

**Носова Надежда Рудольфовна**

**Значение клинических, современных биохимических методов и семейного скрининга в  
диагностике болезни Фабри**

14.01.04 - Внутренние болезни

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор

**Моисеев Сергей Валентинович**

**Официальные оппоненты:**

**Вашакмадзе Нато Джумберовна**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра факультетской педиатрии, профессор кафедры

**Андреев Денис Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет), кафедра кардиологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского, профессор кафедры

**Ведущая организация:** федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет дружбы народов» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации

Защита диссертации состоится «23» ноября 2021 г. в 14.00 ч на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.11 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации: <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, профессор



**Дроздов Владимир Николаевич**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы**

Болезнь Фабри (БФ) является редкой лизосомной болезнью накопления, характеризующейся нарушением обмена гликофосфолипидов вследствие недостаточности или отсутствия лизосомной  $\alpha$ -галактозидазы А, что обусловлено мутацией гена GLA, расположенного на X-хромосоме. Снижение активности  $\alpha$ -галактозидазы А приводит к накоплению гликофосфолипидов в лизосомах клеток различных органов и тканей с нарушением их функции (Моисеев С.В. и соавт., 2016). Распространенность болезни среди населения различных стран мира варьируется в широких пределах (от 1 на 117000 до 1 на 476000 населения), занимая второе место среди лизосомных болезней накопления (после болезни Гоше) (Schiffmann R., et al., 2017). В России в настоящее время выявлено около 300 пациентов с БФ, хотя предполагаемая распространенность этого заболевания составляет примерно 1 случай на 50-100 000 населения.

У пациентов с классическим вариантом БФ первые симптомы, в частности нейропатическая боль, ангиокератомы, снижение или отсутствие потоотделения, желудочно-кишечные нарушения, появляются в детском или подростковом возрасте (Ramaswami U., et al, 2006), а в возрасте 20–40 лет развивается поражение внутренних органов, в том числе сердца (гипертрофия миокарда), почек (протеинурия, прогрессирующее снижение скорости клубочковой фильтрации) и центральной нервной системы (транзиторные ишемические атаки, инсульт) (Schiffmann R., et al., 2017). БФ имеет прогрессирующее течение, сопровождается снижением качества и продолжительности жизни. Несмотря на то, что первые симптомы болезни проявляются в детском или подростковом возрасте, в большинстве случаев на момент постановки диагноза у пациентов уже имеется необратимое повреждение почек, сердца, центральной нервной системы. Появление патогенетической терапии изменило прогноз данного наследственного заболевания. В связи с этим возникает необходимость формирования новых подходов к его ранней диагностике (Schiffmann R., et al., 2017), что и обуславливает актуальность темы.

### **Цель исследования**

У пациентов с болезнью Фабри определить роль ранних клинических проявлений, семейного скрининга и нового биохимического маркера лизо-глоботриаозилсфингозина (lyso-G13) в диагностике и оценке прогноза болезни.

### **Задачи исследования**

1. Проанализировать частоту и охарактеризовать спектр ранних клинических проявлений БФ, выявить среди них наиболее значимые для подтверждения предполагаемого диагноза БФ;
2. Установить место семейного скрининга среди методов ранней диагностики БФ;
3. Определить значение ранних клинических проявлений БФ как критериев прогноза тяжести течения заболевания, оцененного, в том числе, с помощью индекса тяжести БФ (MSSI);
4. Оценить значение определения уровня лизо-глоботриаозилсфингозина (lyso-G13) для диагностики БФ и его связь с суммарным индексом тяжести БФ (MSSI);

### **Научная новизна исследования**

Впервые в российской популяции охарактеризованы ранние клинические симптомы, определяемые у пациентов с БФ, исследована их распространенность и диагностическая ценность. Поражение периферической нервной системы, нарушенное потоотделение и ангиокератомы выделены автором как наиболее частые и специфичные проявления БФ, поражение периферической нервной системы и ангиокератомы - важными для ранней диагностики болезни. Впервые определена высокая эффективность семейного скрининга в диагностике болезни и основное препятствие для его проведения в Российской популяции - географическое разобщение семей. Соискателем выявлены факторы, ассоциированные с тяжелым течением БФ, к которым относятся поражение периферической нервной системы и нарушенное потоотделение. В работе впервые детально проанализирована роль субстрата накопления lyso-G13 в диагностике и оценке прогноза болезни Фабри на относительно большой когорте пациентов, предложены значения концентраций для определения разных форм болезни Фабри у мужчин.

### **Практическая значимость**

Автором определена необходимость обращать внимание на возможные ранние проявления БФ, такие как нейропатическая боль, ангиокератомы, сниженное потоотделение, что позволит своевременно заподозрить правильный диагноз врачам смежных специальностей. В исследовании представлен алгоритм действий врача при подозрении на БФ с учетом современных представлений о биохимических, энзимологических и молекулярно-генетических методах диагностики (Приложение А). После подтверждения диагноза

необходимо проведение комплексного обследования для выявления поражения органов мишеней.

Учитывая высокую эффективность семейного скрининга, показана необходимость тестирования на БФ всех родственников пробанда, которые входят в группу риска с учетом X-сцепленного типа наследования, включая мужчин и женщин. Автором подчеркивается важность подробного изучения родословной пациента с БФ для диагностики болезни у детей и подростков, что должно приводить к большей эффективности ферментзаместительной терапии.

### **Внедрение в практику**

Результаты исследования используются в работе ревматологического и нефрологического отделений клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева УКБ №3 ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), в учебном процессе на кафедре внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

### **Личный вклад автора**

Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: разработка плана, формулировка цели и задач, библиографический поиск, сбор, анализ и обобщение клинического материала, составление базы данных, статистическая обработка и анализ полученных результатов, формулировка выводов. Автор принимала непосредственное участие в обсуждении результатов в научных публикациях и их внедрении в практику, определяла тактику обследования и лечения пациентов с БФ, госпитализированных в ревматологическое отделение клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева Первого МГМУ имени И.М. Сеченова.

### **Материалы и методы исследования**

Научная работа выполнена на базе клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева Первого Московского государственного медицинского университета имени И.М. Сеченова. В данное ретроспективное исследование включены 102 пациента с БФ, которые проходили амбулаторное или стационарное обследование и лечение в Клинике за период с 2013г. по 2019 г.

Диагноз БФ устанавливали на основании следующих критериев (Smid B. et al., 2014): (1) наличие мутации гена GLA; (2) снижение активности  $\alpha$ -галактозидазы А в высушенных каплях крови или лейкоцитах у мужчин; (3) наличие одного из следующих признаков: (а) по крайней

мере одно типичное проявление БФ (нейропатическая боль, ангиокератомы, вихревидная кератопатия); (b) повышение концентрации lyso-GI3 в высушенных каплях крови или плазме крови; (c) выявление у родственника определенного диагноза БФ и такой же мутации гена GLA.

У пациентов оценивали значение общих и специфических для БФ параметров: пол, возраст, длительность заболевания, возраст дебюта ранних проявлений, возраст постановки диагноза, тип мутации гена GLA, уровень lyso-GI3 в сухих пятнах крови или плазме, активность  $\alpha$ -галактозидазы А в сухих пятнах крови или лейкоцитах, наличие классических проявлений, поражение органов-мишеней, значение индексов тяжести.

Всем пациентам проводили общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, определение суточной протеинурии и микроальбуминурии, анализ мочи по Нечипоренко, УЗИ почек и органов брюшной полости, МРТ головного мозга и сердца, суточное мониторирование ЭКГ, консультацию офтальмолога и невролога.

