

ШРЁДЕР ЕКАТЕРИНА ВЛАДИМИРОВНА

**ВРОЖДЕННЫЙ ГИПОТИРЕОЗ: КЛИНИЧЕСКИЕ ВАРИАНТЫ,
МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ И
РАДИОИЗОТОПНАЯ ВИЗУАЛИЗАЦИЯ**

3.1.19. Эндокринология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Работа выполнена в Государственном научном центре Российской Федерации
Федеральном государственном бюджетном учреждении
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

Безлепкина Ольга Борисовна

доктор медицинских наук, доцент

Официальные оппоненты:

Княев Алексей Васильевич

доктор медицинских наук, доцент, профессор кафедры госпитальной педиатрии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Суплотова Людмила Александровна

доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры терапии с курсами эндокринологии, функциональной и ультразвуковой диагностики Института клинической медицины Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тюменский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «___» _____ 2024 года в _____ часов на заседании диссертационного совета 21.1.045.01 в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России - www.endocrincentr.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2024 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Врожденный гипотиреоз (ВГ) – врожденное заболевание щитовидной железы (ЩЖ) у детей, обусловленное дисгенезией ЩЖ (эктопия, аплазия, гипоплазия, гемиагенезия) или дисгормоногенезом. Частота первичного ВГ в мире составляет 1 случай на 2000–4000 новорожденных [van Trotsenburg P, 2021; Rose SR, 2023], в России по данным неонатального скрининга - 1 случай на 3617 новорожденных [Дедов И.И., 2018]. Основной целью своевременной диагностики заболевания и начала заместительной терапии в максимально ранние сроки является предупреждение тяжелой умственной отсталости, в связи с чем заболевание во многих странах включено в программу неонатального скрининга.

В течение последних десятилетий отечественными и зарубежными эндокринологами накоплен большой опыт по обследованию и лечению детей с ВГ, показана высокая эффективность терапии, разработаны диагностические алгоритмы. Изучение этиологии ВГ является актуальным направлением в детской тиреологии. В современной литературе широко обсуждаются методы визуализации тиреоидной ткани у детей с ВГ и вопросы молекулярно-генетических особенностей заболевания.

Определить этиологию, прогнозировать тяжесть заболевания, умственное развитие ребенка позволяют не только сроки начала заместительной терапии, но и знание морфологии ЩЖ.

Известно, что наиболее частая причина первичного ВГ – дисгенезия ЩЖ, в структуре которой преобладает эктопия ЩЖ различной локализации (40-75%) [Perry R.J., 2006; Deladoëu J., 2007; Barry Y., 2016]. Эктопия длительное время может не иметь симптомов и оставаться недиагностированной. Выраженность клинической картины зависит от размера и локализации эктопированной тиреоидной ткани.

В настоящее время в РФ детям с ВГ обычно проводится только ультразвуковое исследование (УЗИ) ЩЖ, имеющее низкую чувствительность в отношении выявления эктопии [Lucas-Herald A., 2014]. Ключевую роль в диагностике эктопии играет сцинтиграфия ЩЖ, однако, в рутинной практике в РФ детям с ВГ она не проводится. Знание этиологии заболевания помогает определиться со стартовой дозой препарата, что является крайне важным для интеллектуального развития [Dimitropoulos A., 2009], и позволяет индивидуализировать план наблюдения за ребенком.

Важный вклад в изучение этиологии ВГ вносит молекулярно-генетическое исследование. Дефекты эмбрионального развития ЩЖ являются основной причиной ВГ у детей, но лежащие в его основе молекулярные механизмы к настоящему времени изучены недостаточно.

Проведение комплексного исследования, направленного на изучение клинических, гормональных, инструментальных и молекулярных особенностей ВГ является актуальным для детской эндокринологии.

Цель работы

Определить молекулярно-генетические основы врожденного гипотиреоза у детей с различной локализацией тиреоидной ткани.

Задачи исследования

1. Изучить клинико-гормональные характеристики и данные методов топической визуализации (ультразвукового и радиоизотопного исследования) у детей с разными морфологическими вариантами врожденного гипотиреоза.
2. Оценить диагностическую информативность различных методов визуализации тиреоидной ткани.
3. Провести молекулярно-генетическое исследование для поиска генетической причины врожденного гипотиреоза.
4. Изучить взаимосвязь между данными молекулярно-генетического исследования и результатами комплексной анатомо-функциональной визуализации тиреоидной ткани при врожденном гипотиреозе.

Научная новизна исследования

Впервые в Российской Федерации проведено молекулярно-генетическое исследование методом полноэкзомного секвенирования детям с ВГ и изучены генетические основы заболевания в сопоставлении с локализацией тиреоидной ткани.

На основании комплексного обследования определена структура дисгенезии ЩЖ у детей с ВГ в Российской Федерации. Установлено, что эктопия тиреоидной ткани является наиболее частой формой дисгенезии (59%). Впервые в Российской Федерации определена «отрезная точка» для уровня тиреоглобулина (ТГ), позволяющая предположить аплазию ЩЖ у детей с ВГ.

Впервые в Российской Федерации у детей с ВГ идентифицированы изменения в гене *JAG1* (NM_000214.3) ранее не описанные гетерозиготные варианты замены (p.His1129Arg, p.His242Arg, p.Val598Ile).

У пациентов с дисгенезией ЩЖ выявлены моногенные и олигогенные изменения в генах, ассоциированных с дисгормоногенезом. У детей с эктопией ЩЖ выявлены гетерозиготные варианты в гене *DUOX2*, которые демонстрируют вклад генов дисгормоногенеза в этиологию дисгенезии ЩЖ.

Теоретическая и практическая значимость

Исследована молекулярно-генетическая структура ВГ и определены наиболее часто встречающиеся в российской когорте пациентов гены, приводящие к развитию заболевания.

Уровень тиреоглобулина менее 8,92 нг/мл позволяет предположить наличие аплазии у детей с ВГ. Только радиоизотопное исследование способствует постановке правильного топического диагноза.

Результаты позволяют обосновать персонализированный подход к лечению и наблюдению за детьми с ВГ.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор лично провел анализ состояния научной проблемы в мире на основании литературных данных, сформулировал цель, задачи и дизайн диссертационной работы.

Принимал непосредственное участие в клинической работе с пациентами, в организации проведения лабораторных и инструментальных исследований. Автор подготовил базу данных, систематизировал полученные данные, осуществил статистический анализ, подготовил публикации по теме диссертации.

Степень достоверности

Достоверность изложенных в настоящем исследовании положений, выводов и рекомендаций подтверждаются тщательным анализом научно-исследовательских работ; согласованностью полученных результатов с зарубежными данными; применением методов исследования с доказанной эффективностью; проведением экспериментальных методов согласно стандартам и с современными средствами измерений; применением статистического анализа для обработки полученных данных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В структуре дисгенезии ЩЖ у детей с ВГ преобладает эктопия. УЗИ для диагностики эктопии ЩЖ имеет низкую чувствительность (68%), только проведение радиоизотопного исследования позволяет установить локализацию эктопированной тиреоидной ткани.
2. Уровень тиреоглобулина менее 8,92 нг/мл у пациентов с ВГ с высокой вероятностью свидетельствует об аплазии ЩЖ.
3. У детей с ВГ превалируют изменения в генах, ассоциированных с биосинтезом тиреоидных гормонов (61,2%), наиболее частые в генах *DUOX2*, *TPO*, *TG*. Изменения в генах, участвующих в закладке и миграции ЩЖ идентифицированы у 26,6% детей (*TSHR*, *PAX8*, *JAG1*, *NKX2-5*, *GLIS3*). Дигенные и олигогенные варианты выявлены у 12,2% детей с различной локализацией ЩЖ.
4. Соответствие «генотип - тиреоидный фенотип» выявлено в 38,8% случаев.

Апробация результатов работы

Официальная апробация результатов состоялась 8 августа 2023 г на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии, детской эндокринологии-диабетологии Института высшего и дополнительного профессионального образования, научных сотрудников клинических и лабораторных подразделений ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Результаты и основные положения диссертационной работы были доложены и обсуждены на XX Городской научно-практической конференции «Эндокринные аспекты в педиатрии» (Москва, 18.11.2021); XVII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (Санкт-Петербург, 12.06.2021); 23 Европейском конгрессе эндокринологов (онлайн, eESE, 22.05.2021); 59 съезде Европейского общества детских эндокринологов (онлайн, ESPE, 22-26.09.2021); конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием «Персонализированный подход в детской эндокринологии» (Москва, 29.03.2022); Всероссийской конференции «Мультидисциплинарный взгляд на заболевания щитовидной железы и репродуктивной системы» (Москва, 22.05.2022); XXI Городской научно-практической конференции «Эндокринные аспекты в педиатрии» (Москва, 19.11.2022); видеоселекторном совещании детских эндокринологов г. Москвы (15.03.2023);

XXII Городской научно-практической конференции «Эндокринные аспекты в педиатрии» (Москва, 22.11.2023).

