

Воевода Светлана Михайловна

**ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ, КЛИНИКО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ
ГИПЕРПРОЛАКТИНЕМИИ НЕОПУХОЛЕВОГО ГЕНЕЗА У ЖЕНЩИН
РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА**

3.1.19 – Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиале Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН)

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Рымар Оксана Дмитриевна

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент Академии наук Республики Татарстан

Вагапова Гульнар Рифатовна

Казанская государственная медицинская академия – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО МЗ РФ, кафедра эндокринологии, заведующая кафедрой

доктор медицинских наук

Астафьева Людмила Игоревна

Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н.Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры нейрохирургии с курсами нейронаук

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва.

Защита диссертации состоится «16» сентября 2022 г. в 12⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета 24.1.239.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» по адресу: 630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, тел. 8 (383) 264-25-16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН (630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, д. 175/1, <https://iimed.ru>).

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук

С. В. Мустафина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Пролактин (ПРЛ) - многофункциональный гипофизарный гормон, участвует в физиологических и патофизиологических процессах, охватывающих метаболическую, осморегуляторную и иммунорегуляторную системы. У здоровых женщин основное действие ПРЛ оказывает на репродуктивную функцию, индуцирует и поддерживает лактацию после родов, участвует в развитии плода (Ignacak A. et al., 2012, 2020). Опубликованные результаты ассоциаций разного уровня ПРЛ с метаболическими показателями, метаболическим синдромом противоречивы (Berinder K. et al., 2011; Carrero J. et al., 2012; Wang T. et al., 2013, 2016; Haring R. et al., 2014; Li J. et al., 2018). Известны отдельные молекулярные мишени действия пролактина на печень, однако его конечные физиологические эффекты на желчевыделительную и другие функции печени остаются неясными (Kushnareva N.S., 2009; Fedchuk L. et al., 2014; Abramicheva P.A. et al., 2019).

Данные о распространенности гиперпролактинемии (ГиперПРЛ) немногочисленны и преимущественно представлены среди женщин с нарушением репродуктивной функции; принимающих медикаментозные препараты; имеющих опухоли гипофиза различной этиологии (Soto-Pedre E. et al., 2017; Alosaimi F. et al., 2018; Ntali G. et al., 2018).

Показано, что высокий уровень ПРЛ в сыворотке крови при пролактиномах связан с неблагоприятным профилем факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний, с ожирением, резистентностью к инсулину, эндотелиальной дисфункцией, артериальной гипертензией и жесткостью сосудистой стенки (Berinder K. et al., 2011; Pala N. et al., 2015). Результаты исследований, изучающие связь ГиперПРЛ неопухолевого генеза с метаболическим гомеостазом неоднозначны и представлены в недостаточном количестве (Lopez-Vicchi F. et al., 2020; Коса А. et al., 2021).

В настоящее время преимущественно идет изучение генов кандидатов при аденомах гипофиза, секретирующих ПРЛ (Cai F. et al., 2022). ГиперПРЛ неопухолевого генеза может быть следствием структурных изменений в генах пролактина (*PRL*), рецептора пролактина (*PRLR*), рецептора пролактин-рилизинг-гормона (*PRLHR*).

Таким образом, актуально изучение связей разных уровней ПРЛ с антропометрическими, гормонально-метаболическими показателями, молекулярно-генетическими вариантами у женщин молодого возраста.

Степень разработанности темы исследования. Распространенность ГиперПРЛ у женщин репродуктивного возраста широко варьирует в зависимости от выбора когорт для исследования (Иловайская И.А., 2015; Soto-Pedre E. et al., 2017; Alosaimi F. et al., 2018; Ntali G. et al., 2018). Наибольшая частота отмечается у женщин 25–40 лет (Soto-Pedre E. et al., 2017). Этиология ГиперПРЛ достаточно разнообразна, от опухолей гипофиза различного размера до приема некоторых лекарственных препаратов (Melmed S. et al., 2011; Дедов И.И. и соавт., 2013; Мельниченко Г.А. и соавт., 2015). ГиперПРЛ, проявляясь, прежде всего нарушениями репродуктивной системы, нередко сопровождается метаболическими сдвигами, в том числе избыточной массой тела, ожирением,

метаболическим синдромом (МС) (Мельниченко Г.А. и соавт., 2015; Ignacak A, et al., 2020; Коса А. et al., 2021). В России неопухолевый вклад в изучение эффектов ГиперПРЛ внес акад. И.И. Дедов. В 1985 г. опубликована первая монография на русском языке, посвященная ГиперПРЛ «Персистирующая галакторея-аменорея». Позже вышли в свет такие значимые работы как «Гиперпролактинемия у женщин и мужчин» (Марова Е.И. и соавт., 2000) и «Синдром гиперпролактинемии» (Дедов И.И. и соавт., 2014). И.И. Дедовым, Г.А. Мельниченко и их учениками получены важные для фундаментальной науки и клинической практики данные по особенностям лабораторной диагностики, клиники и лечения феномена макропролактинемии при синдроме ГиперПРЛ, многие из которых соответствуют мировому уровню (Романцова Т.И. и соавт., 2001; Дзеранова Л.К., 2007, 2018). По данным авторов, макропролактин является преобладающей формой гормона ~ у 20% пациентов с ГиперПРЛ. Уровень мономерного ПРЛ может быть в пределах нормы, но общий ПРЛ будет повышен за счет макропролактина. Данные об ассоциациях высокомолекулярного ПРЛ с нарушениями репродуктивной функции противоречивы (Che Soh N. et al., 2020; Al Nuaimi A. et al., 2021). Стоит отметить, что при выполнении эпидемиологических исследований, с целью оценки распространенности ГиперПРЛ любой этиологии и изучения ее ассоциаций с метаболическими показателями, определение уровня макропролактина в большинстве случаев не проводилось. Данные современной литературы свидетельствуют о том, что метаболическим последствиям ГиперПРЛ неопухолевого генеза в течение многих лет не уделяется должного внимания. Для понимания роли ПРЛ в изменении метаболического здоровья у женщин репродуктивного возраста, нужны как клинические, так и популяционные исследования. В настоящее время идет изучение генов, участвующих в секреции и регуляции ПРЛ. Однако большинство этих исследований основываются на конкретных клинических ситуациях (Cai F. et al., 2022).

Цель исследования: изучить эпидемиологические, клинико-генетические аспекты гиперпролактинемии неопухолевого генеза у женщин репродуктивного возраста.

Задачи исследования:

1. Изучить распространенность гиперпролактинемии неопухолевого генеза в популяционной выборке женщин 25-44 лет и провести сравнительный анализ клинико-лабораторных характеристик у женщин с разным уровнем пролактина;
2. Изучить ассоциации уровней ПРЛ с тиреотропным гормоном (ТТГ), заболеваниями щитовидной железы и нарушениями репродуктивной функции у женщин 25-44 лет;
3. Оценить связь пролактина с метаболическими показателями;
4. Изучить спектр вариантов в генах *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у женщин репродуктивного возраста с гиперпролактинемией неопухолевого генеза.

Научная новизна. Впервые в России в рамках эпидемиологического исследования в репрезентативной выборке женщин 25-44 лет определена распространённость ГиперПРЛ неопухолевого генеза, изучены ассоциации разных уровней ПРЛ с антропометрическими параметрами, показателями

липидного и углеводного обменов, ферментами печени, наличием МС. В городской сибирской популяции женщин выявлена высокая частота ГиперПРЛ неопухолевого генеза – 20,0%. В рамках многофакторного логистического регрессионного анализа получено, что шанс наличия ГиперПРЛ у молодых женщин увеличивается при повышении ТТГ на 1 мЕд/мл, при наличии аутоиммунного тиреоидита (АИТ), нарушениях менструального цикла (НМЦ) и снижается при курении в настоящее время. В группе женщин с показателями медианы [25-75 перцентили] ПРЛ 22,9[19,6;28,1] нг/мл выявлены более низкие значения ферментов печени (щелочной фосфатазы (ЩФ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ)), билирубина, липидов крови (общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), окружности талии (ОТ); реже частота абдоминального ожирения (АО), гиперхолестеринемии низкой плотности (гиперХС-ЛПНП), по сравнению с женщинами, имеющими низконормальные значения ПРЛ - 4,4[3,5;5,4] нг/мл. Среди женщин с высоким уровнем ГиперПРЛ неопухолевого генеза 41,3[34,8;48,5] нг/мл, выявлены более высокие показатели индекса массы тела (ИМТ), окружности талии (ОТ), триглицеридов (ТГ) и ферментов печени - ЩФ, гамма-глутамилтрансферазы (ГГТП); выше частота АО, артериальной гипертензии (АГ), МС, по сравнению с женщинами с ПРЛ 20,5[19,8;21,3] нг/мл. Таким образом, установлено, что высокие уровни ГиперПРЛ неопухолевого генеза и низконормальные уровни ПРЛ ассоциированы с ухудшением метаболических показателей у женщин молодого возраста.

Впервые в России описано клиническое наблюдение за пациенткой с синдромом рецидивирующего внутрипеченочного холестаза, развившегося на фоне ГиперПРЛ неопухолевого генеза.

Впервые в России выполнено таргетное высокопроизводительное секвенирование генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у женщин с высокими значениями ПРЛ неопухолевого генеза, по результатам которого не выявлено патологических вариантов в изучаемых генах.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость состоит в определении высокой распространенности ГиперПРЛ неопухолевого генеза и ассоциаций разных уровней ПРЛ с НМЦ, ТТГ, заболеваниями щитовидной железы, метаболическими показателями в репрезентативной выборке женщин молодого возраста. По результатам таргетного высокопроизводительного секвенирования ДНК женщин с высоким уровнем ПРЛ неопухолевого генеза не выявлено патологических вариантов в генах *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*.

Практическая значимость исследования заключается в оценке как репродуктивных, так и метаболических показателей у женщин с разным уровнем ПРЛ. Получены данные о разнице в частоте НМЦ, АО, АГ, гиперХС-ЛПНП, МС у женщин репродуктивного возраста с разным уровнем ПРЛ. Показано, что у женщин с ГиперПРЛ неопухолевого генеза необходимо выявлять не только репродуктивные, но и метаболические нарушения. Полученные результаты клинико-эпидемиологического исследования могут служить исходными данными,

необходимыми при дальнейшем наблюдении за метаболическим здоровьем у женщин молодого возраста с ГиперПРЛ.