Для оценки тяжести БФ определяли Mainz Severity Score index (MSSI), (Whybra C. et al., 2004). Индекс состоит из четырех частей (общей, неврологической, сердечно-сосудистой и почечной) и 25 пунктов, предполагает оценку основных проявлений болезни в баллах. Максимальное значение индекса составляет 76 баллов. Суммарное значение индекса MSSI <20 баллов расценивается как легкое течение БФ, 20-40 баллов – как средне тяжелое, >40 баллов – как тяжелое.

БФ характеризуется прогрессирующим течением с постепенным нарастанием функциональных нарушений, причем у женщин поражение внутренних органов развивается позднее и нарастает медленнее, чем у мужчин, поэтому, чтобы учесть возраст и пол обследованных пациентов для оценки тяжести болезни, был рассчитан индекс aaFOS-MSSI, который может иметь как положительное, так и отрицательное значение (Hughes D. et al., 2010). Положительное значение индекса указывает на более тяжелое течение заболевания, чем можно было бы ожидать у пациента соответствующего возраста и пола, а отрицательное значение свидетельствует о том, что тяжесть болезни меньше ожидаемой. Для мужчин ожидаемый показатель FOS- MSSI рассчитывался по формуле  $(2,29+0,05 \times \text{возраст})^2$ , для женщин  $(0,96+0,05 \times \text{возраст})^2$ .

Уровень  $\alpha$ -галактозидазы А и lyso-GI3 в высушенных каплях крови или плазме, а также молекулярно-генетическое исследование проводили в лабораториях Национального научно-практического центра здоровья детей Минздрава РФ или Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова. Количество lyso-GI3 также измеряли в высушенных каплях крови в лабораториях Centogene AG (Росток, Германия) или Archimed Life Science

GmbH (Вена, Австрия). Новая технология анализа состава высохших на фильтровальной бумаге капель крови позволила скринировать пациентов, находящихся в значительной удаленности от Москвы (Aerts J.M. et al., 2008). Активность  $\alpha$ -галактозидазы А в высушенных каплях крови или лейкоцитах у наших пациентов определялась в нескольких лабораториях, и референсные значения и единицы измерения могли значительно отличаться. Нормальным уровнем lyso-GI3 в высушенных каплях крови и плазме считали значение менее 2,0 нг/мл.

Все истории болезни были проанализированы для определения случаев БФ с учетом Х-сцепленной модели наследования. Мы построили и проанализировали родословную каждого пробанда. Были оценены следующие параметры: общее количество членов семьи, которые могут наследовать мутантный ген; количество родственников, обследованных на БФ; число родственников с подтвержденным диагнозом БФ. Умершие члены семьи были включены в исследование, только если диагноз БФ был подтвержден до развития летального исхода.

**Статистический анализ** проводился с использованием программы Statistica 10 (StaSoft Inc.). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Данные для количественных показателей с нормальным распределением представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. Данные для количественных показателей с распределением, отличавшимся от нормального, приведены в виде медианы и межквартильного размаха. Данные для качественных переменных представлены в виде абсолютных частот и доли в процентах. Медианы количественных показателей сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента (при отсутствии значимых отклонений от нормального распределения) или U-критерия Манна-Уитни (при отклонении распределения от нормального). Сравнение групп по качественным признакам проводилось с помощью точного критерия Фишера. Для выявления взаимосвязи между количественными переменными использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при величине  $p < 0,05$ . Все результаты приведены с двусторонним уровнем значимости.

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Наиболее частыми ранними классическими симптомами БФ являются поражение периферической нервной системы, нарушенное потоотделение и поражение кожи, которые дебютируют в детском возрасте; задержка в установлении диагноза после первых проявлений болезни составляет в среднем 21 год.

2. К эффективным методам диагностики БФ относится семейный скрининг, позволивший в российской популяции выявлять пациентов на ранних стадиях БФ; самой распространенной причиной, препятствующей проведению семейного скрининга является

географическое разобщение семей и значимо реже отказ родственников от генетического тестирования по разным причинам.

3. Среди клинических симптомов для ранней диагностики БФ значение имеют мужской пол и наличие одного из ранних признаков, таких как поражение периферической нервной системы и ангиокератомы, при диагностике до развития органных повреждений – только ангиокератомы; при этом у пациентов с поражением периферической нервной системы и нарушением потоотделения (гипо-/ангидроз) отмечается более тяжелое течение БФ.

4. У женщин уровень lyso-GI3 имеет прогностическое значение, прямо коррелируя с величинами индексов тяжести MSS1 и aaFOS-MSS1; у мужчин повышение концентрации lyso-GI3 выше 26,3нг/мл определяет высокую вероятность формирования классического фенотипа БФ (чувствительность 92,6%, специфичность-63,6%).

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Достоверность результатов и выводов исследования подтверждается применением комплексных методов теоретического и эмпирического исследования, репрезентативностью выборки (достаточный клинический материал – 102 пациента), использованием современных диагностических методик и статистической обработкой материала в лицензионной программе Statistica 10 (StaSoft Inc.).

Апробация работы проведена 17.05.2021г. на заседании сотрудников кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины имени Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет).

Материалы диссертации представлены на 6-м Международном конгрессе по болезни Фабри (Fabry disease update; Прага, 2019), на ежегодном Европейском конгрессе ревматологов (EULAR; Амстердам 2018).

### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Научные положения и результаты исследования соответствуют формуле специальности 14.01.04 Внутренние болезни. Диссертационная работа соответствует области исследования специальности, в частности, пунктам 2 и 3 паспорта специальности 14.01.04 Внутренние болезни.

### **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ в рецензируемых журналах,

рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, в том числе 1 статья в издании, индексируемом в базе данных Scopus.

### **Объем и структура диссертации**

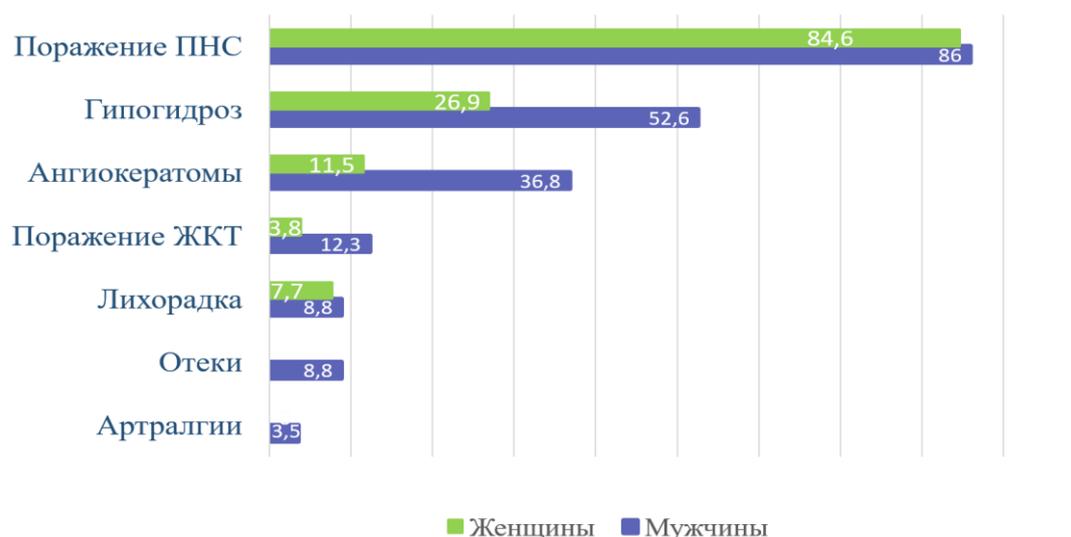
Диссертация изложена на 107 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов собственного исследования, их обсуждения, выводов и практических рекомендаций, содержит 20 рисунков, 14 таблиц и 4 клинических наблюдения. Список литературы содержит 115 источников, среди них 3 отечественных.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Частота и клиническая характеристика ранних проявлений у пациентов с БФ**

Среди 102 пациентов с установленным диагнозом БФ было 65 мужчин (63,7%) и 37 женщин (36,3 %). Медиана возраста по выборке на момент обследования составила 39 (31;50) лет. Медиана возраста у мужчин и женщин была сопоставимой. В подавляющем большинстве случаев возраст обследования совпадал с возрастом постановки диагноза. Среди мужчин преобладали пациенты в возрасте от 31 до 40 лет.

