВЕДЕНИЕ

Уровень внеклеточного кальция в биологических жидкостях человека является константой, поддерживаемой в довольно узком диапазоне, и регулируется несколькими системами организма [1]. Гомеостаз кальция тесно связан с секрецией паратиреоидного гормона (ПТГ), метаболизмом фосфора и эффектами витамина D [2]. Ионы кальция участвуют в механизмах передачи нервного импульса, мышечных сокращениях, свертывании крови, межклеточной адгезии и секреции ряда гормонов [3]. В связи с этим изменение баланса кальция, фосфора, ПТГ и витамина D обуславливает гипер- или гипокальциемию и приводит к мультисистемным нарушениям [4]. При резких колебаниях концентрации кальция крови возможно развитие острых состояний: гипо- и гиперкальциемических кризов [5, 6]. Менее выраженное отклонение уровня кальция от референсных значений при длительном течении патологии активизирует компенсаторные механизмы, в связи с чем клиническая картина в таких случаях может быть стертой, вплоть до бессимптомной [5]. Однако осложнения хронического нарушения фосфорно-кальциевого обмена могут стать причиной стойких нарушений функций организма с ограничением трудоспособности, в частности — низкотравматичных переломов, почечной недостаточности (стадии 4–5 хронической болезни почек (ХБП), особенно в сочетании с нефролитиазом) [3]. В связи с этим важно своевременное определение уровня кальция, что позволит подобрать оптимальную стратегию лечения. Для оценки кальциемии в неотложных ситуациях или при необходимости ее длительного мониторинга в амбулаторных или домашних условиях выглядит перспективным использование малогабаритных портативных устройств, не требующих сложной пробоподготовки биоматериала и предоставляющих результат анализа в течение нескольких минут [7].

В данном обзоре рассмотрены основные патологии, при которых рекомендуется определять уровень кальция крови, возможности и ограничения применяемых в настоящее время лабораторных методов исследования кальциемии, освещены новые технологические подходы к измерению ионизированного кальция крови.

## ОСНОВНЫЕ СОСТОЯНИЯ, ТРЕБУЮЩИЕ КОНТРОЛЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЛЬЦИЕМИИ

Патология околотитовидных желез (ОЦЖ) является одной из особо значимых причин отклонения показателей кальциемии от нормы. Так, наиболее частой причиной гиперкальциемии является гиперпаратиреоз [8]. По данным эпидемиологического исследования в Соединенных Штатах Америки, включавшем 3,5 млн пациентов и длившемся в период с 1995 по 2010 гг., распространенность первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) составила 233 и 85 человек на 100 тыс. населения среди женщин и мужчин соответственно [9]. Масштабных популяционных исследований распространенности ПГПТ в России не проводилось, однако с 2016 г. ведется российский регистр ПГПТ, и, согласно опубликованным данным, на 2022 г. в базе содержались сведения о 6003 пациентах с данным заболеванием [10]. При длительном течении

ПГПТ на фоне нарушения фосфорно-кальциевого обмена развиваются полиорганные осложнения со стороны почек, костной, сердечно-сосудистой, мышечной систем, желудочно-кишечного тракта, что приводит к снижению качества жизни пациентов [11]. Для верификации диагноза ПГПТ и назначения терапии важна лабораторная диагностика, включающая определение уровней кальция и ПТГ в крови, а также фосфора и витамина D [12]. Выявление гиперкальциемического варианта бессимптомного ПГПТ чаще всего происходит по результатам рутинного скрининга кальция [11]. Например, в описанном выше американском исследовании путем повторных измерений была обнаружена хроническая гиперкальциемия у более 15 тыс. человек (0,4%), в 87% случаев (13 327 человек) обусловленная ПГПТ, протекавшим бессимптомно [9]. В Российской Федерации, по данным скрининга кальциемии среди жителей Химок и Коломны Московской области (n=674), проводившемся в 2017 г., частота гиперкальциемии составила 0,7% [13].

Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по первичному гиперпаратиреозу (2020 г.), пациентам с бессимптомным течением заболевания и отсутствием показаний к хирургическому лечению при выборе консервативной тактики рекомендуется контроль уровня кальция крови 2–4 раза в год, а установление такого диагноза, как нормокальциемический ПГПТ, требует минимум двукратного измерения показателей кальция и ПТГ за период 3–6 месяцев [12].

Противоположной патологией ОЦЖ является гипопаратиреоз, при котором наблюдается недостаточная выработка ПТГ, низкая концентрация кальция крови и высокая — фосфора [14]. Пациентам с гипопаратиреозом требуется динамический мониторинг кальция, фосфора, магния крови, а также креатинина с расчетом скорости клубочковой фильтрации (СКФ) с частотой от 1 раза в 3–6 месяцев при достижении компенсации до нескольких раз в неделю при подборе адекватной терапии. Беременным с гипопаратиреозом рекомендуется регулярно оценивать показатели фосфорно-кальциевого обмена с интервалом в 3–4 недели [15]. В сложных клинических случаях хронического гипопаратиреоза может быть полезным определение суточного профиля кальциемии, так как стандартный подход с измерением уровня кальция в крови в утренние часы не всегда отражает его истинные колебания в течение суток [16]. В литературе описана серия клинических случаев, в которых исследование кальциемии каждые 2 часа в течение суток позволило оценить течение заболевания, верно интерпретировать симптомы и скорректировать лечение [16].

Выраженные нарушения фосфорно-кальциевого обмена наблюдаются при длительном течении ХБП. На фоне снижения экскреции фосфора с мочой и стойкой гиперфосфатемии происходит ингибирование  $\alpha$ -1 гидроксигидрокси-25-гидроксистероидовидного витамина D, развитие гипокальциемии. Повышается продукция ПТГ, и в результате хронической гиперфункции ОЦЖ возникает их диффузная гиперплазия, что является причиной вторичного гиперпаратиреоза [17]. При длительно персистирующем вторичном гиперпаратиреозе возможно формирование диффузно-узелковой гиперплазии ОЦЖ с развитием третичного гиперпаратиреоза, характеризующимся функциональной автономией ОЦЖ с избыточной секрецией

ПТГ и гиперкальциемией [8, 17]. Указанные состояния требуют мониторинга кальций-фосфорного обмена, и, согласно Практическим рекомендациям Инициативы по улучшению глобальных исходов лечения пациентов с ХБП (Kidney Disease: Improving Global Outcomes, KDIGO) по диагностике, профилактике и лечению минеральных и костных нарушений при ХБП (ХБП-МКН), частота измерения уровней кальция и фосфора крови варьирует в пределах 1–6 месяцев, а частота определения уровня ПТГ — 3–12 месяцев, в зависимости от стадии ХБП [18].

При гипокальциемии повышается нервно-мышечная возбудимость и риск судорожного синдрома [19]. При этом пароксизмальные неврологические состояния могут быть проявлением эпилепсии, травмы головного мозга, а также интоксикации, метаболических нарушений, а из электролитных сдвигов наибольшее значение в возникновении острых симптоматических судорог имеет гипокальциемия, гипомагниемия и изменение уровня натрия [20]. Существует значительный риск ошибочного установления диагноза «Эпилепсия» на фоне гипокальциемических состояний [20, 21]. Если судорожный синдром, вызванный нарушением гомеостаза других электролитов, чаще возникает вследствие острой патологии (массивная рвота, диарея, передозировка лекарственных средств), то гипокальциемические судороги в большинстве случаев ассоциированы с хронической патологией и повторяются с различной периодичностью [22]. Li et al. (2018 г.) в своей работе приводят данные о гипердиагностике эпилепсии у 179 пациентов, в действительности страдающих гипопаратиреозом, за период с 1994 по 2013 гг. в Китае [23]. В педиатрической практике также актуальна проблема установления этиологии судорог у детей со спазмофилией, генетически обусловленными нарушениями фосфорно-кальциевого обмена, в частности псевдогипопаратиреозом и аутоиммунным полигландулярным синдромом 1-го типа [19, 20]. Для адекватной оценки клинической ситуации и своевременного назначения лечения рекомендуется всем детям с судорожным синдромом определять уровень кальция в крови [19].

Отдельного внимания заслуживает гиперкальциемия при злокачественных заболеваниях (ГКЗНО), встречающаяся у 2–30% пациентов с онкологической патологией [24]. Чаще всего ГКЗНО возникает при таких солидных опухолях, как рак молочной железы, легких, почек, а также при множественной миеломе [25]. Наличие ГКЗНО ассоциировано с более тяжелым течением заболевания и неблагоприятным прогнозом [26]. Bhandari et al. (2019 г.) сравнили исходы у 7,5 млн госпитализированных больных с солидными опухолями: в группе с сопутствующей ГКЗНО смертность составила 12,3% в сравнении с 5,5% в группе без ГКЗНО, при этом другие причины гиперкальциемии были исключены [27]. Раннее выявление и коррекция ГКЗНО способствовали бы улучшению клинического прогноза у онкологических пациентов [24, 26].

Эффекты патологических изменений фосфорно-кальциевого обмена играют значительную роль в метаболизме костной ткани [4]. При этом дефицит кальция — один из основных факторов риска развития остеопороза [28]. На первичный остеопороз приходится 95% всех случаев остеопороза у женщин в постменопаузе и 80% случаев у мужчин старше 50 лет [29]. Согласно Федеральным клиническим рекомендациям по диагностике, лечению

и профилактике остеопороза (2021 г.), в обязательный набор лабораторных исследований крови при впервые установленном остеопорозе включены, помимо стандартных общеклинических показателей, общий магний, неорганический фосфор, общий и ионизированный кальций [29]. Результаты анализов позволяют в том числе и уточнить противопоказания к определенным лекарственным средствам. В частности, при гипокальциемии противопоказано назначение бисфосфонатов и деносумаба, при гиперкальциемии — терипаратида [29, 30]. Также важным клиническим аспектом является наличие коморбидной патологии у многих пациентов с нарушениями фосфорно-кальциевого обмена, что может искажать истинные значения кальциемии при определении уровня общего кальция крови в сравнении с измерением ионизированного [31].

### ИОНИЗИРОВАННЫЙ И АЛЬБУМИН-КОРРЕКТИРОВАННЫЙ КАЛЬЦИЙ КРОВИ

Из общего количества циркулирующего кальция в крови только около 50% является биологически активной ионной формой, остальная часть связана с анионами (10–15%), глобулинами и альбумином (35–40%) [32]. В практической деятельности необходимо оценивать концентрацию свободной фракции в плазме, и для этого используются две альтернативы:

- 1) общий кальций,
- 2) ионизированный кальций.

При измерении общего кальция плазмы необходимо параллельно определять уровень альбумина и затем рассчитывать альбумин-скорректированный кальций [15, 32]. Корректирование общего кальция по альбумину чаще всего осуществляют по формуле Пейна:

$$Ca_{\text{коррект}} = Ca_{\text{плазмы}} + 0,02 \times [40 - \text{альбумин}]$$

**Примечание:**  $Ca_{\text{коррект}}$  — скорректированный кальций (ммоль/л),  $Ca_{\text{плазмы}}$  — измеренный уровень кальция плазмы (ммоль/л), альбумин — измеренный уровень альбумина плазмы (г/л).

В литературе упоминаются и другие уравнения для расчета, а также описывается практика отдельных лабораторий использовать собственные локальные корректировочные формулы [31–33]. Однако расчетный метод определения концентрации свободного кальция крови по уровню общего с поправкой на альбумин не является эталонным и может привести к некорректной оценке кальциемии [31, 33]. Наличие у пациента таких нарушений, как сниженная функция почек (СКФ < 30 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup>), уменьшение концентрации сывороточного альбумина (< 35 г/л), смещение показателя pH крови приводит к существенной погрешности при использовании формул [31]. При снижении СКФ и/или уровня альбумина скорректированные значения кальциемии получаются завышенными более чем в 50% случаев. На фоне алкалоза рассчитанные данные концентрации кальция также выше истинных и, наоборот, ниже — при ацидозе [31]. В то же время у пациентов с нарушениями фосфорно-кальциевого обмена поражение почек со снижением СКФ встречается достаточно часто, в частности у когорты с патологией ОЩЖ [14, 34].

Другим фактором, способствующим искажению вычисляемого уровня кальция крови, является суммация погрешностей при лабораторном анализе концентраций общего кальция и альбумина [35]. Jassam et al. (2020 г.) провели оценку измерений альбумина и общего кальция, полученных в более 100 лабораториях Великобритании на протяжении 6 месяцев, и выявили вариабельность погрешности при определении альбумина от +5,1 до -4,3% и от +2 до -6,7% в зависимости от использования колориметрического метода с бромкрезоловым пурпурным или бромкрезоловым зеленым соответственно [36]. Погрешность измерений общего кальция варьировала от +1,5 до -1%, а на отдельном оборудовании от +3 до -6%. При этом допустимой погрешностью при определении концентрации альбумина считалось значение 1,4% и общего кальция — 1%. При расчете скорректированного кальция по данным измерения погрешность составила 11% (от +5 до -6%), что эквивалентно размаху 0,24–0,29 ммоль/л и является существенным с учетом узкого референсного интервала 2,2–2,6 ммоль/л [36, 37].

Определение вариабельности значений общего кальция крови проводилось и в рамках крупных популяционных исследований. Schini et al. (2021 г.) проанализировали результаты измерений общего кальция с поправкой на связывание с альбумином у 178,4 тыс. человек из когорты биобанка Великобритании (UK Biobank), соответствовавших критериям включения, в том числе СКФ > 60 мл/мин/1,73 м<sup>2</sup> и уровень витамина D > 50 нмоль/л [38]. На начальном этапе дополнительно были исключены еще 2961 человек (1,66%) с резко отличающимися показателями кальциемии от основной массы наблюдений (разброс значений от 1,12 ммоль/л до 3,51 ммоль/л). По результатам работы в исследуемой популяции был определен референсный интервал для альбумин-скорректированного кальция 2,19–2,56 ммоль/л.

В свою очередь, определение ионизированного кальция крови также имеет ограничения, к которым относятся высокая стоимость анализаторов, часто возникающая неисправность ионоселективных электродов, зависимость результатов измерений от pH образцов и использованного антикоагулянта (гепарин — антикоагулянт выбора, цитрат натрия и этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) в большей степени связывают ионы кальция) [37, 38]. В связи с тем, что методики определения как общего, так и ионизированного кальция до сих пор не являются исчерпывающими, мнения экспертов об их применении в практике разнятся [31, 39–41]. При этом имеются преимущества измерения ионизированной формы кальция в отдельных клинических ситуациях, например, при прогнозировании развития гипокальциемии в послеоперационном периоде у перенесших тиреоидэктомию пациентов [42]. Также Tee et al. (2013 г.) установили, что концентрация ионизированного кальция коррелирует с уровнем ПТГ и размером аденом ОЩЖ, и является более чувствительным маркером тяжести течения ПГПТ по сравнению к значению общего кальция [43]. Тем не менее, согласно национальным и зарубежным рекомендациям, в клинической практике в качестве основного метода предлагается определение общего кальция с коррекцией на альбумин при уровне последнего менее 40 г/л и более 45 г/л [12, 15, 24, 29, 41].

## ЛАБОРАТОРНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ КАЛЬЦИЯ В КРОВИ

В настоящее время для определения концентрации общего кальция в крови в клинических лабораториях чаще всего используется фотометрический метод анализа [37]. В его основе лежит цветная реакция, происходящая при селективном связывании кальция с металлохромами и измеряемая на спектрофотометре. Наиболее широко применяются такие индикаторы на кальций, как о-крезолфталеин и арсеназо III. Данные методики чувствительны к отклонениям pH и температуре образцов, что требует тщательного соблюдения требований преаналитического этапа исследований. Более точным методом определения общего кальция крови является атомная абсорбционная спектрометрия (ААС), используемая лишь в отдельных лабораториях в качестве референсного метода [44]. Принцип ААС заключается в селективной абсорбции электромагнитного излучения определенной длины волны свободными атомами исследуемого вещества, находящимися в газообразном состоянии. Исследования Yan et al. (2016 г.) и Zhao et al. (2018 г.) выявили, что самым достоверным методом определения кальция сыворотки крови является масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой [45, 46]. Специальным образом подготовленный раствор исследуемого образца подается в распылитель и в виде аэрозоля передается в аргоновую плазму, где под воздействием высокой температуры диссоциирует на атомы и ионизируется, затем образовавшиеся ионы направляются на детектор. Однако проведение данного вида анализа требует значительных финансовых затрат, тщательной пробоподготовки и дополнительного обучения персонала, что затрудняет его использование в практическом здравоохранении.

Прямые методы определения ионизированного кальция крови основаны на использовании различных модификаций электродов [47]. Классическим и наиболее простым вариантом являются ионоселективные электроды, применяемые в стационарных лабораторных анализаторах, работающих с пробоподготовленной плазмой. В последние годы наблюдается тенденция к упрощению и ускорению процедуры анализа [48]. Так, был разработан ряд портативных устройств Point-of-Care (POC) [49]. Многие модели приборов POC среди прочих показателей измеряют уровень ионизированного кальция крови. Наиболее известными вариантами подобных аппаратов являются Abbott i-STAT Chem8<sup>®</sup> и Nova Stat Profile Prime Plus<sup>®</sup> [50]. Устройства в основном используются в отделениях интенсивной терапии и реанимации, время проведения анализа составляет 1,5–2 минуты, для процедуры требуется 95–135 мкл цельной венозной крови. Принцип работы основан на детекции исследуемых ионов или веществ микроэлектродами, объединенными в биосенсор в виде микрокартриджей.

Также перспективным для динамического наблюдения за пациентами с нарушениями фосфорно-кальциевого обмена в качестве домашнего мониторинга могло бы стать создание моделей POC, изолированно определяющих уровень кальция [6, 7]. В настоящее время подобные устройства исследовались в ветеринарии с целью решения проблемы своевременной диагностики послеродовой гипокальциемии у коров, однако точность

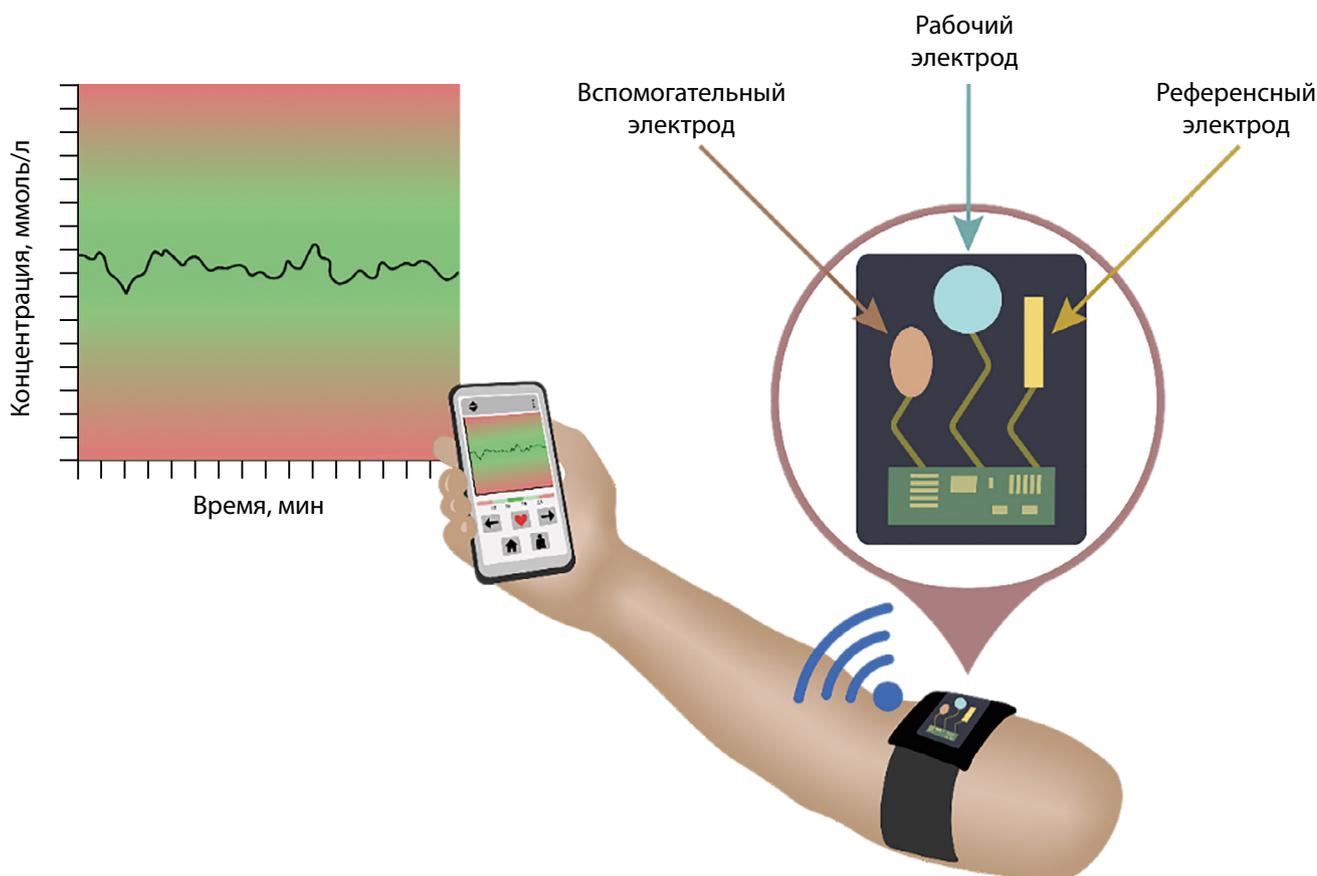


Рисунок 1. Общий принцип работы нательного биосенсора (“wearable biosensor”).

анализа в этих приборах остается недостаточной [51–53]. В том числе имеются технические сложности, например, ионоселективные электроды, рассчитанные на много-разовое использование, быстро выходят из строя при контакте с кровью [37]. Одним из решений является защита электродов полимерной мембраной, и ее наиболее оптимальный состав находится в разработке [54]. Более перспективный вариант — использование одноразовых биосенсоров по типу тест-полосок или микрокартриджей по аналогии с устройствами РОС, применяющихся в отделениях интенсивной терапии [37].

Развивающимся направлением современной диагностики являются модификации биосенсоров, предназначенные для ношения на поверхности тела (“wearable biosensors”) [47]. Такие датчики позволяют проводить неинвазивный мониторинг интересующего параметра в крови и иных биологических жидкостях. Многие модели устройств интегрированы с программным обеспечением смартфона, с которым связываются при помо-

щи Bluetooth (рис. 1). В настоящее время биосенсоры для мониторинга уровня ионизированного кальция в клинической практике не применяются, но существуют в рамках экспериментальных работ. Так, Nyein et al. (2016 г.) создали биосенсор, определяющий в режиме реального времени концентрацию ионизированного кальция и значение pH в поте, планируются дальнейшие разработки для других биологических жидкостей [55]. Подобный неинвазивный метод оценки кальциемии был бы особенно актуален в педиатрической практике. Биосенсор на основе микроигл, сконструированный Molinero-Fernández et al. (2023 г.), позволяет мониторировать уровень ионизированного кальция непосредственно в крови, параллельно с определением pH и ионов K, Na, Li, Cl [56]. Но исследование данного прибора осуществлялось только в лабораторных условиях на животных.

Методы определения общего и ионизированного кальция наглядно представлены в таблице 1.

Таблица 1. Методы для определения общего и ионизированного кальция в крови

Общий кальций	Ионизированный кальций
Фотометрия <ul style="list-style-type: none"> <li>• индикатор о-крезолфталеин</li> <li>• индикатор арсеназо III</li> </ul>	Лабораторные анализаторы с ионоселективными электродами
Атомная абсорбционная спектрометрия	Биосенсоры
Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой	<ul style="list-style-type: none"> <li>• устройства Point-of-Care</li> <li>• нательные биосенсоры</li> </ul>
Референсный интервал: 2,2–2,6 ммоль/л [35]	Референсный интервал: 1,12–1,32 ммоль/л [58]

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Способы определения кальциемии в последнее время были усовершенствованы в сторону повышения точности лабораторного анализа, также появляются новые портативные приборы, предоставляющие результаты в течение нескольких минут. Данный подход в диагностике позволяет врачам быстро выбрать верную тактику лечения больных в сложных клинических ситуациях [7].

Мониторинг ионизированного кальция в крови с помощью устройств РОС или нательных биосенсоров может быть полезным для пациентов с критическими нарушениями фосфорно-кальциевого обмена, угрожающими развитием острых состояний. Также частая оценка позволит наблюдать более точную картину гомеостаза кальция и, возможно, изменит подходы к лечению и дозированию лекарственных средств. Например, подобный контроль показателей выглядит перспективным для больных с гипопаратиреозом, особенно на период подбора терапии до достижения индивидуальных целевых показателей кальция крови [6]. Использование портативных неинвазивных приборов может иметь преимущества и в ранней диагностике нарушения функции

ОЩЖ в послеоперационном периоде у пациентов с хирургическими вмешательствами на шее [57]. Скрининг на нарушение кальциевого обмена требуется и при спастическом синдроме, ХБП, нефролитиазе, необъяснимыми другими причинами полидипсии с полиурией, удлинении или увеличении интервала QT электрокардиограммы, онкологии, патологии костной ткани [2]. Тем не менее необходимы дальнейшие исследования медицинских изделий для адаптации новых технологий к реалиям клинической практики.

