



Оригинальная статья

# Аутоантитела к 21-гидроксилазе как диагностический маркер первичной надпочечниковой недостаточности аутоиммунного генеза, в том числе на потенциальной и латентной стадиях

Нуралиева Н.Ф.<sup>1</sup> • Юкина М.Ю.<sup>1</sup> • Трошина Е.А.<sup>1</sup> • Малышева Н.М.<sup>1</sup> • Никанкина Л.В.<sup>1</sup>

**Нуралиева Нурана Фейзуллаевна** – науч. сотр., отдел терапевтической эндокринологии<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6876-3336>  
✉ 117036, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, 11, Российская Федерация.  
Тел.: +7 (495) 668 20 73.  
E-mail: [nnurana@yandex.ru](mailto:nnurana@yandex.ru)

**Юкина Марина Юрьевна** – канд. мед. наук, вед. науч. сотр., отдел терапевтической эндокринологии<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8771-8300>

**Трошина Екатерина Анатольевна** – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАН, заведующая отделом терапевтической эндокринологии<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8520-8702>

**Малышева Наталья Михайловна** – канд. биол. наук, вед. науч. сотр., клиничко-диагностическая лаборатория<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7321-9052>

**Никанкина Лариса Вячеславовна** – канд. мед. наук, исполняющая обязанности заведующей клиничко-диагностической лабораторией<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3199-4998>

**Актуальность.** В России исследование антител (АТ) к Р450с21 в диагностике аутоиммунной надпочечниковой недостаточности (АНН) не получило широкого распространения, скрининг заболевания не внедрен.

**Цели:** 1) определить чувствительность и специфичность исследования АТ к Р450с21 в диагностике АНН; 2) определить распространенность носительства АТ к Р450с21 у пациентов без АНН.

**Материал и методы.** АТ к Р450с21 исследованы у 40 пациентов с манифестной стадией АНН (группа 1); у 171 пациента без установленного диагноза АНН, включая 113 пациентов с аутоиммунными заболеваниями (АИЗ) щитовидной железы и/или сахарным диабетом 1-го типа (группа 2), 25 пациентов-носителей АТ-маркеров АИЗ щитовидной железы и/или сахарного диабета 1-го типа без нарушения функции органа-мишени (группа 3) и 33 пациента с неаутоиммунной эндокринной патологией (группа 4); у 25 условно здоровых индивидуумов (группа 5).

**Результаты.** Чувствительность метода определения АТ к Р450с21 в диагностике АНН составила 95%, специфичность – 100%, прогностическая ценность положительного результата – 100%, прогностическая ценность отрицательного результата – 92,6%. При анализе зависимости уровня АТ к Р450с21 от длительности приема препаратов глюкокортикоидов получена отрицательная корреляция:  $r = -0,222$ ,  $p < 0,05$ . Повышенный уровень АТ к Р450с21 выявлен у 4 (3,5%) пациентов группы 2; по результатам дополнительного гормонального исследования в 50% случаев диагностирована латентная стадия заболевания, и в 50% – потенциальная.

**Обсуждение.** Чувствительность метода определения АТ к Р450с21 в диагностике АНН в нашем исследовании выше, чем у других авторов. Мы подтвердили уменьшение уровня АТ к Р450с21 со временем, при этом сила корреляционной связи увеличивалась в подгруппах с аутоиммунным полигландулярным синдромом 2-го типа и, в большей степени,

с аутоиммунным полигландулярным синдромом 1-го типа (возможно, это обусловлено разным патогенезом: нарушение центральной иммунной толерантности при аутоиммунном полигландулярном синдроме 1-го типа и периферической – при аутоиммунном полигландулярном синдроме 2-го типа). По нашим данным, в 50% случаев развитию АНН предшествовала манифестация прочих АИЗ (в 15% – множественных); среди всех пациентов без диагностированной АНН на момент включения в исследование повышение уровня АТ к Р450с21 выявлено именно в группе больных с АИЗ. Таким образом, наши данные подтвердили целесообразность проведения скрининга АНН в первую очередь именно в когорте больных с другими АИЗ (особенно с множественными), которые относятся к группам риска.

**Заключение.** Анализ крови на АТ к Р450с21 – высокочувствительный и высокоспецифичный метод диагностики АНН. Предполагается, что частота выявления АТ к Р450с21 зависит от длительности приема препаратов глюкокортикоидов. Скрининг ранних стадий АНН целесообразно проводить в первую очередь в группах риска с множественной аутоиммунной патологией.

**Ключевые слова:** аутоиммунная надпочечниковая недостаточность, антитела к Р450с21, диагностика гипокортицизма, потенциальная стадия, латентная стадия, манифестная стадия

**Для цитирования:** Нуралиева НФ, Юкина МЮ, Трошина ЕА, Малышева НМ, Никанкина ЛВ. Аутоантитела к 21-гидроксилазе как диагностический маркер первичной надпочечниковой недостаточности аутоиммунного генеза, в том числе на потенциальной и латентной стадиях. Альманах клинической медицины. 2020;48(7):445–58. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-023.

Поступила 24.03.2020; доработана 22.04.2020; принята к публикации 29.04.2020; опубликована онлайн 27.05.2020

<sup>1</sup> ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России; 117036, г. Москва, ул. Дм. Ульянова, 11, Российская Федерация



**П**ервичная надпочечниковая недостаточность определяется неспособностью коры надпочечников произвести достаточное количество глюко- и минералокортикоидов и относится к тяжелым жизнеугрожающим заболеваниям вследствие исключительной роли этих гормонов в обеспечении жизнедеятельности организма, а также в энергетическом и водно-солевом гомеостазе [1]. Распространенность первичной надпочечниковой недостаточности составляет приблизительно 100–140 случаев на 1 млн населения, а заболеваемость – 4:1 000 000 в год. Основной причиной первичной надпочечниковой недостаточности (до 90% и более) выступает аутоиммунная деструкция коры надпочечников – аутоиммунная надпочечниковая недостаточность (АНН, аутоиммунный адреналит). Различают изолированную АНН и (при сочетании с аутоиммунным поражением одной и более периферической эндокринной железы и различными органоспецифическими неэндокринными заболеваниями аутоиммунного генеза) АНН в рамках аутоиммунных полигландулярных синдромов (АПС) 1-го и 2-го типов: АПС-1 и АПС-2 соответственно [2].

Согласно зарубежным данным, высокочувствительным и высокоспецифичным методом диагностики АНН, позволяющим дифференцировать ее от других форм первичной надпочечниковой недостаточности, является определение в крови уровня аутоантител (АТ) к внутриклеточному ферменту стероидогенеза 21-гидроксилазе (P450c21), который экспрессируется исключительно в адреналокортикальных клетках [3–5]. АТ к P450c21 продуцируются В-лимфоцитами [6] и относятся к подтипу IgG1 [7]. Предполагается,

что деструкция клеток коры надпочечников опосредована клеточным иммунным ответом, в то время как АТ к P450c21 могут модулировать процесс презентации антигена (P450c21) Т-лимфоцитам [7]. Кроме того, в исследовании С.Р. Mavragani и соавт. (2012) [8] выявлена строгая корреляция между титром АТ к P450c21 и экспрессией РНК ИФНа, ВАФФ и ИЛ-21 в ткани малой слюнной железы пациентов с синдромом Шегрена, у которых обнаружено носительство этих АТ. Как предположили авторы, данные цитокины, активирующие В-лимфоциты, могут способствовать развитию и аутоиммунного адреналита.

На частоту обнаружения АТ потенциально влияет длительность заболевания: на момент его манифестации они могут быть выявлены у 100% пациентов [3], тогда как через 35 лет – только у 60% [8]. Вместе с тем циркулирующие АТ к P450c21 могут отмечаться за несколько лет (и даже десятилетий [9]) до развития АНН [8]. С учетом вышесказанного, С. Betterle и соавт. еще в 2002 г. [3] предложили классификацию АНН, в соответствии с которой выделены три стадии заболевания:

- 1) потенциальная – формирование АТ к P450c21 у лиц с генетической предрасположенностью при воздействии триггерных факторов окружающей среды;
- 2) латентная, или субклиническая, – разрушение клеток клубочковой и затем пучковой зоны коры надпочечников; проявляется эпизодически возникающими симптомами легкой степени;
- 3) манифестная – с яркой клинической картиной и характерными лабораторными изменениями (табл. 1).