Методология и методы исследования. Методология исследования основана на материалах скринингового обследования репрезентативной выборки лиц молодого возраста 25-44 лет г. Новосибирска. Проведено одномоментное, одноцентровое, наблюдательное исследование включающее анализ данных структурированных опросников, первичной медицинской документации, антропометрические измерения, биохимический анализ крови, гормональные и молекулярно-генетическое исследования. Для анализа найденных молекулярно-генетических вариантов использовались существующие данные о клинической значимости аннотированных однонуклеотидных вариантов в базах данных. Возможные функциональные и значимые эффекты вариантов оценивались с помощью инструментов прогнозирования *in silico*. Патогенность вариантов оценивалась в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики и Ассоциации молекулярной патологии. Номенклатура выявленных вариантов приведена согласно рекомендациям Sequence Variant Nomenclature (<http://varnomen.hgvs.org/>).

Положения, выносимые на защиту:

1. В сибирской городской популяции женщин репродуктивного возраста гиперпролактинемия неопухолевого генеза имеет высокую распространенность и связана с нарушениями репродуктивной функции, наличием заболеваний щитовидной железы.

2. У женщин репродуктивного возраста пролактин ассоциирован с показателями метаболического профиля. Высокие уровни пролактина неопухолевого генеза связаны с увеличением частоты МС и его компонентов: абдоминального ожирения, артериальной гипертензии.

3. У женщин с высоким уровнем пролактина неопухолевого генеза не выявлено патологически значимых вариантов в экзонах и прилегающих сайтах сплайсинга генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* по результатам таргетного высокопроизводительного секвенирования.

Степень достоверности результатов исследования. Достоверность полученных результатов обусловлена достаточным количеством обследованных женщин (n=400). Стандартизированные методы исследования, лабораторные исследования с контролем качества являются свидетельством достоверности результатов, выводов и рекомендаций, сформулированных в диссертационной работе. Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ SPSS (v.13) и включала современные методы анализа, адекватные поставленным целям и задачам.

Апробация результатов исследования. Основные результаты диссертационного исследования представлены и обсуждены на: II Всероссийском эндокринологическом конгрессе с международным участием, Санкт-Петербург, 2017 г; 5-й конференции Европейской ассоциации нейроэндокринологов «Гиперпролактинемия и другие эндокринные причины нарушения фертильности», Санкт-Петербург, 2017 г; II Всероссийской конференции Молодых терапевтов, Москва, 2018 г; Конгрессе эндокринологов СФО,

Новосибирск, 2018 г; 34th World Congress of Internal Medicine (WCIM), Кейптаун, ЮАР, 2018 г; 18th International Congress of Endocrinology, Кейптаун, ЮАР, 2018 г; III Всероссийской конференции Молодых терапевтов, Москва, 2019 г; Российский национальный конгресс кардиологов, Москва, 2018 г; Medical & Clinical Case Reports, Дубай, 2018 г; IV Международном конгрессе Новые технологии в акушерстве, гинекологии, перинатологии и репродуктивной медицине, Новосибирск, 2019 г; Конференции с международным участием Фундаментальные исследования в эндокринологии: современная стратегия развития и технологии персонализированной медицины, Новосибирск, 2020 г; V Международном конгрессе Новые технологии в акушерстве, гинекологии и репродуктивной медицине, Новосибирск, 2021 г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ: 4 статьи в центральных российских журналах, рекомендованных Перечнем Высшей аттестационной комиссии Российской Федерации, из них 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования Scopus.

Объем и структура диссертации. Диссертационная работа изложена на 140 страницах и состоит из введения; четырех глав основного текста (обзор литературы, материалы и методы, результаты, обсуждение), заключения, выводов, практических рекомендаций; представлен список сокращений и условных обозначений, список литературы, включающий 182 источника (из них 26 – отечественных и 156 – зарубежных). Работа содержит 29 таблиц и 9 рисунков.

Личный вклад автора состоял в сборе первичного материала: участие в обследовании случайной популяционной выборки молодых жителей г. Новосибирска, проводимом на базе НИИТПМ - филиал ИЦиГ СО РАН. Сформировала подгруппу женщин с высоким уровнем пролактина для проведения молекулярно-генетического исследования. Автором создана электронная база данных, осуществлён анализ и научная интерпретация полученных результатов. Статистическая обработка материалов проведена под руководством профессионального математика. В соавторстве были написаны и опубликованы печатные работы в журналах, рекомендованных перечнем ВАК, в которых отражены основные результаты исследовательской работы.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в Научно-исследовательском институте терапии и профилактической медицины – филиал Федерального исследовательского центра Института цитологии и генетики СО РАН, в рамках бюджетной темы по Государственному заданию № 0324-2018-0001 «Эпидемиологический мониторинг состояния здоровья населения и изучение молекулярно-генетических и молекулярно-биологических механизмов развития распространенных терапевтических заболеваний в Сибири для совершенствования подходов к их диагностике, профилактике и лечению». Исследование одобрено локальным этическим комитетом НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН протокол N 10 от 25.02.2014г. Перед началом исследования все участники подписали информированное согласие.

Для построения выборки лиц 25–44 лет использовалась база Территориального фонда ОМС. Скрининговое обследование прошли 1512 человек (в т.ч. 840 женщин). Для проведения исследования по изучению клинических, гормонально-метаболических и молекулярно-генетических аспектов ГиперПРЛ неопухолевого генеза у женщин репродуктивного возраста сформирована простая случайная подвыборка из 416 женщин (с помощью генератора случайных чисел). Критерии включения: женщины 25-44 лет. Критерии исключения: беременные, осуществляющие грудное вскармливание, наличие аденомы гипофиза, декомпенсированное течение заболеваний печени. После оценки критериев включения и исключения, в исследование были включены данные 400 женщин.

Дизайн исследования проведено одномоментное, одноцентровое, наблюдательное исследование (рисунок 1).

В репрезентативной выборке молодых женщин изучена распространенность ГиперПРЛ и ассоциации ПРЛ с ТТГ, заболеваниями щитовидной железы и НМЦ.

Для анализа ассоциаций ПРЛ с метаболическими показателями из базы данных были исключены женщины с уровнем ТТГ ниже 0,4 и выше 6,1 мЕ/мл, т.е. исключены возможные декомпенсированные состояния гипо- и гипертиреоза.

Обследованные женщины заполняли опросник по табакокурению, собрана информация о наличии АГ, заболеваний щитовидной железы, перенесенных оперативных вмешательствах на органах эндокринной системы, наличии/отсутствии менструаций, характеристика менструального цикла: регулярность, продолжительность; количество беременностей и родов.

Антропометрическое обследование включало в себя измерение ОТ, выполнено с точностью до 0,1 см с использованием неупругой ленты на расстоянии между нижним ребром и гребнем подвздошной кости в горизонтальной плоскости, стоя с равномерно распределенным весом на обеих ногах. Массу тела определяли без верхней одежды и обуви, на стандартных рычажных весах, прошедших метрологический контроль (точность измерения составляла 0,1 кг). ИМТ рассчитывали по формуле: M/L^2 , где: М – масса тела в килограммах; L – рост, измеренный в метрах и возведенный в квадрат. Артериальное давление (АД) измерялось три раза на правой руке в положении сидя с помощью цифрового монитора АД (Omron Corporation, Япония). Интервал между показаниями составлял 2 минуты. В анализ включался средний результат трех измерений. Забор крови происходил из локтевой вены вакутейнером натошак с 12-часовым перерывом после приема пищи, в состоянии психоэмоционального спокойствия. После центрифугирования сыворотку хранили в низкотемпературной камере (-70°C). Лабораторные методы исследования включали в себя биохимический анализ крови (определение ОХС, ТГ, ХС-ЛПВП, глюкозы плазмы натошак (ГПН), - АЛТ, АСТ, ЩФ, ГГТП, общего и прямого билирубина; определены ПРЛ и ТТГ. Гормональное и биохимическое исследование крови выполнено в лаборатории клинических биохимических и гормональных исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ — филиала ИЦиГ СО РАН. Уровни ПРЛ и ТТГ определены методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-систем Thyrotropin и Prolactin Hormone, (Elisa,

Monobind Inc., США) на ИФА-анализаторе Multiscan EX (Финляндия). За референсные значения принимались показатели, указанные в инструкциях к наборам: ТТГ 0,4-6,1 мЕ/мл, НПРЛ 1,2-19,5 нг/мл. ГиперПРЛ – показатели ПРЛ >19,5 нг/мл. Метаболические показатели оценивались в квартилях ПРЛ: во всей выборке; в группе НПРЛ; в группе ГиперПРЛ. Биохимические показатели (ОХС, ХС-ЛПВП, ТГ, ГПН) определены энзиматическим методом; АЛТ, АСТ, ГГТП, ЩФ - кинетическим методом на автоматическом анализаторе KonelabPrime 30i фирмы Thermo Fisher Scientific, Финляндия, с использованием коммерческих наборов Konelab, Финляндия. Общий билирубин - методом конечная точка с солью п-нитробензодиазония; прямой билирубин - методом конечная точка с диазотированной сульфаниловой кислотой. За референсные значения принимались показатели, указанные в инструкциях к использованным наборам: ГПН 4,1-6,1 ммоль/л, ОХС <5,0 ммоль/л, ХС-ЛПВП >1,2 ммоль/л, ХС-ЛПНП <3,0 ммоль/л, ТГ <1,7 ммоль/л, АЛТ <34 Ед/л, АСТ <31 Ед/л, ЩФ 60-275 Ед/л, ГГТП <38 Ед/л, билирубин общий 8-20,5 ммоль/л, билирубин прямой 0,5-5 ммоль/л. ХС-ЛПНП рассчитан по формуле Фридвальда: $\text{ХС-ЛПНП (мг/дл)} = \text{ОХС} - \text{ХС ЛВП} - \text{ТГ}/5$. Перерасчет глюкозы сыворотки крови в глюкозу плазмы осуществлялся по формуле (Sacks D.V. et al., 2005): $\text{глюкоза плазмы (ммоль/л)} = -0,137 + 1,047 \times \text{глюкоза сыворотки (ммоль/л)}$. Индекс триглицериды/глюкоза (индексTyG) рассчитывался по формуле: $\text{Ln} [\text{ТГ (мг/дл)} \times \text{ГПН (мг/дл)}/2]$ (Simental-Mendía L. Et al., 2008). Наличие МС устанавливалось на основании критериев американского руководства NCEP АТР III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III, 2001), Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК, 2009, второй пересмотр). NCEP АТР III (2001) — три и более из нижеперечисленных компонентов: ОТ более 88 см у женщин, АД $\geq 130/85$ мм рт. ст., ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л, ХС-ЛПВП <1,3 ммоль/л у женщин, глюкоза плазмы натощак (ГПН) $\geq 6,1$ ммоль/л. ВНОК (2009) — ОТ больше 80 см у женщин плюс наличие двух из следующих критериев: АД $\geq 130/85$ мм рт. ст., ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л, ХС-ЛПВП <1,2 ммоль/л у женщин, ХС-ЛПНП >3,0 ммоль/л, ГПН $\geq 6,1$ ммоль/л.