Публикации

Всего опубликована 31 печатная работа. По теме диссертации опубликовано 18 печатных работ: 5 полнотекстовых рукописей, 2 из которых в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации для публикации результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук; 8 тезисов в сборниках российских конференций, 4 тезиса в сборниках зарубежных конференций, 1 глава в монографии. По теме работы подготовлен и размещён на портале непрерывного медицинского и фармацевтического образования Минздрава России 1 информационный образовательный модуль. Автор принимал участие в разработке клинических рекомендаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 141 странице печатного текста, состоит из введения, основной части, состоящей из 4 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений и списка литературы. Список литературы включает 161 источник. Диссертация иллюстрирована 29 рисунками и 29 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России (далее -ЭНЦ). Набор пациентов проходил в период с октября 2020 по май 2023 гг. В соответствии с поставленной целью и задачами исследование включало две части (рис.1). Критерии включения (I и II часть): дети с врожденным гипотиреозом в возрасте от 0 до 18 лет; согласие на участие в исследовании. Критерии исключения (I и II часть): нет.

В первой части исследования, направленной на решение задач №1, 2, формировалась выборка из целевой популяции в соответствии с критериями включения и исключения. Способ формирования выборки – сплошной (критериям включения отвечали 100% пациентов). Проведено одномоментное несравнительное активное исследование, включающее 129 детей с ВГ в возрасте от 0 до 18 лет. В ходе исследования всем пациентам проведены гормональные исследования с оценкой функции щитовидной железы (тиреотропный гормон (ТТГ), свободный тироксин (св.Т₄), свободный трийодтиронин (св.Т₃) и определением уровня тиреоглобулина (ТГ), комплексная анатомо-функциональная визуализация тиреоидной ткани, сочетающая в себе УЗИ ЩЖ, планарную сцинтиграфию шеи и верхнего средостения с ^{99m}Tc-пертехнетатом, ОФЭКТ.

Вторая часть исследования была разделена на две - II и IIа.

Во II части исследования, направленной на решение задач №3, 4, формировалась выборка из целевой популяции в соответствии с критериями включения и исключения. Способ формирования выборки – сплошной (критериям включения отвечали 100% пациентов). Проведено одномоментное несравнительное активное исследование, включающее 128 детей с ВГ в возрасте от 0 до 18 лет (родители одного ребенка отказались от проведения молекулярно-

генетического исследования). Всем пациентам проведено молекулярно-генетическое исследование методом полноэкзомного секвенирования.

Часть I была направлена на решение задачи №3. Способ формирования выборки – произвольный. Проведено одномоментное несравнительное активное исследование, в которое вошли 34 родителя и сибса пациентов. Критерии включения: родители и сибсы пациентов с ВГ с различными изменениями генов-кандидатов, ответственных за развитие ВГ, согласие на участие в исследовании. Критерии исключения: нет



Рисунок 1. Схема исследования

Методы исследования

Все включенные в исследование пациенты обследовались по единой схеме, включающей стандартные методы обследования (сбор жалоб, данных анамнеза, клинко-лабораторное обследование) и специальные инструментальные методы обследования. Возраст пациентов с точностью до десятых рассчитывался с помощью программы Auxology Ver. 1.0 b17.

Гормональное исследование (определение уровней ТТГ, св.Т₄, св.Т₃, ТГ) выполнено в клинко-диагностической лаборатории ЭНЦ (заведующая лабораторией к.м.н. Никанкина Л.В.). Лабораторные исследования выполнены методом хемилюминесцентного иммуноанализа на автоматическом анализаторе ARCHITECT i2000 (Abbott).

Референсные интервалы в зависимости от возраста, используемые в работе представлены в таблице 1.

Таблица 1

Референсные значения лаборатории

Возраст	ТТГ (мМЕ/мл)	св. Т ₄ (пмоль/л)	св. Т ₃ (пмоль/л)	ТГ (нг/мл)
1-6 лет	0,64-5,76	11,5-20,4	3,8-7,2	3,5-77
6-11 лет	0,51-4,82	11,2-18,6	4,1-7,1	
11-15 лет	0,53-5,27	10,0-17,7	3,1-6,6	
15-18 лет	0,43-4,2	10,1-17,9	2,8-6,3	

Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории генетики моногенных эндокринных заболеваний Института персонализированной медицины ЭНЦ (руководитель к.м.н. Попов С.В.). Забор крови проводился из локтевой вены вне зависимости от приема пищи в пробирки с консервантом этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) в концентрации 1,2–2,0 мг на 1 мл крови. Геномную ДНК извлекали роботизированной станцией Allsheng Autopure-96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., China) из периферической крови с использованием набора для выделения геномной ДНК из цельной крови NucleoMag Blood (MN). Выделенную ДНК качественно и количественно анализировали с помощью Quant-iT™ dsDNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) и спектрофотометра Eppendorf Biospectrometer Fluorescence (Eppendorf AG, Germany) соответственно.

Подготовку полногеномной библиотеки (KAPA HyperPlus, Roche, Швейцария) и обогащение матрицы ДНК (KAPA HyperCapture, Roche, Швейцария) производили в соответствии с протоколами производителя используя набор зондов KAPA HyperExome (Roche, Швейцария). Исследование проведено методом массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения (2x100 п.о.).

Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением компьютерных алгоритмов предсказания патогенности вариантов (SIFT, PolyPhen-2 HDIV, Polyphen-2 HVAR, PROVEAN, CADD). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные международного проекта gnomAD Exomes для экзонных вариантов и базы gnomAD Genomes для интронных вариантов. Для предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга и прилежащих к сайту сплайсинга интронных участках использованы программы SpliceAI и AdaBoost.

Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, HGMD, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов дано с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS. В заключение включены только варианты, имеющие возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента. Полиморфизмы, классифицированные по различным критериям как нейтральные, не включены в заключение.

Анализировались панели, средняя глубина покрытия которых была не менее 70x, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10x – не менее 97%.

Стоит отметить, что метод NGS не позволяет достоверно выявлять инсерции и делеции длиной более 10 п.о., мутации в интронных областях (за исключением канонических сайтов сплайсинга), вариации длины повторов (в том числе экспансии триплетов), а также мутации в генах, у которых в геноме существует близкий по последовательности паралог (псевдоген). Метод не предназначен для определения фазы пар гетерозиготных мутаций, а также для оценки уровня метилирования, выявления хромосомных перестроек, полиплоидии, выявления мутаций в состоянии мозаицизма.

Родителям и сибсам, выразивших согласие на участие в исследовании, проведено секвенирование по Сэнгеру ДНК крови на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500.

Ультразвуковое исследование ЩЖ проводилось врачами ультразвуковой диагностики в консультативно-диагностическом центре ЭНЦ (руководитель д.м.н., Н.Н.Волеводз) на аппарате Voluson E8 expert (GE Healthcare) с линейным датчиком 11L специалистом экспертного уровня.

Методика проведения УЗИ: исследование проводилось в положении пациента лежа на спине с запрокинутой головой и подложенным под плечевой пояс валиком для максимального разгибания шеи. Линейный датчик располагался на передней поверхности шеи, осматривалась ЩЖ с перешейком (ложе ЩЖ) и места возможной эктопии тиреоидной ткани (шея, подъязычная область, и передне-верхнее средостение в проекции яремной вырезки). Исследование проводилось полипозиционно: сначала при прямом положении головы, затем в положении головы, направленной вправо или влево, для улучшения визуализации глубоко расположенных структур. Осмотр передне-верхнего средостения осуществлялся при поперечном расположении датчика в проекции яремной вырезки грудины. Исследование проведено с использованием цветового и энергетического доплеровского картирования (ЦДК, ЭДК) для оценки васкуляризации. У новорожденных детей за гипоплазию ЩЖ было принято значение менее 1 мл.

Сцинтиграфия ЩЖ (области шеи и верхнего средостения) проводилась в отделении радионуклидной диагностики ЭНЦ (заведующий отделением к.м.н. М.В. Дегтярев) на гамма-камере ОФЭКТ Discovery NM630 с применением ^{99m}Tc -пертехнетата. Доза радиофармпрепарата (РФП) рассчитывалась индивидуально в зависимости от массы тела пациента с помощью калькулятора вводимой активности PedDose в [МБк] и [МКи] (<https://www.eanm.org/publications/dosage-calculator>). Раствор натрия ^{99m}Tc -пертехнетата получали путем элюирования генератора $^{99}\text{Mo}/^{99m}\text{Tc}$ стерильным изотоническим раствором натрия хлорида. Получаемый из генератора РФП вводился внутривенно в процедурном кабинете. Исследование проводилось через 15–20 мин после внутривенного введения РФП на гамма-камере в положении пациента лежа на спине в режиме статического планарного снимка (10 мин) и затем в режиме ОФЭКТ (15 мин). Обработка полученных данных выполнялась на рабочей станции Xeleris (GE Healthcare) с использованием итеративных методов реконструкции данных и получением трехмерного изображения распределения РФП в тканях шеи и верхнего средостения с последующим описанием анатомо-физиологических характеристик визуализирующейся тиреоидной ткани.

Исследования проведены на фоне отмены гормональной терапии на 14-21-й день либо до ее начала. Результаты исследований не всегда анализировались независимо друг от друга (в некоторых случаях диагност знал результаты предыдущего исследования, однако заключения не подвергались корректировке). Все диагностические исследования выполнены одними и теми же специалистами с использованием одного и того же оборудования. Для проведения сцинтиграфии в неонатальном периоде не требуется специального анестезиологического пособия, исследование проводится во время сна, после кормления.

Видеофибрларингоскопия проводилась пациентам с эктопией ЩЖ в корень языка врачом-отоларингологом Э.О.Вязьменовым в консультативно-диагностическом центре ЭНЦ (руководитель д.м.н., Н.Н. Волеводз) на аппарате Pentax.