**Таблица 1.** Классификация аутоиммунной надпочечниковой недостаточности ([3], адаптировано авторами)

Стадия	АТ к P450c21	АКТГ	Кортизол базальный	Кортизол на фоне теста с тетракозактидом	Ренин (активность ренина плазмы)	Альдостерон	Клинические проявления
Потенциальная АНН	+	N	N	N	N	N	-
Латентная АНН							
подстадия 1	+	N	N	N	↑	N/↓	-
подстадия 2	+	N	N	↓	↑	N/↓	±
подстадия 3	+	N/↑	↓	↓	↑	N/↓	±
Манифестная АНН	+	↑↑	↓↓	↓	↑↑	N/↓	+

N – норма, АКТГ – адреналокортикотропный гормон, АНН – аутоиммунная надпочечниковая недостаточность, АТ – антитела



Поскольку АНН часто сочетается с другими аутоиммунными заболеваниями (АИЗ), в частности аутоиммунными эндокринопатиями: аутоиммунным тиреоидитом (АИТ), диффузным токсическим зобом (ДТЗ) и сахарным диабетом 1-го типа (СД1), проведение скрининга целесообразно именно в этих группах больных [4]. G.S. Eisenbarth и P.A. Gottlieb (2004) [10] рекомендуют скрининг и у членов семьи первой степени родства с АИЗ, особенно в рамках АПС. Более того, так как АТ могут появиться в любом возрасте, следует проводить повторный скрининг у тех лиц, у кого АТ изначально были отрицательными.

В настоящее время на территории Российской Федерации исследование АТ к P450c21 не получило широкого распространения, и диагноз АНН устанавливается путем исключения другой патологии, а скрининг заболевания и вовсе не внедрен [2]. Исследований, направленных на оценку чувствительности и специфичности данного показателя в диагностике АНН, на российской когорте взрослых пациентов с разной длительностью заболевания ранее не проводилось. Кроме того, отсутствуют данные по выявлению потенциальной и латентной АНН в группах риска и оценке зависимости выраженности клинических проявлений и степени нарушения функции коры надпочечников от уровня АТ на всех стадиях заболевания.

*Цель первой части исследования* – оценить уровень АТ к P450c21 у больных АНН с разной длительностью заместительной терапии препаратами глюкокортикоидов<sup>1</sup> и у условно здоровых индивидуумов, определить чувствительность и специфичность данного показателя в диагностике АНН.

*Цель второй части исследования* – оценить распространенность носительства АТ к P450c21 у пациентов без АНН, в том числе в группах риска (больных другими АИЗ).

## Материал и методы

### Дизайн

Одномоментное исследование выполнено на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России в период с сентября 2017 по июнь 2019 г.

### Пациенты

Для выполнения первой части работы было включено 40 пациентов (группа 1) с манифестной стадией АНН: 75% (n = 30) – в рамках АПС-2

**Таблица 2.** Половозрастная характеристика больных группы 1

Группа / подгруппа	Пациенты	n	возраст, годы	пол (ж/м)		
				n	%	соотношение
1	АНН	40	18–68	32/8	80/20	4:1
1a	АНН в рамках АПС-2	30	19–68	26/4	87/13	6,5:1
1b	АНН в рамках АПС-1	7	18–49	5/2	71/29	2,5:1
1c	Изолированная АНН	3	24–57	1/2	67/33	2:1
Значение p		0,078				

АНН – аутоиммунная надпочечниковая недостаточность, АПС-1 – аутоиммунный полигланулярный синдром 1-го типа, АПС-2 – аутоиммунный полигланулярный синдром 2-го типа, ж – женский пол, м – мужской пол

(подгруппа 1a), 17,5% (n = 7) – в рамках АПС-1 (подгруппа 1b) и 7,5% (n = 3) – с изолированной АНН (подгруппа 1c). Характеристика больных дана в табл. 2. Диагноз АПС-1 был генетически верифицирован во всех (100%) случаях.

У всех пациентов выполнен забор крови для определения уровня АТ к P450c21. Далее проводили анализ зависимости уровня АТ от длительности заместительной терапии препаратами глюкокортикоидов.

Для выполнения второй части работы включен 171 пациент без установленного диагноза АНН: 113 пациентов с АИЗ (группа 2), 25 пациентов-носителей АТ-маркеров АИЗ щитовидной железы и/или СД1, но без нарушения функции органа-мишени (группа 3), и 33 пациента с неаутоиммунной эндокринной патологией (группа 4): надпочечниковой недостаточностью неаутоиммунного генеза (n = 14), сахарным диабетом 2-го типа (n = 11), прочими (n = 8). Пациенты группы 2 были разделены на 4 подгруппы: 2a (с аутоиммунными тиреопатиями), 2b (с СД1 или латентным аутоиммунным диабетом взрослых (LADA)), 2c (с аутоиммунными тиреопатиями в сочетании с СД1 или LADA), 2d (с другими АИЗ: гипергонадотропным гипогонадизмом (n = 3), алопецией (n = 3), аутоиммунной гипогликемией (n = 1), гипопаратиреозом (n = 1)). Характеристики больных обобщены в табл. 3.

В исследование было также включено 25 условно здоровых индивидуумов (группа 5) в возрасте от 18 до 60 лет (80% женщин (n = 20) и 20% мужчин

<sup>1</sup> АНН имеет несколько стадий и в течение нескольких лет до манифестации клинически не проявляется, в связи с чем оценивать зависимость уровня АТ к P450c21 от длительности заболевания представляется некорректным. Именно поэтому целью исследования выбрана оценка зависимости уровня АТ от длительности заместительной терапии глюкокортикоидами (то есть от момента диагностики АНН).

**Таблица 3.** Половозрастная характеристика больных групп 2–4

Группа / подгруппа	Пациенты				
	n	возраст, годы	пол (ж/м)		
			n	%	
2	АИЗ	113	18–80	75/38	66/34
2a	АИТ	39	22–80	28/11	72/28
2b	СД1/LADA	51	18–71	31/20	61/39
2c	АИТ + СД1 / LADA	15	19–70	10/5	67/33
2d	Другие АИЗ	8	24–64	6/2	75/25
3	Носители АТ	25	18–54	20/5	80/20
4	Неаутоиммунные эндокринопатии	33	19–88	23/10	70/30
Значение <i>p</i>				0,65	

LADA – латентный аутоиммунный диабет взрослых, АИЗ – аутоиммунные заболевания, АИТ – аутоиммунные тиреопатии, АТ – антитела, ж – женский пол, м – мужской пол, СД1 – сахарный диабет 1-го типа

(*n* = 5)). У всех участников выполнен забор крови для определения уровня АТ к Р450с21. При выявлении повышенного уровня данного показателя проводилось обследование с целью уточнения функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы.

Критерии невключения в исследование (как в первой, так и во второй части) были общими для всех групп: беременность, период лактации; острые инфекции; обострение хронических заболеваний; тяжелые, угрожающие жизни состояния; тяжелые психические заболевания; врожденные и приобретенные иммунодефицитные состояния; прием препаратов, влияющих на функцию иммунной системы (интерлейкины, интерфероны, иммуноглобулины, иммунодепрессанты, цитостатики), в течение месяца перед включением в исследование; проведение вакцинаций/ревакцинаций в течение месяца перед включением в исследование.

Критерии включения и невключения оценивались по данным опроса и представленной медицинской документации. Распределение по группам осуществлялось также по результатам проведенного лабораторного обследования (см. ниже).

Все включенные в исследование пациенты и условно здоровые индивидуумы подписали добровольное информированное согласие, одобренное локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (протокол № 17 заседания локального этического комитета от 27.09.2017).

#### Лабораторные исследования

Оценку функции коры надпочечников, щитовидной железы, островкового аппарата поджелудочной железы выполняли перед включением в группы 3–5. Для уточнения функции щитовидной железы исследовался уровень тиреотропного гормона (ТТГ). При необходимости проводили дополнительное гормональное обследование – определение уровней свободного тироксина (св. Т4), свободного трийодтиронина (св. Т3). С целью уточнения функции островкового аппарата поджелудочной железы исследовали уровни глюкозы и гликированного гемоглобина. Вышеперечисленные исследования также селективно выполнялись в подгруппах 2a и 2b.