Для таргетного высокопроизводительного секвенирования с помощью метода случайных чисел были отобраны 15 женщин с ГиперПРЛ с медианой ПРЛ 41,3 [34,7;45,8] нг/мл, что составило 20,2% от числа женщин с ГиперПРЛ. Исследование выполнено в лаборатории «Сектор изучения моногенных форм распространённых заболеваний человека ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН». Таргетная панель генов включала кодирующие области и прилегающие сайты сплайсинга 3 генов: *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*. Таргетное высокопроизводительное секвенирование (NGS) проведено с использованием зондов со строгой специфичностью NimbleGen SeqCap Target Enrichment (Roche, Basel, Switzerland) на секвенаторе MiSeq (Illumina, USA). Для выделения ДНК из крови использовали метод фенол-хлороформной экстракции. Качество извлеченной ДНК оценено с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Tec.Inc.USA). Использована стандартная высокомолекулярная ДНК в количестве 1 мкг для каждого пациента, ОП260/280 не менее 1,8. Анализ данных включал картирование данных на геном человека версии GRCh38 с помощью программы Burrow–Wheeler Alignment tool (BWA v.0.7.17). Поиск полиморфизмов проведён в

пакете GATK с использованием процедуры локального перекартирования коротких инсерций/делетий и рекалибровки качества чтений. Функциональные эффекты вариантов оценивались dbNSFP (<https://sites.google.com/site/jpopgen/dbNSFP>), объединяя данные из инструментов прогнозирования in silico: SIFT (<http://sift.jcvi.org/>), Polyphen2 v2.2.5 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/dokuwiki/about>), MutationTaster2 (<http://www.mutationtaster.org/>), PROVEAN (<http://provean.jcvi.org/index.php>). Интерпретация данных проведена в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики (S. Richards et al. 2015). Проведен анализ выявленных вариантов в исследуемых генах с использованием ресурсов <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>, HGMD (<https://doi.org/10.1002/humu.10212>), LOVD (I.F. Fokkema et al. 2011); 1000 genomes (<http://www.internationalgenome.org/>) и gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org/>). Редкие варианты были подтверждены прямым автоматическим секвенированием по Сэнгеру на секвенаторе ДНК ABI 3500 (Thermo Fisher Scientific, США). Дизайн праймеров для выбранных SNV был выполнен в программе Primer-Blast. Продукты ПЦР секвенировали с помощью набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Последовательности анализировали с использованием программного обеспечения Chromas и Vector NTI® Advance (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистическую обработку результатов проводили в программе SPSS for Windows (v.13), проведена автоматизированная проверка базы данных. Объём подвыборки просчитан по формуле $N = 15,4x(px(1-p))/W^2$ (Bland JM, 2000), где p – частота изучаемого признака; W – величина, определяющая границы доверительного интервала. По этой формуле минимальный объём изучаемой подвыборки молодых женщин составил 246 человек. Проведена процедура формирования выборки для исследования путем генерации случайных чисел. Характер распределения непрерывных показателей оценивался с помощью гистограммы распределения признака, а также тестом Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении количественного признака результаты представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, SD – стандартное отклонение. Для количественных признаков с ненормальным распределением использовали Me -медиану и [25-75 перцентили]. Сравнение двух независимых групп по количественным признакам с ненормальным распределением произведено с помощью непараметрического критерия Манна-Уитни, с нормальным распределением применяли параметрические методы (t -критерий Стьюдента). При сравнении трех и более независимых групп использовался метод непараметрической статистики – критерий Краскела-Уоллиса. Для описания качественных признаков данные представлены как абсолютные (n) и относительные величины (%). Долевое различие признаков вычислялось с помощью критерия χ^2 Пирсона. Проводился поиск статистических взаимосвязей между изучаемыми показателями путем расчета коэффициентов корреляции Спирмена (r). С применением многофакторного логистического регрессионного анализа проведён расчёт отношения шансов (ОШ) наличия ГиперПРЛ. Различия рассматривали как статистически значимые при $p < 0,05$.

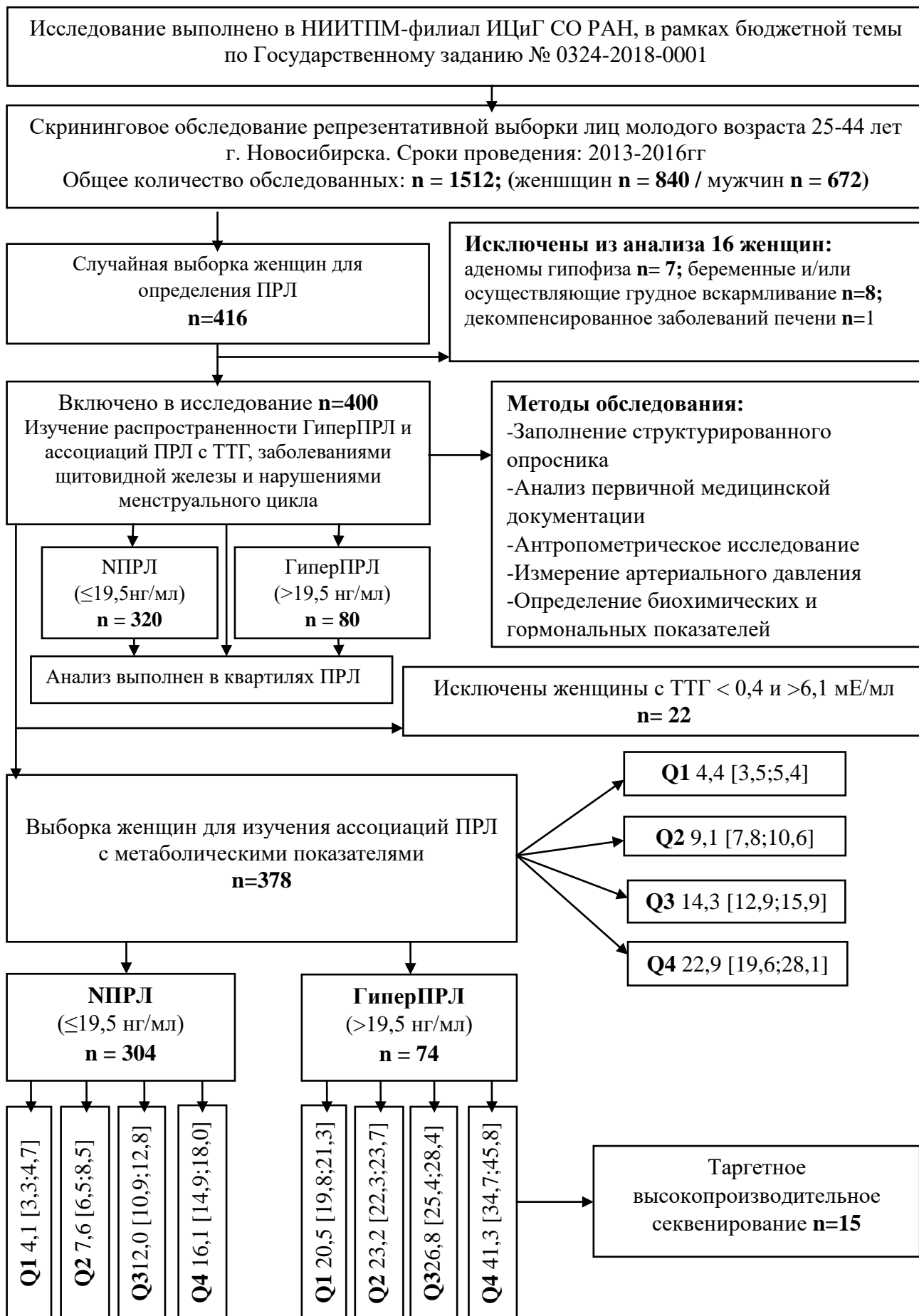


Рисунок 1 - Схема формирования выборки и дизайн исследования

Результаты исследования и их обсуждение

Распространенность ГиперПРЛ неопухолевого генеза. Средний возраст обследованных женщин $36,1 \pm 6,2$ лет, медиана ПРЛ $11,9 [6,6; 17,8]$ нг/мл. В качестве референсных значений использованы показатели НПРЛ в диапазоне 1,2-19,5 нг/мл. Показатели ПРЛ более 19,5 нг/мл выявлены у 80 (20,0%) женщин 25-44 лет. Полученные нами данные по распространенности ГиперПРЛ неопухолевого генеза сопоставимы с результатами исследований Soto-Pedre E et al., 2016, Saejong R., et al., 2013 - 15% и 37,1%.

По данным опроса женщины с ГиперПРЛ чаще указывали на НМЦ $41,3$ vs $12,8\%$, и наличие АИТ $11,3$ и $5,0\%$, однако реже курили в настоящее время $13,8$ vs $29,0\%$ (рисунок 2).

