

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ
И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Носова Надежда Рудольфовна

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

14.01.04 – Внутренние болезни

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Моисеев Сергей Валентинович

Москва – 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Этиология и патогенез болезни Фабри (БФ)	11
1.2. Распространенность БФ	13
1.3. Значение ранних клинических проявлений в диагностике БФ	13
1.3.1. Поражение периферической нервной системы	13
1.3.2. Поражение кожи.....	17
1.3.3. Поражение органа зрения.....	18
1.3.4. Другие ранние симптомы БФ.....	20
1.4. Клинические варианты течения БФ	21
1.5. Значение семейного скрининга в диагностике БФ	23
1.6. Принципы молекулярно-генетической диагностики БФ	25
1.7. Определение концентрации биомаркера lyso-GI3 в диагностике и оценке тяжести БФ	26
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
2.1. Описание выборки больных	31
2.2. Оценка тяжести БФ	32
2.3. Молекулярно-генетические и биохимические методы	32
2.4. Семейный скрининг	35
2.5. Статистический анализ	35
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	37
3.1. Общая характеристика больных	37
3.2. Частота и клиническая характеристика ранних проявлений у пациентов с БФ	39
3.2.1. Поражение периферической нервной системы.....	39
3.2.2. Нарушение потоотделения.....	42
3.2.3. Ангиокератомы	42

3.2.4. Поражение органа зрения.....	46
3.2.5. Другие ранние симптомы БФ.....	48
3.3. Клиническая диагностика БФ.....	50
3.3.1. Принципы диагностики БФ на основании ранних симптомов.....	50
3.3.2. Принципы диагностики БФ у пациентов с поздним вариантом заболевания.....	54
3.4. Роль семейного скрининга в ранней диагностике БФ.....	56
3.5. Взаимосвязь ранних клинических проявлений БФ с общей тяжестью течения заболевания.....	59
3.6. Значение определения концентрации субстрата накопления глоботриаозилсфингозина (lyso-G13) для диагностики БФ.....	67
3.6.1. Роль определения активности α -галактозидазы А.....	67
3.6.2. Роль определения уровня глоботриаозилсфингозина (lyso-G13).....	68
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	72
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	89
ВЫВОДЫ.....	90
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	92
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	93
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	95
Приложение А. Алгоритм диагностики и ведения пациента с БФ.....	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Болезнь Фабри (БФ) является редкой лизосомной болезнью накопления, характеризующейся нарушением обмена гликофосфолипидов вследствие недостаточности или отсутствия лизосомной α -галактозидазы А, что обусловлено мутацией гена GLA, расположенного на X-хромосоме. Снижение активности α -галактозидазы А приводит к накоплению гликофосфолипидов в лизосомах клеток различных органов и тканей с нарушением их функции [114]. Распространенность болезни среди населения различных стран мира варьируется в широких пределах (от 1 на 117000 до 1 на 476000 населения), занимая второе место среди лизосомных болезней накопления (после болезни Гоше) [88]. В России в настоящее время выявлено около 230 пациентов с БФ, хотя предполагаемая распространенность этого заболевания составляет примерно 1 случай на 50-100 000 населения.

У пациентов с классическим вариантом БФ первые симптомы, в частности нейропатическая боль, ангиокератомы, снижение или отсутствие потоотделения, желудочно-кишечные нарушения, появляются в детском или подростковом возрасте [79], а в возрасте 20–40 лет развивается поражение внутренних органов, в том числе сердца (гипертрофия миокарда), почек (протеинурия, прогрессирующее снижение скорости клубочковой фильтрации) и центральной нервной системы (транзиторные ишемические атаки, инсульт) [88].

БФ имеет прогрессирующее течение, сопровождается снижением качества и продолжительности жизни. Несмотря на то, что первые симптомы болезни проявляются в детском или подростковом возрасте, в большинстве случаев на момент генетического подтверждения заболевания у пациентов уже имеется повреждение почек, сердца, центральной нервной системы, что, безусловно, ухудшает эффективность ферментзаместительной терапии.

Появление специфической терапии изменило прогноз данного наследственного заболевания, создало предпосылки для улучшения выживаемости больных и уменьшения частоты неблагоприятных исходов. В связи с этим возникает необходимость, исходя из современного понимания механизмов развития этого сфинголипидоза, формирования новых подходов к его диагностике и установлению оптимального возраста начала терапии в различных группах пациентов [88].

Однако многие вопросы, касающиеся эффективности методов диагностики, этапности скрининга, роли клинических и биохимических маркеров БФ остаются недостаточно изученными, что и обуславливает актуальность темы.