## 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

- Bilezikian JP, Brandi ML, Cusano NE, et al. Management of Hypoparathyroidism: Present and Future. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(6):2313-2324. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3910>
- Winter WE, Harris NS. Disorders of calcium metabolism. In: Winter WE, Holmquist B, Sokoll LJ, Bertholf RL, editors. *Handbook of Diagnostic Endocrinology (Third Edition)*. Academic Press; 2021. p.309-388. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818277-2.00010-8>
- Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal Control of Calcium, Phosphate, and Magnesium Homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2015;10(7):1257-1272. doi: <https://doi.org/10.2215/CJN.09750913>
- Sun M, Wu X, Yu Y, et al. Disorders of Calcium and Phosphorus Metabolism and the Proteomics/Metabolomics-Based Research. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:576110. doi: <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.576110>
- Tonon CR, Silva TAAL, Pereira FWL, et al. A Review of Current Clinical Concepts in the Pathophysiology, Etiology, Diagnosis, and Management of Hypercalcemia. *Med Sci Monit Int Med J Exp Clin Res.* 2022;28:e935821. doi: <https://doi.org/10.12659/MSM.935821>
- Bove-Fenderson E, Mannstadt M. Hypocalcemic disorders. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(5):639-656. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2018.05.006>
- Mirzazadeh M, Morovat A, James T, et al. Point-of-care testing of electrolytes and calcium using blood gas analysers: is it time we trusted the results. *Emerg Med J EMJ.* 2016;33(3):181-186. doi: <https://doi.org/10.1136/emmed-2015-204669>
- Guilmette J, Sadow PM. Parathyroid Pathology. *Surg Pathol Clin.* 2019;12(4):1007-1019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.path.2019.08.006>
- Yeh MW, Ituarte PHG, Zhou HC, et al. Incidence and prevalence of primary hyperparathyroidism in a racially mixed population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3):1122-1129. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2012-4022>
- Mokrysheva NG, Eremkina AK, Elfimova AR, et al. The Russian registry of primary hyperparathyroidism, latest update. *Front Endocrinol.* 2023;14:1203437. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1203437>
- Bilezikian JP, Bandeira L, Khan A, et al. Hyperparathyroidism. *Lancet Lond Engl.* 2018;391(10116):168-178. doi: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)31430-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)31430-7)
- 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/probl12801-9964>
- Добрева Е.А., Мирная С.С., Володичева В.Л., и др. Анализ кальциемии у жителей городов Химки и Коломна Московской области. // *Профилактическая медицина.* — 2020. — Т. 23. — №5 — С.99-104. [Dobrova EA, Mirnaya SS, Volodicheva VL, et al. Analysis of calcemic in residents of the cities of Khimki and Kolomna, Moscow region. *Profil Meditsina.* 2020;23(5):99. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17116/profmed20202305199>
- Clarke BL, Brown EM, Collins MT, et al. Epidemiology and Diagnosis of Hypoparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101(6):2284-2299. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2015-3908>
- Ковалева Е.В., Еремкина А.К., Крупинова Ю.А., и др. Обзор клинических рекомендаций по гипопаратиреозу. // *Проблемы Эндокринологии.* — 2021; — Т.67. — №4 — С.68-83. [Kovaleva EV, Eremkina AK, Krupinova JA, et al. Review of clinical practice guidelines for hypoparathyroidism. *Problems of Endocrinology.* 2021;67(4):68-83. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/probl12800-9962>
- Ковалева Е.В., Еремкина А.К., Мокрышева Н.Г. Суточный профиль как диагностический инструмент выявления гипо- и гиперкальциемии у пациентов с хроническим гипопаратиреозом. серия клинических случаев. // *Ожирение и Метаболизм.* — 2021; — Т.18. — №2 — С.175-179. [Kovaleva EV, Eremkina AK, Mokrysheva NG. Daily calcium profile in diagnosis of hypo- and hypercalcemia in patients with chronic hypoparathyroidism. clinical case series. *Obesity and metabolism.* 2021;18(2):175-179. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/omet12729-9865>
- Chandran M, Wong J. Secondary and Tertiary Hyperparathyroidism in Chronic Kidney Disease: An Endocrine and Renal Perspective. *Indian J Endocrinol Metab.* 2019;23(4):391. doi: [https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM\\_292\\_19](https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM_292_19)
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2017;7(1):1-59. doi: <https://doi.org/10.1016/j.kisu.2017.04.001>
- Маказан Н.В., Орлова Е.М., Тозлиян Е.В., и др. Клинический полиморфизм псевдогипопаратиреоза у детей. // *Проблемы Эндокринологии.* — 2017. — Т.63. — №3 — С.148-161. [Makazan NV, Orlova EM, Tozliyan EV, et al. Variable phenotype of pseudohypoparathyroidism in children. *Problems of Endocrinology.* 2017;63(3):148-161. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/probl8337-6447>

20. Щедеркина И.О., Орлова К.А., Колтунов И.Е., и др. Сложности дифференциальной диагностики эпилептических и гипокальциемических судорог у детей и подростков. // *Неврология, нейропсихиатрия, психосоматика*. — 2018. — Т.10. — №1S — С.66-74. [Shchederkina IO, Orlova KA, Koltunov IE, et al. Difficulties in the differential diagnosis of epileptic and hypocalcemic seizures in children and adolescents. *Neurology, Neuropsychiatry, Psychosomatics*. 2018;10(1S):66-74. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14412/2074-2711-2018-1S-66-74>
21. Shao Y, Cai WJ, Wang XL, et al. Clinical data analysis of 22 cases with hypoparathyroidism misdiagnosed as epilepsy. *Neuro Endocrinol Lett*. 2022;43(2):113-118
22. Nardone R, Brigo F, Trinka E. Acute Symptomatic Seizures Caused by Electrolyte Disturbances. *J Clin Neurol Seoul Korea*. 2016;12(1):21-33. doi: <https://doi.org/10.3988/jcn.2016.12.1.21>
23. Li L, Yang H, Li J, et al. Misdiagnosis of idiopathic hypoparathyroidism: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(9):e9884. doi: <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000009884>
24. El-Hajj Fuleihan G, Clines GA, Hu MI, et al. Treatment of Hypercalcemia of Malignancy in Adults: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab*. 2023;108(3):507-528. doi: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgac621>
25. Gastanaga VM, Schwartzberg LS, Jain RK, et al. Prevalence of hypercalcemia among cancer patients in the United States. *Cancer Med*. 2016;5(8):2091-2100. doi: <https://doi.org/10.1002/cam4.749>
26. Asonitis N, Angelousi A, Zafeiris C, et al. Diagnosis, Pathophysiology and Management of Hypercalcemia in Malignancy: A Review of the Literature. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Metab*. 2019;51(12):770-778. doi: <https://doi.org/10.1055/a-1049-0647>
27. Bhandari S, Kumar R, Tripathi P, et al. Outcomes of hypercalcemia of malignancy in patients with solid cancer: a national inpatient analysis. *Med Oncol Northwood Lond Engl*. 2019;36(10):90. doi: <https://doi.org/10.1007/s12032-019-1315-8>
28. Ciosek Z, Kot K, Kosik-Bogacka D, et al. The Effects of Calcium, Magnesium, Phosphorus, Fluoride, and Lead on Bone Tissue. *Biomolecules*. 2021;11(4):506. doi: <https://doi.org/10.3390/biom11040506>
29. Белая Ж.Е., Белова К.Ю., Бирюкова Е.В., и др. Федеральные клинические рекомендации по диагностике, лечению и профилактике остеопороза. // *Остеопороз и остеопатии*. — 2021. — Т.24. — №2 — С.4-47. [Belaya ZE, Belova KYu, Biryukova EV, et al. Federal clinical guidelines for diagnosis, treatment and prevention of osteoporosis. *Osteoporosis and Bone Diseases*. 2021;24(2):4-47. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/osteo12930>
30. LeBoff MS, Greenspan SL, Insoogna KL, et al. The clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2022;33(10):2049-2102. doi: <https://doi.org/10.1007/s00198-021-05900-y>
31. Pekar JD, Grzych G, Durand G, et al. Calcium state estimation by total calcium: the evidence to end the never-ending story. *Clin Chem Lab Med*. 2020;58(2):222-231. doi: <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0568>
32. Conrich-Wilks G, Ivson F, Kilpatrick ES. Factors influencing the derivation and clinical application of blood calcium adjustment equations. *Ann Clin Biochem*. 2023;60(1):54-62. doi: <https://doi.org/10.1177/00045632221131673>
33. Ridefelt P, Helmersson-Karlqvist J. Albumin adjustment of total calcium does not improve the estimation of calcium status. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017;77(6):442-447. doi: <https://doi.org/10.1080/00365513.2017.1336568>
34. Bilezikian JP, Cusano NE, Khan AA, et al. Primary hyperparathyroidism. *Nat Rev Dis Primer*. 2016;2:16033. doi: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.33>
35. Jassam N, O'Kane M. Harmonisation of adjusted calcium equation, is it a realistic aim: a narrative review. *J Lab Precis Med*. 2023;8(0). doi: <https://doi.org/10.21037/jlpm-22-56>
36. Jassam N, Thomas A, Hayden K, et al. The impact of the analytical performance specifications of calcium and albumin on adjusted calcium. *Ann Clin Biochem*. 2020;57(5):382-388. doi: <https://doi.org/10.1177/0004563220944426>
37. Rifai N. *Tietz Textbook of Laboratory Medicine*. 7th ed. Elsevier; 2022
38. Schini M, Hannan FM, Walsh JS, et al. Reference interval for albumin-adjusted calcium based on a large UK population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2021;94(1):34-39. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.14326>
39. Li M, Wang C, Zhou EW, et al. Time to stop debating about the everlasting story: Some issues concerning total calcium and ionized calcium. *Chin Med J (Engl)*. 2020;133(10):1251-1252. doi: <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000803>
40. Minisola S, Pepe J, Cipriani C. Measuring serum calcium: Total, albumin-adjusted or ionized? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2021;95(2):267-268. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.14362>
41. *Hyperparathyroidism (Primary): Diagnosis, Assessment and Initial Management*. London: National Institute for Health and Care Excellence (NICE); 2019. Accessed December 17, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542087/>
42. Tartaglia F. Is ionized calcium a reliable predictor of hypocalcemia after total thyroidectomy? A before and after study. *G di Chir - J Surg*. 2014. doi: <https://doi.org/10.11138/gchir/2014.35.1.027>
43. Tee MC, Holmes DT, Wiseman SM. Ionized vs serum calcium in the diagnosis and management of primary hyperparathyroidism: which is superior? *Am J Surg*. 2013;205(5):591-596. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjsurg.2013.01.017>
44. Gómez-Nieto B, Gismera MJ, Sevilla MT, et al. Micro-sampling method based on high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry for calcium determination in blood and mitochondrial suspensions. *Talanta*. 2017;170:15-21. doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.086>
45. Zhao HJ, Ge ML, Yan Y, et al. Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry as a Reference Method to Evaluate Serum Calcium Measurement Bias and the Commutability of Processed Materials during Routine Measurements. *Chin Med J (Engl)*. 2018;131(13):1584-1590. doi: <https://doi.org/10.4103/0366-6999.235109>
46. Yan Y, Ge M, Ma R, et al. A candidate reference method for serum calcium measurement by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2016;461:141-145. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cca.2016.07.004>
47. Lyu Y, Gan S, Bao Y, et al. Solid-Contact Ion-Selective Electrodes: Response Mechanisms, Transducer Materials and Wearable Sensors. *Membranes*. 2020;10(6):128. doi: <https://doi.org/10.3390/membranes10060128>
48. Wang P, Kricka LJ. Current and Emerging Trends in Point-of-Care Technology and Strategies for Clinical Validation and Implementation. *Clin Chem*. 2018;64(10):1439-1452. doi: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2018.287052>
49. Vashist SK. Point-of-Care Diagnostics: Recent Advances and Trends. *Biosensors*. 2017;7(4):62. doi: <https://doi.org/10.3390/bios7040062>
50. Jawa A, Motara F, Moolla M, Laher AE. A Comparative Assessment of the Nova Stat Profile Prime Plus® Critical Care Analyzer. *Cureus*. 2020;12(8):e9932. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.9932>
51. Leal Yepes FA, Behling-Kelly E, Caixeta LS, et al. Evaluation of a point-of-care calcium device in bovine plasma and serum. *JDS Commun*. 2023;4(5):390-393. doi: <https://doi.org/10.3168/jdsc.2022-0346>
52. Couto Serrenho R, Bruinje TC, Morrison EI, et al. Validation of a point-of-care handheld blood total calcium analyzer in postpartum dairy cows. *JDS Commun*. 2021;2(1):41-45. doi: <https://doi.org/10.3168/jdsc.2020-0006>
53. Suzuki K, Kondo N, Takagi K, et al. Validation of the bovine blood calcium checker as a rapid and simple measuring tool for the ionized calcium concentration in cattle. *J Vet Med Sci*. 2021;83(5):767-774. doi: <https://doi.org/10.1292/jvms.21-0001>
54. Keresten V, Mikhelson K. Voltammetric Ion Sensing with Ionophore-Based Ion-Selective Electrodes Containing Internal Aqueous Solution, Improving Lifetime of Sensors. *Membranes (Basel)*. 2022;12(11):1048. doi: <https://doi.org/10.3390/membranes12111048>
55. Nyein HYY, Gao W, Shahpar Z, et al. A Wearable Electrochemical Platform for Noninvasive Simultaneous Monitoring of Ca(2+) and pH. *ACS Nano*. 2016;10(7):7216-7224. doi: <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b04005>
56. Molinero-Fernández Á, Casanova A, Wang Q, et al. In Vivo Transdermal Multi-Ion Monitoring with a Potentiometric Microneedle-Based Sensor Patch. *ACS Sens*. 2023;8(1):158-166. doi: <https://doi.org/10.1021/acssensors.2c01907>
57. Lechner M, Moghul G, Chandrasekharan D, et al. Preoperative and postoperative optimisation of patients undergoing thyroid surgery: a multicentre quality improvement project at Barts Health NHS Trust. *BMJ Open Qual*. 2023;12(2):e001190. doi: <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2020-001190>
58. Schwarzer P, Kuhn SO, Stracke S, et al. Discrepant post filter ionized calcium concentrations by common blood gas analyzers in CRRT using regional citrate anticoagulation. *Crit Care*. 2015;19(1):321. doi: <https://doi.org/10.1186/s13054-015-1027-1>

Рукопись получена: 25.11.2023. Одобрена к публикации: 22.01.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

**\*Чубакова Ксения Андреевна [Ksenya A. Chubakova, MD]**; адрес: Россия, 634050, Томск, Московский тракт, д. 2 [address: 2, Moscovski Trakt, Tomsk, 634050, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9010-4142>; SPIN-код: 3551-0836; e-mail: [dr.ksn.ch@yandex.ru](mailto:dr.ksn.ch@yandex.ru)

**Каменских Екатерина Михайловна [Ekaterina M. Kamenskih, MD]**; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0814-8344>; SPIN-код: 1141-3629; e-mail: [kamenskih.em@ssmu.ru](mailto:kamenskih.em@ssmu.ru)

**Саприна Татьяна Владимировна, д.м.н., профессор [Tatiana V. Saprina, MD, PhD, Professor]**; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9011-8720>; SPIN-код: 2841-2371; e-mail: [tanja.v.saprina@mail.ru](mailto:tanja.v.saprina@mail.ru)

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Чубакова К.А., Каменских Е.М., Саприна Т.В. Значимость и методология мониторинга кальциемии при нарушениях минерального обмена: вызовы и перспективы // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 83-90. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13413>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Chubakova KA, Kamenskih EM, Saprina TV. Significance and methodology of monitoring calcemia in disorders of mineral metabolism: challenges and prospects. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):83-90. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13413>

## КЛИНИЧЕСКАЯ, ГОРМОНАЛЬНАЯ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛУЧАЕВ НАРУШЕНИЯ ФОРМИРОВАНИЯ ПОЛА ПРИ КАРИОТИПЕ 46,XY, АССОЦИИРОВАННЫХ С ВАРИАНТАМИ В ГЕНЕ *HSD17B3*



© Н.Ю. Калинин<sup>1</sup>, Н.А. Макрецкая<sup>2\*</sup>, А.А. Колодкина<sup>1</sup>, В.А. Иоутси<sup>1</sup>, В.М. Петров<sup>1</sup>, А.Н. Тюльпаков<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Российская детская клиническая больница, Москва, Россия

**ОБОСНОВАНИЕ.** Недостаточность 17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы типа 3 (*HSD17B3*) является редким вариантом нарушения формирования пола (НФП) при кариотипе 46,XY. В настоящее время в отечественной литературе отсутствуют обобщенные данные по указанной группе пациентов, что затрудняет проведение своевременной диагностики и выбор тактики лечения.

**ЦЕЛЬ.** Дать клиническую, гормональную и молекулярно-генетическую характеристику случаев НФП 46,XY, ассоциированных с вариантами в гене *HSD17B3*.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Одноцентровое ретроспективное исследование, включившее 310 пациентов с НФП 46,XY. Пациентам проводилось комплексное обследование, включающее исследование стероидного профиля методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием, а также молекулярно-генетическое исследование с использованием NGS.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** По результатам проведенных молекулярно-генетических исследований биаллельные нуклеотидные замены в гене *HSD17B3* выявлены в 13 случаях, что составило 4,2% от общего числа пациентов с НФП 46,XY. Все 13 пациентов с биаллельными вариантами в гене *HSD17B3* зарегистрированы в женском поле. Соотношение концентраций андростендиона/тестостерона в крови в этой группе варьировало от 1,4 до 8,9. Два варианта в гене *HSD17B3* встречались у нескольких пациентов: с.277+4A>T (на 6 хромосомах) и с.729\_735del:p.V243fs (на 9 хромосомах). Выявлено 4 ранее не описанных варианта. Моноаллельные нуклеотидные замены в гене *HSD17B3* выявлены в 7 случаях, что составило 2,3% от общего числа пациентов с НФП 46,XY. Строение наружных гениталий в данной группе соответствовало стадиям 3–4 по Прадеру. У 1 пациента в гене *HSD17B3* выявлен патогенный вариант с.277+4A>T, в остальных случаях определялись варианты с неопределенным клиническим значением.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В структуре НФП 46,XY пациенты с биаллельными вариантами в гене *HSD17B3* выявлены в 4,2% случаев, с моноаллельными вариантами — в 2,3% случаев. Обнаружены 4 ранее не описанные варианта в гене *HSD17B3*.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** нарушение формирования пола; недостаточность 17-гидроксистероиддегидрогеназы типа 3; *HSD17B3*; 46,XY; тестостерон; андростендион.

## CLINICAL, HORMONAL AND MOLECULAR GENETIC CHARACTERISTICS OF PATIENTS WITH 46,XY DISORDERS OF SEX DEVELOPMENT ASSOCIATED WITH VARIANTS IN THE *HSD17B3* GENE

© Natalya Y. Kalinchenko<sup>1</sup>, Nina A. Makretskaya<sup>2\*</sup>, Anna A. Kolodkina, Vitaliy A. Ioutsi<sup>1</sup>, Vasily M. Petrov<sup>1</sup>, Anatoly N. Tiulpakov<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Research Centre for Medical Genetics, Moscow, Russia

<sup>3</sup>Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia

**BACKGROUND:** Deficiency of 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type 3 (*HSD17B3*) is a rare variant of 46,XY disorders of sex development (DSD).

**AIM:** To give clinical, hormonal and molecular genetic characteristics of cases of 46,XY DSD associated with variants in the *HSD17B3* gene.

**MATERIALS AND METHODS:** The study included 310 patients with 46,XY DSD for the period from 2015 to 2019. The patients underwent a comprehensive examination, including a study of the steroid profile by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection, as well as a molecular genetic analysis using NGS.

**RESULTS:** According to the results of molecular genetic studies, biallelic nucleotide substitutions in the *HSD17B3* gene were detected in 13 cases, which accounted for 4.2% of the total number of patients with 46,XY DSD. All 13 patients with biallelic variants in the *HSD17B3* gene were registered as females. The ratio of androstenedione/testosterone concentrations in the blood in this group ranged from 1.4 to 8.9. 2 variants in the *HSD17B3* gene were found in several patients: с.277+4A>T (on 6 chromosomes) and с.729\_735del:p.V243fs (on 9 chromosomes). 4 novel variants have been identified. Monoallelic

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

© Endocrinology Research Centre, 2024

Received: 30.11.2023. Accepted: 09.01.2024.

Проблемы эндокринологии 2024;70(6):91-98

doi: <https://doi.org/10.14341/probl13415>

Problems of Endocrinology. 2024;70(6):91-98



nucleotide substitutions in the HSD17B3 gene were detected in 7 cases, which accounted for 2.3% of the total number of patients with 46,XY DSD. External genitalia in this group corresponded to Prader stages 3–4. In 1 patient, a pathogenic variant c.277+4A>T was detected in the HSD17B3 gene, in other cases variants with uncertain significance were detected.

**CONCLUSION:** In the structure of 46,XY DSD, patients with biallelic variants in the HSD17B3 gene were identified in 4.2% of cases, with monoallelic variants — in 2.3% of cases. 4 novel variants were found in the HSD17B3 gene.

**KEYWORDS:** deficiency of 17-hydroxysteroid dehydrogenase type 3; HSD17B3; disorders of sex development; 46,XY; testosterone; androstendione.

## ОБОСНОВАНИЕ

HSD17B3 (17 $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназа типа 3) — это микросомальный фермент стероидогенных клеток яичек, катализирующий этап превращения слабых андрогенов андростендиона (А) и 5 $\alpha$ -андростандиона в их функционально активные метаболиты тестостерон (Т) и дигидротестостерон (ДГТ) соответственно [1]. Снижение активности фермента в период внутриутробного развития плода с кариотипом 46,XY приводит к дефициту активных андрогенов и, как результат, нарушению маскулинизации наружных половых органов при нормально развитых яичках и отсутствии дериватов Мюллеровых протоков. В связи с тем, что при рождении у пациентов с дефицитом HSD17B3 строение наружных половых органов (НПО) ближе к женскому, у них нередко устанавливается женский пол воспитания [2]. Однако в период полового созревания активируются другие изоферменты 17- $\beta$ -гидроксистероиддегидрогеназы, приводящие к значительному повышению уровня активных андрогенов и, как следствие, маскулинизации пациенток с женским паспортным полом.

Длительное время считалось, что недостаточность HSD17B3 является крайне редким вариантом нарушения стероидогенеза [3]. Однако с внедрением в практику методов молекулярно-генетической диагностики, позволивших проведение когортных исследований, оказалось, что до 4% случаев нарушения формирования пола (НФП) 46,XY составляет дефицит HSD17B3 [4]. Более того, в регионах, где распространены близкородственные браки, частота встречаемости дефицита HSD17B3 может достигать 1:300–100 новорожденных мальчиков [5, 6].

Дефицит HSD17B3 прежде всего необходимо дифференцировать с резистентностью к андрогенам (синдром тестикулярной феминизации) и с дефицитом 5  $\alpha$ -редуктазы, при которых также будут отмечаться почти правильное женское строение НПО в сочетании с правильно сформированными яичками, высоким уровнем АМГ и отсутствием дериватов Мюллеровых протоков. При общности клинических проявлений подходы к лечению данных заболеваний могут значительно отличаться. В связи с чем своевременная диагностика дефицита HSD17B3 является актуальной для определения правильной тактики ведения пациента.

Ранее нами было представлено два первых в России случая молекулярно-генетической верификации дефицита HSD17B3 [7]. В настоящей публикации мы приводим данные обследования 13 новых случаев дефицита HSD17B3, обусловленных биаллельными мутациями в гене *HSD17B3*. Помимо этого, интересной находкой, на наш взгляд, является обнаружение у части пациентов с НФП 46,XY гетерозиготных вариантов в гене *HSD17B3*, что позволяет предположить возможную роль таких дефектов в олигогенной природе заболевания.

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дать клиническую, гормональную и молекулярно-генетическую характеристику случаев НФП 46,XY, ассоциированных с вариантами в гене *HSD17B3*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

**Место проведения.** ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

**Время исследования.** Январь 2015–декабрь 2019 гг.

Анализ данных проведен на основании предоставленных выписок для проведения генетического исследования пациентов с НФП 46,XY и у пациентов, проходивших обследование в Институте детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России за период с 2015 по 2019 гг.

### Исследуемые популяции (одна или несколько)

**Популяция:** пациенты от 0 до 17 лет с НФП 46,XY.

**Критерии включения:** несоответствие между хромосомным мужским полом 46,XY и строением наружных и/или внутренних половых органов.

**Критерии исключения:** наличие синдромальной патологии с множественными пороками развития.

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

Сплошной способ формирования выборки.

### Дизайн исследования

Одноцентровое ретроспективное одновыборочное исследование, включившее 310 пациентов с НФП 46,XY.

### Методы

В исследование включались пациенты с НФП при кариотипе 46,XY. НФП определялось как несоответствие хромосомного пола фенотипическому полу. Оценка строения НПО осуществлялась по шкале Прадера. Из исследования исключались пациенты, у которых имелось сочетание НФП 46,XY с синдромальной патологией.

Пациентам проводилось комплексное обследование, включавшее: оценку строения наружных половых органов по Прадеру, ультразвуковое исследование (УЗИ) малого таза, паховых каналов, органов мошонки, исследование гормонального статуса — лютеинизирующий гормон (ЛГ), фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), тестостерон, эстрадиол (Э2). У части пациентов проводилась проба с хорионическим гонадотропином, исследовался стероидный профиль методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием, включавший 14 показателей: альдостерон, кортизон,

кортизол, 21-дезоксикортизол, кортикостерон, 11-дезоксикортизол, андростендион, дезоксикортикостерон, тестостерон, 17-гидроксипрогестерон, 17-гидрокси-прегненолон, дегидроэпиандростерон, прогестерон, прегненолон. Пробоподготовку образцов сыворотки крови, подготовку градуировочных образцов и образцов контроля качества проводили аналогично описанной ранее методике [8]. Для проведения анализа использовали хроматографическую систему Agilent 1290 Infinity II тандемный гибридный трехквартупольный масс-спектрометр AB Sciex QTrap 5500. Детектирование проводили в режиме мониторинга множественных реакций, подбор параметров для этого режима осуществляли для каждого компонента индивидуально по образцам стандартных веществ.

Молекулярно-генетический анализ проводился в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным методом (набор Pure Link, Genomic DNA Mini Kit, Life Technologies, США). Для молекулярно-генетического анализа применялся метод NGS. Использовалась разработанная в отделении наследственных эндокринопатий панель праймеров для мультиплексной ПЦР и секвенирования с применением технологии Ion Ampliseq™ Custom DNA Panel (Life Technologies, США). Панель праймеров «Нарушения формирования пола» охватывает кодирующие области следующих генов: *AKR1C2*, *AKR1C4*, *AMH*, *AMHR2*, *AR*, *ARX*, *ATRX*, *CBX2*, *CYB5A*, *CYP11A1*, *CYP17A1*, *DHCR7*, *DHH*, *EMX2*, *ESR2*, *FGD1*, *FGF9*, *FGFR2*, *FKBP4*, *FOXF2*, *FOXL2*, *HOXA13*, *HSD17B3*, *HSD3B2*, *ICK*, *LHCGR*, *LHX1*, *LHX9*, *MAMLD1*, *MAP3K1*, *MID1*, *NROB1*, *NR5A1*, *POR*, *PTGDS*, *SOX9*, *SRD5A2*, *SRY*, *STAR*, *SUPT3H*, *TSPYL1*, *WNT4*, *WT1*, *ZFPM2*. Подготовка библиотек проводилась в соответствии с рекомендациями производителей. Секвенирование осуществлялось на полупроводниковом секвенаторе PGM (Ion Torrent, Thermo Scientific, США) или Illumina MiSeq (Illumina, США). Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась с помощью программных модулей Torrent Suite 4.2.1 (Ion Torrent, Life Technologies, США) или Genome Analysis ToolKit (GATK) ver. 4.1.2.0 (Broad Institute, Cambridge, MA, USA). Для аннотирования вариантов нуклеотидной последовательности использовался пакет программ ANNOVAR ver. 2018Apr16. После анализа полученных данных проводилось подтверждение полученных мутаций на секвенаторе Genetic Analyzer Model 3130 (Life Technologies, США). Оценка патогенности вариантов нуклеотидной последовательности проводилась согласно международным и российским рекомендациям [9, 10]. Нумерация кодирующей последовательности гена дана по референсу NM\_000197.1 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>).

#### Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России 01.01.2021 г.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включено 310 пациентов с НФП 46,XY. По результатам проведенных молекулярно-генетиче-

ских исследований, биаллельные нуклеотидные замены в гене *HSD17B3* были выявлены в 13 случаях, что составило 4,2% от общего числа пациентов с НФП 46,XY. Моноаллельные нуклеотидные замены в гене *HSD17B3* были выявлены в 7 случаях, что составило 2,3% от общего числа пациентов с НФП 46,XY.

#### Пациенты с биаллельными вариантами в гене *HSD17B3*

Все 13 пациентов с биаллельными мутациями в гене *HSD17B3* при рождении были зарегистрированы в женском паспортном поле. Анамнестические данные были доступны по 9 пациентам. Возраст на момент выявления НФП 46,XY варьировал от рождения до 16 лет. Поводом для обследования послужили выявление гонад в паховых областях, половых губах (у 7) или проявления маскулинизации в пубертатном периоде (у 6). У 4 пациентов первоначально был ошибочно диагностирован синдром резистентности к андрогенам (CPA), и у 1 — врожденная дисфункция коры надпочечников (ВДКН). Возраст верификации дефицита *HSD17B3* варьировал от 1 года до 16 лет.

Результаты исследования А, Т и А/Т были доступны в 8 случаях. У 2 пациентов в возрасте 10 мес и 3,5 года обследование было проведено на фоне пробы с хорионическим гонадотропином человека (ХГЧ), и стимулированные уровни А, Т, и соотношение А/Т у них варьировали от 5,6 до 4,4 нмоль/л, 3,6 до 0,7 нмоль/л и от 1,4 до 6,3 соответственно. У 5 пациентов в возрасте от 11 до 16 лет на фоне пубертата оценивались только базальные показатели А, Т и А/Т, составившие 22–64,5 нмоль/л, 4,4–19 нмоль/л и 2,8–8,9 соответственно. У 1 пациентки в возрасте 3,5 года так же оценивались только базальные показатели А 0,9 нмоль/л и Т 0,3 нмоль/л, А/Т 3,0. Проба с ХГЧ не проводилась, учитывая наличие генетически верифицированного дефицита *HSD17B3* до этапа гормонального обследования.

При молекулярно-генетическом обследовании у 7 пациентов были идентифицированы гомозиготные варианты, и у 6 — компаунд-гетерозиготные варианты в гене *HSD17B3*. Чаще других выявлялись две ранее описанные мутации: с.277+4A>T (на 6 хромосомах) и с.729\_735del:p.V243fs (на 9 хромосомах). В ходе исследования было обнаружено 4 ранее не описанных варианта, 2 из которых были классифицированы как патогенные (с.673-2A>G, с.111\_118delAGTTTTC p.K37NfsX40) и 2 — как вероятно патогенные (с.598G>A:p.A200T, с.638A>C p.Q213P) [9,10] (табл. 1).