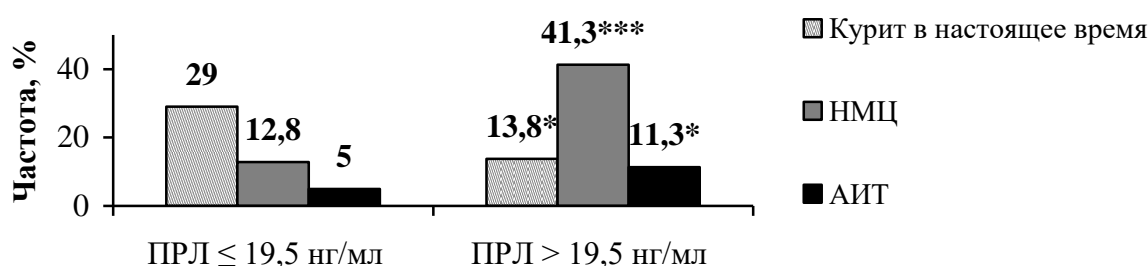


Рисунок 2 – Частота НМЦ, АИТ и табакокурения в настоящее время в группах женщин с разным уровнем пролактина (* $p_{\text{курение в настоящее время}}=0,020$; *** $p_{\text{НМЦ}}<0,001$; * $p_{\text{АИТ}}=0,039$).

У женщин с ГиперПРЛ определены более низкие значения медиан АСТ $18,0 [16,0; 21,3]$ vs $21,0 [18,0; 23,0]$ Ед/л, $p<0,001$, АЛТ $14,0 [14,0; 15,0]$ vs $15,0 [14,0; 17,0]$ Ед/л, $p<0,001$, ЩФ $139,3 \pm 39,2$ vs $126,6 \pm 40,3$ Ед/л, $p<0,035$, общего билирубина $5,3 [4,2; 7,5]$ vs $6,4 [4,5; 8,9]$ ммоль/л, $p<0,016$, по отношению к аналогичным показателям у женщин с НПРЛ.

Выполнен анализ корреляционных связей (корреляции r-Спирмена) ПРЛ с ТТГ и биохимическими показателями сыворотки крови: АЛТ, АСТ, ГГПТ, ЩФ, билирубином, липидным профилем, ГПН в группе женщин с НПРЛ и с ГиперПРЛ. В первой группе выявлена слабая отрицательная корреляционная связь ПРЛ с АЛТ, АСТ, билирубином и положительная с ТТГ. В группе с ГиперПРЛ - положительная связь с ТГ (таблица 1).

Таблица 1 – Корреляционные связи ПРЛ с изучаемыми показателями

Показатели	Женщины 25-44 лет			
	НПРЛ (n=320)		ГиперПРЛ (n=80)	
	r	p	r	p
АЛТ	-0,182	<0,001	0,171	0,145
АСТ	-0,182	<0,001	0,134	0,257
Общий билирубин	-0,236	<0,001	-0,118	0,315
Прямой билирубин	-0,182	<0,001	-0,016	0,892
ТТГ	0,100	<0,001	0,052	0,646
ТГ	-0,059	0,252	0,244	0,032

Ассоциации показателей ПРЛ с ТТГ, заболеваниями щитовидной железы и нарушениями менструального цикла. Изучены показатели медианы ТТГ в квартилях ПРЛ (таблица 2): в Q4 уровень ТТГ выше, чем в Q1, $p = 0,011$. Определена тенденция к повышению значений ТТГ между всеми группами (по методу Н-критерия Краскела-Уоллиса, $\chi^2=6,91$, $p=0,075$, несмотря на значительный рост медианы ПРЛ от первого квартиля к четвертому (4,4 [3,4;5,4] – 23,4 [19,8;29,0] нг/мл). Частота НМЦ выше у женщин с медианой ПРЛ в Q4, чем в Q1: 34,7% vs 9,1%, $p < 0,001$.

Таблица 2 – Показатели ТТГ и частота нарушений менструального цикла в репрезентативной выборке женщин 25-44 лет с разным уровнем пролактина

Показатели	Квартили пролактина, Ме [25,75], нг/мл				p
	Q1 (n = 100)	Q2 (n = 100)	Q3 (n = 100)	Q4 (n = 100)	
	4,4 [3,4;5,4]	9,1 [7,7;10,5]	14,3 [12,9;15,9]	23,4 [19,8;29,0]	
ТТГ, мЕ/мл	1,4 [0,9;1,9]*	1,4[0,9;2,0]	1,4[0,97;2,22]	1,6 [1,1;2,8]*	0,075
НМЦ, n/%	9 из 99 9,1%	12 из 94 12,8%	19 из 98 19,4%	34 из 98 34,7%***	0,001

Р – статистическая значимость различия показателей между всеми группами (Краскела-Уоллиса)
 * $p_{\text{ТТГ}}=0,011$ уровень статистической значимости между Q1 и Q4 (критерий Манн-Уитни)
 *** $p_{\text{НМЦ}} < 0,001$ уровень статистической значимости между Q1 и Q4 (критерий χ^2)

В группах женщин с ГиперПРЛ не получено статистически значимой разницы показателей ТТГ между всеми группами (Краскела-Уоллеса), $\chi^2=1,10$, $p=0,777$; в частоте НМЦ $\chi^2=3,043$, $p=0,385$ (таблица 3). Однако обращает внимание высокая частота НМЦ у женщин с ГиперПРЛ от 30,0 до 55,0% по сравнению с женщинами с референсными значениями ПРЛ от 8,9 до 19,5%.

Таблица 3 – Показатели ТТГ и частота нарушений менструального цикла у женщин с ГиперПРЛ

Показатели	Квартили пролактина, Ме [25,75], нг/мл				p
	Q1 (n = 20)	Q2 (n = 20)	Q3 (n = 20)	Q4 (n = 20)	
	20,5[19,8;21,3]	23,4[22,5;23,8]	27,1[25,7;29,0]	41,3[34,8;48,5]	
ТТГ, мЕ/мл.	1,50[1,1;2,8]	1,41[1,0;2,4]	1,76[1,1;3,4]	1,45[0,6;3,2]	0,777
НМЦ, n/%	11/55,0%	9/45,0%	6/30,0%	7/35,0%	0,385

Выявлена слабая положительная корреляционная связь ПРЛ с НМЦ $r=0,230$, $p=0,001$; ПРЛ с ТТГ $r=0,100$, $p=0,046$.

Среди женщин с НМЦ выявлены более высокие показатели медианы ПРЛ 15,9[10,5;22,8] нг/мл, чем у женщин без НМЦ - 10,9[5,9;16,2] нг/мл, $p=0,001$. Повышенный уровень ПРЛ обнаружен у 43,2 %, что в 3 раза выше, чем у женщин без НМЦ - 14,9%, $p=0,001$.

Проведен многофакторный логистический регрессионный анализ, в качестве зависимой переменной взят дихотомический показатель ПРЛ $\geq 19,5$ vs $< 19,5$ нг/мл, в качестве независимых переменных - ТТГ, АЛТ, АСТ, ЩФ, ГГТП, наличие/отсутствие: АИТ, НМЦ, гипоХС-ЛПВП, табакокурение в настоящее время. Получено, что шанс наличия ГиперПРЛ увеличивается при повышении ТТГ на 1 мЕд/мл ОШ=1,226 (95% ДИ: 1,010–1,525), при наличии АИТ ОШ=8,594 (95% ДИ: 3,738–19,756), НМЦ ОШ=4,343 (95% ДИ: 2,196–8,588) и снижается при повышении ЩФ на 1 Ед/мл ОШ=0,989 (95% ДИ: 0,980–0,999) и курении в настоящее время ОШ=0,354 (95% ДИ: 0,143-0,872) (рисунок 3).

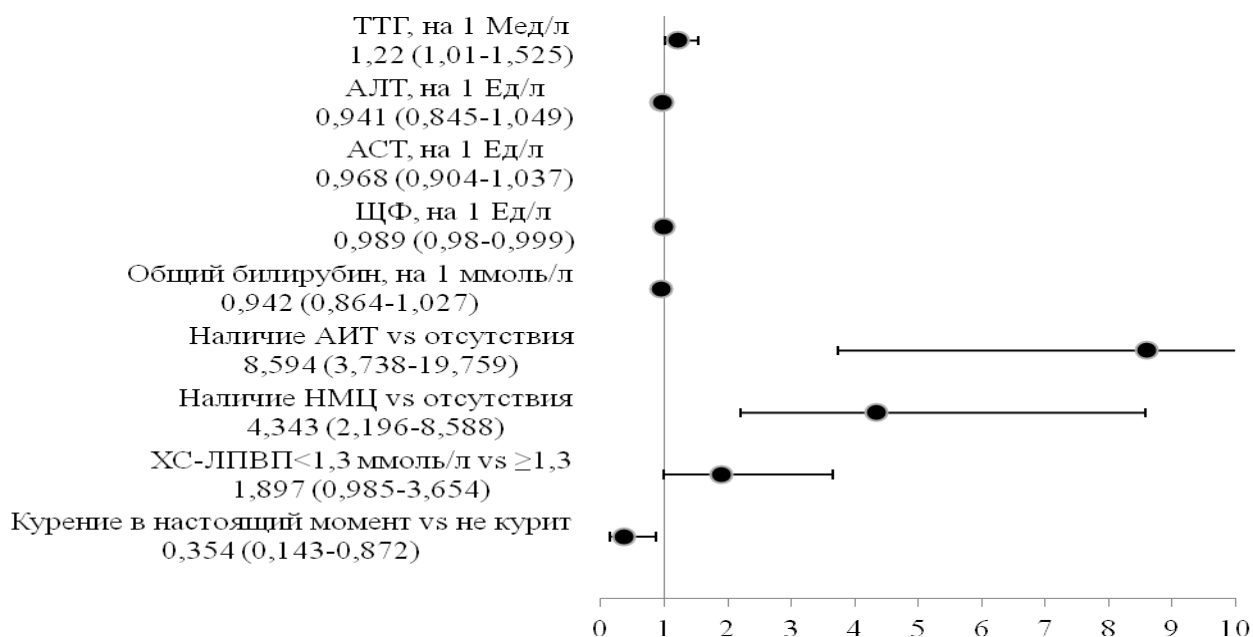


Рисунок 3 – Результаты многофакторного логистического регрессионного анализа связи изучаемых параметров с шансом наличия ГиперПРЛ

Предложено несколько механизмов повышения уровня ПРЛ при первичном гипотиреозе, один из них - повышение секреции тиреолиберина, усиливающего высвобождение не только ТТГ, но и ПРЛ (Seri O. et all, 2003). По данным литературы, ГиперПРЛ часто встречается при аутоиммунных заболеваниях. Данные о корреляции между ПРЛ и активностью аутоиммунных заболеваний противоречивы. ПРЛ оказывает разнообразные эффекты на иммунную систему, стимулируя и активируя различные иммунокомпетентные клетки, ингибируя апоптоз и увеличивая продукцию антител. (Yu-Lee L.Y. et all, 2002, Hedi Orbach , Yehuda Shoefeld, 2007). В работах Glinborg D. и соавт. (2012), Xirofotos D. с соавт. (2016) было показано, что курение снижает уровень ПРЛ в сыворотке крови у женщин с синдромом поликистозных яичников.