Статистическая обработка данных. Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистический анализ проведен в программном пакете Statistica 13 (Tibco, США). Описательная статистика количественных переменных представлена медианами, первым и третьим квартилями в виде Me [Q1; Q3]. Качественные признаки представлены в виде абсолютных и относительных частот (n, %).

Сравнение трех и более независимых групп выполняли с помощью критерия Краскелла-Уоллиса с дальнейшим post-hoc анализом. Сравнение двух независимых групп по количественным признакам выполнялось с помощью критерия Манна-Уитни.

ROC-анализ был выполнен с помощью языка программирования python 3.9. Отрезная точка была найдена с помощью индекса Юдена. Для отрезной точки были рассчитаны характеристики: диагностическая чувствительность (ДЧ), диагностическая специфичность (ДС), прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) и прогностическая ценность отрицательного результата (ПЦОР).

Корреляционный анализ проводился с использованием непараметрической корреляции Спирмена (ρ).

Диагностическая ценность методов – УЗИ, сцинтиграфия (планарная), ОФЭКТ и тиреоглобулина была оценена с помощью ДЧ, ДС, ПЦПР, ПЦОР с использованием онлайн-калькулятора <https://statpages.info/confint.html>. В качестве «золотого стандарта» была выбрана радиоизотопная визуализация (сочетание планарной сцинтиграфии и ОФЭКТ).

Критический уровень статистической значимости при проверке статистических гипотез принят равным 0,05 ($p < 0,05$). При множественных сравнениях применялась поправка Бонферрони путем коррекции критического уровня значимости.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Клиническая характеристика пациентов

Обследовано 129 пациентов с ВГ, 14 из которых дети первого месяца жизни. Среди 129 детей было 89 девочек и 40 мальчиков (2,2: 1). Диагноз ВГ 120 детям установлен на основании неонатального скрининга, медиана уровня ТТГ по результатам скрининга составила 156,1МЕ/мл (от 10,8 до 973 МЕ/мл). Разброс показателей уровней ТТГ по скринингу (неонатального ТТГ) представлен на рис.2. Девяти детям с эктопией ЩЖ различной локализации диагноз установлен в возрасте от 3,8 до 15,8 лет. Повышения уровня ТТГ по результатам неонатального скрининга не было.

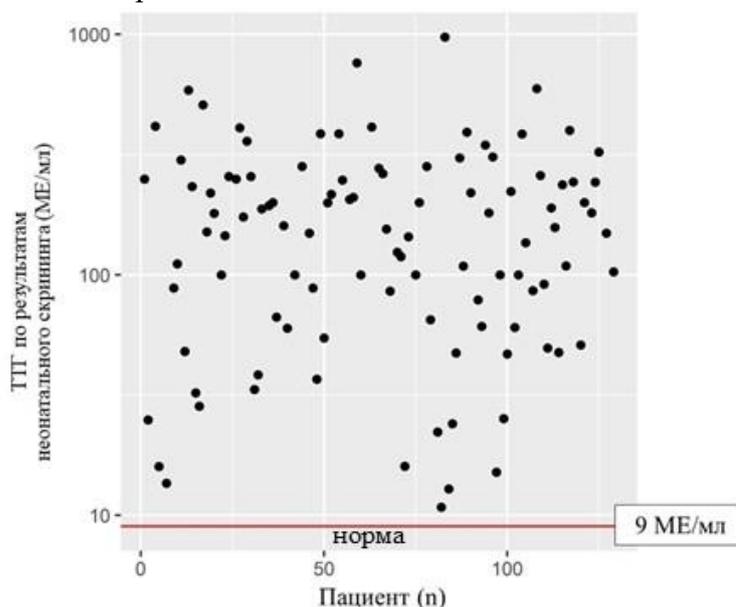


Рисунок 2. Уровни ТТГ по данным неонатального скрининга

Дети родились доношенные со средними антропометрическими показателями. Медиана уровня ТТГ по результатам скрининга составила 156,1 МЕ/сут. Благодаря своевременно проведенному неонатальному скринингу медиана возраста начала терапии составила 15 дней у девочек и 17 дней у мальчиков. Антропометрические показатели детей при рождении, уровень ТТГ по результатам скрининга и данные о возрасте начала лечения представлены в таблице 2.

Таблица 2

**Клиническая характеристика пациентов с врожденным гипотиреозом
в неонатальном периоде**

Показатель	Девочки (n=89) Me [Q1; Q3]	Мальчики (n=40) Me [Q1; Q3]	p
Срок гестации (нед.), n=126	40 [38; 41]*	40 [38; 41]	p>0,05
Длина тела при рождении (см.), n=126	52 [50; 53]	52 [50; 53]	p>0,05
SDS длины тела при рождении, n=126	0,92 [0,16; 1,79]	0,63 [-0,04; 1,60]	p>0,05
Масса тела при рождении (г.), n=126	3455 [2997,5; 3692,5]	3455 [3000,0; 3697,5]	p>0,05
SDS массы тела при рождении, n=126	0,02 [-0,62; 0,71]	0,05 [-0,74; 0,82]	p>0,05
ТТГ (МЕ/мл), неонатальный скрининг, n=104	156,1 [65,4; 254,5]	156,1 [66,3; 251,5]	p>0,05
Возраст начала терапии (дни), n=120	15 [11; 30]	17 [11; 30]	p>0,05

Примечание. Пороговый $p=0,05/7=0,007$ (после применения поправки Бонферрони).

Ретроспективно проанализированы клинические проявления гипотиреоза в неонатальном периоде (рис. 3). У 42,6% (n=55) детей с ВГ на первом месяце жизни имелась затянувшаяся желтуха, у 10,1% (n=13) - запоры, у 7,8% (n=10) - макроглоссия и отечность лица, у 7% (n=9) - пупочная грыжа. Около половины детей родились в гестационном сроке более 40 недель с весом более 3500 г. Обращает на себя внимание, что у девочек чаще, чем у мальчиков встречались: пупочная грыжа – 9% (n=8) и 2,5% (n=1), макроглоссия – 10,1% (n=9) и 2,5% (n=1) и запоры – 12,4% (n=11) и 5% (n=2), соответственно. У мальчиков несколько чаще встречалась отечность лица (10% против 6,7%).

Медиана возраста пациентов на момент обследования составила 6 лет (возраст варьировал от 10 дней до 17,3 лет). Медиана возраста девочек составила 5,9 лет, мальчиков – 6,0 лет, p>0,05 (табл.3).

Таблица 3

**Клиническая характеристика пациентов с врожденным гипотиреозом
на момент обследования**

Показатель	Девочки (n=89) Me [Q1; Q3]	Мальчики (n=40) Me [Q1; Q3]	p
Возраст (годы)	5,9 [4,3; 8,7]*	6,0 [4,3; 8,8]	p>0,05
SDS роста	0,4 [-0,3; 1,1]	0,4 [-0,3; 1,1]	p>0,05
SDS ИМТ	0,2 [-0,4; 0,8]	0,2 [-0,4; 0,8]	p>0,05
Доза левотироксина натрия (мкг/кг/сут)	2,6 [2,0; 3,5]	2,7 [2,1; 3,5]	p>0,05

Примечание. Пороговый $p=0,05/4=0,013$ (после применения поправки Бонферрони).

Физическое развитие детей с ВГ на момент обследования соответствовало норме (медиана SDS роста как у девочек, так и у мальчиков составила 0,4 SD, медиана SDS ИМТ - 0,2 SD). Медиана дозы левотироксина натрия у девочек составила 2,6 мкг/кг/сут, у мальчиков – 2,7 мкг/кг/сут ($p>0,05$).



Рисунок 3. Клиническая характеристика детей с врожденным гипотиреозом в неонатальном периоде

Таким образом, статистически значимых различий в сроке гестации, антропометрических показателях при рождении, уровне ТТГ при рождении (неонатальный скрининг) и возрасте начала терапии в зависимости от пола не выявлено. На момент обследования мальчики и девочки были сопоставимы по возрасту, SDS роста и SDS ИМТ. В дозе левотироксина натрия, получаемой на момент обследования, статистической разницы также не выявлено. В неонатальном периоде у девочек отмечено преобладание пупочной грыжи, макроглоссии и запоров.

Результаты визуализации тиреоидной ткани

У 109 пациентов имелись результаты УЗИ, выполненного по месту жительства: у 65 детей ткань ЩЖ была описана в типичном месте (у половины – гипоплазия), 41 ребенок - с аплазией ЩЖ, один ребенок имел гемиагенезию. Эктопированная ткань ЩЖ была выявлена только у двух пациентов (в предгортанной области), рис.4.

По результатам УЗИ в ЭНЦ (n=129) аплазия диагностирована у 60 (46,5%) пациентов, у 47 (36,4%) детей выявлена эктопия ткани ЩЖ различной локализации, у одного (0,8%) ребенка имелась гемиагенезия. У 21 (16,3%) пациента тиреоидная ткань была обнаружена в типичном месте: у 9 детей с гипоплазией (7%) и у 12 детей с ЩЖ в типичном месте (зобом или нормальным объемом ЩЖ) (9,3%), рис.4.

Сцинтиграфия подтвердила аплазию ЩЖ в 63,3% случаев (у 38 из 60 детей) и составила у 29,4% в структуре ВГ. Эктопия ЩЖ имелась у 69 детей (53,5%) (рис.4).