#### Пациенты с моноаллельными вариантами в гене *HSD17B3*

У 7 пациентов с промежуточной формой гипоспадии и зарегистрированных в мужском паспортном поле была выявлена одна гетерозиготная мутация в гене *HSD17B3*, что составило 2,3% от общего числа пациентов с НФП 46,XY. У 1 пациента был выявлен описанный ранее патогенный вариант с.277+4A>T, который был также частой находкой у пациентов с биаллельными мутациями. В остальных случаях все моноаллельные мутации были расценены как варианты с неопределенной клинической значимостью (табл. 2). Среди последних заслуживает внимания вариант с.133C>T:p.R45W, который был обнаружен у 3 пациентов.

Таблица 1. Клиническая, гормональная и молекулярно-генетическая характеристика пациентов с биаллельными вариантами в гене *HSD17B3*

№	Фенотип при рождении/диагностике заболевания	Возраст диагностики	Направляющий диагноз	А/Т базальные / после пробы с ХГЧ (нмоль/л)	Варианты в гене <i>HSD17B3</i>	Оценка патогенности для новых вариантов	HGMD_ID
1	Женский правильный, гонады в половых губах. Гонадэктомия в 1 год	3 года	CPA	N/A	c.397G>A:p.G133R c.729_735del:p.V243fs		CM1511850 [11] CD963074 [2]
2	Гипертрофированный клитор, в области паховых каналов образования по 1 мл, отверстие мочеиспускательного канала открывается над входом во влагалище	10 мес	ВДКН, лечение кортефом	б: 0,5/0,29 пп: 5,02/3,6	c.277+4A>T c.598G>A:p.A200T	LP (PM2, PP3, PM5, PM1, PM3, PP4)	CS002140 [12] Новый
3	Женский правильный, гонады в половых губах. Гонадэктомия в 1 год	N/A	CPA	N/A	c.673-2A>G c.729_735del:p.V243fs	P (PM2, PVS1, PM3, PP4)	Новый CD963074 [2]
4	Женский правильный, в паховых каналах двусторонние образования до 2 мл	N/A	CPA	N/A	c.527A>C:p.Q176P c.527A>C:p.Q176P		CM960845 [2]
5	Женский правильный, в три года паховые грыжи	3,5 года		пп: 4,4/0,7	c.277+4A>T c.729_735del:p.V243fs		CS002140 [12] CD963074 [2]
6	Женский правильный, в большой губе образование	1 год		б (3 года): 0,9/0,3	c.729_735del:p.V243fs c.729_735del:p.V243fs		CD963074 [2]
7	Женский правильный. С 13 лет гипертрофия клитора, барифония	13 лет		б: 45,7/12,7	c.203T>G:p.L68R c.203T>G:p.L68R		CM154897 [13]
8	Женский правильный, гонады в паховых каналах. С 11 лет гипертрофия клитора	13 лет		б: 29/5,1	c.638A>C:p.Q213P c.729_735del:p.V243fs	LP (PM2, PP3, PM1, PM3, PP4)	Новый CD963074 [2]

Продолжение таблицы 1

№	Фенотип при рождении/диагностике заболевания	Возраст диагностики	Направляющий диагноз	А/Т базальные / после пробы с ХГЧ (нмоль/л)	Варианты в гене <i>HSD17B3</i>	Оценка патогенности для новых вариантов	HGMD_ID
9	Женский правильный. С 11 лет гипертрофия клитора, в половых губах гонады	12,5 года		6: 54/19	c.111_118delAGTTTTGC:p.K37NfsX40 c.729_735del:p.V243fs	P (PM2, PVS1, PM3, PP4)	Новый CD963074 [2]
10	Женский правильный, гонады в половых губах. Гонадэктомия в 1 год	5 лет	CPA	N/A	c.277+4A>T c.277+4A>T		CS002140 [12]
11	Женский правильный. С 10 лет гипертрофия клитора, гонады в паховых каналах	12 лет		6: 22/4.4	c.277+4A>T c.277+4A>T		CS002140 [12]
12	Умеренно гипертрофия клитора, с 11 лет резкое увеличение, гонады в половых губах	16 лет		6: 67,4/7,6	c.160A>G:p.T54A c.160A>G:p.T54A		CM164516 [14]
13	Женский правильный. С 12 лет гипертрофия клитора	13 лет		N/A	c.729_735del:p.V243fs c.729_735del:p.V243fs		CD963074 [2]

**Примечания:** ВДКН — врожденная дисфункция коры надпочечников; CPA — синдром резистентности к андрогенам; Б — базально, пп — после пробы, А — андростендион, Т — тестостерон.

**Таблица 2.** Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика пациентов с моноаллельными вариантами в гене *HSD17B3*

№	Фенотип при рождении	Диагноз уточненный	Варианты в гене <i>HSD17B3</i>	HGMD_ID
1	Промежностная гипоспадия, Прадер 3, гонады в мошонке	Дефицит СФ 1	c.277+4A>T	CS002140 [12]
2	Промежностная гипоспадия, Прадер 4, гонады в мошонке	Дефицит СФ 1	c.C133T:p.R45W	CM1616127 [15]
3	Промежностная гипоспадия, Прадер 3, гонады в мошонке	Панель «НФП» — н/выявлено	c.C133T:p.R45W	CM1616127 [15]
4	Промежностная гипоспадия, Прадер 4, гонады в мошонке	Панель «НФП» — н/выявлено	c.G290C:p.G97A	новый
5	Промежностная гипоспадия, Прадер 3, гонады в брюшной полости	Панель «НФП» — н/выявлено	c.C133T:p.R45W	CM1616127 [15]
6	Промежностная гипоспадия, Прадер 3, гонады в паховых каналах	Панель «НФП» — н/выявлено	c.T62C:p.L21P	новый
7	Промежностная гипоспадия, Прадер 4, гонады в мошонке	Экзом — н/выявлено	c.A923C:p.K308T	новый

**Примечания:** н/выявлено — других патогенных вариантных замен в анализируемых генах не выявлено, СФ 1 — стероидогенный фактор 1

## ОБСУЖДЕНИЕ

HSD17B3 относится к большой группе 17 $\beta$ -гидрокси-стероиддегидрогеназ (HSD17B), регулирующих активность андрогенов и эстрогенов в различных органах и тканях организма. В настоящее время известно 14 форм HSD17B, большинство из которых были описаны в 1990-х [13]. За исключением HSD17B тип 5, все формы относятся к короткоцепочечным дегидрогеназам, семейства редуктаз (SDR). Несмотря на низкую гомологичность в строении, достигающую лишь 20–30%, функционально существует значительное перекрестное участие в реакциях между разными типами, особенно между HSD17B 1, 3, 5, 7 и 12 типов, позволяющее компенсировать дефициты друг друга внутри семейства. Между тем функция HSD17B3 является незаменимой в период внутриутробного развития у плода мужского пола, и ее нарушения ассоциированы с одним из вариантов НФП 46,XY.

При рождении наружные гениталии у пациентов 46,XY имеют строение ближе к феминному, поэтому такие дети как правило регистрируются в женском паспортном поле, и поводами для обращения к врачу являются обнаружение гонад в паховой области или вирилизация в период полового созревания [12, 16], что было отмечено и нами (табл. 1).

Механизм поздней вирилизации до конца не ясен. Предполагается, что в пубертате на фоне повышения ЛГ в гонадах синтезируется значительное количество андростендиона, часть которого превращается в тестостерон. Ведущая роль здесь отводится ферменту HSD17B5, который, как и HSD17B3, способен конвертировать андростендион в тестостерон. Экспрессия HSD17B5 продемонстрирована как в экстрагонадной ткани [17], так и в клетках Лейдига [18], поэтому в период пубертата возможно несколько источников секреции тестостерона.

Гормональная диагностика заболевания основана на определении уровней андростендиона, тестостерона и соотношения между ними. При соотношении А/Т выше 1,0 диагноз высоковероятен [19]. В детском возрасте соотношение А/Т исследуется после проведения пробы с хорионическим гонадотропином, благодаря чему точность диагностики увеличивается до 90%. В обследованной нами группе с биаллельными мутациями данное соотношение у всех пациентов превышало 1.

По-видимому, первое описание пациента с дефицитом HSD17B3 было сделано Neher and Kant в 1965 г. [20], которые показали *in vitro* частичный дефицит фермента в ткани яичка у пациента с НФП 46,XY, что, однако, было расценено как проявление синдрома резистентности к андрогенам. Дефицит HSD17B3 как причина НФП 46,XY впервые документирован Saez et al., представившими данные гормонального обследования пациента с женским фенотипом при рождении, вирилизацией и увеличением грудных желез (гинекомастией) на фоне пубертата [16]. В 1994 г. Geissler et al. представили случаи молекулярно-генетического подтверждения дефицита HSD17B3, доказав связь заболевания с дефектами гена HSD17B3 [1].

К настоящему моменту описано не менее 70 различных мутаций в данном гене [21]. Среди нашей группы пациентов выявлена высокая частота встречаемости делеции c.729\_735del;p.V243fs — на 9 хромосомах. Данный вари-

ант впервые описан Andersson et al. у пациента из Польши [2], а в дальнейшем также найден при обследовании пациентов с НФП в Турции [22] и Египте [23]. Следующим по частоте изменением в обследованной нами группе была мутация в сайте сплайсинга интрона 3 c.277+4C>T. Данный вариант является частой находкой при дефиците HSD17B3, особенно среди жителей Европы [12, 21].

Как уже отмечено выше, при дефиците HSD17B3 может быть ошибочно диагностирован CPA. В обследованной нами когорте пациентов с биаллельными мутациями это имело место в 4 случаях. Следует иметь в виду, что после удаления гонад без молекулярно-генетических исследований дифференцировать эти два состояния не представляется возможным. Об этом, например, свидетельствует публикация Phelan et al., обследовавших 36 взрослых женщин с НФП 46,XY, которые наблюдались по поводу неполной формы CPA, и выявивших мутации в гене HSD17B3 у 13 из 36 (36%), тогда как изменения в гене AR были обнаружены лишь в 1 случае [13].

Особое место в нашем исследовании занимают пациенты с моноаллельными вариантами в гене HSD17B3 (табл. 2). Фенотипически эти случаи отличаются от представленной выше группы пациентов с биаллельными мутациями. Как правило у них отмечалось смешанное строение наружных гениталий при рождении (Прадер 3–4), что явилось причиной регистрации большинства пациентов в мужском поле. В данной группе у 1 пациента была выявлена частая для дефицита HSD17B3 патогенная сплайсинг-мутация c.277+4A>T. У 3 пациентов обнаружен миссенс-вариант c.133C>T;p.R45W. Данный вариант был описан ранее при НФП 46,XY [15, 24], между тем его клиническая значимость не является доказанной. Следует отметить, что, по референсным базам данных, средняя популяционная аллельная частота данного варианта сравнительно высокая (0,0017), однако он ни разу не обнаружен в гомозиготном состоянии [<https://gnomad.broadinstitute.org/>]. В целом, роль моноаллельных вариантов в гене HSD17B3 в патогенезе НФП 46,XY нельзя пока считать доказанной. Как и в отношении ряда других рецессивных заболеваний, высказываются предположения о существовании олиогенного механизма, когда сочетание мутаций в нескольких генах может оказывать аддитивный эффект и приводить к НФП [15, 24].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе представлен опыт применения высокопроизводительного параллельного секвенирования в группе пациентов с НФП 46,XY. Оценен вклад дефицита HSD17B3 в структуру патологии, который составил 4,2% для биаллельных вариантов и 2,3% для моноаллельных изменений. В настоящем исследовании выявлено два часто встречающихся варианта в гене HSD17B3: c.729\_735del;p.V243fs и c.277+4C>T. Полученные нами результаты демонстрируют важность ранней молекулярно-генетической верификации формы НФП с целью решения вопроса о дальнейшем ведении пациента с данной патологией.

## Ограничения исследования

Основным ограничением настоящего исследования является отсутствие данных гормонального профиля до момента верификации нуклеотидных изменений

в гене *HSD17B3* на 5 пациентов из 13, что могло привести к некоторому смещению результатов обследования, в частности соотношения А/Т.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Работа выполнена при содействии Фонда поддержки и развития филантропии «КАФ».

**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

- Geissler WM, Davis DL, Wu L, Bradshaw KD, Patel S, et al. Male pseudohermaphroditism caused by mutations of testicular 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 3. *Nat Genet.* 1994;7(1):34-9. doi: <https://doi.org/10.1038/ng0594-34>
- Andersson S, Geissler WM, Wu L, Davis DL, Grumbach MM, et al. Molecular genetics and pathophysiology of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(1):130-6. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.81.1.8550739>
- Forest MG. Inborn errors of testosterone biosynthesis. In *Intersex Child* (Edited by Josso N). 1981;8:133-155
- Hughes IA. Disorders of sex development: a new definition and classification. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008;22(1):119-34. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2007.11.001>
- Rösler A, Silverstein S, Abeliovich D. A (R80Q) mutation in 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 3 gene among Arabs of Israel is associated with pseudohermaphroditism in males and normal asymptomatic females. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(5):1827-31. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.81.5.8626842>
- Rösler A. Steroid 17β-hydroxysteroid dehydrogenase deficiency in man: an inherited form of male pseudohermaphroditism. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 1992;43(8):989-1002. doi: [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(92\)90327-F](https://doi.org/10.1016/0960-0760(92)90327-F)
- Колодкина А.А., Калинин Н.Ю., Нижник А.Н., Ноколь М.А., Тюльпаков А.Н. Клиническая, гормональная и молекулярно-генетическая характеристики двух случаев нарушения формирования пола 46XY, обусловленного дефицитом 17β-гидроксистероид-дегидрогеназы 3-го типа. // *Проблемы эндокринологии.* — 2011. — Т. 57. — № 3. — С. 25-30. [Kolodkina AA, Kalinchenko NI, Nizhnik AN, Nokel' MA, Tiul'pakov AN. Clinical, hormonal, and molecular-genetic characteristics of two cases of abnormal sex formation (ASF) in 46XY subjects caused by type 3 17-beta hydroxysteroid dehydrogenase deficiency. *Problems of Endocrinology.* 2011;57(3):25-30. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.14341/probl201157325-30>
- Ioutsy VA, Panov YuM, Usol'tseva LO, Smolin ES, et al. Analysis of Serum Estrogens Using High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry Coupled to Differential Ion Mobility Spectrometry. *J Anal Chem.* 2022;77:1760–1766. doi: <https://doi.org/10.1134/S1061934822140027>
- 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):405-24. doi: <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- 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. — № 2. [Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, i dr. Rukovodstvo po interpretacii dannyh posledovatel'nosti DNK cheloveka, poluchennyh metodami massovogo parallelnogo sekvenirovaniya (MPS) (redakciya 2018, versiya 2). *Medicinskaya genetika.* 2019;18(2) (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.25557/2073-7998.2019.02.3-23>
- Engeli RT, Rhouma BB, Sager CP, Tschacki M, Birk J, et al. Biochemical analyses and molecular modeling explain the functional loss of 17β-hydroxysteroid dehydrogenase 3 mutant G133R in three Tunisian patients with 46, XY Disorders of Sex Development. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;155(Pt A):147-54. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.10.023>
- Boehmer AL, Brinkmann AO, Sandkuijl LA, Halley DJ, Niermeijer MF, et al. 17Beta-hydroxysteroid dehydrogenase-3 deficiency: diagnosis, phenotypic variability, population genetics, and worldwide distribution of ancient and de novo mutations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(12):4713-21. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.84.12.6174>
- Phelan N, Williams EL, Cardamone S, Lee M, Creighton SM, Rumsby G, Conway GS. Screening for mutations in 17β-hydroxysteroid dehydrogenase and androgen receptor in women presenting with partially virilised 46,XY disorders of sex development. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(6):745-51. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0994>
- Hassan HA, Mazen I, Gad YZ, Ali OS, Mekkawy M, Essawi ML. Mutational Profile of 10 Afflicted Egyptian Families with 17-β-HSD-3 Deficiency. *Sex Dev.* 2016;10(2):66-73. doi: <https://doi.org/10.1159/000445311>
- Eggers S, Sadedin S, van den Bergen JA, Robevska G, Ohnesorg T, Hewitt J, et al. Disorders of sex development: insights from targeted gene sequencing of a large international patient cohort. *Genome Biol.* 2016;17(1):243. doi: <https://doi.org/10.1186/s13059-016-1105-y>
- Saez JM, De Peretti E, Morera AM, David M, Bertrand J. Familial male pseudohermaphroditism with gynecomastia due to a testicular 17-ketosteroid reductase defect. I. Studies in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1971;32(5):604-10. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-32-5-604>
- Labrie F, Luu-The V, Lin SX, Simard J, Labrie C. Role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral intracrine tissues. *Trends Endocrinol Metab.* 2000;11(10):421-7. doi: [https://doi.org/10.1016/S1043-2760\(00\)00342-8](https://doi.org/10.1016/S1043-2760(00)00342-8)
- Werner R, Kulle A, Sommerfeld I, Riepe FG, Wudy S, et al. Testosterone synthesis in patients with 17β-hydroxysteroid dehydrogenase 3 deficiency. *Sex Dev.* 2012;6(4):161-8. doi: <https://doi.org/10.1159/000336605>
- Imperato-McGinley J. Male pseudohermaphroditism. In: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z, editors. *Reproductive endocrinology, surgery, and technology.* Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996:936–955
- Neher R, Kahnt FW. Gonadal steroid biosynthesis in vitro in four cases of testicular feminization; in normal and pathological conditions. *International Congress Series No101.* Excerpta Medica, Amsterdam. 1965:130
- Gonçalves CI, Carriço J, Bastos M, Lemos MC. Disorder of Sex Development Due to 17-Beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 3 Deficiency: A Case Report and Review of 70 Different *HSD17B3* Mutations Reported in 239 Patients. *Int J Mol Sci.* 2022;23(17):10026. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms231710026>
- Alikasifoglu A, Hiort O, Gonc N, Demirbilek H, Isik E, Kandemir N. 17beta- hydroxysteroid dehydrogenase type 3 deficiency as a result of a homozygous 7 base pair deletion in 17betaHSD3 gene. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2012;25(5-6):561-3. doi: <https://doi.org/10.1515/jpem-2012-0009>
- Mazen I, Mekkawy M, Kamel A, Essawi M, Hassan H, et al. Advances in genomic diagnosis of a large cohort of Egyptian patients with disorders of sex development. *Am J Med Genet A.* 2021;185(6):1666-1677. doi: <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.62129>
- Hughes LA, McKay-Bounford K, Webb EA, Dasani P, Clokie S, et al. Next generation sequencing (NGS) to improve the diagnosis and management of patients with disorders of sex development (DSD). *Endocr Connect.* 2019;8(2):100-110. doi: <https://doi.org/10.1530/EC-18-0376>

Рукопись получена: 30.11.2023. Одобрена к публикации: 09.01.2024. Опубликовано online: 31.12. 2024.

**ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]**

\***Макрецкая Нина Алексеевна**, к.м.н. [**Nina A. Makretskaya**, MD, PhD]; адрес: ул. Москворечье, д. 1, 115522, Москва, Россия [address: 1 Moskvorechye street, 115522 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0412-7140>; eLibrary SPIN-код: 4467-7880; e-mail: makretskayan@gmail.com

**Калинченко Наталья Юрьевна**, к.м.н. [Nataliya Y. Kalinchenko, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2000-7694>; eLibrary SPIN-код: 6727-9653; e-mail: kalinnat@rambler.ru

**Колодкина Анна Александровна**, к.м.н. [Anna A. Kolodkina, MD, PhD, senior research associate]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7736-5372>; SPIN-код: 6705-6630; e-mail: anna\_kolodkina@mail.ru

**Иоутси Виталий Алексеевич**, к.х.н. [Vitaliy A. Ioutsi, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9002-1662>; SPIN-код: 9734-0997; e-mail: vitalik\_org@mail.ru

**Петров Василий Михайлович**, к.х.н., с.н.с. [Vasily M. Petrov, PhD, senior research associate]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0520-9132>; SPIN-код: 4358-2147; e-mail: petrov.vasily@gmail.com

**Тюльпак Анатолій Николаевич**, д.м.н. [Anatoliy N. Tyulpakov, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8500-4841>; SPIN-код: 8396-1798; e-mail: anatolytiulpakov@gmail.com

**ЦИТИРОВАТЬ:**

Калинченко Н.Ю., Макрецкая Н.А., Колодкина А.А., Иоутси В.А., Петров В.М., Тюльпак А.Н. Клиническая, гормональная и молекулярно-генетическая характеристика случаев нарушения формирования пола при кариотипе 46,XY, ассоциированных с вариантами в гене HSD17B3 // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 91-98. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13415>

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Kalinchenko NY, Makretskaya NA, Kolodkina AA, Ioutsi VA, Petrov VM, Tyulpakov AN. Clinical, hormonal and molecular genetic characteristics of patients with 46,XY disorders of sex development associated with variants in the HSD17B3 gene. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):91-98. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13415>

## ВЗАИМОСВЯЗЬ КОНСТИТУЦИОНАЛЬНО-ЭКЗОГЕННОГО ОЖИРЕНИЯ И ГОРМОНАЛЬНО-МИКРОЭЛЕМЕНТНОГО СТАТУСА У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ С ЗАДЕРЖКОЙ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ



© Н.А. Друккер, Н.В. Палиева\*, Ю.А. Петров, В.А. Попова

Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия

**ОБОСНОВАНИЕ.** Детское ожирение и темпы его распространения — серьезная угроза репродуктивному здоровью нации, особенно среди мальчиков, является фоном для задержки полового развития и в дальнейшем приводит к нарушению фертильности.

**ЦЕЛЬ.** Изучение особенностей соотношения уровня лептина и ряда токсических и эссенциальных химических микроэлементов в биологических средах у мальчиков-подростков 13–14 лет с ожирением и задержкой полового развития.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Исследованы и сформированы три группы подростков 13–14 лет: основная — с конституционно-экзогенным ожирением 1–2 степени (1 — 20 мальчиков без вторичных признаков полового созревания; 2 — 24 мальчика с 2–4 стадией полового созревания по Таннеру) и сравнения (3 — 15 мальчиков с нормальной массой тела и без отклонений в половом созревании). Определялись в утренней моче уровень свинца, цинка, селена, хрома и марганца абсорбционным методом; в сыворотке крови — лептина методом иммуноферментного анализа. Статистический анализ данных проводили в среде MeoCape 11.4.2 Statistica, непараметрический корреляционный анализ — по Спирмену и расчет t-критерия Стьюдента для независимых выборок, достоверность результатов при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что для подростков с ожирением характерен определенный сдвиг в содержании токсических и эссенциальных микроэлементов, вектор которого смещен в сторону преобладания уровней токсических химических элементов, в частности свинца, и снижение эссенциальных элементов, таких как цинк, селен, хром и марганец. Однако более выраженное смещение значений в дисбалансе микроэлементов уже нарушает не только обменные процессы в организме детей-подростков, но и приводит к нарушению пубертата — к задержке полового развития.

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В организме мальчиков-подростков с ожирением и задержкой полового развития прогрессируют процессы окислительного стресса, тканевой гипоксии на фоне избытка лептина, накопления тяжелых металлов и дефицита эссенциальных микроэлементов. Менее выраженные сдвиги в содержании лептина и микроэлементов у мальчиков-подростков определяют сбой в нейроэндокринной регуляции, но не затрагивают уровень полового созревания. Гомеостаз гормонально-микроэлементного состава обеспечивает гармоничное развитие мальчиков-подростков.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** лептин; токсические химические элементы; эссенциальные химические элементы; мальчики-подростки; пубертат; задержка полового развития; детское ожирение.

## THE RELATIONSHIP OF CONSTITUTIONAL-EXOGENOUS OBESITY AND HORMONAL-MICROELEMENT STATUS IN ADOLESCENT BOYS WITH DELAYED SEXUAL DEVELOPMENT

© Nina A. Drukker, Natalya V. Palieva\*, Yuri A. Petrov, Victoria A. Popova

Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russia

**BACKGROUND:** Childhood obesity and the rate of its spread is a serious threat to the reproductive health of the nation, especially among boys, being a background for delaying sexual development and further disrupting fertility.

**AIM:** To study the peculiarities of the ratio of the level of leptin and a number of toxic and essential chemical trace elements in biological environments in adolescent boys aged 13–14 years with obesity and delayed sexual development.

**MATERIALS AND METHODS:** Three groups of adolescents aged 13–14 years were studied and formed: the main ones — with constitutional exogenous obesity of 1–2 degrees (1–20 boys without secondary signs of puberty; 2 — 24 boys with 2–4 stages of puberty according to Tanner) and comparisons (3 — 15 boys with normal body weight and without deviations in puberty). The level of lead, zinc, selenium, chromium and manganese in the morning urine was determined by the absorption method; in the blood serum — leptin, by the method of enzyme immunoassay. Statistical analysis of the data was carried out in the MeoCape 11.4.2 Statistica environment, nonparametric Spearman correlation analysis and calculation of the Student's t-test for independent samples, the reliability of the results at  $p < 0.05$ .

**RESULTS:** It was found that adolescents with obesity are characterized by a certain shift in the content of toxic and essential trace elements, the vector of which is shifted towards the predominance of levels of toxic chemical elements, in particular,

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



lead, and a decrease in essential toxic elements, such as zinc, selenium, chromium and manganese. However, a more pronounced shift in the values in the imbalance of trace elements already violates not only the metabolic processes in the body of adolescent children, but also leads to a violation of puberty - to a delay in sexual development.

**CONCLUSION:** In the body of adolescent boys with obesity and delayed sexual development, the processes of oxidative stress, tissue hypoxia are progressing against the background of excess leptin, accumulation of heavy metals and deficiency of essential trace elements. Less pronounced shifts in the content of leptin and trace elements in adolescent boys are determined by a failure in neuroendocrine regulation, but does not affect the level of puberty. The homeostasis of the hormonal-microelement composition ensures the harmonious development of adolescent boys.

**KEYWORDS:** *leptin; toxic chemical elements; essential chemical elements; adolescent boys; puberty; delayed sexual development; childhood obesity.*

## ОБОСНОВАНИЕ

Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) объявила, что 15 млн детей и подростков Европейского региона планеты имеют ожирение, и к 2025 г. прогнозируется повышение этого показателя до 70 млн в группе детей до 5 лет [1]. Полагают, данная ситуация — результат технического прогресса и индустриализации, которые повлияли на биологический облик современного человека, отразившись не только на соматическом здоровье нынешнего поколения, но и на репродуктивном благополучии [2]. Так как замечено, что параллельно с ростом детского ожирения в последние десятилетия стал наблюдаться рост случаев нарушения пубертата и значительный рост бесплодия, в частности мужского фактора, чего ранее не отмечалось [3]. Одной из причин увеличения доли мужского бесплодия в общей структуре факторов infertility называют задержку полового развития (ЗПР) на фоне детского ожирения. Научные данные свидетельствуют, что у девочек ожирение тоже нарушает пубертат, но, в отличие от мальчиков, приводит к преждевременной активации функции репродуктивной оси [4, 5]. Вот почему у мальчиков в 9 раз чаще, чем у девочек, встречается функциональная задержка старта пубертата [6, 7].

Принято считать, что в основе этих нарушений лежит десинхронизация деятельности звеньев гипоталамо-гипофизарно-гонадной системы, в реализации функции которой участвует лиганд-рецепторная система киспептина [8]. Роль посредника между лептином и гонадотропин-рилизинг гормональным секреторирующим центром гипоталамуса выполняет киспептин, регулируя прямую и обратную связь в пределах гонадной оси. Лептин же, не только гормон жировой ткани и модулятор пищевого поведения, но и один из основных гормональных участников биохимического регуляторного каскада пубертата. Известно, что его избыток в юном возрасте тормозит гонадотропную функцию гипоталамо-гипофизарной системы и, соответственно, способствует задержке пубертата [9].