Анализ метаболических показателей при разных уровнях пролактина у женщин 25-44 лет. Для анализа ассоциации ПРЛ с метаболическими показателями из базы данных были исключены женщины с уровнем ТТГ ниже 0,4 и выше 6,1 мЕ/мл, т.е. исключены возможные декомпенсированные состояния гипо- и гипертиреоза, так как они могут вносить свой вклад в развитие метаболических нарушений. Размер репрезентативной выборки женщин составил

378 человек, из них с ГиперПРЛ было 74. Изучены биохимические показатели крови, АД, ОТ и ИМТ в квартилях ПРЛ всей выборки женщин. Женщины с ПРЛ в Q4 22,9 [19,6;28,1] нг/мл, по сравнению с Q1 4,4[3,5;5,4] нг/мл, имели ниже показатели ОХС, ХС-ЛПНП, ЩФ, общего и прямого билирубина, АЛТ, АСТ и ОТ; тенденцию к снижению ИМТ ($p=0,063$) (рисунок 4).

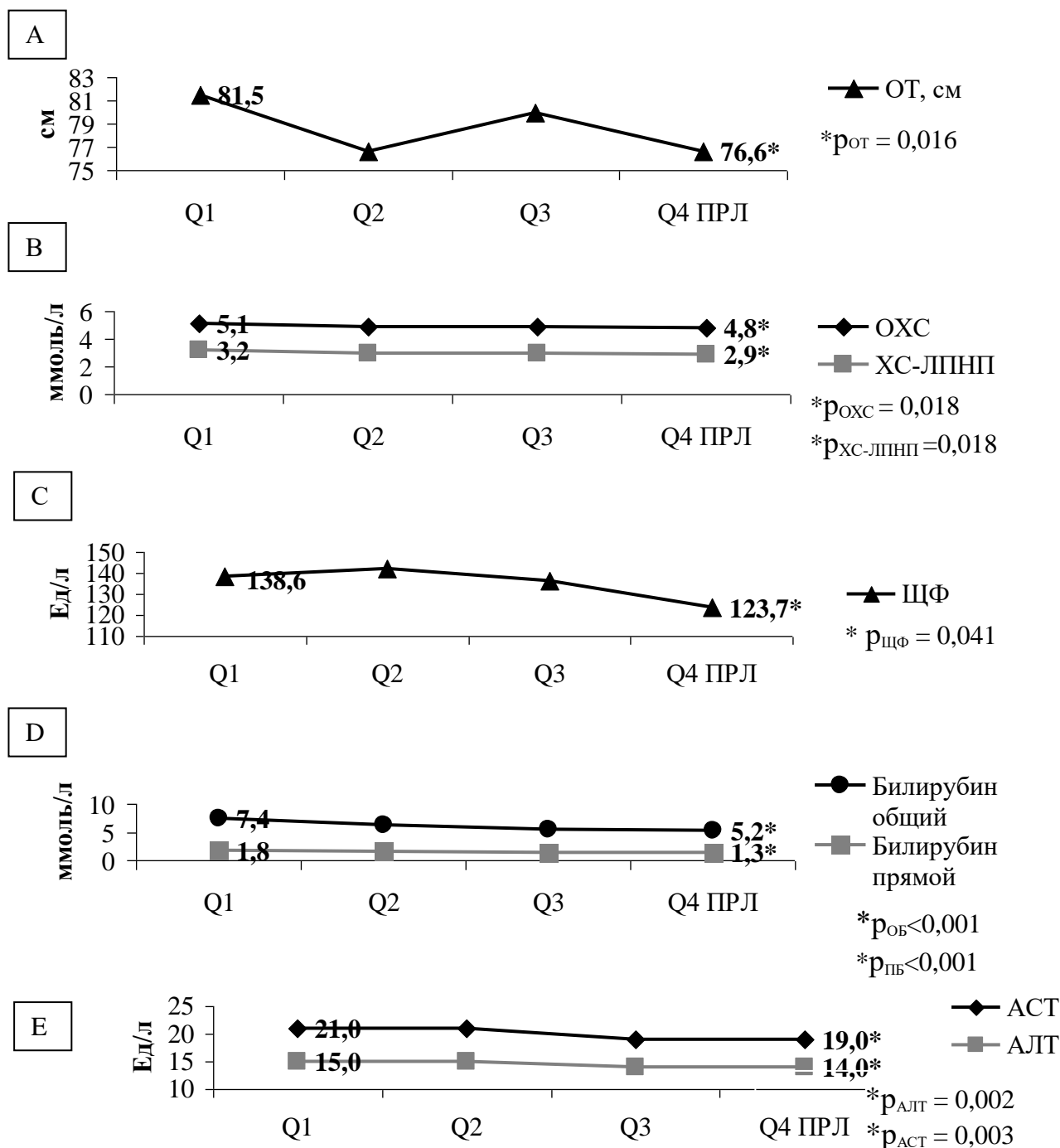


Рисунок 4 – Показатели ОТ (А), ОХС, ХС-ЛПНП (В), ЩФ (С), билирубина (D), АСТ и АЛТ (Е) в репрезентативной выборке молодых женщин

При анализе изучаемых метаболических параметров у женщин с НПРЛ (в пределах референсных значений), так же определены более низкие показатели ОХС; ХС-ЛПНП, билирубина (общего и прямого) в Q4 НПРЛ, где Me 16,1[14,9;18,0] нг/мл, чем в Q1 с Me 4,1[3,3;4,7] нг/мл; ТГ имеют тенденцию к снижению, $p_{TG}=0,057$ (рисунок 5).

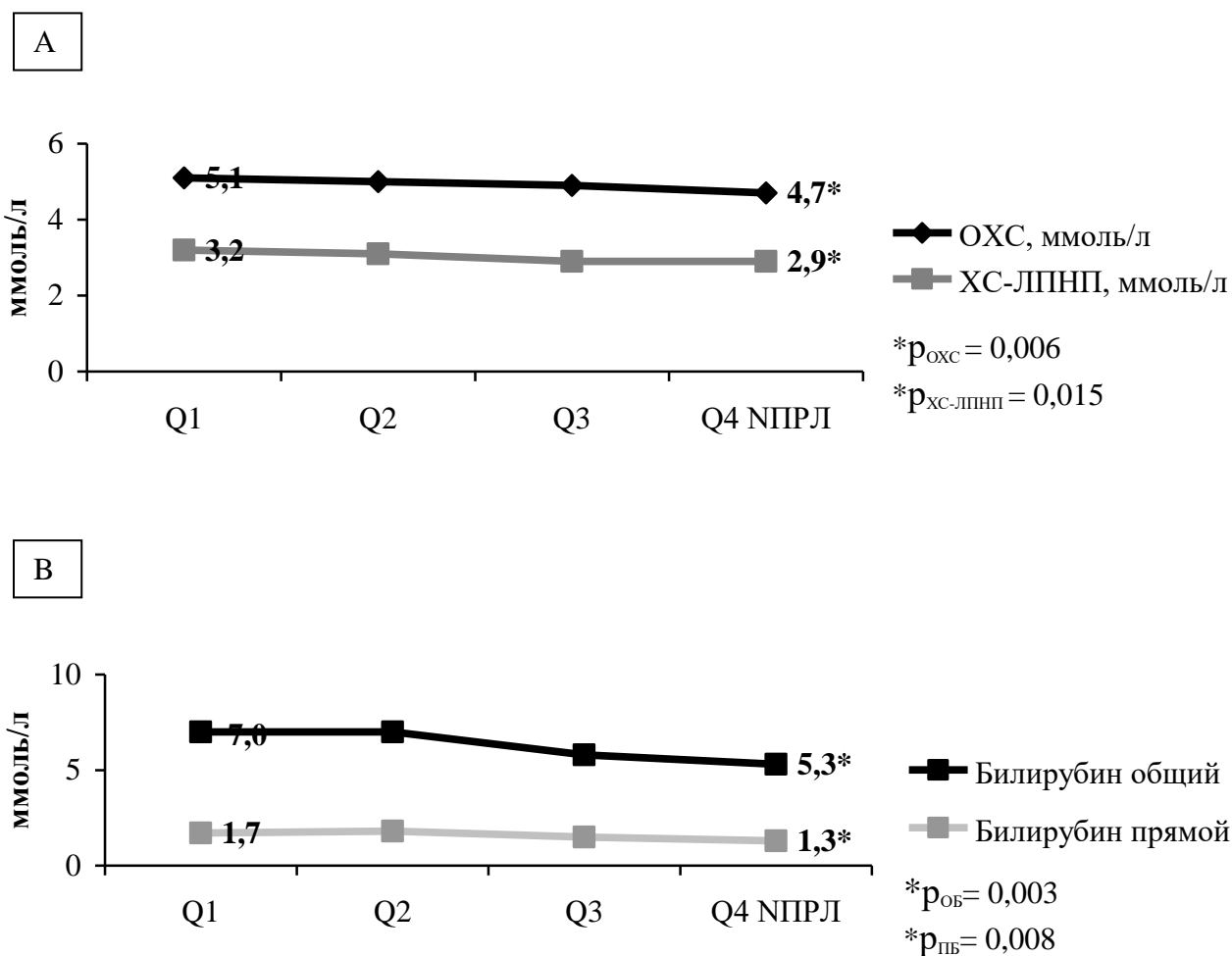
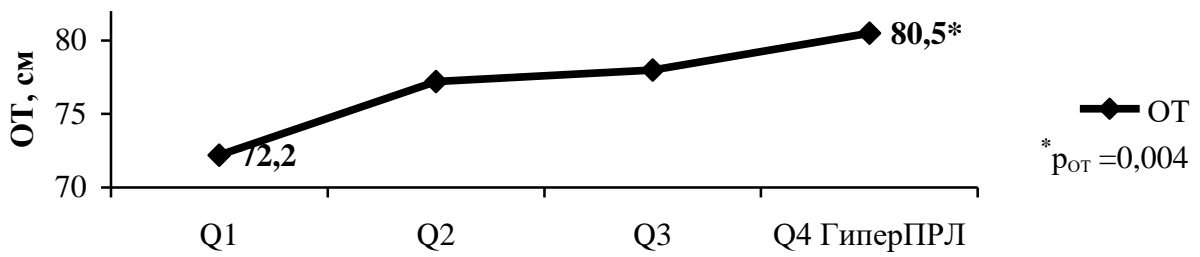