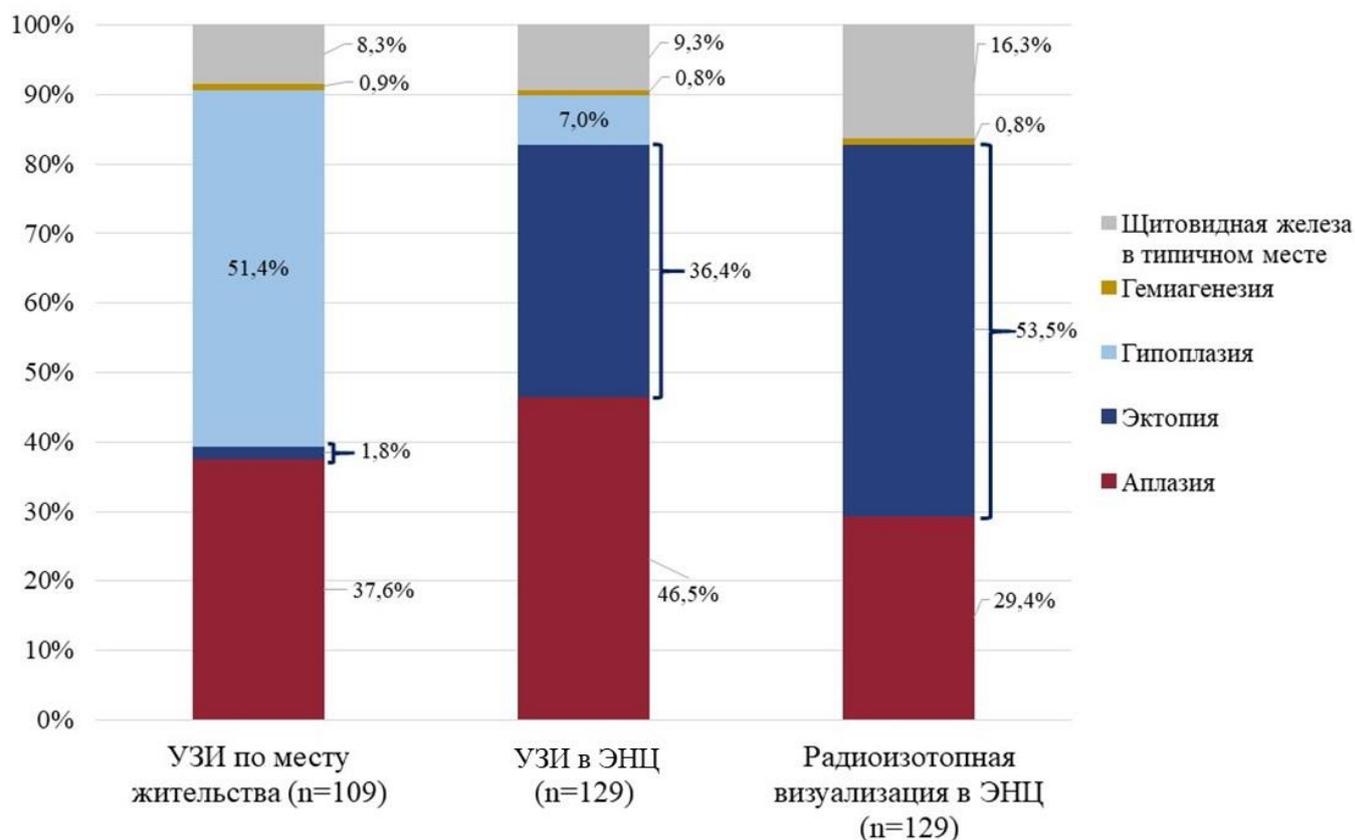


Рисунок 4. Результаты визуализации тиреоидной ткани

У 22 детей выявлено несоответствие в локализации тиреоидной ткани между результатами УЗИ и сцинтиграфии. По результатам УЗИ экспертного класса у этих пациентов ткань ЩЖ в типичном месте и местах возможной эктопии не была обнаружена (аплазия ЩЖ).

Дальнейшее проведение радиоизотопного исследования позволило установить правильный топический диагноз:

- 18 детей имели эктопию ЩЖ в корень языка;
- 4 ребенка имели эктопию ЩЖ в подъязычную область.

У двух детей наличие и локализация тиреоидной ткани установлены в ходе проведения ОФЭКТ, в то время, как по данным планарной сцинтиграфии ЩЖ не визуализировалась. Уровень ТГ у пациентов варьировал от 0,05 до 369,5 нг/мл, медиана - 23,73 [4,67; 59,67] нг/мл, что является сомнительным в отношении аплазии ЩЖ. Вариабельность уровня ТГ показывает низкую информативность данного показателя в каждом отдельном случае. Определяемый уровень ТГ свидетельствует в пользу необходимости дальнейшего поиска тиреоидной ткани.

Проведение комплексной анатомо-функциональной визуализации ЩЖ позволило диагностировать дисгенезию ЩЖ и определить ее структуру. Дисгенезия ЩЖ имела у 117 детей с ВГ, рисунок 5. Наиболее частой формой дисгенезии являлась эктопия ЩЖ – 59% (n=69), на втором месте по частоте – аплазия 32,5% (n=38), доля гипоплазии и гемиагенезии составили 7,7% (n=9) и 0,8% (n=1) соответственно.

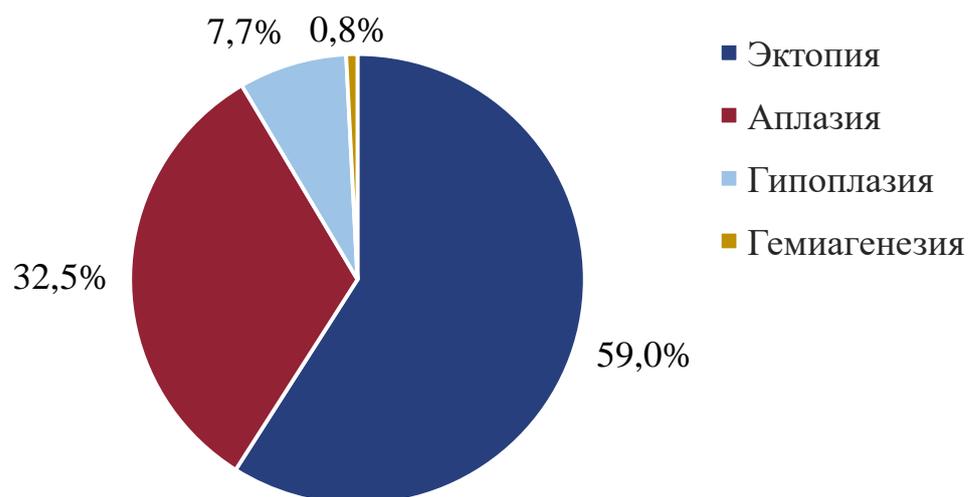


Рисунок 5. Структура дисгенезии щитовидной железы по данным комплексной анатомо-функциональной визуализации

Эктопия ЩЖ является наиболее частой формой дисгенезии. Среди обследованных пациентов у 69 детей выявлены различные варианты локализации эктопированной ткани ЩЖ:

- эктопия в корень языка — 48 детей (69,6%);
- эктопия в подъязычную область — 15 детей (21,7%);
- двойная эктопия (в корень языка и подъязычную область) - у 4 детей (5,8%);
- эктопия в предгортанную область - у 2 детей (2,9%).

Пациенты с ЩЖ в типичном месте (n=21) разделены на гипоплазию и дисгормоногенез (зоб и ткань ЩЖ в типичном месте нормального объема). Пациенты с ВГ, расцененные нами, как дети, имеющие гипоплазию ЩЖ представлены в таблице 4. Объем ЩЖ рассчитан по данным УЗИ. Для диагностики гипоплазии у новорожденных нами принята граница 1 мл [Perry, 2002]. Соответственно все дети, независимо от возраста, с объемом ЩЖ менее 1 мл были расценены, как дети с гипоплазией. Также к гипоплазии отнесены два ребенка: мальчик 11,6 лет с объемом ЩЖ 3,2 мл и девочка 8,9 лет с объемом ЩЖ 1,8 мл (увеличения объема ЩЖ на фоне отмены терапии левотироксином натрия не отмечено).

Таблица 4

Дети с врожденным гипотиреозом и гипоплазией щитовидной железы по данным УЗИ

№ пациента	Пол	Возраст, лет	ППТ, м ²	Объем ЩЖ на фоне отмены терапии или до ее начала, мл
1	м	7,3	0,81	0,1
2	м	1,9	0,99	0,6
3	ж	0,04	0,25	0,5
4	м	6,2	0,76	1,0
5	м	11,6	1,65	3,2
6	ж	4,2	0,70	0,9
7	м	4,7	0,76	0,8
8	м	4,3	0,80	0,9
9	ж	8,9	1,06	1,8

Двенадцать детей с ЩЖ в типичном месте отнесены к дисгормоногенезу – зоб (n=7) и ЩЖ нормального размера (n=5) (табл.5). В таблице представлен объем ЩЖ на фоне отмены терапии или до ее начала.