При выявлении повышенного уровня АТ к Р450с21 у включенных в группы 2–5 проводили инсулинотолерантный тест (для исключения противопоказаний к проведению исследования выполнялось кардиологическое обследование), исследовали уровни адренкортикотропного гормона (АКТГ), дегидроэпиандростерон-сульфата (ДГЭАС)<sup>2</sup>, альдостерона и ренина.

Инсулинотолерантный тест выполнялся в соответствии с проектом клинических рекомендаций по первичной надпочечниковой недостаточности [1]: инсулин короткого действия вводился внутривенно в дозе 0,1–0,15 ЕД/кг. Исходно и через 20, 30, 45, 60 и 90 минут проводился забор венозной крови, и в каждом образце определялся уровень кортизола и глюкозы. Если на фоне гликемии менее 2,2 ммоль/л уровень кортизола крови превышал 500 нмоль/л, надпочечниковая недостаточность исключалась. При уровне кортизола крови менее 500 нмоль/л устанавливался диагноз надпочечниковой недостаточности. В случае если не удавалось достичь уровня гликемии менее 2,2 ммоль/л, проба рассматривалась как неинформативная и выполнялась повторно.

Определение АКТГ, кортизола, ДГЭАС, альдостерона, ренина, ТТГ, св. Т4, св. Т3, глюкозы

<sup>2</sup> Известно, что плазменный уровень ДГЭАС при первичной надпочечниковой недостаточности снижен и может дополнительно исследоваться для диагностики заболевания. Однако в связи с тем, что уровень данного метаболита может быть снижен и у здоровых, особенно у людей старшего возраста, контроль и изолированное исследование этого показателя нецелесообразны [1].

**Таблица 4.** Характеристика больных группы 1 с аутоиммунной надпочечниковой недостаточностью

Характеристика	Группа 1 (n = 40)	Подгруппа 1a (n = 30)	Подгруппа 1b (n = 7)	Подгруппа 1c (n = 3)	Значение p
Длительность приема препаратов глюкокортикоидов, годы, Me [Q1; Q3]	7 [2,42; 12,63]	8 [2,33; 13,42]	6 [2; 13,25]	3 [3; 3,75]	0,651
Сопутствующие эндокринные АИЗ, n (%)	АИТ – 25 (62,5) ГГ – 8 (20) ДТЗ – 5 (12,5) гипопаратиреоз – 7 (17,5) СД1 – 3 (7,5) ЭОП – 1 (2,5)	АИТ – 23 (77) ДТЗ – 5 (17) ГГ – 4 (13) СД1 – 2 (7) ЭОП – 1 (3)	гипопаратиреоз – 7 (100) ГГ – 4 (57) АИТ – 2 (29) СД1 – 1 (14)	-	-
Сопутствующие неэндокринные АИЗ, n (%)	витилиго – 4 (10) атрофический гастрит/гастродуоденит – 3 (7,5) алопеция – 3 (7,5) поражение роговицы – 2 (5) БА* – 2 (5) синдром мальабсорбции – 2 (5) гипоплазия зубной эмали – 1 (2,5) аутоиммунный гепатит – 1 (2,5) невус Сеттона – 1 (2,5)	витилиго – 2 (7) БА – 2 (7) невус Сеттона – 1 (3)	атрофический гастрит/гастродуоденит – 3 (43) синдром мальабсорбции – 2 (29) поражение роговицы – 2 (29) алопеция – 2 (29) витилиго – 2 (29) гипоплазия зубной эмали – 1 (14) аутоиммунный гепатит – 1 (14)	алопеция – 1 (33)	-
Уровень АТ к P450c21, Ед/мл, Me [Q1; Q3]	34,507 [17,54; 54,844]	43,057 [27,737; 68,753]	1,62 [0,292; 17,986]	17,451 [10,52; 38,053]	0,0022**

n – число пациентов (абс.), АИЗ – аутоиммунные заболевания, АИТ – аутоиммунный тиреозит, АТ – антитела, БА – бронхиальная астма, ГГ – гипернадотропный гипогонадизм, ДТЗ – диффузный токсический зоб, СД1 – сахарный диабет 1-го типа, ЭОП – эндокринная офтальмопатия

Статистическая значимость различий при сравнении между подгруппами:  $p_{1a-1b} = 0,001$ ;  $p_{1b-1c} = 0,17$ ;  $p_{1a-1c} = 0,11$

\* По мнению ряда специалистов, данное заболевание не является аутоиммунным

\*\* Пороговый  $p_0 = 0,017$  (после применения поправки Бонферрони)

проводилось методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Перед включением во все группы исследовали методом ИФА уровень антител к рецептору ТТГ, тиреоидной пероксидазе (ТПО), тиреоглобулину (ТГ), глутаматдекарбоксилазе поджелудочной железы (GAD), инсулину (IAA), островковым клеткам поджелудочной железы (ICA),

тирозинфосфатазе (IA2), транспортеру цинка 8 (ZnT8).

Определение антител к P450c21 также проводилось методом ИФА.

Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли с помощью стандартных



методов статистического анализа с использованием программного обеспечения Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Для количественных признаков указаны среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение (при нормальном распределении), медиана и интерквартильный интервал (при распределении, отличном от нормального). Для выявления связи между параметрами определялся коэффициент корреляции Спирмена. С целью сравнения количественных данных двух независимых выборок применялся U-критерий Манна – Уитни. 95% доверительные интервалы (ДИ) для чувствительности, специфичности, прогностической ценности положительного и отрицательного результатов рассчитывались с использованием интернет-калькулятора (<https://statpages.info/confint.html>). Различия принимались как статистически значимые при  $p < 0,05$ .

## Результаты

Клинические и анамнестические данные пациентов группы 1 обобщены в табл. 4. Медиана длительности постановки правильного диагноза АНН (от момента возникновения клинических проявлений) составила 0,7 [0,2; 2] года. В 17,5% ( $n = 7$ ) до установления правильного диагноза пациенты переносили аддисонические кризы, в 5% случаев ( $n = 2$ ) – неоднократно. Патогенетически необоснованное лечение в связи с подозрением на острые инфекции, патологию органов пищеварения и центральной нервной системы получали 12,5% пациентов ( $n = 5$ ). Медиана возраста на момент постановки диагноза АНН была 29 [22; 42] лет (рис. 1). Получена отрицательная корреляция между возрастом пациентов и выявлением новых случаев АНН ( $r = -0,25$ ,  $p < 0,05$ ; рис. 2).

У 20 пациентов (50% всех случаев) развитию АНН предшествовала манифестация других аутоиммунных (эндокринных и неэндокринных) заболеваний, в том числе у 6 (15%) зафиксирована множественная аутоиммунная патология.