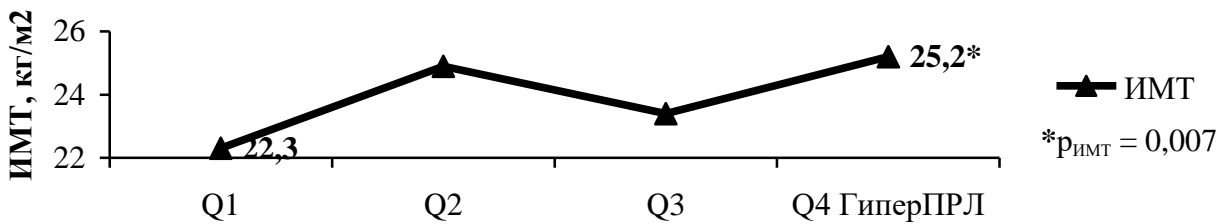
Рисунок 5 – Показатели ОХС, ХС-ЛПНП; (А) и билирубина (В) в репрезентативной выборке молодых женщин с уровнем пролактина в пределах референсных значений

При анализе изучаемых параметров у женщин с ГиперПРЛ (более 19,5 нг/мл), отмечается увеличение значений ИМТ, ОТ, ТГ, ферментов печени от Q1 к Q4, где высокие значения ПРЛ (Me 41,3 [34,7;45,8] нг/мл); САД и индекс ТyG имеют тенденцию к повышению, $p_{САД}=0,055$, $p_{ИТyG}=0,057$ (рисунок 6).

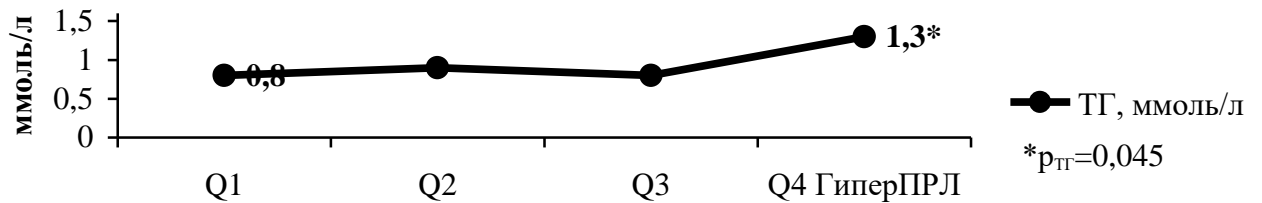
A



B



C



D

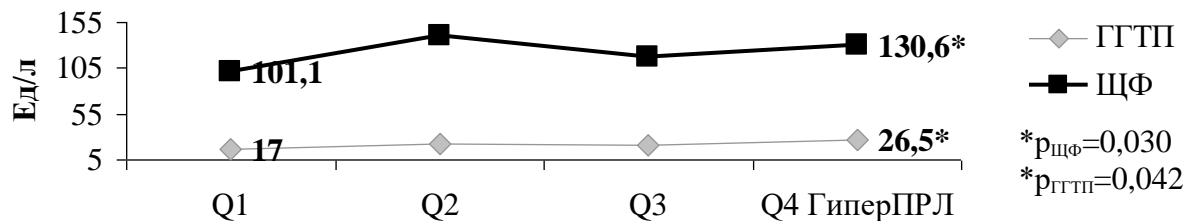


Рисунок 6 – Показатели ОТ (А), ИМТ (В) ТГ (С), ЩФ и ГГТП (D) в квартилях ГиперПРЛ

Таким образом, у женщин с медианой ПРЛ 22,9 [19,6;28,1] нг/мл выявлены более низкие значения ферментов печени (ЩФ, АЛТ, АСТ), билирубина, липидов крови (ОХС, ХС-ЛПНП), ОТ по сравнению с женщинами, имеющими низконормальные значения ПРЛ (Me=4,4 [3,5;5,4] нг/мл). Среди женщин с ГиперПРЛ неопухолевого генеза, с медианой ПРЛ 41,3[34,8;48,5] нг/мл, по

сравнению с женщинами с медианой ПРЛ 20,5[19,8;21,3] нг/мл выявлены более высокие показатели ИМТ, ОТ, ТГ и ферментов печени - ЩФ, ГГТП.

Несмотря на то, что показатели липидов крови при разном уровне ПРЛ у молодых женщин находятся в пределах рекомендуемых норм, полученные данные обуславливают проведения дальнейшей оценки ассоциаций ПРЛ с липидным спектром и развитием ССЗ в долгосрочной перспективе.

Частота метаболического синдрома и его отдельных компонентов у женщин 25–44 лет в зависимости от уровня пролактина. Недавние исследования показали, что уровни ПРЛ в пределах или выше референсного диапазона по-разному связаны с МС (Ponce A. et al., 2020). Выполнен анализ частот дефиниций МС и МС в квартилях ПРЛ.

В квартилях ПРЛ всей репрезентативной выборки женщин 25-44 лет не получено разницы в частоте МС, АГ, гипергликемии, гипертриглицеридемии. Однако, у женщин в Q4 ПРЛ 22,9 [19,6;28,1] нг/мл ниже частота АО: 35,7 vs 55,3%, $p=0,007$; гиперХС-ЛПНП 46,3 vs 60,6% $p=0,049$, по сравнению с женщинами, имеющими низконормальные значения ПРЛ (Ме=4,4 [3,5;5,4] нг/мл). Напротив, увеличение ПРЛ ассоциируется с увеличением частоты гипоХС-ЛПВП: Q2 vs Q4: 15,9 vs 31,5%, $p=0,011$.

При анализе частоты компонентов МС у женщин с НПРЛ (в диапазоне референсных значений) наименьший процент АГ выявлен в Q4 - при значениях ПРЛ 16,1[14,9;18,0] нг/мл.

Среди женщин с ГиперПРЛ неопухолевого генеза, имеющих медиану ПРЛ 41,3[34,8;48,5] нг/мл - Q4, по сравнению с женщинами с медианой ПРЛ 20,5[19,8;21,3] нг/мл – Q1 выше частота АО 55,5 vs 22,2%, АГ 38,8 vs 5,5%; МС 44,4 и 38,8% vs 5,5 и 5,5%, по разным классификациям.

На рисунке 7 представлена частота МС в Q1 и Q4 ГиперПРЛ имеющая статистически значимое различие.

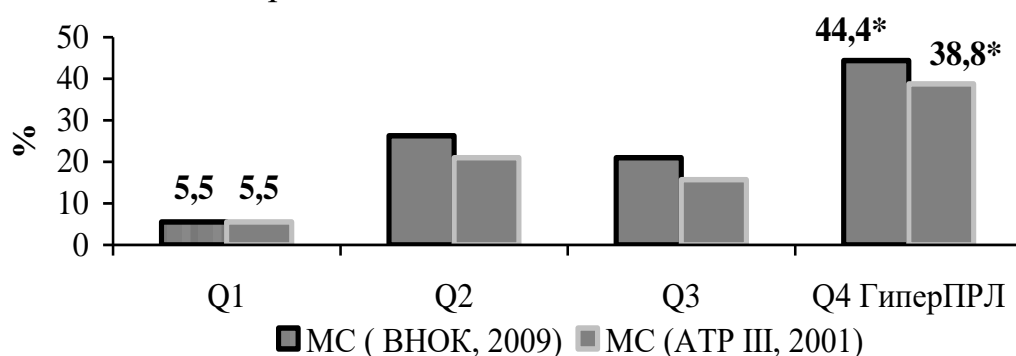


Рисунок 7 – Частота МС в квартилях ГиперПРЛ * $p_{МС по ВНОК,2009} = 0,010$;
* $p_{МС по NCEP АТР III} = 0,021$ уровень статистической значимости между Q1 и Q4

Таким образом, женщины с ГиперПРЛ, по сравнению с женщинами с референсными значениями ПРЛ, в 3 раза чаще имели нарушения менструального цикла, в 2 раза - наличие АИТ. Однако ухудшение метаболических показателей - более высокие значения ИМТ, ОТ, увеличение частоты АО, АГ, МС обнаружены у женщин с наиболее высокими значениями ПРЛ 41,3[34,8;48,5] нг/мл.

Полученные нами данные о эффектах ПРЛ на метаболические показатели согласуются с недавними исследованиями выполненными на других популяциях (Manshaei N. et al., 2019; Macotela Y. et al., 2020). В целом, хотя ПРЛ не играет определяющей роли в регуляции обмена веществ и массы тела вне периода беременности и лактации, он определенно имеет ассоциации с метаболическими показателями у женщин молодого возраста. Наиболее вероятно, что ГиперПРЛ вмешивается в патогенетический процесс развития липидных нарушений и ожирения, МС.

Результаты молекулярно-генетического исследования вариантов генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*. В настоящее время изучается генетическая составляющая нарушений секреции и метаболизма гормонов человека, в том числе идет поиск мутаций в генах, участвующих в секреции и регуляции ПРЛ. В доступной литературе представлены результаты молекулярно-генетических исследований, которые основываются на конкретных клинических случаях (Cai F. et al., 2022). Исследовательских работ по изучению вариантов в генах, участвующих в секреции и регуляции ПРЛ у женщин с ГиперПРЛ неопухолевого генеза в доступных базах данных нам не встретились.