**Дети с врожденным гипотиреозом и щитовидной железой в типичном месте
нормального или увеличенного объема**

N пациента	Пол	Возраст, лет	ППТ, м²	Объем ЩЖ на фоне отмены терапии или до ее начала, мл
1	м	4,7	0,81	7,0
2	ж	0,2	0,32	2,2
3	м	4,2	0,76	14,8
4	ж	0,04	0,24	1,5
5	м	8,2	0,99	5,5
6	ж	13,4	1,56	20,3
7	м	4,2	0,69	8,9
8	м	10,7	1,29	4,9
9	м	13,0	1,48	5,3
10	м	4,2	0,77	11,0
11	ж	6,5	0,75	4,1
12	м	0,04	0,26	1,2

Дети N2, 8, 9 и 12 (табл.5) не имели увеличения ЩЖ, но в последующем молекулярно-генетическое исследование выявило у этих пациентов изменения в генах, ассоциированных с дисгормоногенезом. Учитывая, что большинство детей принимали левотироксин натрия в течение длительного времени, а его отмена с целью подготовки к обследованию была кратковременной, отсутствие зоба у части детей может быть обусловлено супрессивным действием препарата. Другой причиной может быть тяжелый постнатальный дефицит йода, приводящий к атрофии тканей, различная степень ферментативной дисфункции и тяжесть генетических изменений.

Ультразвуковое исследование детей с ВГ позволило выявить кисты в проекции пустого ложа ЩЖ. Интересным представляется тот факт, что кисты выявлены у 52 детей (40%). Все пациенты с кистами имели дисгенезию ЩЖ (20 детей с аплазией, 32 ребенка с эктопией различной локализации).

Таким образом, комплексный метод визуализации позволил установить точный топический диагноз детям с ВГ. Несмотря на то, что УЗИ не всегда позволяет диагностировать эктопию его проведение важно, поскольку метод сцинтиграфии основан на транспорте РФП в тироциты с помощью натрий-йодного симпортера (NIS), при мутациях в данном гене тиреоидная ткань не будет визуализироваться на сцинтиграмме. УЗИ в данном случае позволит определить наличие тиреоидной ткани.

**Результаты обследования детей с врожденным гипотиреозом
в зависимости от локализации щитовидной железы**

Уровень ТТГ по данным неонатального скрининга у пациентов с аплазией ЩЖ был статистически значимо выше, чем у пациентов с эктопией (252,1 мМЕ/мл против 130,1 мМЕ/мл, $p=0,001$) и гипоплазией (252,1 мМЕ/мл против 22,2 мМЕ/мл, $p<0,001$) (табл.6). Выявлено статистически значимое различие в уровне ТТГ по скринингу у пациентов с эктопией и гипоплазией (130,1 против 22,2 мМЕ/мл, $p=0,008$). Таким образом, более высокий уровень ТТГ по результатам неонатального скрининга может позволить предположить

аплазию, но ввиду пересечения значений не может использоваться, как прогностический маркер в каждом отдельном случае.

Обращает на себя внимание, что пациенты с аплазией ЩЖ имели уровень ТГ статистически значимо ниже по сравнению с пациентами с эктопией и с уменьшенной в объеме ЩЖ (гипоплазией) ($p < 0,001$ и $p = 0,009$). У пациентов с дисгормоногенезом отмечен высокий уровень ТГ по сравнению с пациентами с аплазией (135,24 нг/мл против 1,36 нг/мл, $p = 0,001$).

При проведении скинтиграфии ЩЖ обращает на себя внимание статистически значимое отличие в значении индекса захвата РФП: пациенты с эктопией ЩЖ имели более низкий индекс захвата РФП по сравнению с пациентами с гипоплазией (0,2% против 0,8%, $p = 0,008$), пациенты с дисгормоногенезом – более высокий по сравнению с пациентами с эктопией (3,6% против 0,2%, $p < 0,001$).

Пациенты с аплазией ЩЖ имели более высокую потребность в дозе левотироксина натрия по сравнению с пациентами с гипоплазией (медиана суточной дозы составила 3,2 [2,5; 3,8] мкг/кг/сут против 2,0 [0,6; 2,5] мкг/кг/сут, $p = 0,012$). В остальных случаях значимых различий не выявлено.

Исходя из проведенного анализа можно сделать вывод, что для ВГ, обусловленного аплазией ЩЖ характерны высокий уровень ТТГ по данным неонатального скрининга, низкий уровень ТГ и высокая потребность в левотироксине натрия.

С целью определения взаимосвязи между уровнем неонатального ТТГ и ТГ проведен корреляционный анализ (рис.6). Получена слабая отрицательная корреляция анализируемых показателей (коэффициент корреляции составил $r = -0,197$ ($p = 0,0472$)).

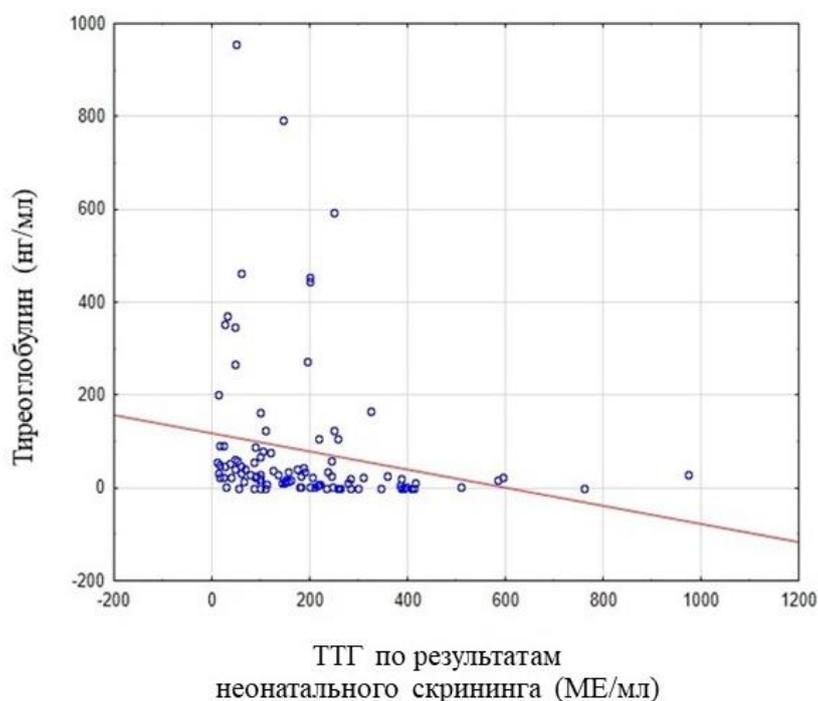


Рисунок 6. Корреляция между уровнем ТГ и ТТГ по результатам неонатального скрининга

Таким образом, сочетание высокого уровня неонатального ТТГ и низкого ТГ позволяет предположить наличие аплазии ЩЖ, но с учетом абсолютных значений, клиническая значимость полученного результата может быть сомнительной.

Сравнительная характеристика результатов обследования пациентов в зависимости от локализации тиреоидной ткани

	Аплазия (1) N=38		Эктопия (2) N=69		Гипоплазия, гемиагенезия (3) N=10		Дисгормоногенез (ЩЖ в типичном месте нормального или увеличенного объема) (4) N=12		p, критерий Краскелла- Уоллиса	p, post-hoc
	N	Me [Q1;Q3]	N	Me [Q1;Q3]	N	Me [Q1;Q3]	N	Me [Q1;Q3]		
ТТГ (МЕ/мл), неонатальный скрининг	32	252,1 [184,6; 327,7]	52	130,1 [60,2; 229,5]	8	22,2 [14,0; 35,8]	12	126,9 [59,8; 216,5]	<0,001	p ₁₋₂ =0,001 p ₁₋₃ <0,001 p ₁₋₄ =0,074 p ₂₋₃ =0,008 p ₂₋₄ =1,000 p ₃₋₄ =0,052
ТГ (нг/мл) (3,5-77)	38	1,36 [0,04; 8,31]	69	37,12 [23,12; 89,54]	10	23,81 [20,03; 55,48]	12	135,24 [0,04; 518,70]	<0,001	p ₁₋₂ <0,001 p ₁₋₃ =0,009 p ₁₋₄ =0,001 p ₂₋₃ =1,000 p ₂₋₄ =1,000 p ₃₋₄ =1,000
Индекс захвата РФП (%) (0,8-1,7)	0	-	56	0,2 [0,1; 0,4]	9	0,8 [0,5; 1,6]	12	3,6 [2,0; 10,2]	<0,001	p ₂₋₃ =0,008 p ₂₋₄ <0,001 p ₃₋₄ =0,480
Доза левотироксина натрия при обследовании в ЭНЦ, мкг/кг/сут	38	3,2 [2,5; 3,8]	68	2,6 [1,9; 3,3]	10	2,0 [0,6; 2,5]	12	2,9 [1,7; 4,7]	<0,001	p ₁₋₂ =0,114 p ₁₋₃ =0,012 p ₁₋₄ =1,000 p ₂₋₃ =0,388 p ₂₋₄ =1,000 p ₃₋₄ =0,285

Примечание. Пороговый $p=0,05/4=0,0125$ (после применения поправки Бонферрони).

Оценка диагностической информативности методов комплексной анатомо-функциональной визуализации: ультразвукового и радиоизотопного

Диагностическая ценность методов (УЗИ, планарной сцинтиграфии и ОФЭКТ) была оценена с помощью параметром информативности (ДЧ, ДС, ПЦПР, ПЦОР). В качестве «золотого стандарта» постановки топического диагноза была выбрана радиоизотопная визуализация (сочетание планарной сцинтиграфии и ОФЭКТ).