Распространенность повышенного уровня АТ к P450c21 в группе 1 составила 95% ( $n = 38$ ). Средняя длительность приема препаратов глюкокортикоидов у пациентов с повышенными АТ была 8,7 года (медиана 6,71, интерквартильный интервал 2,33; 12,00), средний уровень АТ – 41,1 Ед/мл (медиана 36,224, интерквартильный интервал 17,986; 58,016). Нормальный уровень АТ выявлен у 2 больных с генетически верифицированным АПС-1. Средняя длительность приема



Рис. 1. Возраст пациентов группы 1 с аутоиммунной надпочечниковой недостаточностью на момент постановки диагноза

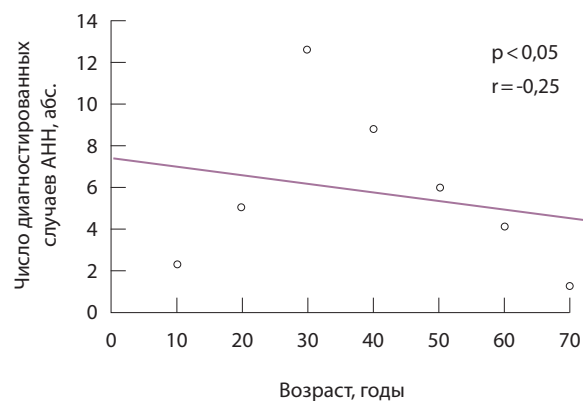


Рис. 2. Корреляция между выявлением новых случаев аутоиммунной надпочечниковой недостаточности (АНН) и возрастом пациентов группы 1 с этим заболеванием

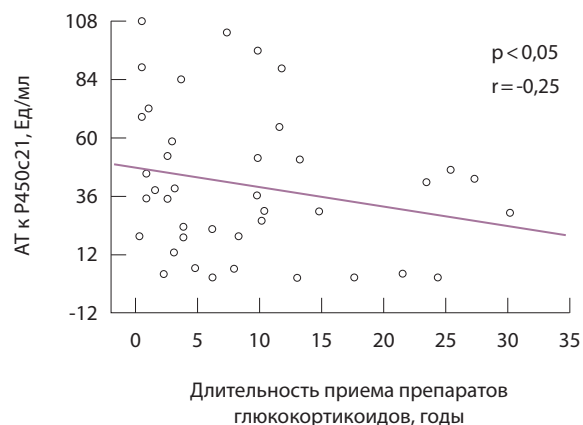
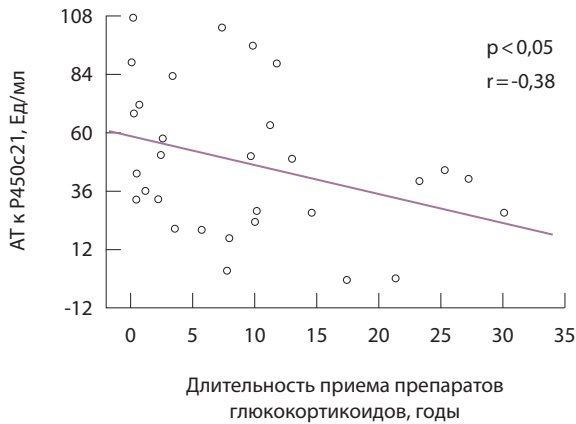
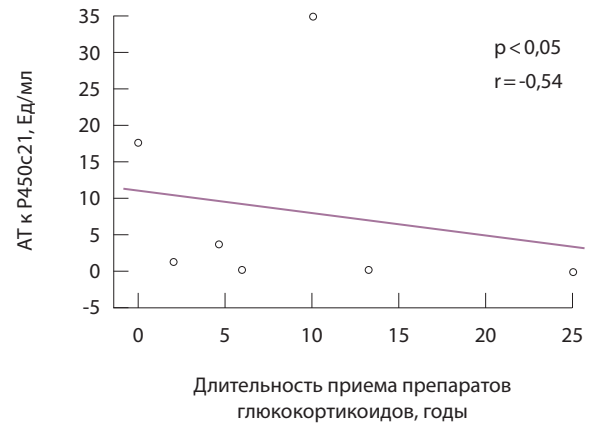


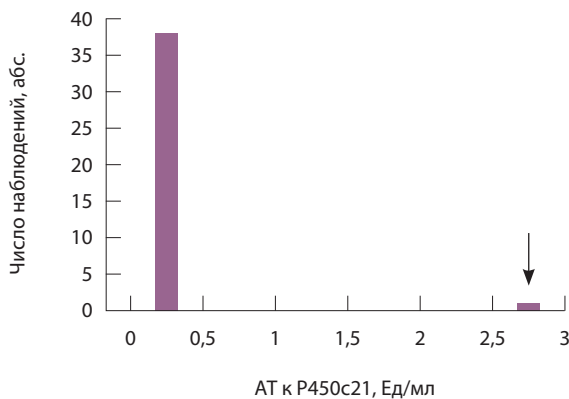
Рис. 3. Зависимость уровня антител (АТ) к P450c21 от длительности приема препаратов глюкокортикоидов у пациентов группы 1 с аутоиммунной надпочечниковой недостаточностью



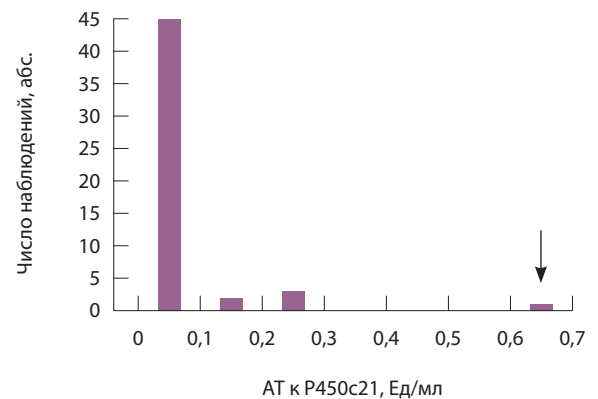
**Рис. 4.** Зависимость уровня антител (АТ) к Р450с21 от длительности приема препаратов глюкокортикоидов у пациентов подгруппы 1а с надпочечниковой недостаточностью в рамках аутоиммунного полигландулярного синдрома 2-го типа



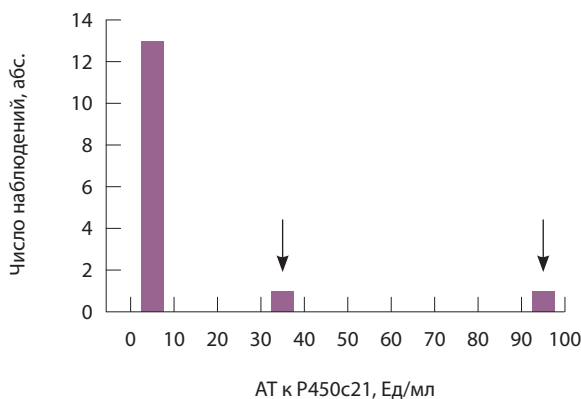
**Рис. 5.** Зависимость уровня антител (АТ) к Р450с21 от длительности приема препаратов глюкокортикоидов у пациентов подгруппы 1b с надпочечниковой недостаточностью в рамках аутоиммунного полигландулярного синдрома 1-го типа



**Рис. 6.** Уровень антител (АТ) к Р450с21 в подгруппе 2а с аутоиммунными тиреопатиями (стрелкой указан пациент № 1 с повышенным уровнем)



**Рис. 7.** Уровень антител (АТ) к Р450с21 в подгруппе 2b с сахарным диабетом 1-го типа или латентным аутоиммунным диабетом взрослых (стрелкой указан пациент № 3 с повышенным уровнем)



**Рис. 8.** Уровень антител (АТ) к Р450с21 в подгруппе 2с с аутоиммунными тиреопатиями в сочетании с сахарным диабетом 1-го типа или латентным аутоиммунным диабетом взрослых (стрелками указаны пациенты № 2 (справа) и № 4 (слева) с повышенными уровнями)

препаратов глюкокортикоидов у данных пациентов составила 15,5 года, средний уровень АТ – 0,23 Ед/мл (средние значения и медиана в данном случае равны).

В группе 5 нормальный уровень АТ выявлен в 100% случаев (см. ниже). Таким образом, чувствительность метода в диагностике АНН составила 95%, 95% ДИ [83,1%; 99,4%], специфичность – 100%, 95% ДИ [86,3%; 100%]. Прогностическая ценность положительного результата составила 100%, 95% ДИ [90,1%; 100%], прогностическая ценность отрицательного результата – 92,6%, 95% ДИ [75,7%; 99,1%].