Цель исследования

У пациентов с болезнью Фабри определить роль ранних клинических проявлений, семейного скрининга и нового биохимического маркера в диагностике и оценке прогноза болезни.

Задачи исследования

1. Проанализировать частоту и охарактеризовать спектр ранних клинических проявлений БФ, выявить среди них наиболее значимые для подтверждения предполагаемого диагноза БФ;
2. Установить место семейного скрининга среди методов ранней диагностики БФ;
3. Определить значение ранних клинических проявлений БФ как критериев прогноза тяжести течения заболевания, оцененного, в том числе, с помощью индекса тяжести БФ (MSSI);
4. Оценить значение определения уровня лизо-глоботриаозилсфингозина (lyso-Gl3) для диагностики БФ и его связь с суммарным индексом тяжести БФ (MSSI);

Положения, выносимые на защиту

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

2. К эффективным методам диагностики БФ относится семейный скрининг, позволивший в российской популяции выявлять пациентов на ранних стадиях БФ; самой распространенной причиной, препятствующей проведению семейного скрининга оказывается географическое разобщение семей и значимо реже отказ родственников от генетического тестирования по разным причинам.

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

4. У женщин уровень lyso-G13 имеет прогностическое значение, прямо коррелируя с величинами индексов тяжести MSS1 и aaFOS-MSS1; у мужчин повышение концентрации lyso-G13 выше 26,3нг/мл определяет высокую вероятность формирования классического фенотипа БФ (чувствительность 92,6%, специфичность-63,6%).

Научная новизна исследования

Впервые в отечественной литературе охарактеризованы ранние клинические симптомы, определяемые у пациентов с БФ, исследована их распространенность и диагностическая ценность. Поражение

периферической нервной системы, нарушенное потоотделение и ангиокератомы выделены автором как наиболее частые и специфичные, поражение периферической нервной системы и ангиокератомы - важными для ранней диагностики болезни. Впервые определена высокая эффективность семейного скрининга в диагностике болезни и основное препятствие для его проведения в Российской популяции - географическое разобщение семей. Соискателем выявлены факторы, ассоциированные с тяжелым течением БФ, к которым относятся поражение периферической нервной системы и нарушенное потоотделение. В работе впервые детально проанализирована роль субстрата накопления lyso-GI3 в диагностике и оценке прогноза болезни Фабри на относительно большой когорте пациентов, предложены значения концентраций для определения разных форм болезни Фабри у мужчин.

Практическая значимость

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

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

что должно приводить к большей эффективности ферментзаместительной терапии.

Внедрение в практику

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

Степень достоверности и апробация результатов

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

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

Материалы диссертации представлены на следующих научно-практических конференциях:

1. Ежегодный Европейский конгресс ревматологов (EULAR; Амстердам 2018) – стендовый доклад.

2. 6-й Международный конгресс по болезни Фабри (Fabry disease update; Прага, 2019) – стендовый доклад.

Личный вклад автора

Вклад автора заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: разработка плана, формулировка цели и задач, библиографический поиск, сбор, анализ и обобщение клинического материала, составление базы данных, статистическая обработка и анализ полученных результатов, формулировка выводов. Автор принимала непосредственное участие в обсуждении результатов в научных публикациях и их внедрении в практику, определяла тактику обследования и лечения пациентов с БФ, госпитализированных в ревматологическое отделение клиники ревматологии, нефрологии и профпатологии имени Е.М. Тареева Университетской клинической больницы №3 Первого МГМУ имени И.М. Сеченова.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

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

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 печатных работ в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, в том числе 1 статья в издании, индексируемом в базе данных Scopus.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 107 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования,

результатов собственного исследования, их обсуждения, выводов и практических рекомендаций, содержит 20 рисунков, 14 таблиц и 4 клинических наблюдения. Список литературы содержит 115 источников, среди них 3 отечественных.

База проведения

Исследование проводилось на базе кафедры внутренних, профессиональных болезней и ревматологии Института клинической медицины им. Н.В. Склифосовского ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) в клинике ревматологии, нефрологии и профпатологии им. Е.М. Тареева УКБ №3 ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), заведующий кафедрой – профессор, д.м.н. С.В. Моисеев.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Болезнь Фабри (БФ) – это наследственное X-сцепленное заболевание, которое относится к лизосомным болезням накопления и характеризуется нарушением обмена гликофосфолипидов вследствие недостаточности или отсутствия активности фермента – лизосомной α -галактозидазы А [114].