Наряду с нейроэндокринным менеджментом, процессами полового созревания управляют эссенциальные химические элементы (ЭХЭ). Причем дисбаланс последних приводит к сбою нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы [10]. Целый ряд исследований, в том числе наши, указывают на определенную взаимозависимость ЭХЭ с группой токсических химических элементов (ТХЭ) и отмечают особый характер соотношения этих ХЭ у мальчиков-подростков с задержкой полового развития (ЗПР) на фоне ожирения. В частности, у них в моче определяется высокий уровень такого ТХЭ, как

свинец [11, 12]. Показано, что особый тип микроэлемента может индуцировать возникновение как дефицита, так и избытка массы тела, способствуя целому ряду метаболических осложнений. ТХЭ (свинец, кадмий и др.), по сути, являются физиологическими антагонистами важнейших ЭХЭ (цинк, селен, медь и др.). Определенная палитра ХЭ в организме детерминирует секрецию люлиберина и гормонов аденогипофиза, что доказывает их значимость в организации работы репродуктивной оси. В ряде территорий, эндемичных по избытку некоторых ТХЭ, присутствие хронического оксидантного стресса в организме может стать дополнительным, чрезвычайно опасным триггером для нарушения здоровья, особенно ребенка в период полового созревания [10, 13].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучение особенностей соотношения уровня лептина и ряда токсических и эссенциальных химических микроэлементов в биологических средах у мальчиков-подростков 13–14 лет с ожирением и ЗПР.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и время проведения исследования

*Место проведения.* Научно-исследовательский институт акушерства и педиатрии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России, Ростов-на-Дону (НИИАП РостГМУ).

*Время исследования.* Период с марта 2015-го по сентябрь 2019 г.

### Изучаемые популяции (одна или несколько)

*Популяция:* подростки школьного возраста, обследуемые в рамках диспансеризации школьников г. Ростова-на-Дону.

В исследование включены 59 подростков 13–14 лет, из которых сформированы три группы: две основные (1-я и 2-я группы), с конституционально-экзогенным ожирением (КЭО) 1–2 степени и одна — сравнения (3-я группа), с нормальной массой тела. Первая группа — 20 подростков без вторичных признаков полового созревания (объем тестикул менее 3–4 мл); вторая группа — 24 подростка с 2–4 стадией полового созревания по Таннеру и третья группа — 15 мальчиков без отклонений в половом созревании (2–4 стадия полового созревания по Таннеру). В ходе исследования ни один участник не выбыл из группы и не было зарегистрировано ни одного нежелательного явления после инвазивных вмешательств с целью забора биологического материала.

**Критерии включения:** возраст от 13 до 14 лет; конституционально-экзогенное ожирение (КЭО) 1–2-й степени без вторичных признаков полового созревания (отсутствовал объем тестикул, равный 3–4 мл); с вторичными признаками полового созревания (2–4 стадии по Таннеру) и здоровые мальчики без отклонений в массе тела и половом развитии (2–4 стадии по Таннеру).

**Критерии невключения:** дети и подростки других возрастов; врожденные и приобретенные пороки развития, включая хромосомные и генетические заболевания; крипторхизм; гипогонадизм; другие эндокринные заболеваниями (сахарный диабет, гипопитуитаризм, гипотиреоз и т.д.).

**Критерии прекращения участия в исследовании:** отказ от участия в исследовании.

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

Сплошной способ формирования выборки.

#### Дизайн исследования

Одноцентровое, интервенционное, одномоментное (поперечное), одновыборочное, неконтролируемое, сравнительное исследование.

#### Описание медицинского вмешательства (для интервенционных исследований)

С целью получения искомым данным вначале проведена оценка антропометрических показателей и некоторых физиологических особенностей организма подростков, затем проводилось гормонально-микроэлементное исследование биологических сред, полученных в утренние часы (сыворотка периферической крови и моча).

#### Методы

Степень полового развития оценивалась согласно стадиям полового развития по Таннеру. Объем тестикул определялся методом УЗИ, ожирение выставлялось на основании расчета индекса массы тела (ИМТ) по формуле Кетле (отношение веса в килограммах к росту в квадрате, выраженному в метрах,  $\text{кг}/\text{м}^2$ ). Согласно федеральным клиническим рекомендациям «Оценка физического развития детей и подростков» (2017 г.), с учетом рекомендаций ВОЗ (2011 г.), ожирение у детей и подростков от 0 до 19 лет определяли как ИМТ, равный или более +2,0 SDS ИМТ. Степени ожирения оценивались как I — SDS ИМТ 2,0–2,5; II — SDS ИМТ 2,6–3,0; III — SDS ИМТ 3,1–3,9. Критерии невключения устанавливали на основании документального подтверждения возраста (свиде-

тельство о рождении или паспорт), диагнозов в истории болезни ребенка о наличии хромосомных, генетических или других эндокринных заболеваний, подтвержденных результатами клинико-лабораторных и инструментальных исследований, а также общего осмотра (в частности, крипторхизм).

Микроэлементный (МЭ) состав утренней мочи (свинец (Pb), цинк (Zn), селен (Se), хром (Cr) и марганец (Mn)) устанавливался абсорбционным методом, анализатором «Квант -Z» (ООО «Кортекс», Россия), в мкг/л. Сывороточный уровень гормонов (лептин (нг/мл), фолликуло-стимулирующий и лютеинизирующий гормон (в МЕ/л), тестостерон (нмоль/л)) определялся методом иммуноферментного анализа.

#### Статистический анализ

Статистическую обработку полученных данных и их значимость проводили с помощью лицензионного пакета Statistica 6.0, расчет критерия Уилкоксона для независимых выборок с поправкой на множественную проверку гипотез (поправка Бонферрони). Значимость различий определялась при  $p=0,05$ .

#### Этическая экспертиза

На все проводимые обследования было получено письменное согласие родителей или другого официального представителя и разрешение локального этического комитета. Исследование было одобрено на заседании этического комитета НИИАП РостГМУ от 16 января 2015 г. (протокол №2).

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

На первом этапе исследования были оценены антропометрические данные и ряд физиологических особенностей организма подростков групп сравнения. Установлено, что у мальчиков-подростков 1-й группы в основном преобладал равномерный тип распределения подкожно-жировой клетчатки (ПЖК) — 59,8%, у 10,5% — гиноидный тип и в 29,7% — андройдный.

Во 2-й группе в 100% распределение ПЖК равномерное. В группах с ожирением отмечался гипергидроз ладоней и стоп (в 1 — 60,0% и 2 — 33,3%) и ложная гинекомастия (в 1 — 59,7% и 2 — 20,8%). SDS ИМТ в 3 группе был достоверно ниже относительно показателей основных групп. Объем яичек в 1 группе был значительно меньше относительно 2 и 3-й групп (таблица 1).

На втором этапе проводилось гормонально-микроэлементное исследование биологических сред (сыворотка крови и моча).

Таблица 1. Морфометрическая оценка обследуемых групп

Показатели	Группы			P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
	1 группа (основная), n=20	2 группа (основная), n=24	3 группа (сравнения), n=15			
Объем тестикул, мл	2,7±0,3	10,6±2,5	13,5±3,1	<b>0,026</b>	0,118	<b>0,003</b>
SDS ИМТ	2,8±0,19	2,1±0,43	0,8±0,10	<b>0,004</b>	<b>0,011</b>	0,470

**Примечание:** ИМТ — индекс массы тела;  $p<0,05$  — статистическая значимость различий,  $p_1$  — между 1 и 3 группой,  $p_2$  — между 2 и 3 группой;  $p_3$  — между 1 и 2 группой (с учетом поправки Бонферрони).

Таблица 2. Гормональный статус мальчиков-подростков групп сравнения

Показатели	Группы			P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
	1 группа (основная), n-20	2 группа (основная), n-24	3 группа (сравнения), n-15			
Лептин, нг/мл	18,8±3,1	15,9±2,2	3,41±0,35	0,126	0,076	0,333
ФСГ, МЕ/л	1,75±0,16	1,92±0,21	2,87±0,33	<b>0,003</b>	<b>0,027</b>	0,092
ЛГ, МЕ/л	1,18±0,01	2,73±0,18	3,15±0,22	<b>0,011</b>	0,233	0,061
Ts, нмоль/л	7,97±1,25	10,53±1,75	18,1±3,36	0,033	<b>0,005</b>	0,738

Примечание: ФСГ — фолликулостимулирующий гормон, ЛГ — лютеинизирующий гормон, Ts — тестостерон общий; p<0,05 — статистическая значимость различий, p<sub>1</sub> — между 1 и 3 группой, p<sub>2</sub> — между 2 и 3 группой; p<sub>3</sub> — между 1 и 2 группой (с учетом поправки Бонферрони).

Таблица 3. Микроэлементный состав мочи мальчиков-подростков групп сравнения

Показатели, мкг/л	Группы			P <sub>1</sub>	P <sub>2</sub>	P <sub>3</sub>
	1 группа (основная), n-20	2 группа (основная), n-24	3 группа (сравнения), n-15			
Pb	11,1±3,2	9,6±0,7	8,2±0,3	<b>0,016</b>	0,44	0,08
Zn	135,7±4,5	202,7±5,3	288,2±6,3	<b>0,015</b>	<b>0,012</b>	<b>0,013</b>
Se	10,6±1,1	15,6±1,3	18,2±1,2	<b>0,016</b>	0,13	<b>0,002</b>
Cr	2,5±0,1	2,8±0,1	3,4±0,2	<b>0,014</b>	0,12	0,50
Mn	2,6±0,3	2,9±0,4	3,4±0,3	<b>0,012</b>	0,21	0,25

Примечание: Pb — свинец, Zn — цинк, Se — селен, Cr — хром, Mn — марганец; p<0,05 — статистическая значимость различий, p<sub>1</sub> — между 1 и 3 группами, p<sub>2</sub> — между 2 и 3 группами; p<sub>3</sub> — между 1 и 2 группами (с учетом поправки Бонферрони).

Оценка особенностей гормонального фона (таблица 2) показала наибольшие значения лептина, на уровне тенденции, у мальчиков-подростков с ожирением в 1-й и 2-й группах и наименьшие — в группе контроля. Уровни гонадотропинов были наименьшими в 1-й группе и наибольшими в 3-й группе. Значимые различия получены с контрольной группой в 1-й группе по уровню ФСГ и ЛГ, а во 2-й — только по уровню ФСГ. Содержание общего тестостерона имело аналогичное распределение с уровнями гонадотропинов. Достоверность отличий установлена относительно контрольной группы в 1-й и 2-й группах. При анализе микроэлементного состава мочи у исследуемых мальчиков проведена оценка уровня как ЭХЭ, так и ТХЭ. Из группы ТХЭ изучалась концентрация свинца, а в группе ЭХЭ — цинк, селен, марганец и хром (таблица 3). Содержание свинца было статистически значимо выше в 1-й группе относительно пациентов 2-й группы и группы контроля. При этом у мальчиков с ЗПР абсолютные значения уровней свинца в моче были максимальными. Между тем другая тенденция установлена в содержании ЭХЭ. У мальчиков с ожирением обнаружено достоверно более низкое содержание цинка в сравнении с группой контроля, и минимальные его уровни отмечены в 1-й группе. Другие ЭХЭ тоже были снижены у пациентов с ожирением относительно группы контроля. Статистически значимое снижение селена и хрома выявлено у подростков 1-й группы к группе контроля. У мальчиков основных групп определено более низкое содержание марганца, нежели у подростков с нормальным ИМТ и физиологическими темпами пубертата. Однако статистическая значимость имела только в группе с ожирением и ЗПР, а во 2-й группе — отличия на уровне тенденции.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Репрезентативность выборок

Набор участников для исследования проводился только в федеральном учреждении.

### Сопоставление с другими публикациями

Механизмы пубертата у девочек и мальчиков различны. Для девочек одним из необходимых триггеров полового созревания считается определенный объем жировой ткани. Ввиду того, что именно в жировой ткани происходит ароматизация андрогенов в эстрогены, так как она является дополнительным пулом эстрогенов на периферии и участником процесса запуска пульс-секреции люлиберина и циклической секреции гонадотропинов в центральной нервной системе. А вот для мальчиков, напротив, избыток жировой ткани и, следовательно, эстрогенов в пубертате ингибирует андрогенные стимулы на органы мишени [3]. Лептин имеет прямую корреляцию с объемом жировых масс в организме человека, и наши данные подтверждают эту зависимость и не только, так как максимальные концентрации лептина в группе с ЗПР являются косвенным подтверждением ретенции лептина на гипоталамо-гипофизарно-гонадную ось и, как следствие, половое развитие [8, 9].

Результаты микроэлементной эндосреды у мальчиков установили определенный сдвиг в содержании токсических и эссенциальных МЭ в случае присутствия у подростка ожирения. Вектор смещен в сторону преобладания уровней ТХЭ, в частности свинца, и снижения ЭХЭ — цинк, селен, хром и марганец. При этом у мальчиков с ЗПР наблюдались максимальные концентрации свинца в моче.

По нашему мнению, этому может быть несколько возможных объяснений. Прежде всего, результат техногенного загрязнения атмосферы способствует высокому содержанию этого ТХЭ в организме детей, проживающих на загрязненной территории. В основном кумуляция свинца происходит в жировой ткани, которая как «щит», защищая другие органы и ткани от негативного влияния тяжелых металлов, адсорбирует их в себе, соответственно, уровни свинца будут преобладать у детей с ее избытком [10, 14]. Еще в литературе описываются свойства свинца напрямую стимулировать гены печеночного глюконеогенеза и в высоких концентрациях вызывать нарушение углеводного обмена, вплоть до сахарного диабета 2 типа, и дислипидемию, способствуя формированию ожирения [15, 16]. Помимо прочего, для ожирения характерен повышенный оксидативный стресс, и детский организм не является исключением, а состояние тканевой гипоксии способствует нарушению перфузии и кумуляции тяжелых металлов в тканях и клетках организма. Избыточные концентрации свинца в организме ребенка, страдающего ожирением, в период полового созревания крайне негативно сказываются на синхронности работы звеньев гипоталамо-гипофизарно-тестикулярной оси, так как свинец обладает прямым и опосредованным повреждающим действием на различные звенья этой функциональной системы [17], и это подтверждают результаты нашего исследования. В группе детей с ожирением и без вторичных половых признаков определены значимо низкие концентрации тестостерона и гонадотропинов в отличие от групп сравнения, где имело место нормальное становление вторичных половых признаков.

Рассуждая о цинке, известно его положительное влияние на репродуктивную систему. Он обладает способностью накапливаться в половых органах и стимулировать развитие вторичных половых признаков. В связи с чем дефицит этого ЭХЭ в период полового созревания может приводить к задержке пубертата. Зная о влиянии низких концентраций цинка на формирование лептино-резистентности и гиперлептинемии [18], наши результаты согласуются и подтверждают роль дефицита цинка в процессах девиации метаболизма и прогрессии ожирения у мальчиков-подростков.

Как и цинк, селен ответственен за развитие функционального слоя мужских половых гонад, защиту сперматозоидов от окислительного стресса, в связи с чем становится понятно, почему у мальчиков-подростков с ЗПР уровень данного ЭХЭ снижен [13]. Olechnowicz J. с соавт. (2017 г.) в своем исследовании тоже показали, что концентрация селена снижена у пациентов с ожирением, независимо от возраста и пола [19], и имеет обратную связь с инсулинорезистентностью.

Если же говорить о влиянии хрома на репродуктивную ось и метаболизм, то указывается, что его дефицит, который наблюдался у мальчиков-подростков с ожирением и в нашем исследовании, способствует нарушению репродуктивной функции у мужчин, толерантности к глюкозе, инсулинорезистентности и ожирению. С другой стороны, употребление высокоуглеводистой пищи приводит к снижению уровня хрома. То есть формируется «замкнутый круг»: инсулинорезистентность и гиперинсулинизм, нарушение толерантности к глюкозе, при недостатке хрома, которые вызывают изменение пище-

вого поведения по типу переедания и, как следствие, сбой липогенеза и ожирение, что еще больше усугубляет дефицит этого МЭ, так как препятствует накоплению хрома в организме [20].

Марганец — важный элемент, участвующий в синтезе и активации многих ферментов, а также в регуляции метаболизма глюкозы и липидов у людей. Он один из необходимых компонентов супероксиддисмутазы, отвечающей в основном за улавливание активных форм кислорода при окислительном стрессе митохондрий. И как дефицит, так и интоксикация Mn связаны с неблагоприятными метаболическими и психоневрологическими эффектами. Mn всасывается через желудочно-кишечный тракт и быстро концентрируется в органах, богатых митохондриями, такими как печень, поджелудочная железа и гипофиз [10, 11]. Такой вариант микроэлементоза у мальчиков-подростков с ожирением, возможно, указывает на присутствие в их организме избытка продуктов окисления на фоне тормозящих влияний в центральных отделах репродуктивной оси, что в случае более выраженного дефицита Mn, который установлен нами в 1 группе, предрасполагает к ЗПР.

Суммируя полученные результаты и известные мнения о гормонально-микроэлементной изменчивости в организме мальчиков-подростков в период пубертата, установленные особенности уровня лептина, как важного коррелята липидного и углеводного обмена [2, 9], и определенное соотношение ряда токсических и эссенциальных микроэлементов может внести определенный вклад в патогенез задержки полового развития у мальчиков с ожирением. Возникающая диссоциация микроэлементов в результате экзо- и эндогенных воздействий, по-видимому, может вызвать нарушение метаболизма, сдвиги углеводного и липидного обмена, тем самым активизируя лептин и резистентность рецепторной системы к нему, избыточные количества свободных фракций которого, в свою очередь, отрицательно сказываются на гомеостазе микроэлементов [10, 14].

#### Клиническая значимость результатов

Таким образом, определение уровня лептина и ряда химических микроэлементов, таких как свинец, цинк, селен, хром и марганец, может использоваться в качестве прогностической и диагностической панели возможного отклонения пубертата у мальчиков-подростков с КЭО. В случае же имеющейся ЗПР определение этих биологических маркеров позволит наиболее оптимально определить лечебную стратегию, максимально эффективно восстановить морфофункциональный сдвиг и минимизировать риски репродуктивных расстройств для здоровья в дальнейшем.

#### Ограничения исследования

Как таковых явных ограничений в проведенном исследовании нет. Однако, возможно, могут быть какие-то смещения результатов. Нами не брался в учет национальный или расовый фактор. Не стоит исключать, что исследование проведено на небольшой выборке мальчиков-подростков в одном учреждении, то есть его следует отнести к одноцентровому пилотному исследованию с оценкой «случай-контроль». Ну и, конечно же, не проводился сравнительный межтерриториальный

анализ. Исследованная группа подростков проживает в пределах Ростовской области, в одной экологической нише, имеющей определенную схожую долю распределения микроэлементов в окружающей среде.

#### Направления дальнейших исследований

Мы планируем продолжить эту работу по изучению особенностей и влияния на метаболические процессы и половое развитие мальчиков-подростков гормонально-микроэлементного состава внутренней биологической среды с учетом устранения перечисленных факторов, которые не были введены в данное пилотное исследование.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты нашего исследования показали, что в организме мальчиков подростков с ожирением и ЗПР имеется избыток лептина, накопление тяжелых металлов и дефицит эссенциальных микроэлементов. Полагаем, что такой биохимический фон будет способствовать прогрессированию окислительного стресса, приводя к тканевой гипоксии, нарушая функциональную активность репродуктивной оси, на что указывает низкое содержание тестостерона и гонадотропных гормонов. Менее выраженные сдвиги в уровне лептина и микроэлементов у мальчиков-подростков с ожирением, но без признаков

ЗПР, определяет собой в нейроэндокринной регуляции, и не оказывает влияние на половое развитие. Напротив, гомеостаз гормонально-микроэлементного состава биологических сред организма мальчиков контрольной группы без отклонений в метаболизме и половом созревании обеспечивает гармоничное их развитие. Следовательно, микроэлементный дисбаланс у мальчиков-подростков с КЭО является очень важным и одним из решающих факторов, стимулирующих задержку полового развития.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Исследование проведено в рамках выполнения государственного задания.

**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.

**Благодарности.** Коллектив авторов выражает благодарность Дышековой Оксане Викторовне за помощь в переводе оригинальных статей на английский и немецком языках, заведующей отделением клинико-диагностической лаборатории НИИАП РостГМУ за помощь в проведении лабораторных исследований.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- WHO.int [internet]. World Health Organization Fact sheet №311. *Obesity and overweight* [cited 2021 Jul 6]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en>
- Гончаров Н.П., Дедов И.И., Гависова А.А., Сухих Г.Т. Эндокринная система человека в различные периоды его жизни. — М.: «АДАМАНТЪ»; 2020. 556 с. [Goncharov NP, Dedov II, Gavisova AA, Suhikh GT. Jendokrinnaja sistema cheloveka v razlichnye periody ego zhizni. Moscow: «ADAMANTЪ»; 2020. 556 s. (in Russ.)]
- El Salam MAA. Obesity, an enemy of male fertility: a mini review. *Oman Med J*. 2018;33(1):3-6. doi: <https://doi.org/10.5001/omj.2018.02>
- He Y, Tian J, Oddy WH, Dwyer T, Venn AJ. Association of childhood obesity with female infertility in adulthood: a 25-year follow-up study. *Fertil Steril*. 2018;110(4):596-604.e1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2018.05.011>
- Манунова Э.А., Петров Ю.А., Палиева Н.В. Ожирение и репродуктивное здоровье // *Главный врач Юга России*. — 2021. — Т. 79. — № 4. — С. 29-32. [Manunova JeA, Petrov JuA, Palieva NV. Ozhirenie i reproduktivnoe zdorov'e. *Glavnyj vrach Juga Rossii*. 2021;4(79):29-32. (in Russ.)]
- Tomova A, Robeva R, Kumanov P. Influence of the body weight on the onset and progression of puberty in boys. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab*. 2015;28(7-8):859-865. doi: <https://doi.org/10.1515/jpem.2014-0363>
- Lee JM, Wasserman R, Kaciroti N, et al. Timing of puberty in overweight versus obese boys. *Pediatrics*. 2016;137(2). doi: <https://doi.org/10.1542/peds.2015-0164>
- Cao Y, Li Z, Jiang W, et al. Reproductive functions of Kisspeptin/KISS1R Systems in the Periphery. *Reprod Biol Endocrinol*. 2019;17(1):65. doi: <https://doi.org/10.1186/s12958-019-0511-x>
- Abreu AP, Kaiser UB. Pubertal development and regulation. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016;4(3):254-264. doi: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(15\)00418-0](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(15)00418-0)
- Оберлис Д., Харланд Б., Скальный А. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Под ред. Скального А.В. — М.: Изд-во Российского университета дружбы народов; 2018. 657 с. [Oberlis D, Harland B, Skal'nyj A. Biologicheskaja rol' makro- i mikrojelementov u cheloveka i zhivotnyh. Ed by A.V. Skal'nogo. Moscow: Izdatel'stvo Rossijskogo universiteta družby narodov; 2018. 657 s. (in Russ.)]
- Li L, Yang X. The essential element manganese, oxidative stress, and metabolic diseases: links and interactions. *Oxid Med Cell Longev*. 2018;2018:7580707. doi: <https://doi.org/10.1155/2018/7580707>
- Попова В.А., Кожин А.А., Пузикова О.З., Друkker Н.А. Микроэлементный дисбаланс как фактор, потенцирующий задержку полового развития у мальчиков подростков с конституционально-экзогенным ожирением // *Педиатрия*. — 2019. — №1. — С. 223-227. [Popova VA, Kozhin AA, Puzikova OZ, Drukker NA. Mikrojelementnyj disbalans kak faktor, potencirujushhij zaderzhku polovogo razvitija u mal'chikov podrostkov s konstitucional'no-jekzogenym ozhireniem. *Pediatrija*. 2019;1:223-27. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-1-223-227>
- Błażewicz A, Klatka M, Astel A, et al. Serum and urinary selenium levels in obese children: a cross-sectional study. *J Trace Elem Med Biol*. 2015;29:116-122. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.07.016>
- Cayir Y, Cayir A, Turan MI, et al. Antioxidant status in blood of obese children: the relation between trace elements, paraoxonase, and arylesterase values. *Biol Trace Elem Res*. 2014;160(2):155-160. doi: <https://doi.org/10.1007/s12011-014-0038-0>
- Wan H, Wang B, Cui Yu, et al. Low-level lead exposure promotes hepatic gluconeogenesis and contributes to the elevation of fasting glucose level. *Chemosphere*. 2021;276:130111. doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130111>
- Tyrrell JB, Hafida S, Stemmer P, Adhami A, Leff T. Lead (Pb) exposure promotes diabetes in obese rodents. *J Trace Elem Med Biol*. 2017;39:221-226. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.10.007>
- Wen WL, Wang CW, Wu DW, et al. Associations of heavy metals with metabolic syndrome and anthropometric indices. *Nutrients*. 2020;12(9):2666. doi: <https://doi.org/10.3390/nu12092666>
- Fan Y, Zhang C, Bu J. Relationship between Selected Serum Metallic Elements and Obesity in Children and Adolescent in the U.S. *Nutrients*. 2017;9(2):104. doi: <https://doi.org/10.3390/nu9020104>
- Olechnowicz J, Tinkov A, Skalny A, Suliburska J. Zinc status is associated with inflammation, oxidative stress, lipid, and glucose metabolism. *J Physiol Sci*. 2018;68(1):19-31. doi: <https://doi.org/10.1007/s12576-017-0571-7>
- Lapik IA, Galchenko AV, Gapparova KM. Micronutrient status in obese patients: a narrative review. *Obesity Medicine*. 2020;18(1):100224. doi: <https://doi.org/10.1016/j.obmed.2020.100224>

Рукопись получена: 27.02.2022. Одобрена к публикации: 22.02.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\***Палиева Наталья Викторовна**, д.м.н., доцент [**Natalia V. Palieva**, MD, PhD]; адрес: Россия, 344022, Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, д. 29 [address: 29 Nakhichevanskiy street, 344022, Rostov-on-Don, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2278-5198>; SPIN-код: 3309-9218; e-mail: [nat-palieva@yandex.ru](mailto:nat-palieva@yandex.ru)

**Друккер Нина Александровна**, д.б.н., доцент [Nina A. Drukker, BD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1605-6354>; SPIN-код: 6910-0082; e-mail: [n.drukker@yandex.ru](mailto:n.drukker@yandex.ru)

**Петров Юрий Алексеевич**, д.м.н., профессор [Yuriy A. Petrov, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2348-8809>; SPIN-код: 1582-0468; e-mail: [mr.doktorpetrov@mail.ru](mailto:mr.doktorpetrov@mail.ru)

**Попова Виктория Александровна**, д.м.н. [Viktoria. A. Popova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5329-7336>; SPIN-код: 5758-9115; e-mail: [vait49@mail.ru](mailto:vait49@mail.ru)

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Друккер Н.А., Палиева Н.В., Петров Ю.А., Попова В.А. Взаимосвязь конституционально-экзогенного ожирения и гормонально-микроэлементного статуса у мальчиков-подростков с задержкой полового развития // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 99-105. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13155>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Drukker NA, Palieva NV, Petrov YA, Popova VA. The relationship of constitutional-exogenous obesity and hormonal-microelement status in adolescent boys with delayed sexual development. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):99-105. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13155>

## НОВЫЙ СПОСОБ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ГИПОГОНАДОТРОПНОГО ГИПОГОНАДИЗМА И КОНСТИТУЦИОНАЛЬНОЙ ЗАДЕРЖКИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ У ЮНОШЕЙ 13,5–17 ЛЕТ



© Ю.Л. Скородок, И.Ю. Иоффе\*, Е.В. Плотникова, И.И. Нагорная, Л.А. Желенина, А.В. Кожевникова

Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет, Санкт-Петербург, Россия

**ОБОСНОВАНИЕ.** Дифференциальная диагностика гипогонадотропного гипогонадизма (ГГ) и конституциональной задержки полового развития (КЗПР) крайне важна, так как при последней половое созревание начинается и полностью завершается без какого-либо медицинского вмешательства, а при первом пубертатный период не наступает либо проходит не до конца, и отсутствие своевременного лечения приводит к медицинской и психосоциальной дезадаптации.