У 83 из 102 (81,4%) обследованных пациентов отмечался по крайней мере один ранний признак БФ. Наиболее частыми ранними классическими симптомами БФ являлись поражение периферической нервной системы (71/83 (85,5%), нарушенное потоотделение (37/83 (44,6%) и поражение кожи (24/83 (28,9%) (Рисунок 1).



**Рисунок 1 - Частота (%) ранних проявлений БФ среди мужчин (n=57) и женщин (n=26)**

Среди пациентов с поражением ПНС нейропатические боли имели приступообразный (71/43 (60,6%) или постоянный (71/28 (39,4%) характер. Постоянную нейропатическую боль достоверно чаще отмечали мужчины, чем женщины (Таблица 1). У 9 из 102 обследованных пациентов (8,8%) развивались болевые приступы – кризы Фабри. Продолжительность приступов была различной, от нескольких часов до нескольких суток. Поражение ПНС было самым частым ранним симптомом болезни и по данным зарубежных исследований (Норкин R.J., et al., 2008). Значительная выраженность боли обуславливала более частые обращения за медицинской помощью, и, в единичных случаях, способствовала более ранней постановке диагноза. У трети пациентов поражение ПНС было единственным ранним проявлением БФ длительное время (Таблица 1).

**Таблица 1 - Частота ранних симптомов у пациентов с БФ (n=102)**

Параметр	Мужчины (n=65)	Женщины (n=37)	Достоверность различий
Нейропатическая боль, n (%)	49 (75,4)	22 (59,5)	0,118
приступообразная	25 (38,5)	18 (48,6)	0,405
постоянная	24 (36,9)	4 (10,8)	0,005
болевые кризы Фабри	7 (10,8)	2 (5,4)	0,482
единственный ранний симптом БФ	15 (23,1)	14 (37,8)	0,170
Нарушение потоотделения, n (%)	43 (66,2)	12 (32,4)	0,002
гипогидроз	31 (47,7)	11 (29,7)	0,096
ангидроз	12 (18,4)	1 (2,7)	0,029
единственный ранний симптом БФ	1 (1,5)	1 (2,7)	1,0
Ангиокератомы, n (%)	38 (58,5)	6 (16,2)	<0,0001
распространенные	24 (36,9)	3 (8,1)	0,001
локальные	14 (21,5)	3 (8,1)	0,101
единственный ранний симптом БФ	1 (1,5)	1 (2,7)	1,0
Поражение органа зрения, n (%)	31/47 (66,0)	24/35 (68,6)	1,0
вихревидная кератопатия	28/47 (59,6)	24/35 (68,6)	0,489
катаракта Фабри	9/47 (19,1)	1/35 (2,9)	0,038
единственный ранний симптом БФ	0	4/35 (11,4)	0,016
Желудочно-кишечные нарушения, n (%)	7 (10,8)	1 (2,7)	0,253
Артралгии, n (%)	2 (3,1)	0	0,533
Лимфедема, n (%)	5 (7,7)	0	0,156
Лихорадка, n (%)	5 (7,7)	2 (5,4)	1,0

Нарушение потоотделения, в том числе гипогидроз, и крайняя его степень ангидроз, зафиксировано у 55 из 102 больных (53,9%), достоверно чаще у мужчин, чем у женщин (Таблица 1). Следует отметить, что снижение или отсутствие потоотделения часто не фиксировалось пациентами и выяснялось только при прицельном опросе. Однако пациенты

часто жаловались на плохую переносимость жары, душных помещений, инсоляции, физической нагрузки, чему способствует гипогидроз.

До постановки диагноза БФ наличие мелкоточечной сыпи в дебюте болезни отмечали 24 (23,5%) из 102 пациентов, значительно чаще мужчины (24/65 (36,8%), чем женщины (4/37 (10,8%);  $p=0,02$ ). Среди неправильных диагнозов, установленных на основании наличия мелкоточечной сыпи, были системные васкулиты ( $n=6$ ), болезнь Рандю-Ослера ( $n=5$ ), системная красная волчанка ( $n=4$ ). Однако при обследовании в клинике наличие ангиокератом зафиксировано у 44 (43,1%) из 102 больных, в том числе распространенные у 27 (26,5%), а локальные у 17 (16,7%) пациентов, также достоверно чаще ангиокератомы отмечались у мужчин (38/65 (58,8%) против 6/37 (16,2%);  $p<0,0001$ ) (Таблица 1).

Более высокая частота пациентов с ангиокератомами по результатам обследования в клинике связана с тем, что больные и/или врачи не всегда обращали внимание на наличие сыпи, например, при локализации в области пупка или ягодичной, паховой, поясничной областях, слизистой ротовой полости, при малом количестве элементов и/или мелких высыпаниях (Рисунок 2). У обследованных пациентов сыпь не сопровождалась зудом, жжением, имела медленно прогрессирующий характер с нарастанием количества элементов сыпи в течение нескольких лет и десятилетий. Пациенты не всегда могли ответить на вопрос о сроках появления высыпаний. Поэтому важным этапом диагностики является полный визуальный осмотр кожных покровов. В случаях не ясного диагноза заподозрить БФ может помочь биопсия кожи.



**Рисунок 2 - Ангиокератомы, расположенные по краю красной каймы губ и ангиокератомы на боковой поверхности туловища**

При поступлении в клинику офтальмологом было осмотрено 82 из 102 пациентов с БФ (47 мужчин и 35 женщин; медиана возраста 39,0 (30,0; 50,0) лет). Поражение органа зрения

выявлено у 55 (67,1%) из 82 пациентов, с одинаковой частотой у мужчин и у женщин (Таблица 1). Вихревидная кератопатия обнаружена у 52 (63,4%), катаракта Фабри – у 10 (12,2%) пациентов, аналогичные данные по частоте выявления глазных симптомов были представлены в зарубежных исследованиях (Van der Tol., et al, 2016). У всех пациентов были исключены другие возможные причины данных изменений (длительный прием амиодарона и производных хлорохина). Специфическое поражение органа зрения было единственным специфическим признаком БФ у 4 (4,9%) пациентов (Таблица 1).

Также к ранним, но менее специфичным симптомам можно отнести поражение ЖКТ (диарея, боли в животе различной локализации, тошнота, эпизоды рвоты), что отмечалось у 8 (7,8%) из 102 наших пациентов с БФ. Только у одной женщины поражение ЖКТ было единственным симптомом БФ. Наши данные по частоте гастроинтестинальных проявлений болезни значительно ниже по сравнению с данными литературы (Hoffmann V., et al, 2007). Это, возможно, обусловлено тем, что в наше исследование были включены только взрослые пациенты, и давность симптомов повлекла приспособление к своему самочувствию и низкое восприятие плохого состояния здоровья. Также, отсутствие прямого опроса о признаках поражения ЖКТ и сходство симптомов при БФ и при синдроме раздраженного кишечника приводит к игнорированию врачами и пациентами поражения ЖКТ как симптома болезни.