Впервые заболевание было описано независимо двумя дерматологами Johannes Fabry из Германии и William Anderson из Великобритании в 1898г. Однако только с начала 2000-х годов стала использоваться патогенетическая ферментзаместительная терапия. В России с 2009г. зарегистрированы два лекарственных препарата для ферментзаместительной терапии БФ: агалсидаза-бета (Фабразим) и агалсидаза-альфа (Реплагал).

1.1. Этиология и патогенез БФ

Причиной дефицита лизосомной α -галактозидазы А являются мутации гена GLA, расположенного на длинном плече хромосомы Xq 22.1 [115]. Ген GLA имеет размер 12 kb и состоит из 7 экзонов, протяженностью от 92 до 291 пар оснований. Кодировующий регион гена содержит 1290 пар оснований, определяющих полипептидную структуру фермента (429 аминокислотных остатков) [113]. К настоящему времени идентифицировано около 900 мутаций и полиморфизмов в гене GLA, но клиническое значение многих из них остается неизвестным. Чаще всего причиной БФ являются миссенс мутации гена GLA, в результате которых измененный кодон начинает кодировать другую аминокислоту. Реже определяются нонсенс-мутации, приводящие к появлению стоп-кодона и преждевременной терминации синтеза белка, сплайсинг-мутации, а также делеции или вставочные мутации [42, 41, 5, 47].

В результате недостаточной активности α -галактозидазы А нарушается обмен сфинголипидов. Гликофинголипиды, такие как глоботриаозилцерамид (Gb3) и глоботриаозилсфингозин (lyso- Gb3), имеют

терминальный остаток α -галактозила, который отщепляется ферментом α -галактозидазой А. Таким образом, недостаточность или отсутствие фермента приводит к накоплению различных гликофинголипидов с терминальным α -галактозил-остатком в циркулирующей крови и фактически во всех клетках и органах, вызывая полисистемное поражение [8].

БФ наследуется по рецессивному X-сцепленному типу, поэтому у мужчин мутация гена GLA находится в гемизиготном состоянии, а у женщин – в гетерозиготном. Так как гемизиготные мужчины имеют единственную мутантную X-хромосому, мужчина может передать мутантную хромосому только своим дочерям. А женщины, имея одну нормальную и одну мутантную хромосому, могут передавать мутантную хромосому как дочерям, так и сыновьям.

У мужчин, как правило, наблюдают классическое течение БФ. У женщин, обычно, отмечают более позднее начало заболевания с медленным прогрессированием и легкими клинико-патологическими изменениями. Вместе с тем было показано, что у части гетерозиготных женщин с мутацией гена GLA развиваются жизнеугрожающие осложнения БФ [113]. Предполагают, что причиной фенотипической гетерогенности является лионизация – процесс, при котором у эмбриона женского пола во всех клетках одна копия X-хромосомы беспорядочно инактивируется, вследствие чего гетерозиготные женщины представляют собой своего рода мозаику, состоящую из нормальных и мутантных клеток в различных пропорциях [55]. Вариабельность тяжести проявления симптомов должна приниматься во внимание при обследовании и постановке окончательного диагноза у потенциальных пациентов женского пола [21]. У большинства из них имеется почти нормальный уровень α -галактозидазы А. Однако, женщин нельзя рассматривать только как носителей, учитывая наличие клинических проявлений болезни.

1.2. Распространенность БФ

Данные о распространенности БФ в общей популяции ограничены, так как заболевание относится к орфанным. Болезнь встречается среди представителей всех этнических групп, однако в популяциях разных стран распространенность БФ значительно варьирует. Так, в Австралии частота выявления БФ составила 1 случай на 117000 населения [60], в Нидерландах – 1 случай на 468000 населения [30], в Португалии – 1 случай на 833000 населения [75]. По данным скрининга, проведенного среди новорожденных, частота выявления БФ была значимо выше: 1 на 3100 младенцев мужского пола в северо-западной Италии [97], 1 на 3000 – в Австрии, 1 на 1300 – в Тайвани, 1 на 7800 – в штате Вашингтон (США) и 1 на 1500 – в Миссури (США). В России в настоящее время выявлено около 230 пациентов с БФ, а предполагаемая распространенность этого заболевания составляет примерно 1 случай на 50-100 000 населения.

Встречаемость БФ выше в группах пациентов с поражением органов-мишеней, которые фиксировались в молодом возрасте. К ним относятся гипертрофическая кардиомиопатия [63, 99, 26], терминальная почечная недостаточность [48, 69, 70] и криптогенные инсульты [81,16]. Скрининг, основанный на молекулярно-генетическом исследовании, может давать ложные более высокие цифры распространенности из-за доброкачественных полиморфизмов гена GLA (напр. D313Y) [23, 94].