**ЦЕЛЬ.** Разработка метода дифференциальной диагностики гипогонадотропного гипогонадизма и конституциональной задержки полового развития у юношей 13,5–17 лет путем балльной оценки уровней лютеинизирующего гормона, фолликулостимулирующего гормона, тестостерона и ингибина В.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Целевую популяцию формировали из юношей 13,5–17 лет с синдромом задержки пубертата путем сплошного включения наблюдений. Оценивали анамнестические данные, стадию пубертата, объем тестикул; определяли сывороточные уровни ЛГ, ФСГ, тестостерона (Т) методом хемилюминисцентного анализа, ингибина В, АМГ-ИФА. Проводили стимуляционные тесты с трипторелином и 3-дневным введением хорионического гонадотропина. Пациентов наблюдали амбулаторно в течение 6–24 месяцев.

**РЕЗУЛЬТАТЫ.** В исследование включили юношей 13,5–17 лет с синдромом задержки пубертата: 56 — с целью создания метода дифференциальной диагностики, 30 — его контроля (группа контроля). Разработали количественный способ, позволяющий дифференцировать ГГ и КЗПР. На основании проведенного ROC-анализа установили наиболее чувствительные и специфичные маркеры ГГ и выбрали из них доступные для амбулаторного исследования базальные уровни ЛГ, ФСГ, Т, ингибина В. Для каждого показателя, основываясь на результатах собственного исследования и данных литературы, подобрали интервалы значений, в зависимости от них — оценки ЛГ, ФСГ, Т и ингибина В, а также коэффициенты ( $k$ ) для каждого показателя. Баллы вычисляли путем умножения оценки на  $k$ , после чего суммировали и нормализовали к максимальной сумме, которую мог получить пациент. Для повышения точности диагностики ввели возрастную поправку. Итогом вычисления стал результат балльной оценки ( $S$ ).  $S$  при КЗПР (10,65 [3,13–14,91]) статистически значимо отличался от такового при ГГ (76,46 [57,79–83,74]) ( $p < 0,001$ ). Поставленные на основании  $S$  ( $< 21,16$  и  $\geq 55,07$ ) диагнозы в группе контроля подтверждены данными катанеза в 97% случаев. Разработан алгоритм дифференциальной диагностики ГГ и КЗПР с использованием  $S$ .

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Результат балльной оценки уровней ЛГ, ФСГ, тестостерона, ингибина В  $\geq 55,07$  позволяет диагностировать гипогонадотропный гипогонадизм,  $< 21,16$  — конституциональную задержку полового развития с высокой вероятностью. В случае суммы баллов  $\geq 21,16$ , но  $< 55,07$  требуется расчет отношения ингибин В/АМГ и/или проведение стимуляционных тестов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гипогонадотропный гипогонадизм; юноши; синдром задержки пубертата; дифференциальная диагностика.

## A NEW WAY FOR THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HYPOGONADOTROPIC HYPOGONADISM AND CONSTITUTIONAL DELAY OF PUBERTY IN ADOLESCENT MEN AGED 13.5–17 YEARS

© Yulia L. Skorodok, Irina Y. Ioffe\*, Elena V. Plotnikova, Irena I. Nagornaya, Anzhelika V. Kozhevnikova, Lyudmila A. Zhelenina

Saint-Petersburg state pediatric medical university, Saint-Petersburg, Russia

**BACKGROUND:** Differential diagnosis of hypogonadotropic hypogonadism (HH) and constitutional delay of puberty (CDP) is extremely important since with the latter puberty begins and completes without any medical intervention and in the case of HH puberty does not occur or is incomplete. Failure to start treatment on time leads to medical and psychosocial maladjustment of the patient.

**AIM:** Development of a method for differential diagnosis of hypogonadotropic hypogonadism and constitutional delay of puberty in boys 13.5–17 years old by scoring the levels of LH, FSH, testosterone and inhibin B

**MATERIALS AND METHODS:** The study group was formed by adolescent men 13.5–17 years old with delayed puberty including all observations. Anamnesis, stage of puberty, testicular volume were assessed; serum levels of LH, FSH, testosterone (T) were determined by chemiluminescent analysis and inhibin B, AMH by ELISA. Stimulation tests were performed with triptorelin and human chorionic gonadotropin (3 days). Patients were followed up for 6–24 months.

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



**RESULTS:** The study included adolescent men at the age of 13.5–17 years with delayed puberty: 56 for the purpose of development a method of differential diagnosis, 30 for its control (control group). We've created a method that allows differentiate HH and CDP. Through the ROC-analysis the most sensitive and specific HH markers were identified. The basal levels of LH, FSH, T, and inhibin B were selected as most available for outpatient testing. Based on the results of our own research and scientific data we selected ranges of values and rated LH, FSH, T and inhibin B depending on them (marks). Then we assigned the coefficients ( $k$ ) for each hormone. Scores were calculated by multiplying the marks by  $k$  then summed and normalized to the maximum amount the patient could get. To increase the accuracy of diagnosis an age coefficient was introduced. The result of the calculation was the result of the scoring ( $S$ ).  $S$  for CDP (10.65 [3.13–14.91]) differed significantly from that for HH (76.46 [57.79–83.74]) ( $p < 0.001$ ). Diagnoses based on  $S$  ( $< 21.16$  and  $\geq 55.07$ ) in the control group were confirmed by follow up data in 97% cases. An algorithm for the differential diagnosis of HH and CDP by using  $S$  has been developed.

**CONCLUSION:** The result of scoring of LH, FSH, testosterone, inhibin B levels  $\geq 55.07$  makes it possible to diagnose hypogonadotropic hypogonadism,  $< 21.16$  — constitutional delay of puberty with a high probability. In the case of score  $\geq 21.16$  but  $< 55.07$ , calculation of the inhibin B/AMH ratio and/or stimulation tests are required.

**KEYWORDS:** hypogonadotropic hypogonadism; adolescent men; delayed puberty; differential diagnosis.

## ОБОСНОВАНИЕ

Синдром задержки пубертата у юношей — отставание сроков полового созревания более чем на 2 стандартных отклонения в сравнении с популяцией (традиционно, позже 13,5 лет, причинами которого могут быть стойкие нарушения гипоталамо-гипофизарной и/или гонадной функций (гипогонадизм) и транзиторная недостаточность гонадотропин-рилизинг гормона (задержка полового развития, чаще — конституциональная задержка полового развития, КЗПР) [1, 2]. По уровню поражения в системе гипоталамус-гипофиз-гонады выделяют гипогонадотропный (ГГ) и гипергонадотропный гипогонадизм; диагностика последнего не вызывает затруднений в связи с наличием высокоспецифичного и чувствительного биохимического маркера — гипергонадотропинемии [3, 4]. В противоположность этому отличить ГГ от КЗПР не всегда просто, так как стойкая или временная гонадотропная недостаточность при этих состояниях имеет сходные клиническую картину и биохимические маркеры [2, 3, 4]. Однако дифференциальная диагностика этих состояний крайне важна, так как при КЗПР половое созревание начинается и полностью завершается без какого-либо медицинского вмешательства, а при ГГ пубертатный период не наступает либо проходит не до конца [3, 5]. Отсутствие своевременного лечения при ГГ приводит к развитию медицинской и психосоциальной дезадаптации [6, 7, 8].

Ряд исследователей предлагает основываться на базальных уровнях лютеинизирующего гормона (ЛГ), фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), тестостерона (Т), ингибина В и антимюллерова гормона (АМГ), однако пороговые значения и выбор показателей в разных публикациях различаются [4, 9, 10]. Указанные авторы считают, что значения всех показателей у пациента должны быть ниже или выше диагностических уровней для ГГ или КЗПР соответственно, и это является недостатком, потому что при несоблюдении данного условия в отношении хотя бы одного показателя дифференциальная диагностика становится затруднительной.

С другой стороны, отсутствуют стандартные рекомендации по выбору, проведению и оценке стимуляционных тестов [1, 4, 11]; некоторые авторы считают их вообще неинформативными [12, 13].

## ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка метода дифференциальной диагностики гипогонадотропного гипогонадизма и конституциональной задержки полового развития у юношей 13,5–17 лет путем балльной оценки уровней ЛГ, ФСГ, тестостерона и ингибина В.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Место и время проведения исследования

*Место проведения.* Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия.

*Время исследования.* Май 2017 года — март 2023 года.

### Исследуемые популяции (одна или несколько)

*Популяция:* «Синдром задержки пубертата».

*Критерии включения:* мужской пол, возраст 13,5–17 лет, несоответствие стадии полового развития по Tanner возрасту (I или II у подростков старше 15 лет), согласие на проведение обследования и обработку персональных данных.

*Критерии исключения:* неконтролируемые соматические или другие эндокринные заболевания и/или нестабильная заместительная терапия, гипергонадотропинемия, численные и структурные перестройки хромосом, синдромы с множественными врожденными пороками развития.

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

Путем сплошного включения наблюдений.

### Дизайн исследования

Одноцентровое, наблюдательное, с применением диагностических медицинских вмешательств в интересах исследования, динамическое, ретроспективное (6–24 месяца), одновыборочное, контролируемое, сравнительное, не рандомизированное, не маскированное.

## Методы

Критерии включения определяли методом оценки стадии пубертата по Tanner, подписанием информированного добровольного согласия на обследование; исключения — изучения анамнестической медицинской документации, анализа результатов исследования ТТГ, свТ<sub>4</sub>, кортизола, инсулиноподобного фактора роста-1, ЛГ, ФСГ.

Собирали анамнез заболевания и жизни, проводили анализ сопутствующих состояний, перенесенных заболеваний, хирургических и иных вмешательств. Стадию полового созревания оценивали по Tanner, объем тестикул — орхидометром Prader. Определяли уровни гормонов в сыворотке крови: ЛГ, ФСГ, Т с использованием иммунохемилюминесцентного метода (Cobas, Roche Diagnostics), ингибина В, АМГ — методом иммуноферментного анализа (DSL).

Проводили стимуляционный тест с трипторелином: определяли уровни ЛГ до и через 60, 240 минут после подкожного введения 0,1 мг трипторелина. Пик секреции ЛГ >10 МЕ/л расценивали как положительный тест, ≤10 МЕ/л — отрицательный [1, 3]. Проводили 3-дневный стимуляционный тест с хорионическим гонадотропином (ХГ), или функциональную пробу тестикул (ФПТЗ): определяли уровень Т до и через 24 часа после трехкратного ежедневного внутримышечного введения ХГ в дозе 1500 МЕ/м<sup>2</sup>. Положительным результатом считали повышение уровня Т >3,5 нмоль/л, отрицательным — ≤3,5 нмоль/л [1, 3, 4].

Пациентов наблюдали амбулаторно в течение 6–24 месяцев, обследовали повторно/неоднократно при необходимости, части пациентов проводили пробную терапию препаратами Т в дозе 50–100 мг 1 раз в 28 дней внутримышечно в течение 3 месяцев. Спонтанное или индуцированное пробной терапией прогрессирование пубертата расценивали как КЗГР.

## Статистический анализ

Статистическую обработку данных проводили с использованием программного пакета Microsoft Office Excel и StatTech v. 2.8.8 (разработчик ООО «Статтех», Россия). Количественные показатели оценивали на предмет соответствия нормальному распределению с помощью критерия Шапиро-Уилка. Количественные показатели, имеющие нормальное распределение, описывали с помощью средних арифметических величин (M) и стандартных отклонений (SD), границ 95% доверительного интервала. В случае отсутствия нормального распределения количественные данные описывали с помощью медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q1–Q3]. Сравнение групп по количественному показателю, имеющему нормальное распределение, выполняли с помощью t-критерия Уэлча. Сравнение двух групп по количественному показателю, распределение которого отличалось от нормального, выполняли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для оценки диагностической значимости количественных признаков при прогнозировании определенного исхода применяли метод ROC-анализа. Разделяющую величину количественного признака в точке cut-off определяли по наивысшему значению индекса Юдена.

## Этическая экспертиза

Исследование выполнено в рамках диссертационной работы, одобренной юридическим отделом и этическим комитетом Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Минздрава России (протокол № 5/8 от 18 мая 2017 г.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В исследование включили юношей 13,5–17 лет (14,50±1,14 (14,17–14,85)) с синдромом задержки пубертата: 56 — с целью создания метода дифференциальной диагностики, 30 — контроля разработанного метода.

Из 56 обследованных у 13 (23,2%) была множественная недостаточность гормонов аденогипофиза (МНГА) (дефицит гормона роста и ТТГ у всех, дефицит АКТГ — у 7, сахарный диабет — у 6), 43 (76,8%) не имели истории другой эндокринной или соматической патологии — изолированная задержка пубертата (ИЗП). У пациентов с МНГА суммарный объем тестикул составил 3,5 [2,75–4,0] мл и соответствовал допубертатному возрасту. У большинства пациентов (12; 93,3%) лобковое оволосение отсутствовало, у 1 (6,7%) соответствовало II стадии по Tanner. Медианные уровни ЛГ 0,1 [0,07–0,2] МЕ/л и Т 0,04 [0–0,21] нмоль/л, средние концентрации ФСГ 0,42±0,31 (0,22–0,62) МЕ/л, были ниже референтного интервала по возрасту и соответствовали допубертатным значениям [14]. Медианные уровни АМГ 25,94 [22,27–35,26] нг/мл были выше, а ингибина В 29,05 [16,5–47,5] пг/мл — ниже средневозрастных показателей и также соответствовали допубертатным значениям [15, 16]. Таким образом, у пациентов пубертатного возраста с МНГА в условиях компенсированного дефицита гормонов гипофиза такие клинические признаки, как допубертатные размеры семенников, отсутствие или недостаточное развитие лобкового оволосения, а также лабораторные данные (не соответствующие возрасту уровни гонадотропных гормонов, Т, ингибина В, АМГ) позволили расценить вероятность ГГ как высокую.

У 43 пациентов с ИЗП суммарный объем яичек составил 6,0 [3,5–7,0] мл и соответствовал допубертатному возрасту. Более чем у половины пациентов лобковое оволосение отсутствовало (28; 65,1%), у остальных соответствовало II (14; 32,6%) или III (1; 2,3%) стадии по Tanner. Костный возраст у юношей с ИЗП составил 12,7±1,5 года. 5 пациентов с ИЗП в возрасте от 15 лет 3 мес до 17 лет 6 мес имели крайне низкие уровни ЛГ (0–0,3 МЕ/л), ФСГ (0–0,99 МЕ/л), Т (0,14–0,4 нмоль/л) и ингибина В (16–23 пг/мл). Клинически у этих пациентов не было признаков пубертата, что наряду с лабораторными данными делало высоко вероятным диагноз ГГ. Из оставшихся 38 пациентов другие 10 (возраст 15–15,5 лет) имели не менее двух лабораторных и одного клинического признаков начала пубертата: пубертатные уровни ЛГ (1,01–4,5 МЕ/л) в сочетании с ФСГ (1,27–5,3 МЕ/л) и/или Т (0,18–6,12 нмоль/л) и/или суммарный объем тестикул 9–11 мл. Это делало высоко вероятным диагноз КЗГР. Оставшихся 28 пациентов из группы ИЗП мы отнесли к так называемой «серой зоне», когда ГГ не был исключен, и сохранялась вероятность

КЗПР. Медианный уровень ЛГ 0,38 [0,11–1,79] МЕ/л соответствовал нижнему квартилю нормального пубертатного интервала, тогда как среднее содержание ФСГ  $1,75 \pm 1,23$  (1,26–2,24) МЕ/л, а также медианные концентрации Т 0,545 [0,15–1,04] нмоль/л и ингибина В 35,00 [19,0–112,10] пг/мл были ниже, а средний уровень АМГ  $31,56 \pm 21,98$  (15,84–47,28) нг/мл — выше пубертатных значений [14, 15, 16]. При этом концентрации ЛГ, ФСГ и Т были статистически значимо выше, чем у пациентов группы МНГА ( $p=0,027$ ,  $<0,001$  и  $0,006$  соответственно).

Результаты ROC-анализа различающихся показателей представлены в таблице 1.

Пациентам из «серой зоны» ИЗП провели тест с трипторелином: положительный результат теста отмечался у 10 юношей, отрицательный — у 18.

13 пациентов с МНГА, 5 с крайне низкими уровнями ЛГ, ФСГ, Т, ингибина В, а также 12 (из 18 с отрицательным тестом с трипторелином) без признаков прогрессирующего полового развития, по данным катамнеза, составили подгруппу пациентов с диагностированным ГГ (подгруппа 1, 30 юношей). По результатам катамнеза, 6 пациентов из 18 с отрицательным тестом демонстрировали прогрессирование самостоятельного или индуцированного препаратами Т пубертата, что позволило диагностировать у них КЗПР (подгруппа 2). Пациенты подгрупп 1 и 2 были сопоставимы по возрасту ( $p=0,613$ ). Уровни ЛГ, ФСГ, Т и ингибина В у пациентов обеих подгрупп представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, концентрация ФСГ была статистически значимо выше у пациентов подгруппы 2. Различий между уровнями ЛГ, Т, ингибина В у пациентов подгрупп 1 и 2 не было. По результатам ROC-анализа, по-

роговый уровень ФСГ в точке cut-off, которому соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составил 1,58 МЕ/л. ГГ прогнозировался при значениях ниже данной величины или равном ей (чувствительность 100% и специфичность 89,7%). Площадь под ROC-кривой составила  $0,976 \pm 0,045$  (0,888–1,000); модель была статистически значимой ( $p<0,001$ ).

В заключение провели сравнение групп пациентов с диагностированным ГГ (30 пациентов) и КЗПР (26 пациентов). Группу КЗПР составили 10 пациентов с клиническими и/или лабораторными признаками начала пубертата, 10 пациентов с положительным результатом теста с трипторелином и 6 пациентов с отрицательным результатом теста с трипторелином, но прогрессирующим в динамике пубертатом. Пациенты групп ГГ и КЗПР были сопоставимы по возрасту ( $p=0,089$ ). Суммарный объем тестикул у пациентов с ГГ был статистически значимо меньше, чем при КЗПР:  $3,94 \pm 2,51$  (2,49–5,39) и  $6,2 \pm 3,08$  (4,98–7,42) мл соответственно ( $p=0,023$ ). Базальные и стимулированные уровни ЛГ и Т, концентрации ФСГ, ингибина В, АМГ и отношение ингибин В/АМГ у пациентов с ГГ и КЗПР представлены в таблице 3.

Как видно из таблицы 3, все исследованные показатели достоверно различались у пациентов групп ГГ и КЗПР.

Результаты ROC-анализа различающихся показателей представлены в таблице 4.

Для создания количественного способа дифференциальной диагностики ГГ и КЗПР установили наиболее чувствительные и специфичные маркеры ГГ и выбрали из них доступные в амбулаторных условиях уровни ЛГ, ФСГ, Т, ингибина В. Для каждого показателя, основываясь на результатах собственного исследования и данных

**Таблица 1.** Результаты ROC-анализа уровней ЛГ, ФСГ и тестостерона у пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом в структуре множественной недостаточности гормонов аденогипофиза и изолированной задержкой пубертата

Показатель	Пороговый уровень*	Se, %	Sp, %	Площадь под ROC-кривой	p**
ЛГ, МЕ/л	0,23	83,3	69,8	$0,731 \pm 0,084$ (0,565–0,896)	0,027
ФСГ, МЕ/л	0,9	100	81,4	$0,837 \pm 0,065$ (0,709–0,964)	0,001
Тестостерон, нмоль/л	0,11	75,0	87,8	$0,788 \pm 0,075$ (0,641–0,935)	0,006

\* — уровень, которому соответствует наивысшее значение индекса Юдена. ГГ прогнозировался при значениях ниже данной величины или равном ей;

\*\* — статистическая значимость модели.

**Таблица 2.** Уровни ЛГ, ФСГ, тестостерона и ингибина В у пациентов подгрупп 1 и 2

Показатель Me [Q <sub>1</sub> –Q <sub>3</sub> ]/M ± SD (95% ДИ)	Подгруппа		p	Норма для II–IV стадии пубертата по Tanner [14, 16]
	1 (n=30)	2 (n=6)		
ЛГ, МЕ/л	0,1 [0,05–0,29]	0,48 [0,18–0,68]	0,107	0,2–7,0
ФСГ, МЕ/л	0,64 [0,19–0,94]	2,51 [2,04–2,74]	<0,001*	1,8–9,2
Тестостерон, нмоль/л	0,17 [0,01–0,48]	0,22 [0,11–0,48]	p=0,86	0,62–21,5
Ингибин В, пг/мл	21 [15,25–42,12]	35 [34,5–73,55]	p=0,115	62–338

\* — различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ).

**Таблица 3.** Базальные и стимулированные уровни ЛГ и тестостерона, концентрации ФСГ, ингибина В, АМГ и отношение ингибин В/АМГ у пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом и конституциональной задержкой полового развития

Показатель	Диагноз		P
	ГГ (n=30) Me [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ] M±SD (95% ДИ)	КЗПР (n=26) Me [Q <sub>1</sub> -Q <sub>3</sub> ] M±SD (95% ДИ)	
ЛГ, МЕ/л	0,1 [0,01–0,28]	1,04 [0,54–2,04]	<0,001*
ФСГ, МЕ/л	0,69 [0,2–0,96]	2,55 [1,75–3,2]	<0,001*
Тестостерон, нмоль/л	0,2 [0,01–0,45]	1,0 [0,48–1,6]	<0,001*
Стимулированный ЛГ, МЕ/л	1,09 [0,3–4,04]	13,1 [9,66–20,24]	<0,001*
Т (ФПТЗ), нмоль/л	2,14 [1,61–4,22] N=12	10,1 [6,69–13,25] N=14	0,005*
Ингибин В, пг/мл	23 [16,0–46,0]	112,1 [47,95–146,15]	0,013*
Антимюллеров гормон, нг/мл	26,06±11,81 (18,55–33,56)	55,78±6,03 (46,19–65,38)	<0,001*
Отношение ингибин В/АМГ	0,97 [0,66–1,68]	2,60 [2,32–2,84]	0,039*

\* — различия показателей статистически значимы (p<0,05);

Т (ФПТЗ) — тестостерон, стимулированный трехкратным введением хорионического гонадотропина;

ГГ — гипогонадотропный гипогонадизм;

КЗПР — конституциональная задержка полового развития.

**Таблица 4.** Результаты ROC-анализа базальных и стимулированных уровней ЛГ и тестостерона, концентраций ФСГ, ингибина В, АМГ и отношения ингибин В/АМГ у пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом и конституциональной задержкой полового развития

Показатель	Пороговый уровень*	Se, %	Sp, %	Площадь под ROC-кривой	p**
ЛГ, МЕ/л	0,38	82,8	85,2	0,916±0,040 (0,836–0,995)	<0,001
ФСГ, МЕ/л	1,27	86,2	92,6	0,951±0,031 (0,891–1,000)	<0,001
Тестостерон, нмоль/л	0,48	75,9	76	0,826±0,059 (0,711–0,941)	<0,001
Стимулированный ЛГ, МЕ/л	8,62	95,0	88,2	0,969±0,031 (0,909–1,000)	<0,001
Ингибин В, пг/мл	35	66,7	100,0	0,929±0,072 (0,787–1,000)	0,002
Антимюллеров гормон, нг/мл	50,25	91,7	100,0	0,962±0,071 (0,823–1,000)	0,007
Ингибин В/АМГ	1,872	83,3	100,0	0,939±0,101 (0,741–1,000)	0,024
Т (ФПТЗ), нмоль/л	5,84	85,7	80,0	0,860±0,073 (0,716–1,000)	0,001

\* — уровень, которому соответствует наивысшее значение индекса Юдена. ГГ прогнозировался при значениях ниже данной величины или равном ей;

\*\* — статистическая значимость модели;

Т (ФПТЗ) — тестостерон, стимулированный трехкратным введением хорионического гонадотропина.

литературы, подобрали интервалы значений и начисляемые баллы. Критические точки уровней гормонов представлены в таблице 5.

Эмпирическим путем подобрали оценки ЛГ, ФСГ, Т и ингибина В в зависимости от диапазона показателей (таблица 6).

С учетом чувствительности показателей подобрали коэффициенты (k): для ЛГ, Т и ингибина В постоянные — 8,3, 7,5 и 6 соответственно. Для ФСГ, в связи с разной чувствительностью, для разных групп в исследовании коэффициент варьировал: при значениях  $0,9 < \text{ФСГ} \leq 1,58$  МЕ/л коэффициент 8,6,  $\leq 0,9$  или  $> 1,58$  МЕ/л — 10.

Баллы за каждый показатель вычисляли путем умножения оценки (таблица 6) на k, после чего баллы сум-

мировали. В связи с ограниченной доступностью исследования ингибина В сумму баллов нормализовали к максимальной сумме (Max), которую мог получить пациент. Результат нормализации выражали в процентах.

$$ND = \frac{\text{Баллы ЛГ} + \text{Баллы ФСГ} + \text{Баллы Т} + \text{Баллы Ингибин В}}{\text{Max}} \times 100\%, \quad (1)$$

где ND — normalized data (нормализованная сумма баллов)

$$\text{Баллы ЛГ} = \text{Оценка ЛГ} \times k_{\text{ЛГ}} \quad (2)$$

$$\text{Баллы ФСГ} = \text{Оценка ФСГ} \times k_{\text{ФСГ}} \quad (3)$$

$$\text{Баллы Т} = \text{Оценка Т} \times k_{\text{Т}} \quad (4)$$

$$\text{Баллы Ингибин В} = \text{Оценка Ингибин В} \times k_{\text{Ингибин В}} \quad (5)$$

$$\text{Max} = \text{maxЛГ} + \text{maxФСГ} + \text{maxТ} + \text{maxИ} \quad (6)$$

**Таблица 5.** Критические точки уровней ЛГ, ФСГ, тестостерона, ингибина В

Показатель	Критическая точка	Чувствительность, %	Специфичность, %
ЛГ, МЕ/л	0,23*	83,3	69,8
	0,38**	82,8	85,2
	1,24***		
ФСГ, МЕ/л	0,9*	100,0	81,4
	1,27**	86,2	92,6
	1,58****	100	89,7
Тестостерон, нмоль/л	0,11*	75,0	87,8
	0,48**	75,9	76
	1,7***		
Ингибин В, пг/мл	35**	66,7	100
	65***		

\* при сравнении пациентов с множественной недостаточностью гормонов аденогипофиза и изолированной задержкой пубертата;

\*\* при сравнении пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом и конституциональной задержкой полового развития;

\*\*\* нижний квартиль нормы II стадии по Tanner [14, 16];

\*\*\*\* при сравнении пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом и конституциональной задержкой полового развития с отрицательным тестом с трипторелином.

**Таблица 6.** Расчет оценки ЛГ, ФСГ, тестостерона и ингибина В в зависимости от диапазона соответствующих показателей

Показатель	Диапазон показателей	Оценка
ЛГ, МЕ/л	$\leq 0,23$	$-13,04 \times \text{ЛГ} + 5$
	$> 0,23$ , но $\leq 0,38$	$-6,67 \times \text{ЛГ} + 3,53$
	$> 0,38$ , но $\leq 1,24$	$-1,16 \times \text{ЛГ} + 1,44$
	$> 1,24$	0
ФСГ, МЕ/л	$\leq 0,9$	$-3,33 \times \text{ФСГ} + 6$
	$> 0,9$ , но $\leq 1,27$	$-2,27 \times \text{ФСГ} + 5,43$
	$> 1,27$ , но $\leq 1,58$	$-6,45 \times \text{ФСГ} + 10,19$
	$> 1,58$	0
Т, нмоль/л	$\leq 0,11$	$-27,27 \times \text{T} + 6$
	$> 0,11$ , но $\leq 1,48$	$-2,7 \times \text{T} + 3,3$
	$> 0,48$ , но $\leq 1,7$	$-1,64 \times \text{T} + 2,79$
	$> 1,7$	0
Ингибин В, пг/мл	$\leq 35$	$-0,07 \times \text{Ингибин В} + 10$
	$> 35$ , но $\leq 65$	$-0,25 \times \text{Ингибин В} + 16,25$
	$> 65$	0

T — тестостерон.

$$\max \text{ЛГ} = \begin{cases} 41,5, & \text{если есть данные ЛГ} \\ 0, & \text{если нет данных ЛГ} \end{cases} \quad (7)$$

$$\max \text{ФСГ} = \begin{cases} 60, & \text{при значениях ФСГ } \leq 0,9 \text{ или } > 1,58 \\ 51,6 & \text{при значениях ФСГ } > 0,9 - \leq 1,58 \\ 0, & \text{если нет данных ФСГ} \end{cases} \quad (8)$$

$$\max \text{T} = \begin{cases} 45, & \text{если есть данные T} \\ 0, & \text{если нет данных T} \end{cases} \quad (9)$$

$$\max \text{И} = \begin{cases} 60, & \text{если есть данные И} \\ 0, & \text{если нет данных И} \end{cases} \quad (10)$$

Дальнейший анализ разработанного метода показал, что точность диагностики ГГ можно повысить, используя поправку на возраст пациента, поскольку диапазон 13,5–17 лет является слишком широким и включает все стадии пубертата у здоровых юношей. В связи с этим в расчет ND ввели возрастной коэффициент (age, A), полученный эмпирическим путем.