При анализе зависимости уровня АТ к Р450с21 от длительности приема препаратов глюкокортикоидов получена отрицательная корреляция:  $r = -0,25$ ,  $p < 0,05$  (рис. 3). В подгруппах 1а и 1b



Таблица 5. Характеристика больных групп 2–5

Параметр	Группа 2				Группа 3	Группа 4	Группа 5	Значение <i>p</i>
	2a	2b	2c	2d				
Количество пациентов, абс.	39	51	15	8	25	33	25	-
Сопутствующие эндокринные АИЗ, абс. (%)	ЭОП – 10 (26) гипопаратиреоз – 1 (3) аутоиммунная гипогликемия – 1 (3)	-	ЭОП – 2 (13)	-	-	-	-	-
Сопутствующие неэндокринные АИЗ	витилиго – 7 (18) псориаз – 2 (5) псориастический артрит – 1 (3) алопеция – 2 (5) аутоиммунный гастрит – 1 (3)	БА – 1 (2)	витилиго – 2 (13) ревматоидный артрит – 1 (7) экзема* – 1 (7)	псориаз – 1 (12,5) дерматомиозит – 1 (12,5)	-	-	-	-
Уровень АТ к Р450с21, Ед/мл, Ме [Q1; Q3]	0,01 [0,01; 0,027]	0,01 [0,01; 0,03]	0,01 [0,01; 0,169]	0,018 [0,01; 0,028]	0,01 [0,01; 0,028]	0,01 [0,01; 0,01]	0,026 [0,01; 0,028]	0,0975
Частота встречаемости повышенного уровня АТ, абс. (%)	1 (2,56)	1 (1,96)	2 (13,33)	0	0	0	0	-

АИЗ – аутоиммунные заболевания, АТ – антитела, БА – бронхиальная астма, ЭОП – эндокринная офтальмопатия

Группа 2: подгруппа 2a – больные с аутоиммунными тиреопатиями, 2b – с сахарным диабетом 1-го типа (СД1) или латентным аутоиммунным диабетом взрослых, 2c – с аутоиммунными тиреопатиями в сочетании с СД1 или латентным аутоиммунным диабетом взрослых, 2d – с другими аутоиммунными заболеваниями. Группа 3 – больные с носительством АТ-маркеров аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и/или СД1, но без нарушения функции органа-мишени. Группа 4 – больные с неаутоиммунной эндокринной патологией. Группа 5 – условно здоровые индивидуумы

\* По мнению ряда специалистов, данное заболевание не является аутоиммунным

также получены отрицательные значения коэффициента корреляции:  $r = -0,38$ ,  $p < 0,05$ , и  $r = -0,54$ ,  $p < 0,05$  соответственно (рис. 4, 5). В подгруппе 1с корреляционная связь не обнаружена ( $r = 0$ ,  $p < 0,05$ ), наиболее вероятно, в связи с небольшим объемом выборки.

При анализе числа сопутствующих аутоиммунных (эндокринных и неэндокринных) заболеваний у пациентов с повышенным уровнем АТ к Р450с21 ( $n = 38$ ) получены следующие данные: в 55,26% случаев ( $n = 21$ ) – 1 АИЗ, в 31,58% ( $n = 12$ ) – 2 АИЗ, и по 2,63% ( $n = 1$ ) – 3, 6 и 8 АИЗ. У 2 (5,26%) пациентов сопутствующих АИЗ не было. При оценке зависимости уровня АТ к Р450с21 от числа сопутствующих АИЗ обнаружена слабая отрицательная корреляционная связь ( $r = -0,17$ ,  $p < 0,05$ ).

Далее проведена оценка уровня АТ к Р450с21 в группах 2–5. Результаты иммунологического анализа крови, а также анализ клинических и анамнестических данных пациентов отражены в табл. 5 и на рис. 6–8.

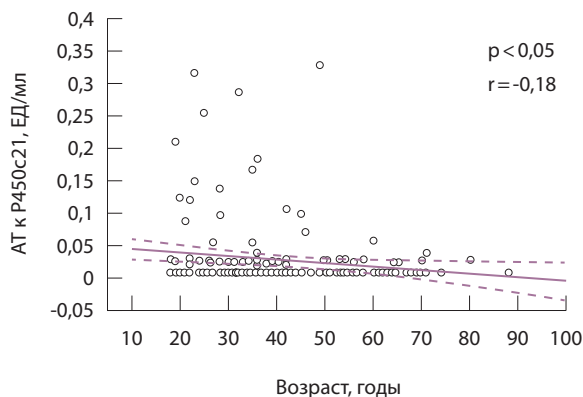
Повышенный уровень АТ к Р450с21 определен у 4 пациентов группы 2 (2,3% от всех включенных во вторую часть исследования, 3,5% от включенных в группу 2). Больным № 1 и № 2 выполнено дополнительное гормональное исследование для уточнения диагноза АНН, по результатам которого диагностирована латентная стадия заболевания. При этом у пациента № 1 выявлена как глюко-, так и минералокортикоидная недостаточность, тогда как у пациента № 2 – изолированная минералокортикоидная недостаточность. Необходимо подчеркнуть, что медиана возраста диагностики АНН составила 25,5 года. Пациентам была назначена заместительная терапия препаратами минералокортикоидов, больному № 1 также инициировано лечение глюкокортикоидами. У пациентов № 3 и № 4 были исследованы уровни базального кортизола, ДГЭАС и альдостерона. Несмотря на наши рекомендации, от дополнительного обследования (проведения инсулинотолерантного теста) больные отказались. По результатам гормонального



**Таблица 6.** Характеристика больных группы 2 с аутоиммунными заболеваниями с повышенным уровнем антител к P450c21

Характеристика	Пациент № 1	Пациент № 2	Пациент № 3	Пациент № 4
Пол	женский	мужской	женский	женский
Возраст на момент обследования, годы	25	26	19	39
Эндокринные АИЗ (возраст установления диагноза, годы)	АИТ (21) гипопаратиреоз (24) ГГ (25)	АИТ (7) СД1 (9)	СД1 (8)	СД1 (12) АИТ (23)
Неэндокринные АИЗ (возраст установления диагноза, годы)	алопеция (14) аутоиммунный гастрит (15)	-	-	-
Симптомы АНН	головокружение, тяга к соленой пище, эпизоды потери сознания, сопровождающиеся снижением АД до 70/50 мм рт. ст.	выраженная общая слабость, снижение АД до 90/60 мм рт. ст., тяга к соленой пище, частые гипогликемии	эпизоды тяжелой гипогликемии с потерей сознания	эпизод головокружения с потерей сознания (на этом фоне систолическое АД 50 мм рт. ст., диастолическое АД не определялось)
АТ к P450c21 (при первичном обследовании), Ед/мл (референсные значения: < 0,4)	2,94	92,67	0,604	35,508
Носительство других АТ, МЕ/мл	АТ к внутреннему фактору Касла	АТ к париетальным клеткам желудка	АТ к ТПО 283,37 АТ к ТГ 474,2	-
Результаты гормонального обследования:				
АКТГ, пг/мл (референсные значения: 7–66)	83,09	182	-	-
базальный кортизол, нмоль/л (референсные значения: 123–626)	402,8	460,4	576,4	560,7
максимальный уровень кортизола в ходе ИТТ, нмоль/л	481,6	509,4	-	-
альдостерон, пмоль/л (референсные значения: 70,9–980)	121	44,8	207	732
ренин, МЕ/л (референсные значения: 2,8–39,9)	> 500	125	-	-
ДГЭАС, мкмоль/л (референсные значения: женщины 1,65–11; мужчины 1,2–13,4)	0,111	2,1	4,47	3,73
АТ к P450c21 (при обследовании в динамике через 6 месяцев), Ед/мл	1,538	-	-	-

АД – артериальное давление, АИЗ – аутоиммунные заболевания, АИТ – аутоиммунный тиреозит, АКТГ – адренокортикотропный гормон, АНН – аутоиммунная надпочечниковая недостаточность, АТ – антитела, ГГ – гипергонадотропный гипогонадизм, ДГЭАС – дегидроэпиандростерон-сульфат, ИТТ – инсулинотолерантный тест, СД1 – сахарный диабет 1-го типа, ТГ – тиреоглобулин, ТПО – тиреодная пероксидаза



**Рис. 9.** Зависимость уровня антител (АТ) к Р450с21 в группах 2–5 (2а – с аутоиммунными тиреопатиями, 2b – с сахарным диабетом 1-го типа или латентным аутоиммунным диабетом взрослых, 2с – с аутоиммунными тиреопатиями в сочетании с сахарным диабетом 1-го типа или латентным аутоиммунным диабетом взрослых, 2d – с другими аутоиммунными заболеваниями; 3 – с носительством АТ-маркеров аутоиммунных заболеваний щитовидной железы и/или сахарного диабета 1-го типа, но без нарушения функции органа-мишени; 4 – с неаутоиммунной эндокринной патологией; 5 – условно здоровые индивидуумы) от возраста (у пациентов с неповышенными АТ)

анализа крови, с учетом уровня кортизола более 500 нмоль/л<sup>3</sup> и нормального уровня альдостерона у этих пациентов установлена потенциальная стадия заболевания. На отсутствие нарушений функции коры надпочечников указывает также нормальный уровень ДГЭАС (в отличие от пациента № 1). Больным настоятельно рекомендовано тщательное динамическое наблюдение (проведение гормонального обследования через 6 месяцев или ранее при ухудшении самочувствия). Клинические и анамнестические данные больных № 1–4, а также результаты проведенного обследования представлены в табл. 6.