Проведенный анализ показывает, что чувствительность для диагностики аплазии составляет 100% во всех случаях. Это значит, что все методы выявляли аплазию в 100% случаев, но в случае УЗИ имелась гипердиагностика – об этом свидетельствует низкая ПЦПР. Планарная сцинтиграфия и ОФЭКТ имеют высокую ПЦПР по сравнению с УЗИ (97% и 100% против 63%), что является основным критерием выбора метода визуализации для подтверждения (диагностики) аплазии и предотвращения гипердиагностики, табл.7.

Для диагностики эктопии также проведена оценка диагностической ценности методов обследования. Обобщенная таблица диагностической информативности методов обследования детей для диагностики эктопии с ДИ представлена ниже (табл. 8). Для исключения эктопии (по ПЦОР) наиболее ценным является проведение планарной сцинтиграфии и ОФЭКТ по сравнению с УЗИ (95% и 100% против 73%). УЗИ имеет низкую чувствительность (68%) для диагностики эктопии, что ведет к гиподиагностике.

Таблица 7

Характеристики диагностической информативности методов диагностики аплазии щитовидной железы (в сравнении с «золотым стандартом»)

	УЗИ	Планарная сцинтиграфия	ОФЭКТ
ДЧ (95% ДИ)	100% (91%-100%)	100% (91%-100%)	100% (90%-100%)
ДС (95% ДИ)	76% (66%-84%)	93% (80%-98%)	100% (96%-100%)
ПЦПР (95% ДИ)	63% (50%-75%)	97% (91%-99%)	100% (90%-100%)
ПЦОР (95% ДИ)	100% (95%-100%)	100% (96%-100%)	100% (96%-100%)

Таблица 8

Характеристики диагностической информативности методов диагностики эктопии щитовидной железы (в сравнении с «золотым стандартом»)

	УЗИ	Планарная сцинтиграфия	ОФЭКТ
ДЧ (95% ДИ)	68% (56%-79%)	96% (88%-99%)	100% (94%-100%)
ДС (95% ДИ)	100% (94%-100%)	100% (94%-100%)	100% (93%-100%)
ПЦПР (95% ДИ)	100% (92%-100%)	100% (95%-100%)	100% (94%-100%)
ПЦОР (95% ДИ)	73% (62%-82%)	95% (87%-99%)	100% (93%-100%)

Полученные статистические данные подтверждают преимущество радиоизотопного исследования в диагностике эктопии ЩЖ у детей с ВГ.

Оценка диагностической информативности уровня тиреоглобулина для диагностики аплазии щитовидной железы

Проведена оценка диагностической информативности методов обследования детей для диагностики аплазии ЩЖ. Полученные результаты показывают, что прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) уровня ТГ статистически значимо не отличается от ПЦПР остальных методов. Обращает на себя внимание ширина доверительного интервала уровня ТГ. Таким образом, тиреоглобулин не может использоваться для подтверждения аплазии в каждом отдельном случае.

Статистические данные показывают, что сочетание низкого уровня ТГ (<1нг/мл) и отсутствие визуализации тиреоидной ткани по данным УЗИ позволяет с высокой вероятностью предположить аплазию ЩЖ, но ввиду низкой чувствительности (46%) не может быть единственным методом диагностики в каждом отдельном случае. На основании этого можно выделить группу пациентов, которым требуется дополнительная визуализация в виде проведения планарной сцинтиграфии или ее сочетании с ОФЭКТ.

Обращает на себя внимание, что уровень ТГ у пациентов с аплазией ЩЖ варьировал от 0,04 до 42,33 нг/мл, при эктопии – от 0,05 до 463,8 нг/мл, что ввиду пересечения значений не позволяет использовать данные показатели в диагностике аплазии.

Обобщенная таблица диагностической информативности представлена ниже (табл.9).

Таблица 9

Характеристики диагностической информативности методов диагностики аплазии щитовидной железы (в сравнении с «золотым стандартом»)

	ТГ < 1 нг/мл	УЗИ	УЗИ+ТГ	Планарная сцинтиграфия	ОФЭКТ
ДЧ (95% ДИ)	46% (34%-55%)	100% (91%-100%)	46% (29%-63%)	100% (91%-100%)	100% (90%-100%)
ДС (95% ДИ)	93% (88%-97%)	76% (66%-84%)	99% (94%-100%)	93% (80%-98%)	100% (96%-100%)
ПЦПР (95% ДИ)	74% (54%-88%)	63% (50%-75%)	94% (73%-100%)	97% (91%-99%)	100% (90%-100%)
ПЦОР (95% ДИ)	81% (76%-84%)	100% (95%-100%)	82% (73%-88%)	100% (96%-100%)	100% (96%-100%)

В связи с невысокими показателями чувствительности 46% и ПЦПР – 74% для уровня ТГ < 1 нг/мл был проведен ROC-анализ с целью получения новой отрезной точки уровня ТГ для улучшения диагностики аплазии, рисунок 7. AUC составляет 0,942 (95% ДИ: 0,899-0,984), что свидетельствует о высокой диагностической способности изучаемого маркера (ТГ). Отрезная точка ТГ составила 8,92 нг/мл. Матрица классификации представлена в таблице 10.

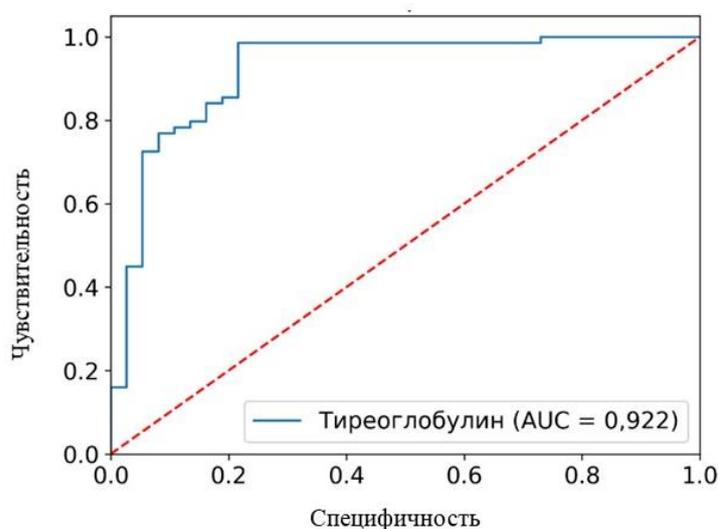
**Матрица классификации пациентов с аплазией и эктопией
с использованием отрезной точки ТГ – 8,92 нг/мл**

		Планарная сцинтиграфия + ОФЭКТ	
		Эктопия	Аплазия
ТГ	$\geq 8,92$ нг/мл	68	8
	$< 8,92$ нг/мл	1	29

ДЧ=99% (95% ДИ: 92%-100%); ДС=78% (95% ДИ: 62%-90%)

ПЦПР=89% (95% ДИ: 80%-95%); ПЦОР=97% (95% ДИ: 83%-100%)

Таким образом, при значении уровня ТГ $\geq 8,92$ нг/мл вероятность наличия эктопии ЩЖ по сравнению с аплазией составляет от 80 до 95%, при значении $< 8,92$ нг/мл – вероятность аплазии составляет от 83 до 100%. Выше данной отрезной точки уровень ТГ имели 7 пациентов, их значения варьировали от 14,29 до 42,33 нг/мл.



**Рисунок 7. ROC-анализ уровня тиреоглобулина
для диагностики аплазии щитовидной железы**

Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что для диагностики аплазии ЩЖ и исключения эктопии методом выбора визуализации является сцинтиграфия. Вероятность аплазии ЩЖ у детей выше при значении уровня ТГ менее 8,92 нг/мл.

Молекулярно-генетическая основа врожденного гипотиреоза

С целью определения генетической причины ВГ 128 детям проведено полноэкзомное секвенирование. Варианты различной клинической значимости вынесены в заключение по результатам исследования для 38,3% детей (49 из 128), рис 8.