При возрасте  $\leq 15$  лет,  $A=1$ ;  $>15 < 18$  лет, чтобы добиться непрерывного увеличения A, использовали метод кубической аппроксимации:

$$A = y \left( y \times \frac{y}{12} - \frac{y}{4} + \frac{2}{3} \right) + 1, \quad (11)$$

где y (years) — возраст в годах

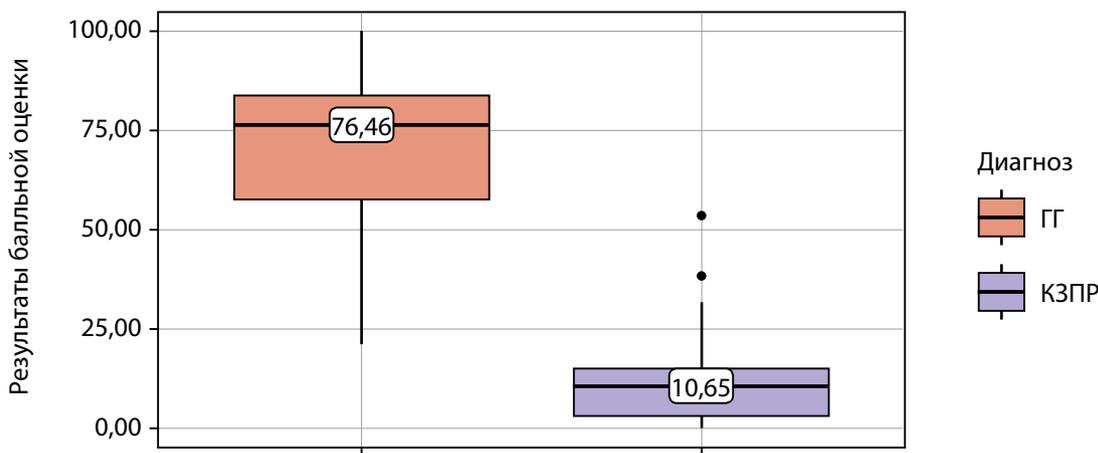


Рисунок 1. Результат балльной оценки у пациентов с гипогонадотропным гипогонадизмом и конституциональной задержкой полового развития.

Балльную оценку (score,  $S$ ) рассчитывали по формуле:

$$S = 100 \frac{A + \frac{D}{100} - 1}{A} \quad (12)$$

Таким образом, с увеличением возраста пациента отмечается возрастание  $S$ , что делает более специфичной диагностику ГГ у пациентов старшего возраста с сомнительными результатами ND.

Распределение  $S$  у пациентов исследования в зависимости от диагноза представлено на рисунке 1.

Как видно из рисунка 1, медианные значения  $S$  при КЗПР составили 10,65 [3,13–14,91], при ГГ — 76,46 [57,79–83,74] ( $p < 0,001$ ).

Пороговые значения  $S$  и результаты ее ROC-анализа представлены в таблице 7 и на рисунках 2, 3.

В таблице 7 значения  $S$  расположены в порядке увеличения чувствительности и убывания специфичности показателя. Пороговая величина  $S$  в точке cut-off, которой соответствовало наивысшее значение индекса Юдена, составила 40,21 (рис. 2). ГГ прогнозировали при значении  $S$  выше данной величины или равном ей (чувствительность 92,9% и специфичность 96,3%). Площадь под ROC-кривой (рис. 3) составила  $0,984 \pm 0,017$  (0,950–1,000). Это свидетельствует о том, что установленная пороговая точка  $S$  является статистически значимой ( $p < 0,001$ ). Прогностическая ценность метода выражена показателями PPV и NPV: при  $S < 21,16$  и  $\geq 55,07$  точность положительно-

го и отрицательного (соответственно) прогноза в отношении ГГ составила 100%.

После разработки метода для его контроля обследовали 30 юношей (группа а) 14–17 лет с синдромом задержки пубертата. По результатам катамнеза 21 пациент (70%) демонстрировал прогрессирующий пубертат (подгруппа КЗПРа), у 9 (30%) признаки полового созревания отсутствовали (подгруппа ГГа).  $S$  вычисляли по исходным данным пациентов. Последующий анализ выявил статистически значимые различия  $S$  между подгруппами КЗПРа 3,56 [0,00–22,50] и ГГа 73,86 [55,07–78,16] ( $p < 0,001$ ). Поставленные на основании  $S$  ( $< 21,16$  и  $\geq 55,07$ ) диагнозы подтверждены на основании катамнеза в 97% случаев. Для удобства практического применения разработанного метода создан online калькулятор, доступный по ссылке <https://crescente.ioffe.su/>. По разработанному методу подана заявка на Евразийский патент №202390831 (МПК А61В 5/02) от 31.03.2023.

Алгоритм дифференциальной диагностики ГГ и КЗПР с использованием  $S$  представлен на рисунке 4.

## ОБСУЖДЕНИЕ

### Репрезентативность выборок

По данным Росстата, в Санкт-Петербурге (СПб) и Ленинградской области (ЛО) на 01.01.2020 г. проживают 174 032 юноши в возрасте 14–17 лет [17]. Согласно литературным данным, популяционная частота ГГ составляет

Таблица 7. Пороговые значения результата балльной оценки

Порог	Чувствительность, %	Специфичность, %	PPV	NPV
<b>55,07</b>	<b>78,6</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>81,8</b>
53,51	78,6	96,3	95,7	81,2
<b>40,21</b>	<b>92,9</b>	<b>96,3</b>	<b>96,3</b>	<b>92,9</b>
38,15	92,9	88,9	89,7	92,3
37,98	96,4	88,9	90,0	96,0
27,12	96,4	81,5	84,4	95,7
<b>21,16</b>	<b>100,0</b>	81,5	84,8	100,0

PPV (positive predictive value) — прогнозируемая ценность положительного результата.

NPV (negative predictive value) — прогнозируемая ценность отрицательного результата.

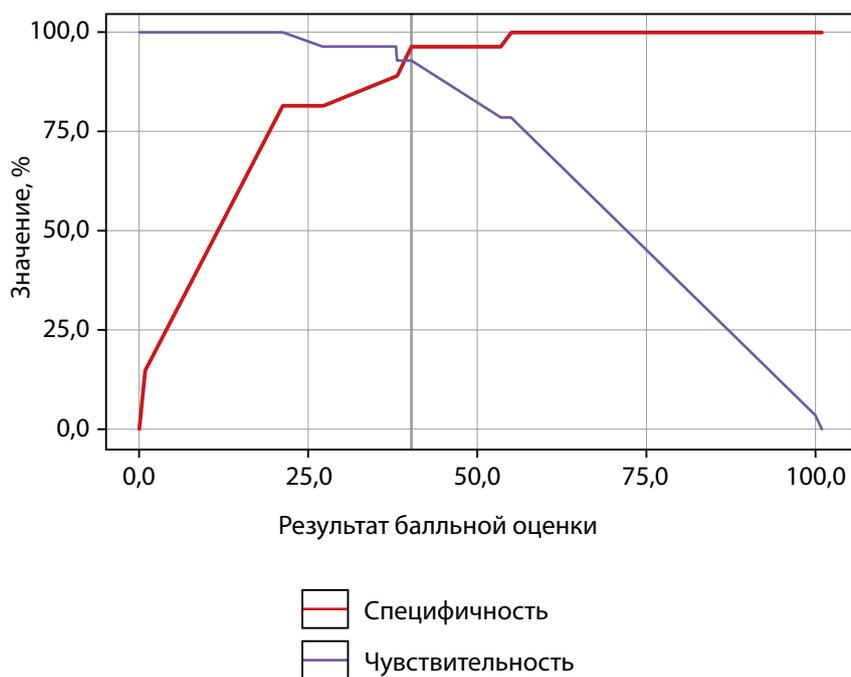


Рисунок 2. Чувствительность и специфичность пороговых значений результата балльной оценки в отношении гипогонадотропного гипогонадизма.

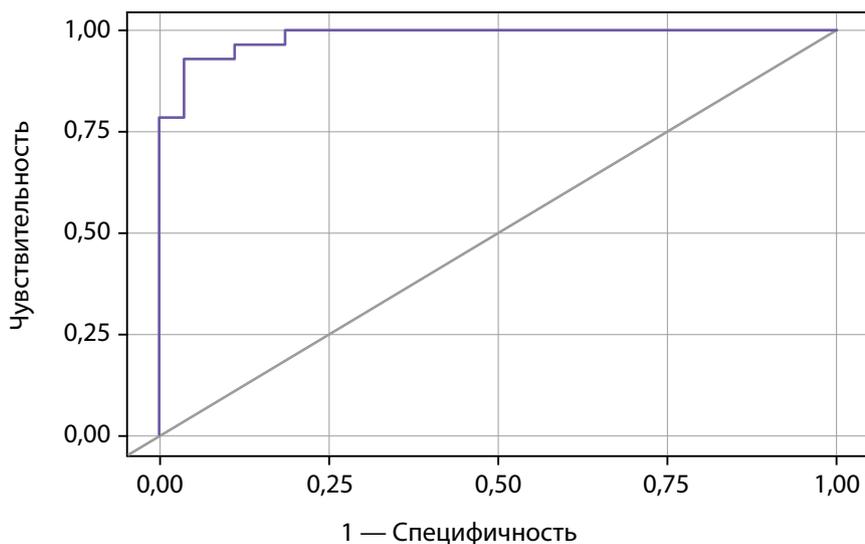


Рисунок 3. ROC-кривая, характеризующая достоверность диагностики гипогонадотропного гипогонадизма на основании результата балльной оценки.

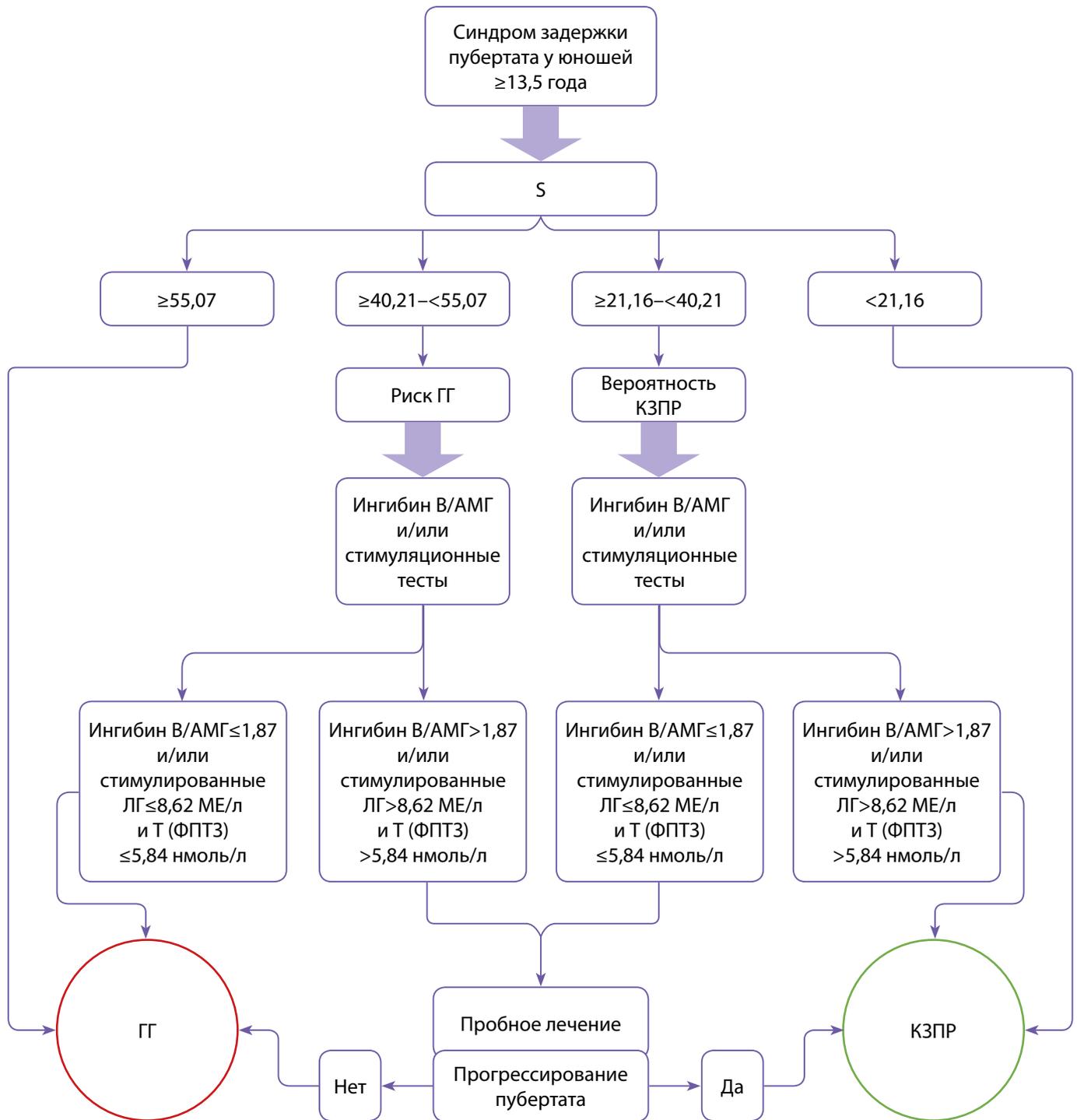
примерно 1:8000 [1, 4]. Таким образом, расчетное количество больных ГГ среди мальчиков-подростков СПб и ЛО — порядка 21 человека, что позволяет считать выборку настоящего исследования репрезентативной.

#### Сопоставление с другими публикациями

Возможность использования базальных уровней ЛГ, ФСГ и Т для дифференциальной диагностики ГГ и КЗГР до настоящего времени дискуссионна. По нашим данным, базальные концентрации ЛГ, ФСГ, Т у пациентов с КЗГР были достоверно выше, чем у пациентов с ГГ ( $p < 0,001$ ), ROC-анализ позволил установить наиболее чувствительные и специфичные пороговые уровни этих

гормонов в отношении ГГ. Так, пороговый уровень ЛГ в отношении ГГ, по нашим данным, составил  $\leq 0,38$  МЕ/л, что не противоречит результатам G. Binder et al. (2014 г.) ( $< 0,3$  МЕ/л), А.М. Sequera et al. (2002 г.) ( $< 0,6$  МЕ/л) и проекту клинических рекомендаций «Гипогонадизм у детей и подростков» ( $< 0,6$  МЕ/л) [4, 11, 18]. В то же время Латышев О.Ю. и соавт. (2019 г.) указывают на уровень ЛГ  $> 0,3$  МЕ/л как признак КЗГР [10].

С целью оптимизации диагностики мы разработали количественный способ, позволяющий дифференцировать ГГ и КЗГР по балльной оценке (S), полученной на основании анализа базальных уровней гормонов: наиболее чувствительных и специфичных, доступных



**Рисунок 4.** Алгоритм дифференциальной диагностики гипогонадотропного гипогонадизма и конституциональной задержки полового развития с использованием балльной оценки ( $S$  — результат балльной оценки,  $T$  — тестостерон,  $T$  (ФПТЗ) — тестостерон, стимулированный трехкратным введением хорионического гонадотропина, ГГ — гипогонадотропный гипогонадизм, КЗПР — конституциональная задержка полового развития).

в амбулаторных условиях, имеющих монотонную функцию ЛГ, ФСГ, Т, ингибина В. Оценку каждого показателя проводили на основании полученных в ходе ROC-анализа точек cut-off, их чувствительности, а также литературных данных. Для повышения специфичности метода был введен возрастной коэффициент. В результате, чем ниже были уровни гормонов и чем больше возраст пациента, тем выше оказывалась  $S$ , которая у пациентов с ГГ была статистически значимо выше, чем при КЗПР ( $p < 0,001$ ). Проведенный ROC-анализ позволил диагно-

стировать ГГ с 92,9% чувствительностью и 96,3% специфичностью при  $S \geq 40,21$ . Вероятность ГГ при  $S \geq 55,07$  составляет 100%,  $< 21,16$  — 0%; при  $S \geq 21,16$ , но  $< 55,07$  может потребоваться дополнительное обследование. Данные о базальном уровне ФСГ как диагностическом критерии ГГ в литературе малочисленны, или не расценивают этот показатель как самостоятельный. По нашим данным, пороговый уровень ФСГ в отношении ГГ составил  $\leq 1,27$  МЕ/л (чувствительность 86,2%, специфичность 92,6%) и соответствовал предлагаемому

в проекте клинических рекомендаций «Гипогонадизм у детей и подростков», 2021 г. (<1,2 МЕ/л) [4]. Установленный А. М. Sequera et al. (2002 г.) критический в отношении ГГ уровень ФСГ 2,5 МЕ/л имеет меньшую чувствительность (75%) [18]. Данные о базальном уровне Т как диагностическом критерии ГГ в литературе ограничены. По результатам нашего исследования, пороговый уровень Т в отношении ГГ составил  $\leq 0,48$  нмоль/л, что значительно ниже значений, предлагаемых Европейским консенсусом и проектом клинических рекомендаций «Гипогонадизм у детей и подростков», 2021 г. (<2 нмоль/л) [4, 9]. Пороговый уровень ингибина В в нашем исследовании составил 35 пг/мл, что близко к среднему между соответствующими показателями по данным ряда источников: 28,5 пг/мл (S. Trabado, 2014, J. Rohayem, 2015), 42 пг/мл (M. Hafez et al., 2014), 30 пг/мл (European consensus statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism — pathogenesis, diagnosis and treatment, 2015) [9, 12, 13, 19]. Тем не менее, несмотря на 100% специфичность сниженного уровня ингибина В ( $\leq 35$  пг/мл) в отношении ГГ, недостаточная чувствительность (66,7%) этого показателя не позволяет использовать его для дифференциальной диагностики без оценки других данных. Подобного мнения придерживаются Y. Gao et al. (2021 г.), считающие необходимым оценивать уровень ингибина В в зависимости от степени лобкового оволосения [20], авторы проекта клинических рекомендаций «Гипогонадизм у детей и подростков», 2021 г. — стадии развития наружных половых органов [4]. Некоторые авторы считают возможным использовать ингибин В как критерий ГГ при совместной оценке с другими гормонами [10, 11, 19].

Аналогичных способов дифференциальной диагностики ГГ и КЗПР в доступной литературе не найдено.

Известные на сегодняшний день методы дифференциальной диагностики ГГ и КЗПР путем оценки базальных уровней ЛГ, ФСГ, Т и, по рекомендациям некоторых авторов, также ингибина В, имеют ряд недостатков: значения *всех* заявленных показателей у пациента должны быть ниже или выше диагностических уровней для ГГ или КЗПР соответственно, а при несоблюдении данного условия в отношении хотя бы одного показателя дифференциальная диагностика становится затруднительной; разные авторы приводят различные пороговые значения указанных гормонов [4, 9, 10]. Расчет балльной оценки позволяет нивелировать указанные выше недостатки и проводить дифференциальную диагностику ГГ и КЗПР даже в случае дискордантности полученных результатов или отсутствия одного из них.

Уровни АМГ не включали в расчет суммы баллов, так как функция АМГ в пубертате не монотонна [15]. Принимая во внимание сведения о разнонаправленной динамике уровней ингибина В и АМГ в препубертатном и раннем пубертатном возрасте у здоровых юношей [15], мы использовали ранее не описанное отношение ингибина В к АМГ (ингибин В/АМГ). Целью оценки ингибин В/АМГ было повышение чувствительности и специфичности диагностики. По нашим результатам, подростки с КЗПР имели достоверно более высокие значения ингибин В/АМГ, чем пациенты с ГГ ( $p=0,039$ ). Установленное нами пороговое значение ингибин

В/АМГ  $\leq 1,872$  обладало достаточной чувствительностью и специфичностью (83,3% и 100% соответственно) в отношении ГГ. Аналогичных результатов в доступной литературе не найдено.

#### Клиническая значимость результатов

Разработанный способ позволяет проводить дифференциальную диагностику синдрома задержки пубертата и выявлять на амбулаторном этапе пациентов с ГГ ( $S \geq 55,07$ ), КЗПР ( $S < 21,16$ ) и тех немногих, кому требуется проведение стимуляционных тестов.

#### Ограничения исследования

Анализируя факторы, которые могли бы привести к случайным смещениям результатов и, следовательно, повлиять на выводы исследования, считаем необходимым предупредить о возможности ложноотрицательного результата балльной оценки в случаях ГГ, приобретенного после старта пубертата, а также у пациентов с парциальным дефицитом гонадотропинов (ЛГ или ФСГ).

#### Направления дальнейших исследований

Дальнейшее изучение особенностей пациентов с синдромом задержки пубертата и формирование более крупных баз данных позволит усовершенствовать предложенные метод и алгоритм дифференциальной диагностики путем коррекции назначенных для показателей диапазонов, оценки и коэффициентов, возрастного коэффициента.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результат балльной оценки уровней ЛГ, ФСГ, тестостерона, ингибина В  $\geq 55,07$  позволяет диагностировать гипогонадотропный гипогонадизм,  $< 21,16$  — конституциональную задержку полового развития с высокой вероятностью. В случае суммы баллов  $\geq 21,16$ , но  $< 55,07$  требуется расчет отношения ингибин В/АМГ и/или проведение стимуляционных тестов.

#### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Работа выполнена по инициативе авторов без привлечения финансирования, при лабораторно-инструментальном обеспечении Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета.

**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.

**Благодарности.** Авторы благодарят ректора Санкт-Петербургского государственного педиатрического медицинского университета д.м.н., профессора Иванова Дмитрия Олеговича, заведующую эндокринологическим отделением (до 2022 г.) д.м.н., профессора кафедры факультетского педиатрии, заслуженного врача России Тыртову Людмилу Викторовну и заведующую эндокринологическим отделением (с 2022 г.) к.м.н. Скобелеву Кристину Владимировну.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Федеральные клинические рекомендации (протоколы) по ведению детей с эндокринными заболеваниями / Под ред. И.И. Дедова, В.А. Петерковой. — М.: Практика, 2014. — 442 с. [Federal'nye klinicheskie rekomendacii (protokoly) po vedeniyu detej s endokrinnymi zabollevanijami. Ed by Dedov II, Peterkova VA — Moscow: Praktika; 2014. (in Russ.)]
2. Palmert MR, Dunke L. Delayed puberty. *New England Journal of Medicine*, 2012;366(5):443–453. doi: <https://doi.org/10.1056/nejmcp1109290>
3. Лисс В.Л. Диагностика и лечение эндокринных заболеваний у детей и подростков: учебн. пособие / Под ред. проф. Н.П. Шабалова. — 6-е изд. — М.: МЕДпресс-информ, 2022. — 456 с.: ил. [Liss VL. Diagnostika i lechenie endokrinnih zabollevanij u detej i podrostkov: uchebn. posobie. 6<sup>th</sup> ed. Shabalov NP. ed. Moscow: MEDpress–inform; 2022 (In Russ.)]
4. Калиниченко Н.Ю. Гипогонадизм у детей и подростков. Клинические рекомендации / Н.Ю. Калиниченко, И.С. Чугунов, Н.Ю. Райгородская [и др.]. М.: 2021. — 56 с. [Kalinichenko NYU, Chugunov IS, Rajgorodskaya NYU et al. Gipogonadizm u detej i podrostkov. Klinicheskie rekomendacii. Moscow; 2021, 56 p. (In Russ.)] Available from: [https://library.mededtech.ru/rest/documents/klinrekti\\_gipogonadiz/#table\\_u3urm7](https://library.mededtech.ru/rest/documents/klinrekti_gipogonadiz/#table_u3urm7)
5. Raivio T, Miettinen PJ. Constitutional delay of puberty versus congenital hypogonadotropic hypogonadism: Genetics, management and updates. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2019;33(3):101316. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2019.101316>
6. Бабенко А.Ю. Возрастной дефицит андрогенов – на пике противоречий // *Русский медицинский журнал. Медицинское обозрение*. — 2019. — Т. 3. — № 10(II). — С. 92–95. [Babenko AYU. Age-related androgen deficiency: at the peak of controversy. *Russkij medicinskij zhurnal. Medicinskoe obozrenie*. 2019; 3(10):II pp. 92–95 (In Russ.)]
7. Butler G, Purushothaman P. Delayed puberty. *Minerva Pediatrica*, 2021;72(6). doi: <https://doi.org/10.23736/s0026-4946.20.05968-x>
8. Gaudino R, De Filippo G, Bozzola E, et al. Current clinical management of constitutional delay of growth and puberty. *Ital J Pediatr*. 2022. doi: <https://doi.org/10.1186/s13052-022-01242-5>
9. Boehm U, Bouloux PM, Dattani MT, et al. Expert consensus document: European Consensus Statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism-pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2015. doi: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.112>
10. Латышев О. Ю. Дифференциальная диагностика конституциональной задержки пубертата и гипогонадотропного гипогонадизма у мальчиков / О. Ю. Латышев, Л. Б. Бржезинская, Г.Ф. Окминьян // *Проблемы эндокринологии*. — 2019. — Т. 65. — №6. — С. 417–424. [Latyshev OY, et al. The differential diagnosis of constitutional delay of puberty and hypogonadotropic hypogonadism in boys. *Problems of Endocrinology* [Preprint] (In Russ.). doi: <https://doi.org/10.14341/probl10339>
11. Binder G, Schweizer R, Blumenstock G, Braun R. Inhibin B plus LH vs Gn RH agonist test for distinguishing constitutional delay of growth and puberty from isolated hypogonadotropic hypogonadism in boys. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015;82(1):100-105. doi: <https://doi.org/10.1111/cen.12613>
12. Hafez M, El Dayem SMA, El Mougry F, et al. The role of anti-Mullerian and inhibin B hormones in the evaluation of 46,XY disorders of sex development. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2014;27(9-10). doi: <https://doi.org/10.1515/jpem-2013-0355>
13. Rohayem J, Nieschlag E, Kliesch S, Zitzmann M. Inhibin B, AMH, but not INSL3, IGF1 or DHEAS support differentiation between constitutional delay of growth and puberty and hypogonadotropic hypogonadism. *Andrology*. 2015;3(5):882-887. doi: <https://doi.org/10.1111/andr.12088>
14. Берман Р.Э. Педиатрия по Нельсону / Э. Берман, Р.М. Клигман, Х.Б. Дженсон / Под ред. А.А. Баранова. — Т. 2. — М.: Рид Элсивер, 2009. — 992 с.: ил. [Berman RE, Kligman RM, Dzhenson HB. *Pediatria po Nel'sonu*. Baranova AA. editor, Moscow: Rid Elsilver (in Russ.); 2009; 2; 992 p.]
15. Grinspon RP, Rey RA. Anti-müllerian hormone and sertoli cell function in paediatric male hypogonadism. *Horm Res Paediatr*. 2010. doi: <https://doi.org/10.1159/000277140>
16. Andersson A-M, Juul A, Petersen JH, Müller J, Groome NP, Skakkebaek NE. Serum Inhibin B in Healthy Pubertal and Adolescent Boys: Relation to Age, Stage of Puberty, and Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, Testosterone, and Estradiol Levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):3976-3981. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem.82.12.4449>
17. Численность населения Санкт-Петербурга по итогам Всероссийской переписи населения 2020 года. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://78.rosstat.gov.ru/folder/27595> (дата обращения: 02.03.2021). [Rosstat [internet] Population of St. Petersburg according to the results of the All-Russian Population Census 2020 [cited 2021 Mar 2]. Available from: <https://78.rosstat.gov.ru/folder/27595>
18. Sequera AM, Fideleff HL, Boquete HR, Pujol AB, Suárez MG, Ruibal GF. Basal ultrasensitive LH assay: A useful tool in the early diagnosis of male pubertal delay? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2002. doi: <https://doi.org/10.1515/JPEM.2002.15.5.589>
19. Trabado S, Maione L, Bry-Gauillard H, et al. Insulin-like Peptide 3 (INSL3) in Men With Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism/Kallmann Syndrome and Effects of Different Modalities of Hormonal Treatment: A Single-Center Study of 281 Patients. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(2):E268-E275. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2013-2288>
20. Gao Y, Du Q, Liu L, Liao Z. Serum inhibin B for differentiating between congenital hypogonadotropic hypogonadism and constitutional delay of growth and puberty: a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2021. doi: <https://doi.org/10.1007/s12020-020-02582-0>

Рукопись получена: 14.12.2023. Одобрена к публикации: 09.03.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\***Иоффе Ирина Юрьевна [Irina Y. Ioffe, MD]**; адрес: Россия, 194100, Санкт-Петербург, улица Литовская, д. 2 [address: 2 Litovskaya street, 194100, Saint-Peterburg, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-5409-234X>; SPIN-код: 4686-9440; e-mail: [ioffe.i@bk.ru](mailto:ioffe.i@bk.ru)

**Скородок Юлия Леонидовна, к.м.н., доцент [Yulia L. Skorodok, PhD, MD]**;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7906-7408>; SPIN-код: 8111-3632; [ioffe.i@bk.ru](mailto:ioffe.i@bk.ru)

**Плотникова Елена Валерьевна, к.м.н. [Elena V. Plotnikova, PhD, MD]**; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1104-7368>;

SPIN-код: 1494-3559; [ioffe.i@bk.ru](mailto:ioffe.i@bk.ru)

**Нагорная Ирена Игоревна, к.м.н. [Irena I. Nagornaya, PhD, MD]**; ORCID <https://orcid.org/0000-0002-6190-9256>;

SPIN-код: 7942-7804; [ioffe.i@bk.ru](mailto:ioffe.i@bk.ru)

**Желенина Людмила Александровна, д.м.н., профессор [Liudmila A. Zhelenina, MD, PhD, Professor]**;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8474-5154>; SPIN-код: 3893-1637; [ioffe.i@bk.ru](mailto:ioffe.i@bk.ru)

**Кожевникова Анжелика Владимировна [Anzhelika V. Kozhevnikova, MD]**;

ORCID: <https://orcid.org/0009-0003-8784-5224>; [ioffe.i@bk.ru](mailto:ioffe.i@bk.ru)

**ЦИТИРОВАТЬ:**

Скородок Ю.Л., Иоффе И.Ю., Плотникова Е.В., Нагорная И.И., Желенина Л.А., Кожевникова А.В. Новый способ дифференциальной диагностики гипогонадотропного гипогонадизма и конституциональной задержки полового развития у юношей 13,5–17 лет // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 106-117. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13419>

**TO CITE THIS ARTICLE:**

Skorodok YL, Ioffe IY, Plotnikova EV, Nagornaya II, Kozhevnikova AV, Zhelenina LA. A new way for the differential diagnosis of hypogonadotropic hypogonadism and constitutional delay of puberty in adolescent men aged 13.5–17 years. *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):106-117. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13419>

## ОСОБЕННОСТИ ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА ПАЦИЕНТОК С АМЕНОРЕЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)



© Ю.С. Абсартова<sup>1</sup>, Ю.С. Евсеева<sup>1\*</sup>, Е.Н. Андреева<sup>1,2</sup>, З.Т. Зураева<sup>1</sup>, Е.В. Шереметьева<sup>1</sup>, О.Р. Григорян<sup>1</sup>, Р.К. Михеев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

<sup>2</sup>Российский университет медицины, Москва, Россия

Аменорея — распространенный симптом целого спектра нозологий среди женщин репродуктивного возраста, который может сопровождать любую эндокринопатию в стадии декомпенсации. Во всем многообразии различных звеньев патогенеза нарушений репродуктивной функции проблема иммунопатологии остается немного в стороне, однако значимость этих расстройств недооценена. Настоящая публикация представляет собой обзор нарушений в иммунной системе у женщин с аменореей.