Проведено таргетное высокопроизводительное секвенирование ДНК женщин с максимально высоким уровнем ПРЛ из обследованной выборки. При анализе генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* был определен ряд редких и распространенных вариантов. В гене *PRL* выявлен распространенный вариант rs1205955 (MAF A=0,279). Для гена *PRLR* определен редкий вариант rs185353023 в 3'UTR (MAF A/C=0,003) и 12 распространенных вариантов, для гена *PRLR* определены 10 распространенных вариантов (таблица 4). Максимальное количество вариантов было локализовано в области 3'UTR и интронах.

Таблица 4 – Результаты таргетного высокопроизводительного секвенирования ДНК женщин с высоким уровнем пролактина (n=15)

SNP	Локализация	Intron Variant	Частота (1000G)	Клиническая значимость
rs1205955	chr6:22292747 (GRCh38.p13)	NM_000948.6:c.205-102T>G	A=0.2602	Нет данных
rs146973753	chr5:35056614 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35056719C>T	T=0.0080	Нет данных
rs11376531	chr5:35058561-35058563 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35058667dup	AAA=0.000	Нет данных
rs2047741	chr5:35152953 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35153055G>A	G=0.2270	Нет данных
rs5867271	chr5:35195645-35195646 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35195645_35195646insC	--=0.2045	Нет данных
rs3978089	chr4:131734572 (GRCh38.p13)	NC_000004.11:g.132655727T>A	Нет данных	Нет данных
rs202073248	chr5:35062571-35062576 (GRCh38.p13)	NC_000005.9:g.35062678del	--=0.0357	Нет данных

rs1010119	chr5:35063015 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35063015T>C	C=0.1040	Нет данных
rs1057829	chr5:35064358 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35064358G>C	C=0.1046	Нет данных
rs73091139	chr5:35064637 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35064637C>T	T=0.1046	Нет данных
rs3797212	chr5:35064637 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35135374C>T	T=0.1046	Нет данных
rs112461	chr5:35063190 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35063190A>T	T=0.2149	Нет данных
rs2047741	chr5:35152953 (GRCh38.p13)	NC_000005.10:g.35152953G>A	G=0.2270	Нет данных
rs75935441	chr10:118590592 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118590592T>A	C=0.0248	Нет данных
rs10787849	chr4:131734572 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118590767T>A	Нет данных	Нет данных
rs74264539	chr10:118592136 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118592136del	Нет данных	Нет данных
rs1711868	chr10:118592136 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118592136G>A	G=0.0411	Нет данных
rs117647802	chr10:118592363 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118592363A>G	G=0.0234	Нет данных
rs116062593	chr10:118594387 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118594387C>A	A=0.0142	Нет данных
rs1613448	chr10:118594398 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118594398T>A	T=0.0220	Нет данных
rs41300243	chr10:118594498 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118594498T>A	G=0.0142	Нет данных
rs11078774	chr17:9004361 (GRCh38.p13)	NC_000017.11:g.9004361G>T	T=0.3051	Нет данных
rs2292767	chr10:118590524 (GRCh38.p13)	NC_000010.11:g.118590524C>T	T=0.2167	Нет данных

Описание клинического случая развития внутрипеченочного холестаза беременных, с последующей трансформацией в рецидивирующую форму внутрипеченочного холестаза у пациентки с длительной гиперпролактинемией неопухолевого генеза. Пациентка В, 31 год, наблюдается терапевтом и эндокринологом с 17-летнего возраста, когда впервые, на фоне отсутствия жалоб, проверила гормональный профиль, в связи с выявлением идиопатической ГиперПРЛ у матери. Обнаружены высоконормальные значения ТТГ и значительное повышение ПРЛ (без значимого повышения макропролактина). При осмотре эндокринологом клинических проявлений гипотиреоза и ГиперПРЛ не выявлено (в т. ч. не было НМЦ). По данным МРТ головного мозга аденомы гипофиза не обнаружено. Назначенную терапию каберголином пациентка не проводила в связи с отсутствием жалоб. За последующий период наблюдения при регулярной оценки уровня гормонов сохранялся стабильно высокий уровень ПРЛ (20–120 нг/мл (N 3,6–13,4 нг/мл)), ТТГ в пределах нормы. В 24 года наступила запланированная беременность.

Впервые синдром ВПХ развился в 25 лет в период беременности и регрессировал сразу после родоразрешения. На фоне установившейся лактации, через 3 месяца после родов, вновь появился кожный зуд и лабораторные признаки холестаза. Начата терапия урсодезоксихолевой кислотой, однако, положительной клинико-лабораторной динамики не отмечено. Принято решение о медикаментозном подавлении лактации каберголином. На фоне приёма каберголина клинические проявления холестаза купированы и получена тенденция к нормализации лабораторных показателей. В течение 12 месяцев после родоразрешения ВПХ неоднократно рецидивировал и купировался разовыми приемами 0,25-0,5 мг каберголина. Клиническим симптомом холестаза был кожный зуд, усиливающийся в ночное время, в биохимическом анализе крови отмечалось повышение желчных кислот, ГГТП, ЩФ, АЛТ, АСТ. За период наблюдения выполнен ряд лабораторных и инструментальных исследований, исключившие поражение печени. На втором году после родоразрешения, начат постоянный прием каберголина 0,5 мг/1 раз в неделю. Лабораторные показатели были в пределах референсных значений, жалобы отсутствовали, МЦ регулярный. ПРЛ <12,5 мЕд/л (N 109-557 мЕд/л), ТТГ в пределах нормы. Пациентка прекратила прием каберголина через год постоянной терапии. Через 3 месяца после отмены терапии клинический и лабораторный рецидив ВПХ. В анализах повышены АЛТ 114 Ед/л, АСТ 58 Ед/л, ГГТП 116 Ед/л, ЩФ 146 Ед/л, пролактин 726 мЕд/л, ПРЛ мономерный 640 мЕд/л (N 79 – 347 мЕд/л). После приема 2-х таблеток каберголина в течение 2-х дней, произошло купирование кожного зуда. В анализах, через 10 дней, отмечается снижение АЛТ 59 Ед/л, АСТ 25 Ед/л, ГГТП 50 Ед/л, ЩФ 100 Ед/л, и снижение ПРЛ <12,6 мЕд/л. Пациентка возобновила прием 0,5 мг каберголина 1 раз в неделю и продолжает приём препарата по настоящее время. В последующие годы обострений ВПХ не было. Однако отмечается умеренное изолированное повышение ГГТП, значительное снижение уровня ПРЛ. На фоне приема каберголина предъявляет жалобы на повышенную утомляемость и сонливость в течение дня. Учитывая семейный характер ГиперПРЛ пациентке выполнено полноэкзомное секвенирование образца ДНК. Проведен анализ ОНП, приводящих к миссенс-мутациям, с частотой менее 1%. Было получено 480 вариантов, из которых для дальнейшего анализа были отобраны варианты в генах, ассоциированных с уровнем ПРЛ сыворотки. Выявлены полиморфизмы: rs 1613448 (CC) в гене *PRLHR*; rs 4988462 (CT) в гене *POU1F1*; rs 2230722 (CT) и rs2274649 (AT) в гене *JAK2*; rs 6276 (CT) и rs6277 (AG) в гене *DRD2*.

Заключение. В представленном клиническом случае вызывает интерес положительный эффект приёма каберголина на купирование клинических и лабораторных проявлений рецидивирующего ВПХ у пациентки с длительной идиопатической ГиперПРЛ. В настоящее время нельзя с уверенностью сказать, что снижение лабораторных показателей холестаза ассоциировано со значительным снижением уровня ПРЛ, возможно, в этом процессе участвуют ранее не изученные механизмы действия каберголина.

ВЫВОДЫ

1. Распространенность ГиперПРЛ неопухолевого генеза в репрезентативной выборке женщин 25-44 лет составила 20,0%. Женщины с ГиперПРЛ неопухолевого генеза, по сравнению с женщинами с референсными значениями уровня ПРЛ, чаще имели НМЦ (41,3 vs 12,8%, $p < 0,001$) и наличие АИТ (11,3 vs 5,0%, $p = 0,039$), соответственно.

2. Шанс наличия ГиперПРЛ увеличивается в 1,2 раза при повышении ТТГ на 1 мЕд/мл, в 8,6 раз – при наличии АИТ, в 4,3 раза – при НМЦ.

3. У женщин с медианой ПРЛ 22,9 [19,6; 28,1] нг/мл выявлены более низкие значения ферментов печени (ЩФ, АЛТ, АСТ), общего и прямого билирубина, липидов крови (ОХС, ХС-ЛПНП), ОТ; ниже частота АО (35,7 vs 55,3%); гиперХС-ЛПНП (46,3 vs 60,6%), по сравнению с женщинами, имеющими низконормальные значения ПРЛ ($Me = 4,4$ [3,5; 5,4] нг/мл).

4. Среди женщин с ГиперПРЛ неопухолевого генеза, имеющих медиану ПРЛ 41,3 [34,7; 48,5] нг/мл, по сравнению с женщинами с медианой ПРЛ 20,5 [19,8; 21,3] нг/мл, выявлены более высокие показатели ИМТ, ОТ, ТГ и ферментов печени – ЩФ, ГГТП (не выходящие за границы референсных значений); выше частота АО – 55,5 vs 22,2%, АГ – 38,8 vs 5,5%; МС – 44,4 vs 5,5% по критериям ВНОК, 2009, и 38,8 vs 5,5% – по критериям NCEP АТР III, 2001.

5. У женщин с ГиперПРЛ неопухолевого генеза (Me 41,3 [34,7;45,8] нг/мл) при таргетном высокопроизводительном секвенировании не выявлено патогенетически значимых структурных изменений в экзонах и прилегающих сайтах сплайсинга генов *PRL*, *PRLR*, *PRLHR*.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Полученные в популяционном исследовании данные о высокой распространенности ГиперПРЛ неопухолевого генеза у женщин молодого возраста указывают на целесообразность определения ПРЛ у женщин с повышенным уровнем ТТГ, при наличии заболеваний ЩЖ, синдрома внутрипеченочного холестаза, НМЦ.

2. Рекомендовано определение ПРЛ у молодых женщин с МС, имеющих отдельные компоненты МС, такие как АО, АГ и повышение уровня ХС-ЛПНП, гипоХС-ЛПВП с целью дальнейшего наблюдения и решения вопроса по медикаментозной коррекции.