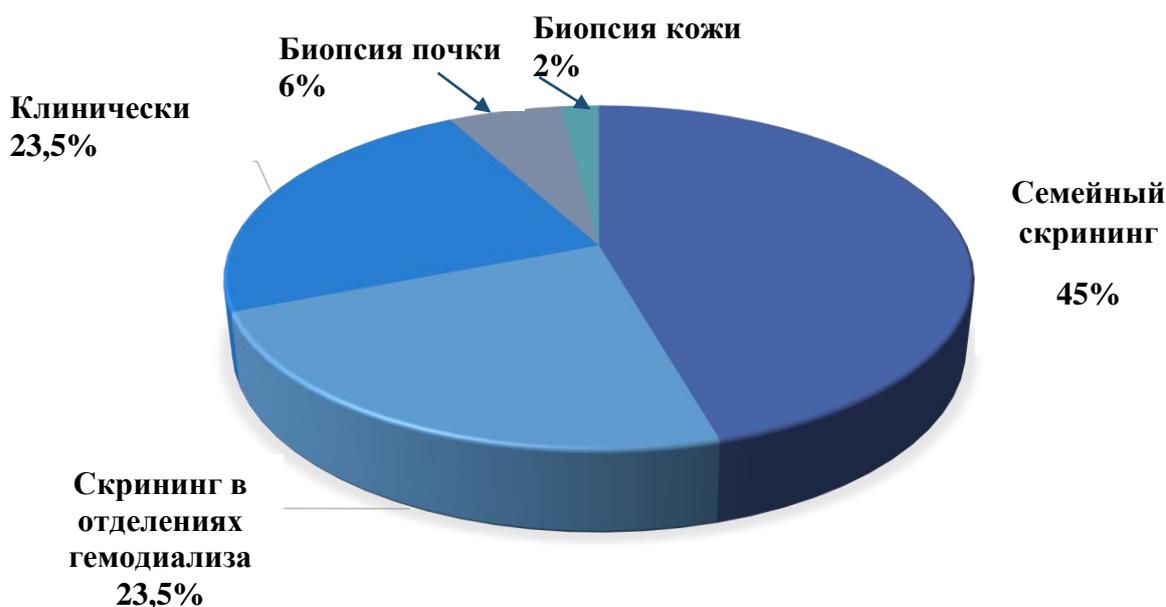
У 7 (6,9%) пациентов встречалась лихорадка, у 5 (4,9%) – отеки нижних конечностей (лимфедема), у 2 (2,0%) – упорные артралгии (Таблица 1). Лимфедема и артралгии отмечались в нашем исследовании только у мужчин. Однако малое количество больных не позволяет говорить о достоверных различиях между мужчинами и женщинами. Ни один из вышеперечисленных симптомов не позволил заподозрить БФ. Диагноз в данных случаях устанавливался при семейном скрининге или при появлении органных поражений значительно позднее дебюта болезни.

### **Клиническая диагностика БФ**

Среди 102 обследованных пациентов диагноз БФ был установлен с помощью семейного скрининга у 46 пациентов (45,1%), во время общенационального скрининга в российских отделениях гемодиализа – у 24 (23,5%) и еще у 24 (23,5%) диагноз заподозрен на основании клинических данных, у 6 (5,9%) – с помощью биопсии почки и у 2 (2,0%) – с помощью биопсии кожи (Рисунок 3).

Медиана возраста начала болезни у пациентов с классическим течением составляла 10 (7;15) лет и не различалась у мужчин и женщин ( $p=0,40$ ). Срок до постановки диагноза с момента появления ранних проявлений болезни составил 21 год (11;30), и также не различался

у мужчин и женщин ( $p=0,32$ ). Даже после появления органных повреждений (признаки поражения почек, сердца, ЦНС) срок до постановки диагноза среди обследованных нами пациентов с ранними симптомами составил 6 лет (2,5;12,5) и был сопоставим у мужчин и женщин ( $p=0,59$ ). Данные регистра FOS (Fabry Outcome Survey) показывают, что средняя диагностическая задержка составляет около 11 лет и для мужчин, и для женщин (Wilcox W.R. et al., 2008). По данным нашего исследования диагноз устанавливался в среднем еще на 10 лет позже.



**Рисунок 3 - Методы постановки диагноза (n=102)**

Оценивалась группа из 24 пациентов (23,5%), у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных (Таблица 2), среди них преобладали мужчины (21/65 (32,3%) и 3/37 (8,1%), соответственно,  $p=0,003$ )

**Таблица 2 - Частота ранних проявлений БФ у пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных, и у пациентов, которым диагноз был поставлен при скрининге или биопсии**

Параметр	Пациенты, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных n=24	Пациенты, которым диагноз был поставлен при скрининге или биопсии n=78	Достоверность различий
Поражение ПНС	23 (95,8)	56 (71,8)	<b>0,012</b>
Гипогидроз	15 (62,5)	40 (51,3)	0,360
Ангиокератомы	19 (79,2)	25 (32,1)	<b>&lt;0,0001</b>
3 признака	6 (25,0)	5 (6,4)	<b>0,019</b>
2 признака	10 (41,7)	22 (28,2)	0,221

Также из 24 пациентов, которым диагноз был поставлен на основании клинических данных, была выделена и проанализирована группа пациентов, которым диагноз был поставлен до развития органических повреждений. Данная группа пациентов является важной моделью своевременной диагностики, в нее вошли 11 пациентов, 10 мужчин и 1 женщина ( $p=0.16$ ), что составило 13,3% всех пациентов с ранними симптомами болезни (Таблица 3).

На основании полученных данных нами сделано заключение, что к факторам ранней диагностики БФ на основании клинических симптомов относятся мужской пол и наличие одного из ранних признаков, таких как поражение периферической нервной системы и ангиокератомы; при диагностике до развития органических повреждений - только ангиокератомы. Сочетание трех классических признаков БФ (поражение ПНС, гипо/ангидроз и ангиокератомы) также увеличивает вероятность ранней постановки диагноза.

**Таблица 3 - Частота ранних проявлений БФ у пациентов, которым диагноз был поставлен до развития органических поражений, и у остальных пациентов с ранними симптомами БФ**

Частота ранних проявлений	Пациенты, которым диагноз был поставлен до развития органических поражений n=11	Остальные пациенты с ранними симптомами БФ n=72	Достоверность различий
Поражение ПНС	11 (100)	61 (84,7)	0,345
Гипогидроз	7 (63,6)	44 (61,1)	1,0
Ангиокератомы	10 (90,9)	34 (47,2)	<b>0,008</b>
3 признака	2 (18,2%)	9 (12,5)	0,635
2 признака	6 (54,5%)	26 (36,1)	0,322

### **Роль семейного скрининга в ранней диагностике БФ**

В исследование включено 56 пробандов, остальные 46 пациентов были выявлены с помощью семейного скрининга, что составляет 45%, т.е. почти половину больных.

Роль семейного скрининга была еще более высока при выявлении пациентов без ранних симптомов болезни. Среди наших 102 пациентов ранние проявления болезни отсутствовали у 19 больных (8 мужчин и 11 женщин), в данной группе диагноз с помощью семейного скрининга был установлен в 63% случаев. Следует отметить, что многие из них наблюдались у нефрологов, 2 – у кардиологов, а у половины пациентов с поздним дебютом болезни вовлечение органов-мишеней было выявлено только после постановки диагноза методом семейного скрининга и специфические жалобы, связанные с поражением сердца, почек или ЦНС, отсутствовали.

Всего было оценено 408 родственников пробандов от 1 до 4 поколений на одну семью (Таблица 4). Число родственников на одну семью, которые могут наследовать мутантный ген, варьировало от 1 до 20 (среднее значение составило 7,3). Более 60% родственников были обследованы на наличие БФ (определение активности  $\alpha$ -галактозидазы А, генетическое тестирование и определение уровня lyso-GI3).

Самой частой причиной отсутствия обследования родственников явились плохие внутрисемейные связи и отсутствие общения, что часто было связано с географическим фактором (122/146 (83,6%). Только 13% родственников отказались от предложенного генетического тестирования. Диагноз БФ был подтвержден у 123 (46,9%) обследованных родственников пробандов (38 мужчин и 85 женщин).