Как известно, при синдроме поликистозных яичников (СПЯ) и преждевременной недостаточности яичников (ПНЯ) одним из клинических проявлений является аменорея. С одной стороны, эти нозологии существенно отличаются друг от друга по этиологии, патогенезу и подходам к терапии, а с другой — у них есть сходство, проявляющееся иммунологическими нарушениями. В статье приведены сведения об иммунном статусе пациенток с СПЯ и ПНЯ. Проанализированы работы, посвященные различным расстройствам в иммунной системе, патологиям гуморального и клеточного иммунитета, которые в перспективе могут послужить ключом к разработке новейших и нестандартных методов лечения таких социально значимых заболеваний.

Поиск литературы проводили в отечественных (eLibrary, CyberLeninka.ru) и международных (PubMed, Cochrane Library) базах данных на русском и английском языках. Выбор источников был приоритетен периодом с 2018-го по 2024 гг.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** аменорея; иммунная система; синдром поликистозных яичников; преждевременная недостаточность яичников.

### IMMUNOLOGICAL STATUS IN PATIENTS WITH AMENORRHEA (LITERATURE REVIEW)

© Yulia S. Absatarova<sup>1</sup>, Yulia S. Evseeva<sup>1\*</sup>, Elena N. Andreeva<sup>1,2</sup>, Zamira T. Zuraeva<sup>1</sup>, Ekaterina V. Sheremetyeva<sup>1</sup>, Olga R. Grigoryan<sup>1</sup>, Robert K. Mikheev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup>Russian university of medicine, Moscow, Russia

Amenorrhea is a common symptom of a whole range of nosologies among women of reproductive age, which can accompany any endocrinopathy in the stage of decompensation. In all the diversity of various links in the pathogenesis of reproductive disorders, the problem of immunopathology remains a little aside, however, the significance of these disorders is underestimated. This publication provides an overview of immune system abnormalities in a women with amenorrhea.

As is known, in polycystic ovary syndrome (PCOS) and premature ovarian insufficiency (POI), one of the clinical manifestations is amenorrhea. On the one hand, these nosologies differ significantly from each other in etiology, pathogenesis and approaches to therapy, and on the other hand, they have a common similarity, manifested by immunological disorders. The article provides information about the immune status of patients with PCOS and POI. Works devoted to various disorders in the immune system, pathologies of humoral and cellular immunity, which in the future may serve as the key to the development of new and non-standard methods of treating such socially significant diseases, are analyzed.

Literature search was carried out in national (eLibrary, CyberLeninka.ru) and international (PubMed, Cochrane Library) databases in Russian and English. The choice of sources was prioritized for the period from 2018 to 2024.

**KEYWORDS:** amenorrhea; immune system; polycystic ovary syndrome; premature ovarian insufficiency.

#### ГЛОССАРИЙ

Лимфоциты — ключевые клетки адаптивного иммунного ответа, обеспечивающие гуморальный и клеточный иммунитет и регулирующие деятельность других иммунных клеток, участвующих в защите организма. Различают следующие виды клеток:

1. Т-лимфоциты — тип лимфоцитов, участвующих в основном в реакциях клеточного иммунитета.

- Т-хелперные (Th) клетки (CD4+) стимулируют пролиферацию и дифференцировку как Т-, так

и В-лимфоцитов, секретируя цитокины. В зависимости от того, какие цитокины они продуцируют, среди них различают:

- Th1 (Т-хелперы первого типа) — секретируют интерлейкин-2 (IL-2), IL-6, IL-8, интерферон-гамма (IFN-γ), фактор некроза опухоли-альфа (TNF-α), обеспечивают реакции Т-клеточного иммунитета: стимулируют иммунный ответ против внутриклеточных бактерий, противовирусный, противоопухолевый, трансплантационный иммунитет;

\*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



- Th2 (Т-хелперы второго типа) — секретируют IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 и активируют синтез антител, способствуют развитию гуморального иммунного ответа против внеклеточных бактерий и их токсинов;
  - Th17 клетки выполняют провоспалительные функции, высвобождая уникальный спектр цитокинов (IL-17, IL-21, IL-22, IL-26 и TNF- $\alpha$ ), и обеспечивают защитные реакции организма.
  - Цитотоксические (Тс) Т-клетки (CD8+) способны специфически осуществлять лизис клеток-мишеней. Их роль велика в реализации трансплантационного иммунитета, развитии аутоиммунных заболеваний и в противоопухолевой защите.
  - Регуляторные (Трег) клетки выполняют важную функцию завершения адаптивного иммунного ответа и обеспечения толерантности к собственным антигенам. В сущности, эти клетки являются супрессорами и могут подавлять активацию, пролиферацию и эффекторные функции широкого круга иммунокомпетентных клеток.
2. В-лимфоциты — тип лимфоцитов, участвующих в реакциях гуморального иммунитета.
  3. Клетки естественные киллеры (NK) — группа лимфоцитов врожденного иммунитета, обладающих цитотоксической активностью в отношении опухолевых клеток без предварительной сенсibilизации и вызывающих гибель инфицированных вирусами клеток. Секретируют различные цитокины и регулируют активность других иммунных клеток.

## ВВЕДЕНИЕ

Нарушения менструального цикла являются одной из самых частых причин обращения женщин к акушеру-гинекологу [1]. Аменорея — это состояние, представляющее собой отсутствие менструации. В зависимости от наличия менархе выделяют первичную и вторичную формы: при первичной менархе отсутствует. Вторичная аменорея определяется как отсутствие менструации более 3 месяцев при регулярном менструальном цикле или более 6 месяцев при нерегулярном. По оценкам Всемирной организации здравоохранения, нарушения менструальной функции, и в частности аменорея, являются шестой по значимости причиной женского бесплодия. Среди женщин репродуктивного возраста распространенность вышеописанного симптома варьирует от 5 до 13% [2].

Иммунологические нарушения являются неотъемлемой частью гинекологических заболеваний, сопровождающихся отсутствием менструаций, особенно это касается таких нозологий, как синдром поликистозных яичников (СПЯ) и преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ). В последние десятилетия вопрос о роли иммунопатологии в работе репродуктивной системы активно изучается. Понимание сложнейших процессов регуляции клеточного и гуморального иммунитета в рамках гинекологической эндокринологии позволяет не только формулировать новые теории патогенеза заболеваний, но способствовать созданию возможных инновационных схем терапии.

Целью работы является предоставление обзора литературы по изучению иммунного статуса пациенток

с аменореей и, как следствие, о возможном применении полученных теоретических знаний по иммунопатологии на практике в лечебных целях.

## ВЛИЯНИЕ ПОЛОВЫХ ГОРМОНОВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ

Прежде чем приступить к описанию особенностей работы иммунной системы при репродуктивных заболеваниях, уделим внимание непосредственному влиянию половых гормонов на иммунитет. Клеточными эффекторами иммунной системы являются лейкоциты, к которым относятся лимфоциты, моноциты, макрофаги, дендритные клетки (ДК), нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Лимфоциты можно разделить на подклассы на основании функций и по маркерам клеточной поверхности; эти маркеры называют кластерами дифференцировки (CD). Подклассы лимфоцитов включают Т-клетки, В-клетки и NK-клетки [3].

Т-лимфоциты выполняют различные биологические функции, в основном участвуют в клеточном иммунном ответе организма. Эти клетки модулируют врожденные иммунные реакции. Кроме того, они могут влиять на все иммунные клетки, такие как ДК, гранулоциты, NK клетки и миелоидные супрессорные клетки. Т-лимфоциты можно разделить на три подмножества, такие как Th-клетки, Тс-клетки и Трег-клетки [4].

Андрогены оказывают противовоспалительное действие и могут подавлять активность иммунных клеток. Супрессивная роль мужских половых гормонов проявляется подавлением функционирования ДК и экспрессией их костимулирующих маркеров в лимфатических узлах, снижением секреции IFN- $\gamma$ , провоспалительных цитокинов макрофагами и ослаблением ответа Th1-лимфоцитов. Андрогены вызывают значительное снижение экспрессии toll-подобного рецептора 4 (TLR4) на поверхности макрофагоподобных клеток. Более того, тестостерон подавляет дифференцировку В-клеток и выработку антител [5]. Один из механизмов, посредством которого андрогены проявляют свое противовоспалительное действие, является активация протеин-тирозинфосфатазы 1 (Ptpn1), в результате чего образуется комплекс с тестостероном, который дефосфорилирует рецепторы к IL-12, ингибируя тем самым его сигнал, имеющий решающее значение для дифференцировки Th1-лимфоцитов [6]. Кроме того, мужские половые гормоны могут регулировать адаптивный иммунитет у людей путем подавления активности Th2 и Th17-клеток, но индуцируя функционирование Трег-клеток [7]. Однако противовоспалительные эффекты андрогенов не являются повсеместными. Гиперандрогения при СПЯ, напротив, поддерживает воспаление путем регуляции количества макрофагов и их фенотипов. Более высокие соотношения воспалительных M1 макрофагов к противовоспалительным M2 макрофагам наблюдаются в яичниках экспериментальных моделей с данным синдромом [8].

Эстрогены оказывают более сложное регулирующее действие на иммунную систему. В отличие от андрогенов женские половые стероиды считаются мощными активаторами защитной функции организма. Поскольку уровни стероидных гормонов колеблются на протяжении всего менструального цикла, высокая концентрация

эстрогенов может подавлять синтез провоспалительных цитокинов во время и после овуляции и потенцировать воспалительный процесс в период ранней фолликулярной фазы, когда уровень этих стероидов падает [9]. Эстрадиол оказывает стимулирующий эффект на выработку Т-клетками IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  при его невысоких значениях, а также на IL-4 и IL-10, когда концентрация гормона повышается. В постменопаузе, когда имеется явный эстрогендефицит, последний способствует выработке IL-1 ДК, тогда как во время беременности гиперэстрогения ингибирует синтез IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$  [10]. Важность женских половых гормонов для развития и функциональности Т-клеток подчеркивается заметными различиями в распространенности и тяжести аутоиммунных заболеваний у мужчин и женщин. Интересно, что эстрогены оказывают бимодальный эффект на патологию аутоиммунных заболеваний, опосредованных Т-клетками (рассеянный склероз, атопический дерматит, первичный билиарный цирроз): высокий уровень этих гормонов (например, при беременности) ингибирует, а низкий — стимулирует функцию Т-лимфоцитов. Неудивительно, что эти патологии чаще встречаются у женщин в постменопаузе [11].

Почти при любой концентрации эстрогены активируют образование антител В-лимфоцитами, тем самым предрасполагая к развитию аутоиммунных заболеваний. Имеются данные о связи женских половых гормонов с индукцией аутоагрессивных В-клеток, что может объяснить, почему определенные аутоиммунные заболевания, опосредуемые В-лимфоцитами (системная красная волчанка, миастения), более распространены у женщин в репродуктивный период [12].

### СИНДРОМ ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

СПЯ является наиболее распространенным гинекологическим, эндокринным и метаболическим заболеванием у женщин репродуктивного возраста. Данная патология характеризуется овуляторной дисфункцией, гиперандрогенией и морфологической картиной множественных кист яичников, и в настоящее время является основной причиной ановуляторного бесплодия [13, 14]. Все больше публикаций свидетельствует о том, что вялотекущее хроническое воспаление играет ключевую роль в возникновении и развитии этого гетерогенного заболевания [15].

Многочисленные исследования показали, что системное хроническое воспалительное состояние у женщин с СПЯ характеризуется повышением уровней цитокинов (IL-6, IL-18, TNF- $\alpha$ ) и белков острой фазы (высокочувствительный С-реактивный белок [hs-СРБ], белок теплового шока 70) в периферической крови [16]. Считается, что вялотекущее хроническое воспаление у больных овариальной гиперандрогенией связано с висцеральным ожирением. Более 50% пациенток с данным синдромом имеют избыточный вес, в то время как ожирение индуцирует адипотоксичность, приводящую к выбросу большого количества цитокинов (С-реактивный белок (СРБ), TNF- $\alpha$  и IL-6) и адипокинов в кровь [17]. Следовательно, ожирение может влиять на воспалительный статус женщин с СПЯ. Существуют также маркеры эндотелиального повреждения, такие как асимметричный диметиларгинин (ADMA), гомоцистеин, ингибитор активатора

плазминогена-I (PAI-I) и фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) [18]. Эндотелиальная дисфункция и измененный цитокиновый профиль в сторону провоспалительных и протромботических состояний при СПЯ могут увеличивать сердечно-сосудистый риск и в значительной степени ограничивать репродуктивную способность (начиная от ановуляции и заканчивая плацентарной недостаточностью) [19]. Кроме того, лечению овуляторной дисфункции препятствует тот факт, что аномальные уровни TNF- $\alpha$ , ангиопоэтина-2 и адипонектина могут быть связаны с резистентностью к кломифена цитрату у больных [20].

Известно, что различный количественный и качественный состав цитокинов оказывает влияние на инициацию адаптивного иммунного ответа путем дифференцировки наивных CD4<sup>+</sup> Т-лимфоцитов в Т-хелперы (Th1, Th2, Th17) и подмножества Treg-клеток путем активации Т-клеточного рецептора (TCR). Из-за большого количества фолликулов у женщин с СПЯ повышаются уровни эстрогенов, которые усиливают секрецию воспалительных цитокинов клетками Th1, таких как IL-6, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ . IL-6 способствует превращению Th0-клеток в Th17-клетки, которые также являются провоспалительными [21]. Имеются данные, указывающие на то, что в дополнение к увеличению количества провоспалительных Th17-клеток в кровотоке у женщин с СПЯ значительно снижается количество противовоспалительных Treg-клеток. Примечательно, что дисбаланс клеток Th17/ Treg является значимым фактором в патогенезе заболевания [22]. Дисбаланс про- и противовоспалительных Т-лимфоцитов и соответствующих им цитокинов усиливает воспалительный ответ, который синергически усугубляет хроническое воспаление.

В яичниках и жировой ткани наиболее распространены иммунными клетками являются макрофаги. Они необходимы для поддержания баланса между деструктивным и защитным иммунитетом при воспалении. Уровни макрофагов варьируют на протяжении всего менструального цикла и являются самыми высокими во время овуляции и в лютеиновой фазе, таким образом, прогестерон оказывает на них непосредственное влияние. Многие женщины с СПЯ имеют избыточную массу тела или ожирение — патологические состояния, при которых макрофаги трансформируются из противовоспалительного фенотипа M2 в провоспалительный M1 [23]. Макрофаги M1 синтезируют воспалительные цитокины, такие как IL-1, IL-6 и TNF- $\alpha$ , присутствующие в высоких концентрациях в сыворотке и в фолликулярной жидкости больных. Овариальная гиперандрогения, вероятно, приводит к трансформации этих клеток в состояние M1, к повышению уровня цитокинов, что усугубляет инсулинорезистентность, нарушает регуляцию гипоталамо-гипофизарно-яичниковой оси и усиливает выработку мужских половых гормонов, замыкая порочный круг [24].

Примечательной является работа J. Shang и соавт., в которой изучались воспалительные процессы внутри яичников и их влияние на качество эмбрионов у пациенток с СПЯ и нормальным индексом массы тела (ИМТ), вступивших в протокол экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) [25]. В ходе исследования авторы оценили 34 цитокина и зарегистрировали, что у больных значительно повышены уровни воспалительного белка-1 $\beta$  макрофагов (MIP-1 $\beta$ ) и фактора-1 $\alpha$  стромальных

клеток (SDF-1 $\alpha$ ) в фолликулярной жидкости по сравнению с группой контроля. Стоит отметить, что MIP-1 $\beta$  представляет собой хемокин СС типа Th1, который вырабатывают в основном активированные моноциты [26]. В своей работе J. Shang и соавт. обнаружили повышенное количество моноцитов в периферической крови пациенток с СПЯ и нормальным ИМТ, что может быть связано с более высоким уровнем MIP-1 $\beta$  [25]. Последний по-разному воздействует на иммунные и неиммунные клетки при разных патофизиологических условиях. Имеются данные, указывающие на то, что MIP-1 $\beta$  может способствовать развитию опухолей путем индукции опухоли-ассоциированных макрофагов, Т-клеточной инфильтрации и секреции других хемокинов для подавления противоопухолевого иммунитета. И наоборот, он может усиливать данный вид иммунитета посредством привлечения макрофагов с фагоцитарной активностью и цитолитических лимфоцитов [27]. Кроме того, была показана обратная корреляция уровня MIP-1 $\beta$  в фолликулярной жидкости и количества эмбрионов хорошего качества D3, а также частоты образования blastocyst хорошего качества у пациенток с СПЯ ( $p=0,006$  и  $p=0,003$  соответственно). Ранее сообщалось, что концентрации MIP-1 $\beta$  взаимосвязаны с характеристиками яйцеклеток и исходами беременности [28]. Исследователи предположили, что уровень MIP-1 $\beta$  можно использовать как потенциальный биомаркер, связанный с качеством эмбрионов у женщин с СПЯ и нормальным ИМТ.

SDF-1 $\alpha$  первоначально был идентифицирован как пре-В-клеточный фактор роста (PBGF) и считается наиболее мощным хемокином, поскольку может активировать миграцию и/или рекрутировать различные лейкоциты, включая лимфоциты, моноциты, гемопоэтические стволовые клетки и клетки-предшественники. Кроме того, *in vitro* было показано, что SDF-1 $\alpha$  ингибирует апоптоз клеток в клеточной линии гранулезного рака яичников человека и играет важную роль в эмбриогенезе [29]. J. Shang и соавт. обнаружили, что уровни SDF-1 $\alpha$ , как правило, отрицательно коррелировали с уровнем фолликулостимулирующего гормона (ФСГ), хотя корреляция была слабой. А уровни SDF-1 $\alpha$  не имели связи с качеством эмбрионов у пациенток с СПЯ. Кроме того, концентрация данного хемокина была значительно ниже у пациенток с высоким уровнем андрогенов, чем в контрольной группе ( $p=0,031$ ) [25]. Данный факт позволяет предположить, что SDF-1 $\alpha$  тесно связан с гиперандрогенией и может играть важную роль в регуляции репродуктивной функции у больных СПЯ.

Группа ученых под руководством N. Aru провели рандомизацию по Менделю (MP) — это метод исследования, который использует генетические варианты в качестве инструментальных переменных, позволяющих изучить причинно-следственную связь между фактором риска и интересующим исследователя заболеванием. В данной работе использовали комплексный MP-анализ с двумя выборками для изучения причинно-следственной связи между 731 иммунной клеткой и СПЯ [30]. Результаты показали, что два типа В-клеток, а именно CD20-CD38- и В-клетки памяти, были достоверно связаны с повышенным риском развития овариальной гиперандрогении. В работе A. Ascani и соавт. была определена важная роль

В-клеток в патогенезе СПЯ [31]. Известно, что В-лимфоциты продуцируют антитела при контакте с антигенами, и образование комплексов антиген-антитело может способствовать воспалительным реакциям в организме, тем самым потенциально увеличивая риск этого заболевания [31]. CD20 — это особый антиген, обнаруживаемый на поверхности В-лимфоцитов, и он известен своим участием в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и передачи сигналов [32]. Кроме того, в одной из работ была установлена корреляция между повышенными уровнями CD39+CD4+Treg-клетками и сниженным риском СПЯ. Регуляторные Т-клетки особенно важны для реализации репродуктивной функции. Их увеличение наблюдается во время нормальной беременности, а снижение повышает риски выкидыша или бесплодия у пациенток с СПЯ [33]. В данном исследовании авторы обнаружили корреляцию между уровнем CD14-CD16+ моноцитов и повышенным риском развития этого синдрома [30]. Моноциты и макрофаги действуют как «часовые» иммунной системы, и их можно отличить по экспрессии CD14 и CD16. Подмножества моноцитов классифицируются на основе фенотипических маркеров: классические (CD14+CD16-), промежуточные (CD14+CD16+) и неклассические (CD14-CD16+) [34]. Результаты исследования N. Aru и соавт. подтвердили участие неклассических моноцитов в манифестации СПЯ [30]. По сравнению с классическими моноцитами подгруппа CD16+ демонстрирует более сильную способность высвобождать провоспалительные факторы и, как следствие, повышена у пациенток с гиперандрогенией [30, 35]. Патогенез СПЯ многогранен, и клиническая гетерогенность различных типов иммунных клеток, участвующих в возникновении и развитии синдрома, очевидна. Необходимы дальнейшие исследования для изучения взаимодействия между иммунными клетками и процессами врожденного и приобретенного иммунного ответа у пациенток с данной нозологией.

### ПРЕЖДЕВРЕМЕННАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ ЯИЧНИКОВ

Преждевременная недостаточность яичников (ПНЯ) — патология, сопровождающаяся истощением овариального резерва яичников в возрасте до 40 лет, аномальными менструациями (аменорея, редкие или частые менструации), повышенным уровнем ФСГ (>25 МЕ /л) и сниженным уровнем эстрадиола. Частота данной нозологии составляет 1–2% среди женщин репродуктивного возраста [36]. Этиопатогенез заболевания в большинстве своем остается невыясненным, однако в ряде случаев выявляют генетические аномалии, ятрогенные факторы, аутоиммунные заболевания, нарушения обмена веществ и инфекции [37].

Особенностью патологии является дисфункция гранулезных клеток, избыточный апоптоз которых может вызвать фолликулярную атрезию и привести к ПНЯ. Помимо ооцитов и клеток гранулезы, микроокружение фолликулов также составляют иммунные клетки и цитокины. Взаимодействие между иммунными клетками, ооцитами и соматическими клетками опосредованы каскадом цитокинов и факторов роста, участвующих в процессе роста фолликулов, овуляции, лютеинизации, а также в стероидогенезе [38]. Многочисленные исследования

выявили лимфоцитарную инфильтрацию и другие иммунные реакции у пациенток с ранним истощением овариального резерва. Воспаление в яичнике может ухудшать их функцию [39]. Тем не менее закономерности инфильтрации иммунными клетками все еще нуждаются в дальнейшем изучении.

Иммунная система имеет решающее значение для поддержания гомеостаза яичников и нормального функционирования репродуктивной системы. В одном исследовании был зарегистрирован повышенный уровень цитокинов, таких как макрофагальный воспалительный белок-1 $\alpha$  (MIP-1 $\alpha$ ), IL-8 и индуцируемый интерфероном- $\gamma$  белок-10 (IP-10), в фолликулярной жидкости пациенток с ПНЯ. Авторами был сделан вывод о том, что измененный цитокиновый профиль с повышенным содержанием хемокинов и факторов роста был связан с ранней стадией этого заболевания [40]. В другой работе было показано, что дефицит Treg-клеток и усиленный аутоиммунитет Th1-лимфоцитов могут участвовать в манифестации описываемой патологии. Цитокины, вырабатываемые Th1-клетками, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , непосредственно стимулировали апоптоз и ингибировали пролиферацию и стероидогенез в гранулезных клетках человека *in vitro*, подавляя фактор роста соединительной ткани (CTGF) и цитохром P450 семейства 19 (CYP19A1) [41].

Макрофаги являются одной из преобладающих популяций иммунных клеток, участвующих в фолликулогенезе и овуляции. Провоспалительная среда, связанная с макрофагами M1, может влиять на жизнеспособность гранулезных клеток человека [42]. Стоит отметить работу D. Liu и соавт., в которой была выявлена высокая концентрация моноцитов и макрофагов M1 в фолликулярной жидкости у пациенток с ПНЯ [43]. Повышенная инфильтрация этих клеток может влиять на жизнеспособность гранулезитов, приводя к их апоптозу и атрезии фолликулов [44]. D. Liu и соавт. проанализировали транскриптом клеток гранулезы у женщин с ПНЯ и здоровых участниц для выявления потенциальных биомаркеров. Было обнаружено 10 дополнительных значимых для патогенеза новых генов: *UBE2C*, *PBK*, *BUB1*, *CDC20*, *NUSAP1*, *CENPA*, *CCNB2*, *TOP2A*, *AURKB* и *FOXM1*. Снижение экспрессии *UBE2C* в клетках гранулезы приводило к атрезии фолликулов: при его нокадауне происходило ингибирование пролиферации гранулезитов и их апоптоз с усилением активности маркеров программированной клеточной гибели. Следовательно, сниженная экспрессия *UBE2C* может инициировать дисфункцию гранулезы и, в последствии, развитие ПНЯ. Кроме того, в данной работе авторами было обнаружено, что продукт экспрессии *UBE2C* — убиквитинконъюгирующий фермент E2C (*UBE2C*) был снижен и отрицательно коррелировал с моноцитами и макрофагами M1 [43]. Необходимы дальнейшие работы по изучению взаимосвязи между белком, кодируемым геном *UBE2C* и иммунной инфильтрацией при ПНЯ для определения нового возможного диагностического и прогностического маркера.