У обследованных в группах 2–5 с нормальными АТ к Р450с21 (n = 192) оценена зависимость уровня данного показателя от возраста, найдена статистически значимая отрицательная корреляция:  $r = -0,18$ ,  $p < 0,05$  (рис. 9).

Кроме того, выявлено, что в данной когорте в 65% случаев (n = 125) уровень АТ к Р450с21 равен 0,01 Ед/мл, тогда как в остальных случаях он превышает 0,01 Ед/мл. Предполагается, что различия между этими группами могут быть обусловлены полом, возрастом или числом АИЗ. Для проверки этой гипотезы данная когорта была разделена на две группы: с уровнем АТ к Р450с21, равным 0,01 Ед/мл (группа 6), и более 0,01 Ед/мл

(группа 7). При сравнении групп 6 и 7 (табл. 7) выявлены статистически значимые различия по возрасту ( $U = 3344$ ,  $Z = 2,3$ ,  $p = 0,022$ ), тогда как статистически значимых различий по числу АИЗ ( $U = 4013$ ,  $Z = 0,5$ ,  $p = 0,635$ ) и полу ( $U = 4102$ ,  $Z = 0,2$ ,  $p = 0,816$ ) не получено.

## Обсуждение

В нашем исследовании, так же как и по данным литературы [2], среди пациентов с АНН преобладает женщин. Однако описанная выборка (соотношение женщин и мужчин 4:1) отличается от выборок других исследователей (так, по данным С. Betterle и соавт. (2002) [3], соотношение женщин и мужчин составляет 1,7:1, а по данным V.F. Williams и соавт. [11] – 2,1:1). Возраст манифестации заболевания у пациентов в нашем исследовании сопоставим с показателями в других работах (в среднем от 20 до 50 лет) [2]. В отношении частоты сопутствующих АИЗ при АНН наши данные совпадают с данными С. Betterle и соавт. (2002) [3]: наиболее частой эндокринной патологией является АИТ, а неэндокринной – витилиго.

В отличие от С. Betterle и соавт. (2002) [3], которые обнаружили повышение АТ к Р450с21 только у 81% больных АНН, мы выявили положительные АТ у 95% пациентов с манифестной АНН. Более того, повышение АТ к Р450с21 обнаружено у больных с латентной АНН и у пациентов без признаков надпочечниковой недостаточности, по данным гормональных анализов крови. Таким образом, необходимо динамическое наблюдение, так как носительство АТ к Р450с21 может быть предиктором развития АНН. Таким образом, можно сделать вывод о том, что АТ к Р450с21 являются высокочувствительным и высокоспецифичным методом диагностики АНН.

Мы, так же как и С. Betterle и соавт. (2002) [3], отметили уменьшение уровня АТ к Р450с21 со временем, при этом сила корреляционной связи увеличивалась в подгруппах с АПС-2 и, в большей степени, АПС-1 (по всей видимости, это можно объяснить разным патогенезом: нарушением центральной иммунной толерантности при АПС-1 и периферической – при АПС-2).

По результатам второй части исследования, носительство АТ к Р450с21 выявлено у 3,5% пациентов<sup>4</sup> группы 2 с АИЗ. Наши данные по распространенности носительства АТ к Р450с21 отличаются от результатов С. Betterle и соавт. (1997)

<sup>3</sup>Уровень кортизола более 500 нмоль/л исключает у пациента глюкокортикоидную недостаточность [2].

<sup>4</sup>Более подробное описание данных больных будет приведено в отдельной публикации.

**Таблица 7.** Характеристика групп 6 (с уровнем антител к P450c21, равным 0,01 Ед/мл) и 7 (с уровнем антител к P450c21 более 0,01 Ед/мл)

Группа	Уровень АТ к P450c21, Ед/мл	Количество пациентов, абс.	Возраст, годы, Ме [Q1; Q3]	Число АИЗ, абс., Ме [Q1; Q3]	Пол (ж/м)	
					абс.	%
6	0,01	125	40 [28–54]	1 [0–1]	87/38	70/30
7	> 0,01	67	33 [24–46]	1 [0–1]	48/19	72/28

p=0,77

АИЗ – аутоиммунные заболевания, АТ – антитела, ж – женский пол, м – мужской пол

**Таблица 8.** Периодичность обследования пациентов с разным уровнем риска развития аутоиммунной надпочечниковой недостаточности [13]

Уровень риска	Периодичность обследования, мес.
Низкий	24–36
Умеренный	12–18
Высокий	6–12

[12], которые обнаружили АТ у 43 из 8840 пациентов с АИЗ (0,5%). Наиболее вероятно, что это обусловлено разными методами иммунологического исследования (в исследовании С. Betterle и соавт. применялся метод SDS-PAGE – электрофореза в додецилсульфате натрия в полиакриламидном геле).

Необходимо отметить, что в настоящее время вопрос о наличии связи между уровнем АТ к P450c21 и функцией коры надпочечников [4], а также о риске развития манифестной АНН при носительстве этих АТ [13] является предметом дискуссии. Кроме того, нет четких рекомендаций по оптимальной периодичности динамического наблюдения пациентов с повышенными АТ [10]. В частности, S. Laureti и соавт. (1998) [4] в своем исследовании определили, что уровень АТ к P450c21 статистически значимо коррелирует со степенью адренальной дисфункции. Более того, авторы описывают случаи спонтанной ремиссии заболевания (то есть восстановления функции коры надпочечников и снижения уровня АТ к P450c21 до нормы) на потенциальной и латентной стадиях АНН.

С. Betterle и соавт. (2002) наблюдали 54 пациентов с АИЗ (без АНН) и носительством АТ

к P450c21 (средний период наблюдения – 45 месяцев). При этом манифестная АНН развилась в 21 случае: ежегодная заболеваемость у детей составила 34,6%, а у взрослых – 4,9% [3]. Для своевременной диагностики заболевания G.S. Eisenbarth и P.A. Gottlieb [10] рекомендуют проведение ежегодного обследования у носителей АТ с нормальной исходной функцией коры надпочечников: определение уровня АКГГ и кортизола (базального и на фоне стимуляции тетракозактидом).

Г. Сосо и соавт. [13] в своей работе оценивали риск развития манифестной АНН в зависимости от пола, возраста, наличия сопутствующих заболеваний, уровня АТ и исходной функции коры надпочечников у 100 носителей АТ к коре надпочечников (АСА<sup>5</sup>; 86 из них имели также повышенные АТ к P450c21). Обнаружено, что риск развития заболевания выше у детей, лиц мужского пола, пациентов с исходно нарушенной функцией коры надпочечников, больных с гипопаратиреозом и/или кандидозом (по сравнению с больными с другими аутоиммунными или неаутоиммунными заболеваниями), носителей с более высоким уровнем АСА. На основании полученных данных была разработана шкала риска развития АНН, учитывающая все вышеупомянутые параметры. При этом в каждой группе пациентов рекомендовано динамическое наблюдение с определенной частотой (табл. 8). По нашему мнению, требуется модификация данной шкалы с учетом все более широкого определения АТ к P450c21. Кроме того, мы (как и С. Betterle и соавт. (1997) [12]) считаем, что при выявлении даже начальных лабораторных признаков нарушения функции коры надпочечников показано инициировать заместительную терапию препаратами глюкокортикоидов

<sup>5</sup> До недавнего времени наряду с АТ к P450c21 в качестве серологического маркера АНН рассматривались также аутоантитела к митохондриальным/микросомальным антигенам клеток коры надпочечников (АСА) [9]. Однако, согласно данным Г. Сосо и соавт. (2006) [13], более точным показателем являются АТ к P450c21. Так, в данном исследовании ни у одного из 14 носителей АСА с нормальным уровнем АТ к P450c21 не развилась АНН в течение 6-летнего периода наблюдения.