**Таблица 4 - Анализ родословных 56 пробандов**

Параметры	Значения
Общее количество родственников	408
Среднее количество родственников на семью, Me $\pm$ SD	7.3 $\pm$ 0.6
Количество обследованных родственников, n (%)	262 (64,2)
Отсутствуют данные обследования, n (%)	146 (35,8)
Плохие внутрисемейные связи, n (%)	122 (83,6)
Отказ от генетического тестирования, n (%)	19 (13,0)
Результат в работе	5
Поставлен диагноз БФ, n (%)	123 (46,9)
Мужчины	38
Женщины	85
Дети <18 лет, n (%)	24 (19,5)
Наличие симптомов болезни, n (%)	73 (59,3)
Среднее количество больных родственников на пробанда	2.2 $\pm$ 0.3

Наше исследование показало, что анализ родословной позволяет диагностировать БФ почти у половины членов семьи, потенциально несущих мутантный ген, или в среднем у двух родственников каждого пробанда. Среднее число пострадавших родственников в нашем исследовании было ниже, чем в проведенном ранее американском исследовании (Laney D.A. et al., 2008). Однако эффективность семейного скрининга была значительно выше, чем любого другого протокола скрининга, например, у пациентов, получающих лечение гемодиализом (Kotanko P. et al., 2004), с криптогенным инфарктом головного мозга (Wozniak M.A. et al., 2010) или необъяснимой гипертрофией левого желудочка (Monserat L. et al., 2007), которые связаны с большими затратами и имеют низкую диагностическую ценность (менее 1%). Таким образом, тестирование семьи пациентов с БФ улучшает экономическую эффективность протокола

скрининга. Важно отметить, что из выявленных с помощью семейного скрининга родственников с БФ 19,5% были детьми или подростками в возрасте до 18 лет, а 40%- не имели клинических симптомов болезни.

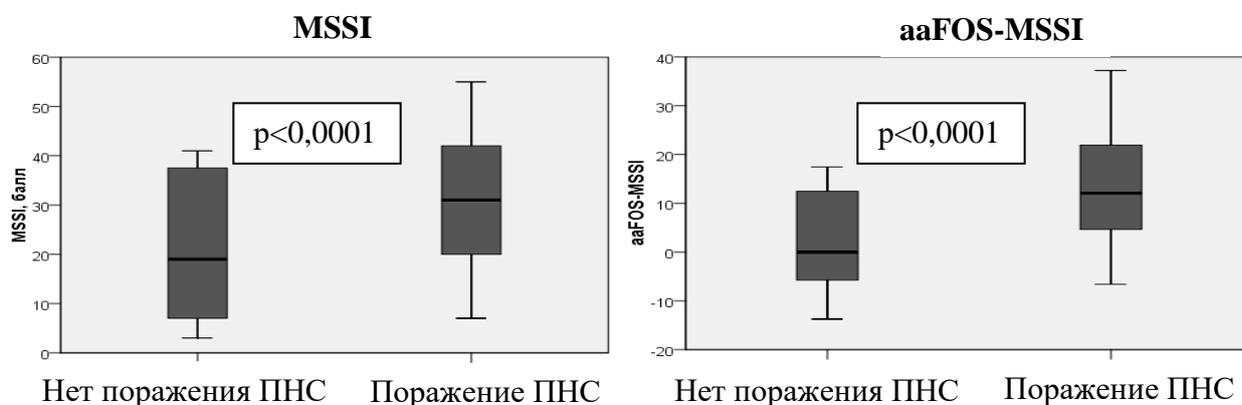
### **Взаимосвязь ранних клинических проявлений БФ с общей тяжестью течения заболевания**

В исследовании пациентов, включенных в регистр FOS зафиксирована связь наличия кожного поражения с большей тяжестью органных проявлений заболевания (Orteu C.H. et al., 2007). В данном исследовании в кожные проявления болезни были включены ангиокератомы, гипо- или ангидроз, как поражение придатков кожи, а также лимфедема как проявления поражения мелких лимфатических сосудов подкожно-жировой клетчатки. По данным регистра FOS офтальмологические признаки БФ также коррелировали с тяжестью заболевания (Schiffmann R. et al., 2017).

В нашем исследовании мы постарались оценить роль каждого из ранних проявлений болезни как фактора более тяжелого прогноза.

#### ***Нейропатическая боль***

Пациенты с поражением ПНС и пациенты без поражения ПНС были сопоставимы по полу и возрасту. Мы не выявили различий в частоте органных поражений в данных группах пациентов. Медиана MSSSI у пациентов с поражением ПНС (31,0 (20,5; 43,5) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без поражения ПНС (18,5 (6,7; 37,5) баллов,  $p < 0,0001$ ). У пациентов с поражением ПНС медиана aaFOS-MSSI также была выше (12,2 (5,3; 21,9) баллов), чем у пациентов без них (-0,9 (-5,7; 11,6) баллов;  $p < 0,0001$ ; Рисунок 4). Кроме того, в группе пациентов с поражением ПНС достоверно реже наблюдали легкое течение БФ ( $MSSI < 20$ ).



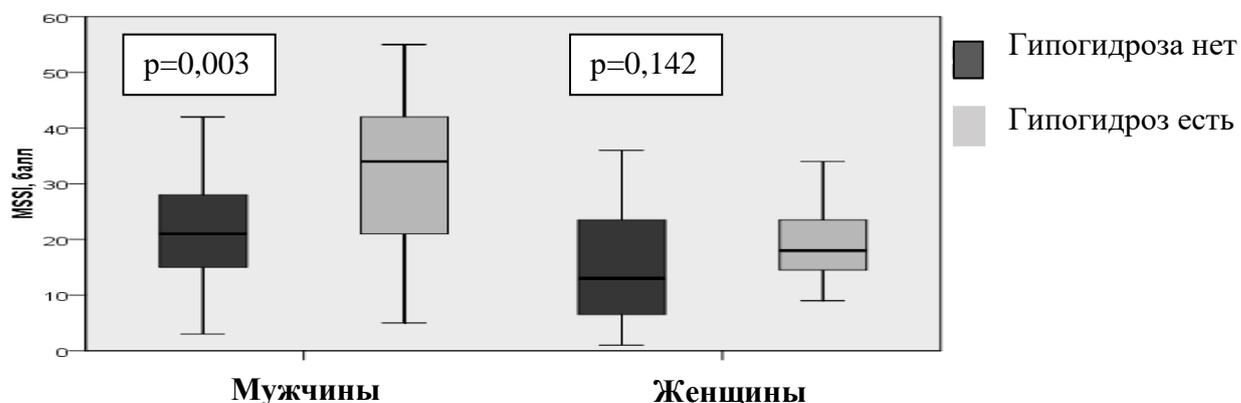
**Рисунок 4 - Значения индекса MSSSI и aaFOS-MSSI у пациентов с поражением ПНС и без поражения ПНС**

### ***Нарушение потоотделения***

Пациенты с гипогидрозом и пациенты без гипогидроза были сопоставимы по возрасту. Однако в группе пациентов с нарушенным потоотделением преобладали мужчины, чем можно объяснить более высокую частоту тХПН и летальности в данной группе. Мы не выявили различий в частоте других органных поражений в данных группах пациентов. Однако в группе пациентов с нарушением потоотделения тяжелое течение болезни (MSSI>40) наблюдалось достоверно чаще, чем в группе пациентов без гипогидроза.

Медиана MSSI у пациентов с нарушением потоотделения (31,5 (18,0; 42,0) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без нарушения потоотделения (16,5 (9,0; 26,3) баллов,  $p<0,0001$ ). У пациентов с нарушением потоотделения медиана aaFOS-MSSI также была выше (11,9 (3,2; 20,6) баллов), чем у пациентов без нарушения потоотделения (3,7 (-4,3; 9,2) баллов;  $p<0,0001$ ). Можно предположить, что более тяжелое течение БФ у пациентов с гипогидрозом обусловлено преобладанием в данной группе пациентов мужского пола с тХПН.