Подмножества лимфоцитов периферической крови являются важными параметрами для мониторинга иммунного ответа. На сегодняшний день большинство исследований субпопуляций этих клеток у пациенток с ранним истощением овариального резерва были сосредоточены на количестве каждой группы, однако

их роль, функция и биологическое значение изучены недостаточно. С. Zhang и соавт. провели первый эксперимент, в котором использовался метод секвенирования одноклеточной РНК для изучения характеристик различных подмножеств лимфоцитов периферической крови у пациенток с ПНЯ [45]. Результаты показали, что состав нескольких клеточных субпопуляций, в основном моноцитов, NK-клеток и В-клеток, значительно отличался у женщин со сниженным овариальным резервом по сравнению со здоровыми участницами. Процент классических моноцитов и естественных киллеров оказался низким, а количество плазматических клеток было увеличено в основной группе. И хотя у пациенток с ПНЯ наблюдалось уменьшение количества NK-клеток, гены, связанные с их активностью (*KLRC1*, *CD3E*), были сверхэкспрессированы. Естественные киллеры являются важнейшим компонентом поддержания иммунитета. Но их роль остается недостаточно изученной в репродуктивных процессах.

В ряде работ обнаружен существенный вклад TNF $\alpha$ -зависимого сигнального пути в патогенез ПНЯ. TNF- $\alpha$  в основном продуцируется моноцитами, макрофагами, ДК, активированными В-лимфоцитами и Т-лимфоцитами. Он может связываться с двумя рецепторами (TNFR1 и TNFR2) и оказывать плейотропное действие на иммунитет и воспаление [46]. TNF- $\alpha$  играет ключевую роль в нескольких сигнальных путях, включая NF- $\kappa$ B, JAK/STAT, Akt, p38/MAPK, ERK и Wnt/ $\beta$ -катенин [47]. Многие исследователи рассматривают TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  при ПНЯ как показатели воспаления. IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  напрямую приводят к дисфункции гранулезных клеток и атрезии фолликулов, а также развитию овариальной недостаточности [48]. В совокупности эти данные позволяют предположить, что аномалии иммунных клеток периферической крови могут быть вовлечены в этиологию заболевания, однако необходимо проведение исследований с большим объемом выборки.

Нарушения клеточного иммунитета являются неотъемлемой частью патогенеза ПНЯ. Т-лимфоциты — это самые важные эффекторы в иммунной системе. Следует отметить, что из-за существования различных подмножеств Т-клетки могут не только служить индукторами, но и ингибиторами аутоиммунных заболеваний. Известно об изменениях пропорции подгрупп Т-лимфоцитов, и весьма вероятно, что они связаны с возникновением и развитием ПНЯ [49]. Хотя этому вопросу уделялось огромное внимание, выводы о модификациях субпопуляций все еще противоречивы.

В многочисленных исследованиях было показано, что у пациенток с ПНЯ доля CD4+ Т-лимфоцитов (CD4+ клетки), поддерживающих воспаление, в периферической крови была повышена. Это позволяет предположить, что провоспалительный статус может быть фактором риска заболевания. Теоретически Treg-клетки могут подавлять потенциальную аутореактивную способность CD4+ клеток для поддержания баланса между провоспалительными и противовоспалительными свойствами. Однако в одной из работ было зарегистрировано снижение количества регуляторных Т-лимфоцитов и увеличение количества активированных CD4+ клеток при ПНЯ, что указывает на нарушение регуляции аутоиммунных реакций [50]. Основным объяснением может быть

нестабильность Treg-клеток, способствующая развитию этого заболевания. Кроме того, мутация гена *FOXP3*, еще одного важного клеточного регулятора, может привести к их дисфункции, что в дальнейшем вызовет многочисленные аутоиммунные нарушения. В соответствии с функциональной недостаточностью Treg-клеток, уровни мРНК транскрипционного фактора белка *FOXP3* в периферической крови больных ПНЯ были значительно снижены [51]. Проспективное контролируемое исследование показало, что у пациенток с идиопатической формой заболевания не наблюдалось изменений уровня CD4+ клеток. Однако процент регуляторных Т-лимфоцитов был значительно снижен, что было интерпретировано как механизм, потенцирующий аутоиммунный ответ [52].

Стоит отметить исследование Y. Wang и соавт., в котором изучалась возможность усиления функции Treg-клеток с помощью генной инженерии для повышения их эффективности при лечении ПНЯ [53]. В этой работе оценивали значение Pellino-1 — E3-убиквитинированной лигазы (*Peli1*) в пролиферации и иммуносупрессивной функции регуляторных Т-лимфоцитов и терапевтический эффект этих клеток, сверхэкспрессирующих *Peli1* при аутоиммунной ПНЯ. Вышеописанный белок отвечает за пролиферацию и активацию Т-лимфоцитов и тесно связан с некоторыми аутоиммунными заболеваниями, такими как рассеянный склероз, системная красная волчанка и ревматоидный артрит [54]. Было показано, что *Peli1* слабо экспрессируется у пациенток с изучаемым заболеванием и, возможно, участвует в его патогенезе [55]. Результаты эксперимента под руководством Y. Wang выявили, что сверхэкспрессия данного белка способствовала клеточной пролиферации и усиливала иммуносупрессивную функцию Treg-клеток *in vitro*. После адаптивного переноса регуляторных Т-лимфоцитов, сверхэкспрессирующих *Peli1*, экспериментальным моделям (мыши) с аутоиммунной формой ПНЯ, скорость апоптоза гранулезных клеток яичников снизилась. Уровни ингибиторов воспаления: IL-10 и трансформирующего фактора роста-β, а также эстрадиола повысились. Количество примордиальных, первичных, вторичных и зрелых фолликулов восстановилось в определенной степени по сравнению с таковыми в контрольной группе [52]. Эти результаты могут дать новое представление о лечении ПНЯ и открыть перспективные терапевтические возможности.

В реализации широкого спектра процессов, протекающих в организме, цитокины принимают непосредственное участие. Данные биологически активные гормоноподобные белки определяют тип и длительность иммунного ответа, стимуляцию или подавление роста клеток, их дифференцировку, функциональную активность [56].

Th1-клетки и макрофаги M1 продуцируют различные цитокины, включая IL-1α, IL-2, IL-6, IL-8, TNF-α и IFN-γ. Более того, Th17-клетки могут продуцировать IL-17 и IL-21. Эти цитокины являются важными маркерами воспалительных процессов. H. Yang и соавт. выявили повышенные уровни IL-1α в образцах сыворотки и фолликулярной жидкости у пациенток с ПНЯ по сравнению со здоровыми женщинами. Одновременно наблюдалось значительное усиление экспрессии апоптотических мРНК белка *Bax*, TNF-α и подавление экспрессии мРНК антиапопто-

ческого пептида Bcl-2 [57]. На экспериментальных моделях и у пациенток с истощением овариального резерва исследователи обнаружили, что сывороточные концентрации провоспалительных цитокинов IL-6, IL-8, TNF-α, IL-17 и IFN-γ повышены, но снижена концентрация противовоспалительного цитокина IL-10, продуцируемого Treg-клетками, функция которого заключается в ингибировании активности Th1-клеток. Эти данные еще раз подчеркивают наличие сдвига провоспалительного статуса у больных ПНЯ и особую роль цитокинов при описываемой патологии. В клинической практике возможно проводить мониторинг уровней цитокинов с целью более ранней диагностики заболевания, тем самым максимально улучшая качество жизни и репродуктивные исходы у женщин [58].

Группа исследователей под руководством W. Zhang изучала вероятную связь развития ПНЯ с дефицитом IL-22. Последний является членом семейства цитокина IL-10, вырабатывается активированными Т-клетками, включая Th17 и Th22-клетки, а также врожденными лимфоидными клетками типа 3 (ILC3) и NK-клетками. Уровни IL-22 и IL-22-продуцирующих CD4+Т-лимфоцитов в сыворотке крови были значительно снижены в группе пациенток с ПНЯ по сравнению с контролем. Также данные показатели достоверно коррелировали с маркерами овариального резерва: АМГ, ФСГ, количеством антральных фолликулов по данным ультразвукового исследования [59]. Таким образом, эта работа впервые продемонстрировала связь между Th22-опосредованным дефицитом IL-22 и недостаточностью яичников, что открывает новые возможности для экзогенного введения IL-22 в качестве потенциального экспериментального лечения при ПНЯ.

Большинство ученых, занимающихся проблемой раннего истощения овариального резерва, склонны считать, что аномальные уровни иммунологических клеток и цитокинов приводят к снижению количества фолликулов в яичниках. Однако патологические механизмы до сих пор требуют дальнейшего изучения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, вышеописанные исследования позволяют утверждать, что роль иммунных нарушений в патогенезе некоторых форм аменореи велика. Воспаление является неотъемлемым компонентом СПЯ, хотя обычно это упускается из виду в клинической практике. Для поддержания функции яичников важно, чтобы уровни маркеров воспаления были сбалансированы; доказано, что различные концентрации провоспалительных и противовоспалительных цитокинов способствуют дисфункции яичников и неправильному созреванию фолликулов. Не менее важно адекватное функционирование процессов клеточного иммунитета.

ПНЯ — гетерогенное и многофакторное заболевание, при котором идиопатическая форма составляет большинство случаев, а их этиология до сих пор неизвестна. Современные исследования показывают, что иммунная система играет ключевую роль в патогенезе данной нозологии. Яичники являются частой мишенью аутоиммунных атак. Накапливающиеся данные указывают на то, что, помимо индукции синтеза аутоантител, патология

клеточного иммунитета занимает не последнее место при ПНЯ. Однако точные механизмы, лежащие в основе иммунопатогенеза снижения овариального резерва, приводящего к бесплодию и развитию множественных менопаузальных проявлений, не до конца исследованы.

На основании вышеизложенного материала можно сделать вывод о наличии единых звеньев нарушений в иммунной системе таких отличных друг от друга заболеваний, как СПЯ и ПНЯ.

Несмотря на многочисленные достижения в изучении иммунопатологии, применение лекарственных средств, направленных на это звено патогенеза, недостаточно изучено, что создает большой плацдарм для разработки и внедрения инновационных терапевтических средств.

## ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Источники финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания №123021300169-4 «Эпигенетические предикторы и метаболомная составляющая аменореи различного генеза у женщин репродуктивного возраста», 2023–2025 гг.

**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. Сандакова Е.А., Жуковская И.Г. Нормогонадотропные расстройства менструальной функции в репродуктивном периоде: клиническая лекция. // *Пермский медицинский журнал*. — 2022. — Т.39. — №6 — С.38-53. [Sandakova EA, Zhukovskaya IG. Normogonadotropic menstrual function disorders in reproductive period. Clinical lecture. *Perm Medical Journal*. 2022;39(6):38-53. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.17816/pmj39638%5>
2. Российское общество акушеров-гинекологов. Клинические рекомендации. Аменорея. — М.: Министерство здравоохранения РФ; 2021. [Rossijskoe obshhestvo akusherov-ginekologov. Klinicheskie rekomendacii. Amenoreja. Moscow: Ministerstvo zdravooohranenija RF; 2021. (In Russ.)]
3. Юркова А.А. Основы клеточного иммунитета. // *Международный журнал гуманитарных и естественных наук*. — 2021. — Т.5. — №2 — С.66-68. [Yurkova AA. Osnovy kletochnogo immuniteta. *International Journal of Humanities and Natural Sciences*. 2021;5(2):66-68. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.24412/2500-1000-2021-5-2-66-68>
4. Li Z, Peng A, Feng Y, et al. Detection of T lymphocyte subsets and related functional molecules in follicular fluid of patients with polycystic ovary syndrome. *Scientific reports*. 2019;9(1):6040. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42631-x>
5. Forsyth KS, Jiwrajka N, Lovell CD, et al. The conneXion between sex and immune responses. *Nature reviews. Immunology*. 2024. Published online. doi: <https://doi.org/10.1038/s41577-024-00996-9>
6. Kissick HT, Sanda MG, Dunn LK, et al. Androgens alter T-cell immunity by inhibiting T-helper 1 differentiation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014;111(27):9887-9892. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1402468111>
7. Roved J, Westerdahl H, Hasselquist D. Sex differences in immune responses: Hormonal effects, antagonistic selection, and evolutionary consequences. *Hormones and behavior*. 2017;88:95–105. doi: <https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.11.017>
8. Lima PDA, Nivet AL, Wang Q, et al. Polycystic ovary syndrome: possible involvement of androgen-induced, chemerin-mediated ovarian recruitment of monocytes/macrophages. *Biology of reproduction*. 2018;99:838–852. doi: <https://doi.org/10.1093/biolre/i0y096>
9. Hases L, Archer A, Williams C. ERβ and inflammation. *Advances in experimental medicine and biology*. 2022;1390:213–25. doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-031-11836-4\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-031-11836-4_12)
10. Cutolo M, Sulli A, Straub RH. Estrogen metabolism and autoimmunity. *Autoimmunity reviews*. 2012;11(6-7):A460–A464. doi: <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.11.014>
11. Straub RH. The complex role of estrogens in inflammation. *Endocrine reviews*. 2007;28(5):521–574. doi: <https://doi.org/10.1210/er.2007-0001>
12. Chakraborty B, Byemerwa J, Krebs T, et al. Estrogen Receptor Signaling in the Immune System. *Endocrine Reviews*. 2023;44(1): 117–141. doi: <https://doi.org/10.1210/edrv/bnac017>
13. Azziz R, Carmina E, Chen Z, et al. Polycystic ovary syndrome. *Nature reviews. Disease primers*. 2016;2:16057. doi: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.57>
14. Синдром поликистозных яичников. Клинические рекомендации. — М.: Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2021. [Sindrom polikistoznyh yaichnikov. Klinicheskie rekomendacii. M.: Ministerstvo zdravooohranenija Rossijskoj federacii.2021. (In Russ.)]
15. Rudnicka E, Suchta K, Grymowicz M, et al. Chronic low Grade inflammation in Pathogenesis of PCOS. *International journal of molecular sciences*. 2021;22(7):3789. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22073789>
16. Zhai Y, Pang Y. Systemic and ovarian inflammation in women with polycystic ovary syndrome. *Journal of reproductive immunology*. 2022;151:103628. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2022.103628>
17. Bahceci M, Gokalp D, Bahceci S, et al. The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults? *Journal of endocrinological investigation*. 2007;30(3):210–214. doi: <https://doi.org/10.1007/BF03347427>
18. Gomez JMD, VanHise K, Stachenfeld N, et al. Subclinical cardiovascular disease and polycystic ovary syndrome. *Fertility and sterility*. 2022;117(5):912–923. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2022.02.028>
19. Salamun V, Rizzo M, Lovrecic L, et al. The Endometrial Transcriptome of Metabolic and Inflammatory Pathways during the Window of Implantation Is Deranged in Infertile Obese Polycystic Ovarian Syndrome Women. *Metabolic syndrome and related disorders*. 2022;20(7):384–394. doi: <https://doi.org/10.1089/met.2021.0149>
20. Wang J, Teng F, Wu Q, Wu Y, Hu L. Relationship between proinflammatory cytokines and clomiphene resistance in patients with polycystic ovary syndrome. *Annals of palliative medicine*. 2021;10(11):11884–11890. doi: <https://doi.org/10.21037/apm-21-3031>
21. Abraham Gnanadass S, Divakar Prabhu Y, Valsala Gopalakrishnan A. Association of metabolic and inflammatory markers with polycystic ovarian syndrome (PCOS): an update. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2021;303(3):631–643. doi: <https://doi.org/10.1007/s00404-020-05951-2>
22. Yang Y, Xia J, Yang Z, et al. The abnormal level of HSP70 is related to Treg/Th17 imbalance in PCOS patients. *Journal of ovarian research*. 2021;14(1):155. doi: <https://doi.org/10.1186/s13048-021-00867-0>
23. Hu C, Pang B, Ma Z, Yi H. Immunophenotypic profiles in polycystic ovary syndrome. *Mediators of inflammation*. 2020;2020:5894768. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/5894768>
24. Figueroa F, Motta A, Acosta M, et al. Role of macrophage secretions on rat polycystic ovary: its effect on apoptosis. *Reproduction (Cambridge, England)*. 2015;150(5):437–448. doi: <https://doi.org/10.1530/REP-15-0216>
25. Shang J, Wang S, Wang A, et al. Intra-ovarian inflammatory states and their associations with embryo quality in normal-BMI PCOS patients undergoing IVF treatment. *Reproductive biology and endocrinology*. 2024;22(1):11. doi: <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01183-6>

26. Menten P, Wuyts A, Van Damme J. Macrophage inflammatory protein-1. *Cytokine & growth factor reviews*. 2002;13:455–81. doi: [https://doi.org/10.1016/S1359-6101\(02\)00045-X](https://doi.org/10.1016/S1359-6101(02)00045-X)
27. Mukaida N, Sasaki S-I, Baba T. CCL4 signaling in the Tumor Microenvironment. *Advances in experimental medicine and biology*. 2020;1231:23–32. doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-36667-4\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-030-36667-4_3)
28. Sarapik A, Velthut A, Haller-Kikkatalo K, et al. Follicular proinflammatory cytokines and chemokines as markers of IVF success. *Clinical & developmental immunology*. 2012;2012:606459. doi: <https://doi.org/10.1155/2012/606459>
29. Jin L, Ren L, Lu J, et al. CXCL12 and its receptors regulate granulosa cell apoptosis in PCOS rats and human KGN tumor cells. *Reproduction*. 2021;161:145–57. doi: <https://doi.org/10.1530/REP-20-0451>
30. Aru N, Yang C, Chen Y, Liu J. Causal association of immune cells and polycystic ovarian syndrome: a Mendelian randomization study. *Frontiers in endocrinology*. 2023;14:1326344. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1326344>
31. Ascani A, Torstensson S, Risal S, et al. The role of B cells in immune cell activation in polycystic ovary syndrome. *eLife*. 2023;12:e86454. doi: <https://doi.org/10.7554/eLife.86454.sa2>
32. Pavlasova G, Mraz M. The regulation and function of CD20: an «enigma» of B-cell biology and targeted therapy. *Haematologica*. 2020;105(6):1494–506. doi: <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.243543>
33. Somerset D, Zheng Y, Kilby M, et al. Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25+ CD4+ regulatory T-cell subset. *Immunology*. 2004;112(1):38–43. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2004.01869.x>
34. Cros J, Cagnard N, Woollard K, et al. Human CD14dim monocytes patrol and sense nucleic acids and viruses via TLR7 and TLR8 receptors. *Immunity*. 2010;33(3):375–86. doi: <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.08.012>
35. Zhang B, Qi X, Zhao Y, et al. Elevated CD14CD16 monocytes in hyperhomocysteinemia-associated insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2018;25(12):1629–36. doi: <https://doi.org/10.1177/1933719118756772>
36. Ford EA, Beckett EL, Roman SD, et al. Advances in human primordial follicle activation and premature ovarian insufficiency. *Reproduction*. 2020; 159(1): R15–R29. doi: <https://doi.org/10.1530/REP-19-0201>
37. Кравченко Е.Н., Воронцова М.С. Преждевременная недостаточность яичников, современный взгляд на проблему. // *Мать и Дитя в Кубассе*. 2022 — Т.88. — №1: С. 4–10. [Kravchenko EN, Vorontsova MS. Prezhdevremennaya nedostatochnost' yaichnikov, sovremennyy vzglyad na problemu. *Mat' i Ditya v Kuzbasse*. 2022;88(1):4–10. (in Russ.)] doi: <https://doi.org/10.24412/2686-7338-2022-1-4-10>
38. Yang X, Gilman-Sachs A, Kwak-Kim J. Ovarian and endometrial immunity during the ovarian cycle. *Journal of reproductive immunology*. 2019;133:7–14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jri.2019.04.001>
39. Huang Y, Hu C, Ye H, et al. Inflamm-Aging: A new mechanism affecting premature ovarian insufficiency. *Journal of immunology research*. 2019;2019:8069898. doi: <https://doi.org/10.1155/2019/8069898>
40. Liu P, Zhang X, Hu J, et al. Dysregulated cytokine profile associated with biochemical premature ovarian insufficiency. *American journal of reproductive immunology*. 2020;84(4):e13292. doi: <https://doi.org/10.1111/aji.13292>
41. Jiao X, Zhang X, Li N, et al. Treg deficiency-mediated T(H) 1 response causes human premature ovarian insufficiency through apoptosis and steroidogenesis dysfunction of granulosa cells. *Clinical and translational medicine*. 2021;11(6):e448. doi: <https://doi.org/10.1002/ctm2.448>
42. Kaipia A, Chun SY, Eisenhauer K, Hsueh AJ. Tumor necrosis factor-alpha and its second messenger, ceramide, stimulate apoptosis in cultured ovarian follicles. *Endocrinology*. 1996;137(11):4864–4870. doi: <https://doi.org/10.1210/endo.137.11.8895358>
43. Liu D, Guan X, Liu W, et al. Identification of transcriptome characteristics of granulosa cells and the possible role of UBE2C in the pathogenesis of premature ovarian insufficiency. *Journal of ovarian research*. 2023;16(1):203. doi: <https://doi.org/10.1186/s13048-023-01266-3>
44. Martins TS, Fonseca BM, Rebelo I. The role of macrophages phenotypes in the activation of resolution pathways within human granulosa cells. *Reproductive biology and endocrinology*. 2022;20(1):116. doi: <https://doi.org/10.1186/s12958-022-00983-6>
45. Zhang C, Yu D, Mei Y, et al. Single-cell RNA sequencing of peripheral blood reveals immune cell dysfunction in premature ovarian insufficiency. *Frontiers in endocrinology*. 2023;14:1129657. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1129657>
46. Joo, Na-Rae et al. "TOPK inhibits TNF-α-induced granulosa cell apoptosis via regulation of SIRT1/p53." *Biochemical and biophysical research communications*. vol. 664 (2023): 128-135. doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.04.113>
47. Szeliga A, Calik-Ksepka A, Maciejewska-Jeske M, et al. Autoimmune Diseases in Patients with Premature Ovarian Insufficiency—Our Current State of Knowledge. *Int J Mol Sci*. 2021;22(5):2594. doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22052594>
48. Jiao X, Zhang X, Li N, et al. Treg deficiency-mediated T(H) 1 response causes human premature ovarian insufficiency through apoptosis and steroidogenesis dysfunction of granulosa cells. *Clinical and translational medicine*. 2021;11(6):e448. doi: <https://doi.org/10.1002/ctm2.448>
49. Dominguez-Villar M, Hafler DA. Regulatory T cells in autoimmune disease. *Nat Immunol*. 2018;19:665–73. doi: <https://doi.org/10.1038/s41590-018-0120-4>
50. Kobayashi M, Nakashima A, Yoshino O, et al. Decreased effector regulatory T cells and increased activated CD4(+) T cells in premature ovarian insufficiency. *Am J Reprod Immunol*. 2019;81:e13125. doi: <https://doi.org/10.1111/aji.13125>
51. Xiong J, Tan R, Wang W, et al. Evaluation of CD4(+)CD25(+) FOXP3(+) regulatory T cells and FOXP3 mRNA in premature ovarian insufficiency. *Climacteric*. 2020;23:267–72. doi: <https://doi.org/10.1080/13697137.2019.1703938>
52. Košir Pogačnik R, Meden Vrtovec H, Vizjak A, Uršula Levičnik A, Slabe N, Ihan A. Possible role of autoimmunity in patients with premature ovarian insufficiency. *Int J Fertil Steril*. 2014;7(4):281–290
53. Wang Y, Zhuo A, Yang Y, et al. Regulatory T Cells Overexpressing Peli1 Show Better Efficacy in Repairing Ovarian Endocrine Function in Autoimmune Premature Ovarian Insufficiency. *Lab Invest*. 2023;103(2):100005. doi: <https://doi.org/10.1016/j.labinv.2022.100005>
54. Liu J, Huang X, Hao S, et al. Peli1 negatively regulates noncanonical NF-κB signaling to restrain systemic lupus erythematosus. *Nat Commun*. 2018;9(1):1e13. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03530-3>
55. Li X, Xie J, Wang Q, Cai H, Xie C, Fu X. miR-21 and Pellino-1 Expression Profiling in Autoimmune Premature Ovarian Insufficiency. *J Immunol Res*. 2020;2020:3582648. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/3582648>
56. Рыбкина В.Л., Адамова Г.В., Ослина Д.С. Роль цитокинов в патогенезе злокачественных новообразований. // *Сибирский научный медицинский журнал*. — 2023. — Т. 43. №2. — С. 15–28. [Rybkina VL, Adamova GV, Osolina DS. The role of cytokines in the pathogenesis of malignant neoplasms. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2023;43(2):15–28. (In Russ.)] doi: <https://doi.org/10.18699/SSMJ20230202>
57. Yang H, Pang H, Miao C. Ovarian IL-1α and IL-1β levels are associated with primary ovarian insufficiency. *Int J Clin Exp Pathol*. 2018;11:4711–4717
58. Sun S, Chen H, Zheng X, et al. Analysis on the level of IL-6, IL-21, AMH in patients with auto-immunity premature ovarian failure and study of correlation. *Exp Ther Med*. 2018;16:3395–3398. doi: <https://doi.org/10.3892/etm.2018.6592>
59. Zhang W, Xu S, Zhang R, et al. The TH 22-mediated IL-22 deficiency associated with premature ovarian insufficiency. *Am J Reprod Immunol*. 2023;89(4):e13685. doi: <https://doi.org/10.1111/aji.13685>

Рукопись получена: 27.04.2024. Одобрена к публикации: 04.06.2024. Опубликовано online: 31.12.2024.

#### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

\***Евсеева Юлия Сергеевна** [Yulia S. Evseeva]; адрес: Россия, 117036, Москва, ул. Дм. Ульянова, д. 11 [address: 11 Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-8189-1384>; e-mail: [evseeva.julia09@yandex.ru](mailto:evseeva.julia09@yandex.ru)

**Абсатарова Юлия Сергеевна**, к.м.н. [Yulia S. Absatarova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0696-5367>;  
e-mail: korsil2008@yandex.ru

**Андреева Елена Николаевна**, д.м.н., профессор [Elena N. Andreeva, MD, PhD, professor];  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8425-0020>; SPIN-код: 1239-2937; e-mail: endogin@mail.ru

**Зураева Замира Тотразовна**, к.м.н. [Zamira T. Zuraeva, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6953-6928>;  
SPIN-код: 6002-0455; e-mail: zuraeva\_zamira@mail.ru

**Шереметьева Екатерина Викторовна**, к.м.н. [Ekaterina V. Sheremetyeva, MD, PhD];  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7177-0254>; SPIN-код: 9413-5136; e-mail: s1981k@yandex.ru

**Григорян Ольга Рафаэлевна**, д.м.н., профессор [Olga R. Grigoryan, MD, PhD, professor];  
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4979-7420>; SPIN-код: 3060-8242; e-mail: iceberg1995@mail.ru

**Михеев Роберт Константинович** [Robert K. Mikheev, MD, resident]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5826-3186>;  
SPIN-код: 9767-8468; e-mail: iceberg1995@mail.ru

#### ЦИТИРОВАТЬ:

Абсатарова Ю.С., Евсеева Ю.С., Андреева Е.Н., Зураева З.Т., Шереметьева Е.В., Григорян О.Р., Михеев Р.К. Особенности иммунологического статуса пациенток с аменореей (обзор литературы) // *Проблемы эндокринологии*. — 2024. — Т. 70. — №6. — С. 118-126. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13456>

#### TO CITE THIS ARTICLE:

Absatarova YS, Evseeva YS, Andreeva EN, Zuraeva ZT, Sheremetyeva EV, Grigoryan OR, Mikheev RK. Immunological status in patients with amenorrhea (literature review). *Problems of Endocrinology*. 2024;70(6):118-126. doi: <https://doi.org/10.14341/probl13456>