и минералокортикоидов (при сохранении функции пучковой зоны возможно назначение исключительно минералокортикоидов).

По результатам нашего исследования, медиана длительности постановки правильного диагноза АНН составила 0,7 [0,2; 2] года. Средний период длительности постановки правильного диагноза АНН в исследовании, проведенном в Польше [14], меньше:  $9,1 \pm 3,5$  месяца у пациентов с адреналовым кризом на момент диагностики и  $5,8 \pm 2,8$  месяца у пациентов без адреналового криза на момент диагностики. Необходимо отметить, что по полученным нами данным в 17,5% случаев пациенты переносили аддисонические кризы (в 5% случаев – неоднократно) и в 12,5% получали патогенетически необоснованное лечение. Вместе с тем проведенный нами активный скрининг АНН путем определения АТ к P450c21 позволил своевременно диагностировать заболевание на латентной стадии, начать лечение и разработать план дальнейшего наблюдения. Следует подчеркнуть, что медиана возраста пациентов, у которых АНН была диагностирована нами на латентной стадии (25,5 года), ниже, чем тех больных, у которых АНН была диагностирована на манифестной стадии (29 лет). Возраст больной № 3 с предположительно потенциальной стадией первичной надпочечниковой недостаточности – 19 лет. В случае соблюдения пациенткой наших рекомендаций у нее также будет своевременно диагностирована латентная первичная надпочечниковая недостаточность и инициировано лечение.

По данным литературы, благодаря проведению скрининга в ряде случаев удалось предупредить развитие манифестной стадии заболевания [3]. Так, А. De Bellis и соавт. [6] описывают больную 34 лет с ДТЗ, эндокринной офтальмопатией, повышенным уровнем АТ к P450c21 и латентной АНН (диагноз был поставлен на основании недостаточного выброса кортизола на фоне теста с тетракозактидом). Пациентка в течение 6 месяцев получала преднизолон в дозе 75 мг перорально по поводу эндокринной офтальмопатии. При этом после завершения лечения были зафиксированы нормализация уровня АТ и адекватный выброс кортизола на фоне провокационного теста с тетракозактидом. При последующем наблюдении в течение 94 месяцев сохранялся нормальный уровень АТ. По мнению авторов, эффект краткосрочной терапии кортикостероидами может быть обусловлен их иммуносупрессивным действием за счет снижения функции В-лимфоцитов и продукции ими АТ к P450c21. Но исследователи

наблюдали не только исчезновение АТ, но и восстановление функции коры надпочечников, которое, наиболее вероятно, связано с обратным развитием процесса Т-клеточной деструкции под действием глюкокортикоидов. Предполагается также, что по причине снижения функции коры надпочечников на фоне приема кортикостероидов (по принципу обратной отрицательной связи) происходит уменьшение экспозиции аутоантигенов клеткам иммунной системы и снижение иммунной аутоагрессии.

По нашим данным, в 50% случаев развитию АНН предшествовала манифестация прочих АИЗ (в 15% – множественных). Кроме того, именно в группе 2 (пациенты с аутоиммунными патологиями в отсутствие диагностированной АНН на момент включения в исследование) выявлено повышение уровня АТ к P450c21. Таким образом, наши данные подтвердили целесообразность проведения скрининга АНН в первую очередь именно в когорте больных с другими АИЗ (особенно с множественными), которые относятся к группам риска.

С учетом статистически значимой отрицательной корреляции между нормальным уровнем АТ к P450c21 у лиц без АНН и их возрастом, можно предположить, что риск развития заболевания с возрастом снижается. Эти данные подтверждаются анализом клинических данных пациентов в первой части исследования – число вновь диагностированных случаев АНН уменьшается с возрастом.

## Выводы

1. Анализ крови на АТ к P450c21 является высокочувствительным и высокоспецифичным методом диагностики АНН, в том числе на латентной стадии: чувствительность – 95%, 95% ДИ [83,1%; 99,4%], специфичность – 100%, 95% ДИ [86,3%; 100%], прогностическая ценность положительного результата – 100%, 95% ДИ [90,1%; 100%], прогностическая ценность отрицательного результата – 92,6%, 95% ДИ [75,7%; 99,1%].
2. На основании полученных результатов можно предположить, что выявление повышенного уровня АТ к P450c21 при АНН зависит от длительности приема препаратов глюкокортикоидов: у пациентов с нормальным уровнем АТ средняя длительность заместительной терапии составляет 15,5 года, тогда как у пациентов с повышенным уровнем АТ – 8,7 года. Для проверки этой гипотезы необходимо дальнейшее накопление данных.



3. Скрининг ранних стадий АНН целесообразно проводить в группах риска с аутоиммунной патологией (в первую очередь множественной): частота носительства АТ к P450c21 в этой когорте составляет 3,5%.
4. Выявление повышенного уровня АТ к P450c21 позволит своевременно диагностировать АНН на ранних стадиях и предупредить развитие жизнеугрожающих осложнений данного заболевания.

5. На основании полученных результатов можно предположить, что риск развития АНН снижается с возрастом: получена статистически значимая отрицательная корреляция между уровнем АТ к P450c21 у лиц без АНН и их возрастом.

В настоящее время исследование продолжается, полученные результаты будут корректироваться с учетом увеличения выборки пациентов и сроков наблюдения. ©

## Дополнительная информация

### Финансирование

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 17-75-30035).

### Конфликт интересов

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

### Участие авторов

Н.Ф. Нуралиева – концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, статистическая обработка данных, анализ результатов,

написание текста; М.Ю. Юкина – концепция и дизайн исследования, статистическая обработка данных, анализ результатов, написание текста, редактирование рукописи; Е.А. Трошина – концепция и дизайн статьи, редактирование текста, утверждение итогового варианта текста рукописи; Н.М. Малышева – проведение лабораторных исследований; Л.В. Никанкина – проведение лабораторных исследований. Все авторы внесли существенный вклад в проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