Однако при раздельном анализе медиана MSSI также была достоверно выше у мужчин с гипогидрозом – 34 (20; 42) балла, чем у мужчин без гипогидроза – 21 (14; 30) баллов ( $p=0,003$ ). Среди женщин различий выявлено не было ( $p=0,142$ ; Рисунок 5).

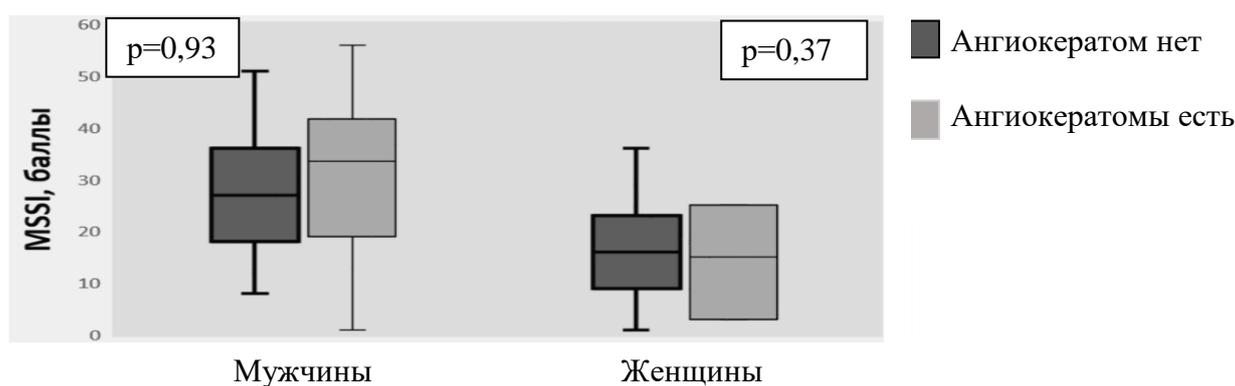


**Рисунок 5 - Значения индекса MSSI у мужчин и женщин в зависимости от нарушения потоотделения**

### ***Ангиокератомы***

Пациенты с ангиокератомами и пациенты без ангиокератом были сопоставимы по возрасту. Ангиокератомы чаще встречались у мужчин, кроме того, в группе с ангиокератомами чаще выявляли пациентов с явной протеинурией. Различий в частоте других органных поражений в данных группах пациентов мы не выявили.

Медиана MSSI у пациентов с ангиокератомами (27,5 (17,8; 38,2) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без них (19,5 (10,0 ; 34,0) баллов,  $p=0,033$ ). У пациентов с ангиокератомами медиана aaFOS-MSSI также была выше 11,2 (2,7; 20,1) баллов), чем у пациентов без них (8,5 (-1,6; 15,1) баллов), однако разница была статистически незначимой ( $p=0,081$ ). При раздельном анализе по полу медиана MSSI не различалась в группе мужчин ( $p=0,934$ ) и женщин ( $p=0,379$ ) с ангиокератомами и без них (Рисунок 6).

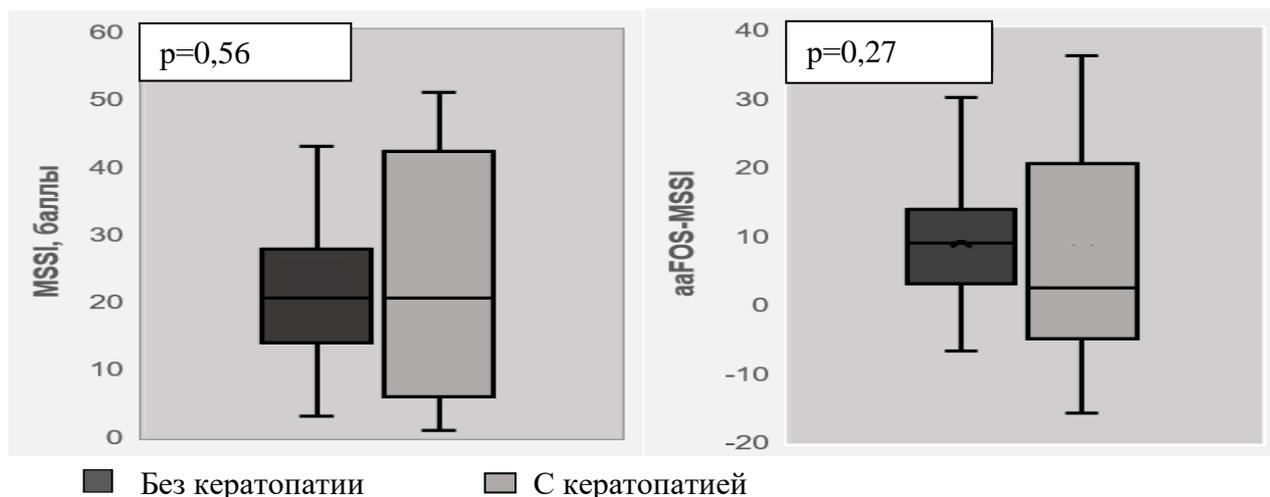


**Рисунок 6 - Значения индекса MSSI у пациентов с ангиокератомами и без них при раздельном по полу анализе**

### *Вихревидная кератопатия*

Дальнейший анализ проводился среди пациентов, обследованных офтальмологом на наличие вихревидной кератопатии- наиболее частое проявление поражения органа зрения ( $n=82$ ). Пациенты с кератопатией и пациенты без кератопатии были сопоставимы по полу и возрасту. Мы не выявили различий в частоте классических симптомов БФ, а также частоте органических поражений в данных группах пациентов.

Медианы индекса тяжести MSSI были сопоставимы у пациентов с кератопатией (21 (15; 32) баллов) и без кератопатии (20 (6; 42) баллов;  $p=0,56$ ). У пациентов вихревидной кератопатией медиана aaFOS-MSSI была в четыре раза выше, чем у пациентов без вихревой кератопатии (8,9 (3,2; 14,1) и 1,3 (-5,5; 20,1), соответственно), однако разница была статистически незначимой ( $p=0,271$ ; Рисунок 7).



**Рисунок 7 - Значения индекса MSSI у пациентов с кератопатией и без нее**

### **Значение определения концентрации субстрата накопления lyso-GI3 для диагностики БФ**

Диагностика БФ у мужчин базируется на определении активности  $\alpha$ -галактозидазы А в лейкоцитах периферической крови или плазме (Andrade J. et al., 2008, Desnick R.J. et al., 2014).

В нашем исследовании уровень  $\alpha$ -галактозидазы А был известен у 56 мужчин. В 100% случаев определялось снижение уровня активности фермента. Активность фермента отсутствовала, т.е. была ниже 5% от нормы, у 11 пациентов (19,6%).

У женщин активность  $\alpha$ -галактозидазы А была определена у 28 пациенток. У 17 из них были зафиксированы нормальные уровни активности фермента, что составляет 60,7%, что соответствует данным литературы (Gupta S. et al., 2005). Отсутствие активности фермента не было зафиксировано ни у одной женщины. Таким образом, мы подтвердили низкую эффективность скрининга на основании определения активности  $\alpha$ -галактозидазы А среди женщин.