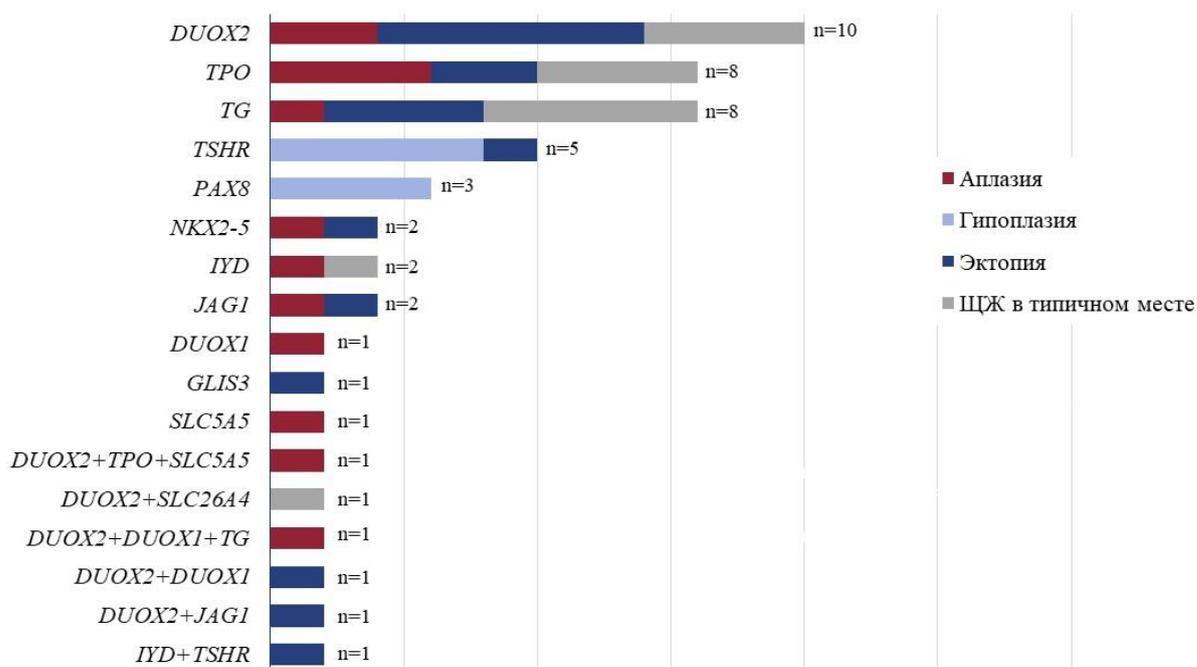


Рисунок 8. Изменения в генах, ассоциированных с врожденным гипотиреозом, в зависимости от топографии щитовидной железы

Дисгормоногенез

У двенадцати детей с ЩЖ в типичном месте выявлено в общей сложности 19 различных вариантов, ассоциированных с дисгормоногенезом (*DUOX2*, *TG*, *TPO*, *SLC26A4*, *IYD*). У одного пациента с ЩЖ в типичном месте нормального размера показано наличие гомозиготного варианта в гене *DUOX2* (NM_014080.4). Отмена терапии не привела к повышению ТТГ, в связи с чем верифицирован транзиторный ВГ. Согласно катамнестическим данным, в течение 2 лет наблюдения на фоне отмены терапии у ребенка сохраняется эутиреоз.

У шести пациентов показано наличие пары вариантов, классифицирующихся как патогенные, вероятно патогенные или неопределенной клинической значимости в компаунд-гетерозиготном состоянии. Фазирование этих вариантов с помощью секвенирования целевых регионов в ДНК родителей по Сэнгеру проведено для трех пациентов, для остальных пациентов фазирование проведено путем визуализации в геномном браузере за счет близкого расположением вариантов. Таким образом, генетическая причина установлена у 7 из 12 детей. Выявленные изменения соответствуют общепринятым данным, регламентированным в консенсусе по врожденному гипотиреозу.

У одного ребенка обнаружено два гетерозиготных варианта в генах *DUOX2* и *SLC26A4* соответственно. Для него с высокой вероятностью можно предположить участие выявленного варианта в гене *DUOX2* генов в этиологии, так как имеются описания об АД типе наследования для мутаций в гене *DUOX2*.

У остальных четырех пациентов идентифицирован один гетерозиготный вариант, что может быть обусловлено как ограничением метода полноэкзомного секвенирования, и второй вариант не найден, так и отсутствием влияния данного гена в патогенезе ВГ у этих детей.

Дисгенезия

У 7 детей с ЩЖ в типичном месте, уменьшенной в объеме – гипоплазией выявлено 8 гетерозиготных вариантов, ассоциированных с дисгенезией (*TSHR*, *PAX8*). Все выявленные

изменения соответствуют фенотипу заболевания и объясняют его причину на генетическом уровне.

Один ребенок имел компаунд-гетерозиготный вариант в гене *TSHR*, что было подтверждено исследованием генотипа родителей. У одного ребенка с выраженной гипоплазией, родившегося от близкородственного брака идентифицирован гомозиготный вариант в гене *TSHR*. Генотип пациентов с аплазией ЩЖ (n=14) достаточно вариабелен и представлен как изменениями в генах, традиционно ассоциированных с дисгормоногенезом (*DUOX2*, *DUOX1*, *TG*, *TPO*, *SLC5A5*, *IYD*), так и с дисгенезией (*JAG1*, *NKX2-5*). У 13 детей выявлены различные генетические варианты. В 2 из 14 случаев установлена генетическая причина заболевания. У ребенка с аплазией ЩЖ выявлена новая гетерозиготная вариантная замена в гене *JAG1*, у другого ребенка имелась гетерозиготная вариантная замена в гене *NKX2-5*.

Учитывая тот факт, что у одного из пациентов идентифицировано две гетерозиготные вариантные замены в гене *TPO*, проведено генетическое обследование родителей. Компаунд-гетерозиготность исключена, так как оба варианта были выявлены у здоровой матери пробанда. Один из пациентов с аплазией ЩЖ имел олиогенный вариант – идентифицированы четыре гетерозиготных варианта: делеция нуклеотидов в гене *DUOX2*, вариантная замена в гене *TPO* и две гетерозиготные замены в гене *SLC5A5*. Нельзя исключить влияние данных генов в развитии заболевания у данного пациента. Для подтверждения компаунд-гетерозиготного варианта гена *SLC5A5* родителям рекомендовано генетическое обследование.

У 17-ти пациентов с эктопией ЩЖ различной локализации выявлено 20 гетерозиготных вариантов различной клинической значимости в генах, ассоциированных с дисгормоногенезом (*DUOX2*, *DUOX1*, *TG*, *TPO*, *IYD*) и дисгенезией (*NKX2-5*, *JAG1*, *GLIS3*, *TSHR*). Генотип 3 пациентов представлен дигенными нуклеотидными изменениями: *IYD+TSHR*, *DUOX2+DUOX1* и *JAG1+DUOX2*. У 3 из 17 детей с гетерозиготными вариантными заменами в генах *NKX2-5* и *JAG1* идентифицирована генетическая причина в соответствии с консенсусом. Важно отметить, что найденные нами изменения гена *JAG1* ранее не описаны.

У 7 детей с эктопией выявлены гетерозиготные варианты в гене *DUOX2*. Этим детям требуется дополнительное обследование для поиска второго гетерозиготного варианта и обследование родителей.

Нельзя исключить вклад генов *TG*, *TPO* в этиологию дисгенезии, полученные нами данные представляют большой интерес для изучения патогенетических особенностей заболевания и требуют дальнейшего изучения.

Таким образом, соответствие генотипа локализации ЩЖ установлено у трети пациентов – у 19 из 49 детей, а именно:

- у 7 пациентов с зубом (7 из 12),
- у 7 пациентов с гипоплазией (7 из 7),
- у 3 пациентов с эктопией (3 из 17),
- у 2 пациентов с аплазией (2 из 13).

Полноэкзомное секвенирование не позволяет достоверно выявлять инсерции и обширные делеции, а также мутации в интронных областях (за исключением канонических сайтов сплайсинга), вариации длины повторов (в том числе экспансии триплетов) и мутации в генах, у которых в геноме существует псевдоген. Для уточнения клинической значимости выявленных изменений проведено молекулярно-генетическое исследование (секвенирование по Сэнгеру) 34 членам семей. Обследование членов семьи выявило 23 человека с различными

мутациями. У 3 пробандов обследование родителей позволило подтвердить компаунд-гетерозиготность выявленных вариантов. Полученные данные при обследовании родителей и сибсов важны для понимания патогенеза заболевания.

ВЫВОДЫ

1. Морфологическую основу врожденного гипотиреоза в 90,7% случаев составляет дисгенезия щитовидной железы, в 9,3% - дисгормоногенез. В структуре дисгенезии эктопия выявлена в 59% случаев, аплазия – в 32,5%, гипоплазия – в 7,7%, гемиагенезия – в 0,8% случаев.
2. Для диагностики эктопии щитовидной железы ультразвуковое исследование имеет низкую чувствительность (68%), только проведение радиоизотопного исследования позволяет установить локализацию эктопированной тиреоидной ткани (прогностическая ценность отрицательного результата для планарной сцинтиграфии составляет 95%, для ОФЭКТ - 100%, для УЗИ - 73%).
3. Уровень неонатального ТТГ при аплазии щитовидной железы достоверно выше, чем при эктопии (252,1 [184,6; 327,7] против 130,1[60,2; 229,5], $p=0,001$). Уровень тиреоглобулина менее 8,92 нг/мл («отрезная точка») позволяет с вероятностью от 83 до 100% диагностировать аплазию щитовидной железы.
4. Полноэкзомное секвенирование выявило различные молекулярно-генетические изменения у 38,3% детей с врожденным гипотиреозом: в 61,2% случаев в генах, ассоциированных с биосинтезом тиреоидных гормонов (*DUOX2*, *TPO*, *TG*), в 26,6% - в генах, участвующих в закладке и миграции щитовидной железы (*TSHR*, *PAX8*, *JAG1*, *NKX2-5*, *GLIS3*), в 12,2% - различные дигенные и олигогенные варианты.
5. Соответствие «генотип - тиреоидный фенотип» выявлено в 38,8% случаев: при гипоплазии в 100% случаев, при зобе у 58,3%, при эктопии – 17,6% и при аплазии у 15,4%.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для исключения эктопии щитовидной железы всем детям с аплазией или гипоплазией по данным УЗИ и уровнем тиреоглобулина более 8,92 нг/мл рекомендовано проведение радиоизотопного исследования.
2. Молекулярно-генетическое исследование рекомендовано проводить всем детям с врожденным гипотиреозом для проведения семейного генетического консультирования, особенно в семейных случаях заболевания, а также при врожденном гипотиреозе в сочетании с экстратиреоидными проявлениями.

**СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ,
ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. **Шрёдер Е.В.**, Ширяева Т.Ю., Нагаева Е.В., Безлепкина О.Б. Клинические рекомендации по врожденному гипотиреозу Европейского общества детских эндокринологов (ESPE) и Европейского эндокринологического общества (ESO): основные положения и комментарии // Клиническая и экспериментальная тиреологическая. — 2021. — Т. 17. — №2. — С. 4-12.
2. **Шрёдер Е.В.**, Вагина Т.А., Конюхова М.Б., Нагаева Е.В., Ширяева Т.Ю., Захарова С.М., Дегтярев М.В., Вязьменов Э.О., Безлепкина О.Б. Эктопия щитовидной железы: особенности клиники и диагностики у детей. Проблемы эндокринологии. 2022;68(3):76-85.
3. **Шрёдер Е.В.**, Вагина Т.А., Солодовникова Е.Н., Захарова В.В., Дегтярев М.В., Конюхова М.Б., Сергеева Н.В., Безлепкина О.Б. Патогенные варианты гена TSHR у детей с дисгенезией щитовидной железы // Проблемы эндокринологии. — 2023. — Т. 69. — №1. — С. 76-85
4. Тихонович Ю.В., Черных Л.Г., Великанов И.Н., Полякова В.М., Васильев Е.В., Петров В.М., **Шрёдер Е.В.**, Главатских Е.В., Тюльпаков А.Н. Неонатальный сахарный диабет в сочетании с врожденным гипотиреозом у пациентки с новой гомозиготной мутацией гена GLIS3. *Сахарный диабет*. 2022;25(1):81-88.
5. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Ширяева Т.Ю., Вагина Т.А., Нагаева Е.В., Чикулаева О.А., **Шрёдер Е.В.**, Конюхова М.Б., Макрецкая Н.А., Шестопалова Е.А., Митькина В.Б. Клинические рекомендации «Врожденный гипотиреоз». Проблемы эндокринологии. 2022;68(2):90-103.
6. **Ekaterina Shreder**, Tatiana Vadina, Olga Bezlepkina. A novel DUOXA2 mutation in russian family with thyroid dysgenesis. *Endocrine Abstracts (2021) 73 AEP721* | DOI: 10.1530/endoabs.73.AEP721
7. **Е.В. Шрёдер**, Т.А. Вагина, Т.Ю. Ширяева, Е.В. Нагаева, О.Б. Безлепкина. Топическая диагностика тиреоидной ткани у детей с дисгенезией щитовидной железы при врожденном гипотиреозе. Сборник тезисов XVII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Достижения науки в практику детского эндокринолога», 12–13 июня 2021 г. – М.: ООО «ТИПОГРАФИЯ ПЕЧАТНЫХ ДЕЛ МАСТЕР», 2021. С183
8. Vadina T., Konuhova M, Eremyan A., **Shreder E.**, Nagaeva E., Zaharova S., Degtyarev M., Bezlepkina O. Thyroid dyshormonogenesis: a case report of two siblings with a heterozygous variant in the TPO gene. *Horm Res Paediatr* 2021;94 (suppl 1):1–445 С.442
9. **Шрёдер Е.В.**, Вагина Т.А., Конюхова М.Б., Захарова С.М., Дегтярев М.В., Серженко С.С., Конюхова М.Б., Вязьменов Э.О., Нагаева Е.В., Безлепкина О.Б. Врожденный гипотиреоз — особенности визуализации ткани щитовидной железы. Сборник тезисов конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием: «Достижения науки в практику детского эндокринолога» 4–5 декабря 2021 года, онлайн формат. С.71.
10. **Шрёдер Е.В.**, Конюхова М.Б., Вагина Т.А., Захарова С.М., Дегтярев М.В., Захарова В.В., Нагаева Е.В., Безлепкина О.Б. Клинический случай врожденного первичного гипотиреоза, обусловленный дефектом гена TGСборник тезисов конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным

- участием: «Достижения науки в практику детского эндокринолога» 4–5 декабря 2021 года, онлайн формат. С.71-72.
11. Вадина Т.А., **Шрёдер Е.В.**, Тюльпаков М.А., Захарова В.В., Нагаева Е.В., Сергеева Н.В., О.Б. Безлепкина. Два случая врожденного гипотиреоза, обусловленного разными мутациями гена рецептора ТТГ. Сборник тезисов конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием: «Достижения науки в практику детского эндокринолога» 4–5 декабря 2021 года, онлайн формат. С.13.
 12. Вадина Т.А., Захарова С.М., Ширяева Т.Ю., Конюхова М.Б., Солодовникова Е.Н., Богданов В.П., Дегтярев М.В., **Шредер Е.В.**, Безлепкина О.Б. Гетерозиготный вариант гена ТРО у ребенка с аплазией щитовидной железы и эутиреоидным многоузловым зобом у матери. Сборник тезисов II конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием: «Персонализированный подход в детской эндокринологии» 29-30 марта 2022 года, онлайн формат. С 19.
 13. **Шрёдер Е.В.**, Вадина Т.А., Дегтярёв М.В., Писарева Е.А., Конюхова М.Б., Щеглова О.С., Захарова С.М., Дмитриева М.О., Нагаева Е.В., Безлепкина О.Б. Двойная эктопия щитовидной железы при врожденном гипотиреоза. Сборник тезисов II конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием: «Персонализированный подход в детской эндокринологии» 29-30 марта 2022 года, онлайн формат. С 95.
 14. Петеркова В.А., Безлепкина О.Б., Ширяева Т.Ю., Вадина Т.А., Нагаева Е.В., Чиклаева О.А., **Шрёдер Е.В.**, Конюхова М.Б., Макрецкая Н.А., Шестопалова Е.А., Митькина В.Б. Клинические рекомендации «Врожденный гипотиреоз». *Проблемы Эндокринологии*. 2022;68(2):90-103. <https://doi.org/10.14341/probl12880>
 15. **Shreder E**, Vadina T, Solodovnikova E, Shiryaeva T, Konuhova M, Dmitrieva M, Bogdanov V, Nagaeva E, Bezlepkina O. A familial case of PAX8 gene variant with incomplete penetrance. *Horm Res Paediatr* 2022;95:1–616: 409. <https://doi.org/10.1159/000525606>
 16. **E. Shreder** , Y. Tikhonovich , L. Chernykh, I. Velikanov , V. Polyakova , E. Vasilyev , V. Petrov , A. Tiulpakov. Neonatal diabetes mellitus with congenital hypothyroidism in a patient with a novel homozygous mutation in GLIS3. Abstracts for the 47th Annual Conference of the International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD), Virtual, October 13–15, 2021
 17. Тихонович Ю.В.; **Шрёдер Е.В.**; Гаряева И.В.; Рыбкина И.Г.; Чернова Е.В.; Петрайкина Е.Е. Врожденный гипотиреоз: важность своевременной постановки диагноза и последствия отсроченной терапии. Сборник тезисов по материалам XXI Городской юбилейной научно-практической конференции «Эндокринные аспекты в педиатрии», 2022 г.
 18. Безлепкина О.Б., Вадина Т.А., Ширяева Т.Ю., **Шредер Е.В.**, Шестопалова Е.А. «Врожденный гипотиреоз». Национальное руководство «Неонатальный скрининг» под ред. ак. РАН С.И.Куцева, М.-ГЭОТАР-Медиа, 2023

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВГ – врожденный гипотиреоз	DUOX2 – ген двойной оксидазы 2
ДИ – доверительный интервал	DOUXA2 – ген активатор созревания двойной оксидазы 2
ДС – диагностическая специфичность	DUOX1 - ген двойной оксидазы 1
ДЧ – диагностическая чувствительность	DOUXA1 – ген активатор созревания двойной оксидазы 1
МРТ – магнитно-резонансная томография	FOXE1 – фактор транскрипции щитовидной железы 2
ОФЭКТ – однофотонная эмиссионная компьютерная томография	GLIS3 - GLI-подобный 3 ген
ПЦОР – прогностическая ценность отрицательного результата	H ₂ O ₂ – перекись водорода
ПЦПР – прогностическая ценность положительного результата	IYD/IYD – ген/белок йодтирозин-дейодиназа
РФП – радиофармпрепарат	TSHR- ген рецептора к тиреотропному гормону
Св.Т ₄ – свободный тироксин	MIT- монойодтирозин
Св.Т ₃ – свободный трийодтиронин	NIS - натрий-йодный симпортер
ТГ - тиреоглобулин	NKX2-1 (TTF-1) - ген NK2 гомеобокс 1
ТТГ – тиреотропный гормон	NKX2-5- ген NK2 гомеобокс 5
УЗИ – ультразвуковое исследование	O ₂ - кислород
ЦДК - цветное доплеровское картирование	PAX8 - paired box ген
ЩЖ – щитовидная железа	SLC26A4/ Pendrin – ген анионного транспортера
ЭДК – энергетическое доплеровское картирование	SLC5A5- ген семейства транспортеров растворов
ЭНЦ - ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России	TPO – ген тиреопероксидазы
ДИТ - дийодтирозин	