## Литература / References

1. Мельниченко ГА, Трошина ЕА, Юкина МЮ, Платонова НМ, Бельцевич ДГ. Клинические рекомендации Российской ассоциации эндокринологов по диагностике и лечению первичной надпочечниковой недостаточности у взрослых пациентов (проект). *Consilium Medicum*. 2017;19(4):8–19. [Melnichenko GA, Troshina EA, Yukina MYu, Platonova NM, Beltsevich DG. [Diagnosis and treatment of primary adrenal insufficiency in adult: a Russian Association of Endocrinology Clinical Practice Guideline (project)]. *Consilium Medicum*. 2017;19(4):8–19. Russian.]
2. Юкина МЮ, Трошина ЕА, Платонова НМ, Бельцевич ДГ. Надпочечниковая недостаточность. В: Трошина ЕА, ред. Сборник методических рекомендаций (в помощь практическому врачу). Тверь; 2017. с. 149–92. [Yukina MYu, Troshina EA, Platonova NM, Beltsevich DG. Adrenal insufficiency. In: Troshina EA, editor. Collection of guidelines (to help a practitioner). Tver; 2017. p. 149–92. Russian.]
3. Betterle C, Dal Pra C, Mantero F, Zanchetta R. Autoimmune adrenal insufficiency and autoimmune polyendocrine syndromes: autoantibodies, autoantigens, and their applicability in diagnosis and disease prediction. *Endocr Rev*. 2002;23(3):327–64. doi: 10.1210/edrv.23.3.0466.
4. Laureti S, De Bellis A, Muccitelli VI, Calcinaro F, Bizzarro A, Rossi R, Bellastella A, Santese-anio F, Falorni A. Levels of adrenocortical autoantibodies correlate with the degree of adrenal dysfunction in subjects with pre-clinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(10):3507–11. doi: 10.1210/jcem.83.10.5149.
5. Dawoodji A, Chen JL, Shepherd D, Dalin F, Tarlton A, Alimohammadi M, Penna-Martinez M, Meyer G, Mitchell AL, Gan EH, Bratland E, Bensing S, Husebye ES, Pearce SH, Badenhoop K, Kämpe O, Cerundolo V. High frequency of cytolytic 21-hydroxylase-specific CD8+ T cells in autoimmune Addison's disease patients. *J Immunol*. 2014;193(5):2118–26. doi: 10.4049/jimmunol.1400056.
6. De Bellis A, Falorni A, Laureti S, Perrino S, Coronella C, Forini F, Bizzarro E, Bizzarro A, Abbate G, Bellastella A. Time course of 21-hydroxylase antibodies and long-term remission of subclinical autoimmune adrenalitis after corticosteroid therapy: case report. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(2):675–8. doi: 10.1210/jcem.86.2.7212.
7. Bellis AD, Bellastella G, Maiorino MI, Pernice V, Longo M, Annunziata C, Bellastella A, Esposito K. Revisitation of Autoimmune Addison's Disease: known and open pathophysiologic and clinical aspects. *Int J Clin Endocrinol*. 2019;3(1):001–13.
8. Mavragani CP, Schini M, Gravani F, Kaltsas G, Moutsopoulos HM. Brief report: adrenal autoimmunity in primary Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum*. 2012;64(12):4066–71. doi: 10.1002/art.34679.
9. Michels A, Michels N. Addison disease: early detection and treatment principles. *Am Fam Physician*. 2014;89(7):563–8. doi: 10.1519/12392.1.
10. Eisenbarth GS, Gottlieb PA. Autoimmune polyendocrine syndromes. *N Engl J Med*. 2004;350(20):2068–79. doi: 10.1056/NEJM-ra030158.
11. Williams VF, Oh GT, Stahlman S. Adrenal gland disorders, active component, U.S. Armed Forces, 2002–2017. *MSMR*. 2018;25(12):10–9.
12. Betterle C, Volpato M, Rees Smith B, Furmaniak J, Chen S, Greggio NA, Sanzari M, Tedesco F, Pedini B, Boscaro M, Presotto F. I. Adrenal cortex and steroid 21-hydroxylase autoantibodies in adult patients with organ-specific autoimmune diseases: markers of low progression to clinical Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(3):932–8. doi: 10.1210/jcem.82.3.3819.
13. Coco G, Dal Pra C, Presotto F, Albergoni MP, Canova C, Pedini B, Zanchetta R, Chen S, Furmaniak J, Rees Smith B, Mantero F, Betterle C. Estimated risk for developing autoimmune Addison's disease in patients with adrenal cortex autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(5):1637–45. doi: 10.1210/jc.2005-0860.
14. Papierska L, Rabijewski M. Delay in diagnosis of adrenal insufficiency is a frequent cause of adrenal crisis. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:482370. doi: 10.1155/2013/482370.





## Autoantibodies to 21-hydroxylase as a diagnostic marker of primary autoimmune adrenal insufficiency, including at its potential and latent stages

N.F. Nuralieva<sup>1</sup> • M.Yu. Yukina<sup>1</sup> • E.A. Troshina<sup>1</sup> • N.M. Malysheva<sup>1</sup> • L.V. Nikankina<sup>1</sup>

**Rationale:** In Russia, assessment of anti-P450c21 antibodies (AB) in the diagnosis of autoimmune adrenal insufficiency (AAI) has not been commonly used, and the disease screening has not been implemented.

**Aims:** 1) To determine the sensitivity and specificity of anti-P450c21 AB determination in the AAI diagnosis; 2) To estimate the prevalence of anti-P450c21 AB carriage in patients without AAI.

**Materials and methods:** Anti-P450c21 AB were assessed in 40 patients (group 1) with manifest AAI; 171 patients without established diagnosis of AAI, including 113 subjects with autoimmune thyroid disorders or type 1 diabetes mellitus (AID, group 2); 25 carriers of AB markers of thyroid AID and/or type 1 diabetes mellitus without any target organ dysfunctions (group 3); 33 patients with non-autoimmune endocrine disorders (group 4), and 25 healthy individuals (group 5).

**Results:** Determination of anti-P450c21 AB for the diagnosis of AAI had 95% sensitivity, with specificity of 100%, predictive value of a positive result of 100%, and predictive value of a negative result 92.6%. Anti-P450c21 AB were inversely correlated with the duration of glucocorticoid replacement therapy ( $r = -0.222$ ,  $p < 0.05$ ). High levels of anti-P450c21 AB were found in 4 (3.5%) patients of group 2; based on the results of additional hormonal testing, 50% cases were diagnosed with the latent stage of the disease and 50% cases with the potential stage.

**Discussion:** The sensitivity of the anti-P450c21 AB determination for AAI diagnosis in our study was higher, than in the works by other authors. We have confirmed a time-related reduction of anti-P450c21 AB levels, whereby the strength of the correlation was higher in the subgroups with autoimmune polyendocrine syndrome type II

and, to a greater extent, autoimmune polyendocrine syndrome type I. This might be related to their different pathogenesis, with an abnormality of central immune tolerance in autoimmune polyendocrine syndrome type I and that of peripheral immune tolerance in autoimmune polyendocrine syndrome type II. According to our data, in 50% of cases, the development of AAI was preceded by the manifestation of other AIDs (in 15% of cases being multiple). Among all patients with no AAI diagnosis at the study entry, increased anti-P450c21 AB levels were found exactly in those with pre-existing AID. Thus, we have confirmed the feasibility of AAI screening primarily in a cohort of patients with other AID (especially multiple) belonging to the risk group.

**Conclusion:** The determination of blood anti-P450c21 AB is a highly sensitive and highly specific method to diagnose AAI. The frequency of anti-P450c21 AB detection might depend on the duration of glucocorticoid treatment. Screening for early AAI stages is relevant primarily in the risk groups with multiple autoimmune disorders.

**Key words:** autoimmune adrenal insufficiency, anti-P450c21 antibodies, early diagnosis, potential stage, latent stage, manifest stage

**For citation:** Nuralieva NF, Yukina MYu, Troshina EA, Malysheva NM, Nikankina LV. Autoantibodies to 21-hydroxylase as a diagnostic marker of primary autoimmune adrenal insufficiency, including at its potential and latent stages. *Almanac of Clinical Medicine*. 2020;48(7):445–58. doi: 10.18786/2072-0505-2020-48-023.

Received 24 March 2020; revised 22 April 2020; accepted 29 April 2020; published online 27 May 2020

**Nurana F. Nuralieva** – Research Fellow, Department of Therapeutic Endocrinology<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-6876-3336>

✉ 11 Dmitriya Ul'yanova ul., Moscow, 117036, Russian Federation. Tel.: +7 (495) 668 20 73. E-mail: nnurana@yandex.ru

**Marina Yu. Yukina** – MD, PhD, Leading Research Fellow, Department of Therapeutic Endocrinology<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8771-8300>

**Ekaterina A. Troshina** – MD, PhD, Professor, Corresponding Member of RAS, Head of Department of Therapeutic Endocrinology<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8520-8702>

**Natalya M. Malysheva** – PhD (in Biol.), Leading Research Fellow, Clinical and Diagnostic Laboratory<sup>1</sup>; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7321-9052>

**Larisa V. Nikankina** – MD, PhD, Acting Head of Clinical and Diagnostic Laboratory<sup>1</sup>; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3199-4998>

### Funding

The study has been performed with financial support of the Russian Foundation for Basic Research (RFBR), grant No. 17-75-30035.

### Conflict of interests

The authors declare no obvious and potential conflicts of interests related to the publication.

### Authors' contributions

N.F. Nuralieva, the study concept and design, data collection and analysis, statistical analysis, analysis of the results, text writing; M.Yu. Yukina, the study concept and design, statistical analysis, analysis of the results, text writing and editing; E.A. Troshina, the paper concept and design, text editing, approval of the final version of the manuscript; N.M. Malysheva, laboratory studies; L.V. Nikankina, laboratory studies. All the authors made their significant contributions to the research and preparation of the article, have read and approved the final version before publication.

<sup>1</sup>Endocrinology Research Centre; 11 Dmitriya Ul'yanova ul., Moscow, 117036, Russian Federation