1.3. Значение ранних клинических проявлений в диагностике БФ

1.3.1. Поражение периферической нервной системы (ПНС)

Поражение ПНС при БФ представлено хронической или эпизодической жгучей болью, локализованной преимущественно в кистях и стопах, усиливающейся при повышении температуры окружающей среды или температуры тела, стрессе, физической нагрузке, приеме алкоголя.

Механизм развития нейропатической боли при БФ до конца не известен. Первичное повреждение нервных волокон, вероятно, связано с накоплением и отложением Gb3 и его деацелированной формы lyso-Gl3 [1]. Субстраты накопления, мигрирующие из плазмы в нервные клетки или синтезируемые *in situ*, могут нарушать функцию белков, входящих в состав ионных каналов, вызывая повреждение и дисфункцию нервов [89, 10]. Так, предполагают, что нестабильность натриевых каналов и переходного рецепторного катионного канала ankyrin (TRPA1) может быть причиной поражения периферических нервов [10]. Кроме того, включения Gb3 были обнаружены в спинномозговых ганглиях, дермальных сосудистых эндотелиальных и гладкомышечных клетках, эндотелиальных и перителиальных клетках эпинеуральных и эндоневральных мелких кровеносных сосудов, перинеуральных клетках, миелиновых и безмиелиновых аксонах и, реже, в шванновских клетках [11, 12, 29, 46, 74, 95, 100, 103, 106, 112]. Показано, что накопления Gb3 ведут к нарушению просвета и окклюзии сосудов периферических нервов, нарушают баланс между вазодилатативными и вазоконстрикторными механизмами, способствуют тромботическим осложнениям, что является причинами ишемического повреждения нервной системы [2, 18]. Также накопление Gb3 в клетках кожи может нарушать функцию внутрикожных сенсорных рецепторов. Таким образом, нейропатическую боль могут вызывать различные периферические и центральные механизмы, такие как сенсорная гипервозбудимость, спонтанные эктопические залпы и центральная сенсibilизация [10, 89, 62, 4, 7]. Степень совпадения этих механизмов на разных стадиях БФ не ясна.

Нейропатическая боль – классический ранний симптом БФ, возникающий в детском или подростковом возрасте (в среднем, в 9 лет у мужчин и в 16 лет у женщин) [59, 51].

Первые неврологические симптомы отражают повреждение мелких миелинизированных А δ -волокон и немиелинизированных С-волокон [85, 6]. Периферическая невропатическая боль у молодых пациентов с БФ может проявляться в виде хронической, жгучей боли и приступов острой мучительной боли, дизестезией, дефицита термических ощущений (прежде всего холодного восприятия) и парестезий (например, безболезненное покалывание). Проявление дисфункции малых вегетативных волокон включают в себя нарушение потоотделения, желудочно-кишечную дисфункцию (спазмы в животе, вздутие живота, диарея, тошнота), нарушение сужения зрачка и образования слюны и слез, потерю чувствительности и ненормальное восприятие боли [89, 62, 53].

Периодические приступы боли («болевы́е кризы», «кризы Фабри») описываются как «мучительная», «простреливающая» или «колющая» боль, которая часто начинается в дистальных отделах конечностей и распространяется проксимально [89, 19]. Приступы могут быть настолько интенсивными, что пациент прикован к постели, а частота их может быть ежедневной [89]. Провокацией кризов служат быстрое изменение температуры тела (например, лихорадка, стресс, физическая активность), предположительно, из-за снижения способности к потоотделению [89, 19], хотя кризы Фабри были отмечены даже у пациентов с гипергидрозом [52]. Дополнительными провоцирующими факторами могут быть внезапное воздействие холода, быстрое изменение влажности и усталость [37]. Криз Фабри может сопровождаться интенсивной болью в суставах, необъяснимой лихорадкой, лабораторными изменениями: повышением скорости оседания эритроцитов и уровня С-реактивного белка [10, 49, 54].

В последнее время было предложено отказаться от использования термина «акропарестезии» в качестве синонима невропатической боли при БФ, потому что по определению парестезии являются безболезненными

покалываниями. На самом деле, парестезии, по-видимому, встречаются довольно редко при БФ, о них сообщили только ~ 10% взрослых пациентов [109].