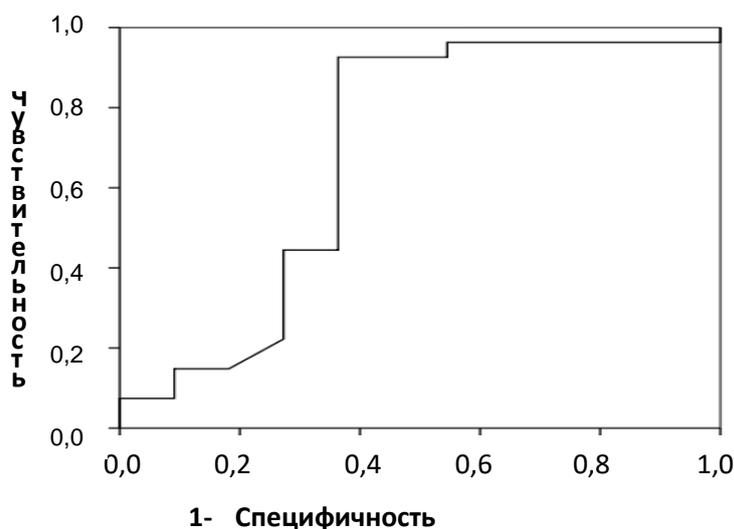
Среди обследованных нами пациентов концентрация lyso-GI3 в сухих пятнах крови или плазме была определена у 70 пациентов (38 мужчин и 32 женщин). У мужчин медиана уровня lyso-GI3 была достоверно выше (84,4 (27,45; 116,25) нг/мл), чем у женщин (7,2 (4,7; 9,34) нг/мл,  $p < 0,0001$ ). Концентрация lyso-GI3 прямо коррелировала с индексом тяжести (MSSI) и индексом aaFOS-MSSI, который учитывает возраст и пол пациента. Выявленная взаимосвязь была статистически значимой для женщин, а вот для мужчин данная корреляция оказалась не значимой (Таблица 5).

**Таблица 5 - Корреляции индексов тяжести БФ с уровнем lyso-G13**

Показатели	MSSI, балл	aaFOS-MSSI, балл
Все пациенты (n=69) lyso-G13, нг/мл	$r_s=0,559$ <b><math>p&lt;0,0001</math></b>	$r_s=0,559$ <b><math>p&lt;0,0001</math></b>
Мужчины (n=37) lyso-G13, нг/мл	$r_s=0,140$ $p=0,410$	$r_s=0,131$ $p=0,433$
Женщины (n=32) lyso-G13, нг/мл	$r_s=0,554$ <b><math>p=0,001</math></b>	$r_s=0,406$ <b><math>p=0,019</math></b>

По данным литературы уровень lyso-G13 выше 45 нг/мл предсказывает диагноз классической формы БФ у мужчин (Maruyama H. et al., 2019), а более низкие уровни lyso-G13 ассоциированы с поздним дебютом болезни (Togawa T. et al., 2010), поэтому дальнейший анализ мы проводили среди пациентов с концентрацией lyso-G13 менее 45 нг/мл.

Для оценки прогностической значимости уровня lyso-G13 при классическом фенотипе БФ была построена ROC-кривая (Рисунок 8).



**Рисунок 8 - Прогностическая значимость уровня lyso-G13 для классического фенотипа БФ**

Площадь под кривой равна 0,684, 95% доверительный интервал - 0,455-0,912. В качестве порогового значения была выбрана концентрация lyso-G13 26.3нг/мл. Данному пороговому значению соответствует чувствительность 92,6%, специфичность-63,6%.

У 12 из 38 обследованных мужчин значение lyso-G13 было ниже 45нг/мл. Среди них у троих пациентов в возрасте 30, 31 и 35 лет отмечалось классическое течение БФ с наличием 3-х ранних признаков болезни и развитием органических повреждений после 20 лет. При этом уровни lyso-G13 были 28,6; 29,2 и 35,4 нг/мл, соответственно. Таким образом, по данным нашего исследования при классической форме БФ концентрация lyso-G13 была  $\geq 28,6$  нг/мл, что близко

к пороговому значению, выбранного нами на основании анализа ROC-кривой и значимо ниже, чем по данным литературы.

## ВЫВОДЫ

1. При классическом течении БФ наиболее частым (85,5%) ранним симптомом является поражение периферической нервной системы; нарушенное потоотделение и поражение кожи в дебюте болезни отмечается в 45% и 28,9% случаях и значимо чаще встречается у мужчин ( $p < 0,05$ ).
2. Дебют классических проявлений БФ относится к возрасту 10 (7; 15) лет; при этом задержка в установлении диагноза с момента ранних проявлений болезни составляет 21 (11; 30) год, а с момента появления органических повреждений - 6 (2,5; 12,5) лет.
3. Семейный скрининг – наиболее частый метод диагностики БФ в российской популяции, по результатам которого выявляемость пациентов на ранних стадиях БФ составляет 45%, в том числе пациентов в возрасте до 18 лет (19,5%) и бессимптомных пациентов (40%). Основным препятствием, затрудняющим проведение семейного скрининга, является географическое разобщение семей, в 83,6% случаев, и только в 13% случаев - отказ от генетического тестирования по разным причинам.
4. К факторам ранней диагностики БФ на основании клинических данных относятся мужской пол и наличие одного из классических признаков, среди которых наиболее значимы поражение периферической нервной системы и ангиокератомы; при диагностике до развития органических повреждений - только ангиокератомы. Также диагностическую ценность имеет наличие триады признаков (поражение ПНС, гипо/ангидроз и ангиокератомы).
5. Поражение ПНС ассоциируется с более тяжелым течением БФ: значение индексов MSS1 и aaFOS-MSS1 у пациентов с поражением ПНС выше, чем у пациентов без поражения ПНС (31 балла против 18,5 баллов и 12,2 балла против -0,9 баллов,  $p < 0,0001$ ); гипогидроз также ассоциируется с большей тяжестью БФ, но только среди мужчин: индекс MSS1 у мужчин с гипогидрозом выше, чем у мужчин с сохранным потоотделением (34 балла против 21 балла,  $p = 0,003$ ); связь других ранних симптомов с тяжестью течения БФ не выявляется.
6. У мужчин медиана уровня lyso-G13 достоверно выше, чем у женщин (84,4 против 7,2 нг/мл,  $p < 0,0001$ ), но у женщин уровень lyso-G13 имеет прогностическое значение, прямо коррелируя с величинами индексов тяжести (MSS1 ( $r_s = 0,554$ ;  $p = 0,001$ ) и aaFOS-MSS1 ( $r_s = 0,406$ ;  $p = 0,019$ )). У мужчин повышение концентрации lyso-G13 выше 26,3 нг/мл определяет высокую вероятность формирования классического фенотипа БФ (чувствительность 92,6%, специфичность - 63,6%).

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Необходимо обращать внимание на классические проявления БФ, такие как нейропатическая боль, кожные изменения, сниженное потоотделение, в том числе у пациентов с протеинурией неуточненного генеза, криптогенным инфарктом головного мозга или необъяснимой гипертрофией левого желудочка для своевременной постановки диагноза и улучшения прогноза.

2. Пациентам с подозрением на БФ необходимо проводить прежде всего биохимическое исследование: определение уровня lyso-GI3 в плазме крови, а при получении превышающих норму результатов, энзимологическое и молекулярно-генетическое исследования. При подтверждении диагноза показано комплексное обследование для выявления поражения органов-мишеней (Приложение А).

3. Показано тестирование на БФ всех родственников пробанда, которые входят в группу риска с учетом X-сцепленного типа наследования, включая мужчин и женщин. Оправдано подробное изучение родословной пациента с установленным диагнозом БФ для ранней диагностики болезни, в том числе у детей и подростков, а также бессимптомных пациентов.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в России выявлено около 300 пациентов с БФ, а предполагаемая распространенность этого заболевания среди населения в целом должна составлять примерно 1 на 50-100 000 человек, то есть минимум в десять раз выше.

В данной работе проведен анализ историй болезни 102 взрослых пациентов с установленным диагнозом БФ. Поражение периферической нервной системы, нарушенное потоотделение и ангиокератомы выделены автором как наиболее частые и специфичные ранние проявления болезни, поражение периферической нервной системы и ангиокератомы - важными для своевременной диагностики болезни.