3. Рекомендовано у женщин с высокими и низконормальными значениями ПРЛ проводить оценку биохимических маркеров гепатобилиарной системы, липидов крови (ОХС, ХС-ЛПНП, ХС-ЛПВП) и антропометрических показателей (ОТ, ИМТ).

4. Рекомендовано при решении вопроса о лечении женщин молодого возраста с ГиперПРЛ неопухоловой этиологии оценивать не только влияние на репродуктивную систему, но и метаболический статус (ЩФ, ГГТП, показатели липидов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании гормонального исследования и анализа первичной медицинской документации среди городской популяции женщин 25-44 лет, проживающих в Сибири, выявлена высокая частота ГиперПРЛ неопухолевого генеза – 20,0%. Как и в других клинических и эпидемиологических исследованиях, установлено, что женщины с ГиперПРЛ (ПРЛ >19,5 нг/мл), значимо чаще предъявляют жалобы на нарушения менструального цикла. В рамках настоящего эпидемиологического исследования при многофакторном линейном регрессионном анализе определено, что шанс наличия ГиперПРЛ увеличивается при повышении ТТГ на 1 мЕд/мл, наличии АИТ, нарушениях менструального цикла, и снижается при табакокурении в настоящее время.

Как отмечают многие авторы, метаболическим последствиям ГиперПРЛ неопухолевого генеза в течение многих лет не уделяется должного внимания. В современной литературе имеются данные о том, что ГиперПРЛ опухолевого генеза связана с неблагоприятным профилем риска ССЗ и характеризуется развитием ожирения, резистентностью к инсулину, эндотелиальной дисфункцией, изменением артериального давления и жесткости сосудистой стенки. По нашим данным, не только нарушения репродуктивной функции, но и ухудшение метаболических показателей выявлено у женщин с высокими значениями ПРЛ неопухолевого генеза (Ме 41,3 [34,7; 45,8] нг/мл): более высокие значения ИМТ, ОТ, триглицеридов и ферментов печени – ЩФ, ГГТП; выше частота АО, АГ; МС, что свидетельствует о метаболическом нездоровье и неблагоприятном прогнозе в отношении ССЗ. Представляет интерес тот факт, что у женщин в группе с медианой ПРЛ 22,9 [19,6; 28,1] нг/мл, т. е. с умеренно повышенным уровнем ПРЛ, выявлены более низкие значения ферментов печени (ЩФ, АЛТ, АСТ), билирубина, липидов крови (ОХС, ХС-ЛПНП), ОТ; реже частота АО; гиперХС-ЛПНП, по сравнению с женщинами с низконормальным ПРЛ – 4,4 [3,5; 5,4] нг/мл.

Таким образом, полученные нами данные свидетельствуют о том, что высокие и низконормальные уровни ПРЛ неопухолевого генеза ассоциированы с ухудшением метаболических показателей у женщин молодого возраста. Женщины со значениями ПРЛ от референсных до умеренно повышенных, имеют благоприятный метаболический профиль.

Впервые в России выполнено таргетное высокопроизводительное секвенирование генов PRL, PRLR, PRLHR, по результатам которого не выявлено патологических вариантов в изучаемых генах у женщин с высокими значениями ПРЛ неопухолевого генеза. Однако полученный генетический полиморфизм в данных генах требует дальнейшего изучения.

Также впервые в России описано клиническое наблюдение, демонстрирующее картину внутрипеченочного холестаза беременных с последующей трансформацией в рецидивирующую форму внутрипеченочного холестаза у пациентки с длительной идиопатической ГиперПРЛ. Особый интерес представляет купирование проявлений холестаза приемом каберголина. Пациентке выполнено полноэкзомное секвенирование образца ДНК. Проведен анализ однонуклеотидных вариантов, приводящих к замене в белковой

последовательности (миссенс-мутация) с частотой менее 1% по базе данных gnomAD (для европеоидов). Было получено 480 вариантов, из которых для дальнейшего анализа были отобраны варианты в генах, ассоциированных с уровнем ПРЛ сыворотки. Проанализированы выявленные полиморфизмы: rs 1613448 (CC) в гене *PRLHR*; rs 4988462 (CT) в гене *POU1F1*; rs 2230722 (CT) и rs2274649 (AT) в гене *JAK2*; rs 6276 (CT) и rs6277 (AG) в гене *DRD2*. Выявлены замены в гене *POU1F1* транскрипционного фактора Pit-1, влияющего на экспрессию гена ПРЛ, в гене *JAK2*, регулирующего связь рецептора ПРЛ с янускиназой, изменения в гене рецепторов дофамина *DRD2*, участвующем в регуляции синтеза ПРЛ.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Воевода, С.М.** Синдром рецидивирующего холестаза у пациентки с идиопатической гиперпролактинемией / **С.М. Воевода**, О.Д. Рымар, С.А. Курилович // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2017. – №. 9. – С. 116-120.
2. **Воевода, С.М.** Связь атеросклероз-ассоциированных кардиоваскулярных факторов риска с разным уровнем пролактина у женщин репродуктивного возраста / **С.М. Воевода**, Л.В. Щербакова, Д.В. Денисова, Ю.И. Рагино, Е.М. Стахнева, Е.В. Шахтшнейдер, О.Д. Рымар // Атеросклероз. – 2018. – Т. 14. – №. 4. – С. 67-72.
3. Рымар, О.Д. Показатели тиреотропного гормона и пролактина в популяционной выборке женщин в возрасте 25-45 лет / О.Д. Рымар, **С.М. Воевода**, Д.В. Денисова, Е.В. Шахтшнейдер, Л.В. Щербакова // Доктор.Ру. – 2019. – Т. 165. - №.10. – С.46-51.
4. Рымар, О.Д. Частота метаболического синдрома и его отдельных компонентов у женщин 25–45 лет в зависимости от уровня пролактина / О.Д. Рымар, **С.М. Воевода**, Е.В. Шахтшнейдер, Е.М. Стахнева, С.В. Мустафина, Л.В. Щербакова // Ожирение и метаболизм. – 2021. –Т. 18. – №. 2. – С. 180-189.
5. **Воевода, С.М.** Вклад пролактина в развитие метаболического синдрома в популяционной выборке г. Новосибирска / **С.М. Воевода**, О.Д. Рымар, Л.В. Щербакова, Ю.И. Рагино, Д.В. Денисова // Трансляционная медицина. – 2018. – Т. 5. – №. S1. – С. 12.
6. **Воевода, С.М.** Пролактин и биохимические показатели у женщин репродуктивного возраста (эпидемиологическое исследование) / **С.М. Воевода**, О.Д. Рымар, Л.В. Щербакова, Ю.И. Рагино, Д.В. Денисова // Трансляционная медицина. – 2018. – Т. 5. – №. S1. – С. 13.
7. **Воевода, С.М.** Генетические механизмы идиопатической гиперпролактинемии / **С.М. Воевода**, О.Д. Рымар, В.Н. Максимов, Е.В. Шахтшнейдер // III Всероссийский эндокринологический конгресс с международным участием: сб. тезисов. – Москва, 2017. – С. 496.
8. Шахтшнейдер Е.В. Результаты таргетного секвенирования генов PRL, PRLR, PRLHR у молодых женщин с гиперпролактинемией неопухолевого генеза / Е.В. Шахтшнейдер, Д.Е. Иваношук, **С.М. Воевода**, О.Д. Рымар // Сибирский научный медицинский журнал. 2022. № 4. С.36-47.
9. **Воевода, С.М.** Спектр вариантов в генах *PRL*, *PRLR*, *PRLHR* у пациентов с гиперпролактинемией. Фундаментальные исследования в эндокринологии: современная стратегия развития и технологии персонализированной медицины / **С.М. Воевода**, Е.В. Шахтшнейдер, Д.Е. Иваношук, О.Д. Рымар // Материалы конференции с международным участием. – Новосибирск, 2020.
10. **Voevoda, S.** Application of kabergolin with intrahepatic cholestasis / **S. Voevoda**, O. Rymar // Medical & Clinical Case Reports. – Dubai, 2018.
11. **Voevoda, S.** Prevalence of hyperprolactinemia in 25-45 years old Russian population / **Voevoda S.**, O. Rymar, L. Sherbakova, D. Denisova, Y. Ragino // 5th ENEA Workshop «Hyperprolactinemia and other endocrine causes of infertility». – Saint-Petersburg, 2017.
12. **Voevoda, S.** Exom sequencing of patient from family with idiopathic hyperprolactinemia / **S.Voevoda**, O. Rymar, V. Maksimov, E. Shakhtshneider // 5th ENEA Workshop «Hyperprolactinemia and other endocrine causes of infertility». – Saint-Petersburg, 2017.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

НПРЛ – пролактин в пределах референсных значений
SNP – однонуклеотидный полиморфизм
АИТ – аутоиммунный тиреоидит
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АО – абдоминальное ожирение
АСТ – аспартатаминотрансфераза
ВНОК – Всероссийское научное общество кардиологов
ВПХБ – внутрипеченочный холестаза беременных
ГГТП – гамма-глутамилтрансфераза
ГиперПРЛ – гиперпролактинемия
ГПН – глюкоза плазмы натощак
ДАД – диастолическое артериальное давление
ДТЗ – диффузно-токсический зоб
ИМТ – индекс массы тела
Индекс TG – индекс соотношения триглицеридов к глюкозе
ИФА – иммуноферментный анализ
МС – метаболический синдром
НМЦ – нарушения менструального цикла
ОТ – окружность талии
ОХС – общий холестерин
ОШ – отношение шансов
ПРЛ – пролактин
ПЦР – полимеразная цепная реакция
САД – систолическое артериальное давление
СД 2 – сахарный диабет 2 типа
СПКЯ – синдромом поликистозных яичников
ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания
ТГ – триглицериды
ТТГ – тиреотропный гормон
УДХК – урсодезоксихолевая кислота
ХС-ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности
ХС-ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности
ЦНС – центральная нервная система
ЩЖ – щитовидная железа
ЩФ – щелочная фосфатаза

Автор диссертации выражает особую благодарность за оказанную помощь при выполнении данного исследования заведующей лабораторией «Сектор изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека ФГБНУ ФИЦ ИЦиГ СО РАН» в.н.с., к.м.н. Елене Владимировне Шахтинейдер.