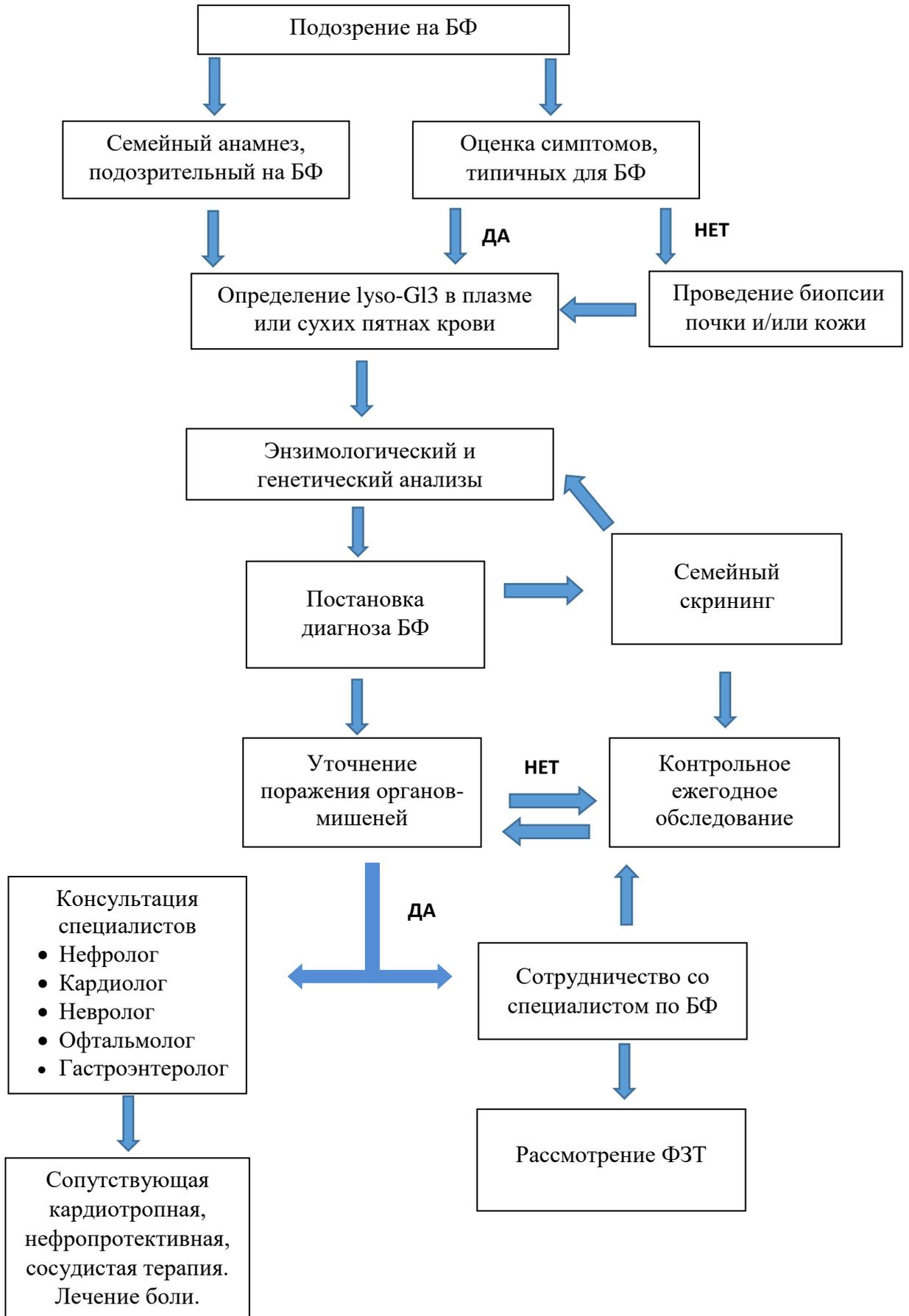
Несмотря на наличие типичных клинических проявлений заболевания, у большинства пациентов диагноз устанавливали спустя много лет после появления первых симптомов, чаще всего путем скрининга в отделениях гемодиализа или семейного скрининга. У половины пробандов в нашем исследовании диагноз БФ был поставлен на стадии диализзависимой ХПН, из них более 70 % имели в анамнезе ранние симптомы болезни, знание которых имеет определяющее значение для своевременной постановки диагноза БФ. Необходимо повышение информированности врачей разных специальностей, в том числе педиатров, нефрологов, кардиологов, неврологов, офтальмологов о БФ с целью более ранней ее диагностики и

своевременного назначения ФЗТ для предотвращения развития необратимых последствий заболевания.

#### СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Носова Н.Р.** Вихревидная кератопатия (cornea verticillata) при болезни Фабри / Моисеев, С. В., Исмаилова, Д. С., Моисеев А. С., Буланов Н. М., Каровайкина Е. А., Носова Н. Р., Фомин В. В. // **Терапевтический архив.** 2018г. Т. 90, №12. С. 17-22. [Scopus].
2. **Носова Н.Р.** Магнитно-резонансная томография в диагностике поражения сердца при болезни Фабри / С.В. Моисеев, Е.А. Мершина, В.Е. Синицын, П.И. Новиков, А.С. Моисеев, Н.В. Никифорова, Н.Р. Носова, В.В. Фоми // **Клиническая фармакология и терапия.** 2017. № 3. С. 13-20
3. **Носова Н.Р.** Распространенность и основные проявления поражения почек у пациентов с болезнью Фабри / Е.А. Каровайкина, С.В. Моисеев, Н.М. Буланов, А.С. Моисеев, Н.Р. Носова, В.В. Фомин // **Клиническая фармакология и терапия.** 2018. № 4. С. 46-52.
4. **Носова Н.Р.** Скрининг, диагностика и лечение болезни Фабри / Е.А. Каровайкина, А.С. Моисеев, Н.М. Буланов, Н.Р. Носова, А.М. Кучиева, П.И. Новиков, С.В. Моисеев // **Клиническая фармакология и терапия.** 2019. № 3. С.58-66.
5. **Носова Н.Р.** Гипертрофия левого желудочка неясной этиологии / Моисеев С.В., Привалова Е.В., Рамеев В.В., Каплунова В.Ю., Каровайкина Е.А., Рамеева А.С., Моисеев А.С., Тао П.П., Носова Н.Р. // **Клиническая фармакология и терапия.** 2019. №2. С.77-83.
6. **Носова Н.Р.** Эффективность семейного скрининга при болезни Фабри в Российской популяции / Е.А. Тао, А.С. Моисеев, П.И. Новиков, Н.М. Буланов, Н.Р. Носова, С.В. Моисеев // **Клиническая фармакология и терапия.** 2020. №2. С.34-39.

### Приложение А. Алгоритм диагностики и ведения пациента с БФ



## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

БФ- болезнь Фабри.

ДИ- доверительный интервал

ЖКТ- желудочно-кишечный тракт

МРТ – магнитно-резонансная томография

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

ОНМК- острое нарушение мозгового кровообращения

ПНС- периферическая нервная система

рСКФ – скорость клубочковой фильтрации, рассчитанная с помощью формулы СКД- EPI

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ТИА- транзиторная ишемическая атака

тХПН – терминальная стадия хронической почечной недостаточности

ФЗТ – ферментозаместительная терапия

ХБП – хроническая болезнь почек

ХПН – хроническая почечная недостаточность

ЦНС- центральная нервная система

ЭХО-КГ- эхокардиография

aaFOS MSSl- индекс тяжести болезни с учетом пола и возраста

GLA – ген галактозидазы А

FOS- Fabry Outcome Survey- это крупный глобальный многоцентровый регистр наблюдений, спонсируемый Shire, для пациентов с болезнью Фабри.

Lyso-Gl3- лизо-глоботриаозилсфингозин

MSSl- Mainz Severiti Score Index, индекс тяжести болезни Фабри