Жгучая, ноющая боль с симметричным распространением в ладонях и подошвах ног у детей или подростков и периферические дизестезии являются первыми симптомами, вызывающими тревогу у родителей. По мере взросления пациента неврологические симптомы способствуют ухудшению качества жизни как у мужчин, так и у женщин [90, 110, 33, 98, 107, 34]. Как и при других состояниях, сопровождающихся хронической болью, высока вероятность развития зависимости от обезболивающих (например, опиоидов) и злоупотребления психотропными веществами [25]. У пациентов нарушается социальная адаптация, возможно развитие психических болезней, у многих развивается депрессия [15,50,83,93]. Наличие нейропатической боли является самым сильным предиктором развития депрессии. Суицидальные мысли также были зафиксированы у пациентов с БФ [14,34].

Молодым пациентам с нейропатической болью вначале часто ставятся такие диагнозы как ревматизм, вирусная инфекция, боли роста, «проблемы с костями», психогенная боль, криптогенная боль, пищевая интоксикация или неспецифическая диспепсия [56]. И, хотя первые симптомы появляются в детстве, диагноз БФ ставится только в зрелом возрасте, когда присоединяются органные поражения. Данные из регистра FOS показывают, что средняя задержка в диагнозе составляла приблизительно 11 лет для обоих полов [110].

Дифференциальный диагноз периферической невропатии может быть значительно сужен при подробном изучении анамнеза заболевания, в том числе информации о появлении, качестве, интенсивности и распространении боли; аномальных реакциях на обычно безболезненные раздражители;

запускающие и обостряющие факторы; изменения симптомов с течением времени и навыках их преодоления; предыдущем и текущем использовании обезболивающей терапии (рецептурных и безрецептурных препаратов, отвлекающих методов). Необходимо изучить общий статус пациента, уровень толерантности к физическим нагрузкам, сопутствующие заболевания, оценить трудоспособность, школьные показатели успеваемости, спортивные показатели, а также образ жизни. Кроме того, важно документировать проблемы с желудочно-кишечным трактом (боль в животе, постпрандиальная диарея, частота стула в день, вздутие живота, тошнота) и проблемы со слухом. Не менее важным является изучение семейного анамнеза (почечная/сердечная недостаточность, преходящая ишемическая атака (ТИА) или инсульт, ранняя смерть у родственников).

Болевой синдром может становиться менее интенсивным с течением времени и совсем не беспокоить взрослого пациента. Это определяет необходимость сбора анамнеза, начиная с детского возраста, активного опроса о наличии нейропатической боли ранее [65]. Но данный симптом может сохраняться на протяжении всей жизни, и в некоторых случаях усиливаться с возрастом.

1.3.2. Поражение кожи

Одним из наиболее заметных ранних классических признаков БФ являются ангиокератомы – мелкие, возвышающиеся над кожей, красно-фиолетовые пятна, количество которых медленно увеличивается. Типичными местами обнаружения ангиокератом являются область вокруг пупка, разгибательные поверхности локтевых и коленных суставов, боковые поверхности туловища, ягодицы, верхние участки бёдер, паховая область, в некоторых случаях, слизистые оболочки, в частности на слизистой полости рта, красной кайме губ. Гистологически указанные кожные повреждения представляют собой небольшие поверхностные ангиомы, возникающие

вследствие массивного повреждения эндотелиоцитов сосудов кожи, с развитием дилатации сосудов дермы. Участки поражения могут располагаться по отдельности или группами, их размер и количество увеличиваются с возрастом [72,32,61]. Многочисленные ангиокератомы могут быть расценены как проявления геморрагического васкулита или болезни Рандю-Ослера, что может привести не только к некорректно поставленному диагнозу, но и проведению патогенетически необоснованной терапии.

В отдельных исследованиях сообщается также о наличии у пациентов с БФ телеангиоэктазий [72, 91] и подкожного отёка (лимфедемы) на нижних конечностях [108].

Еще одним классическим симптомом БФ является нарушенное потоотделение. Отсутствие потоотделения (ангидроз) или сниженное потоотделение (гипогидроз) уменьшают импеданс кожи [44,72,36]. Необходимо отметить, что пациенты обычно сами не жалуются на сниженную потливость, поэтому этот важный симптом может быть упущен при недостаточно тщательном опросе. Следует обращать внимание на непереносимости жары [91] и физических нагрузок [27,32], плохое самочувствие в душных помещениях или при воздействии инсоляции.

1.3.3. Поражение органа зрения

Анализ поражения органа зрения у пациентов с БФ является важным помощником в диагностике заболевания, учитывая специфичность офтальмологических изменений.

Наиболее частым офтальмологическим проявлением БФ является вихревидная кератопатия, которая представляет собой коричнево-золотистые отложения в роговице (гистологически- в эпителии и прилегающей строме) в виде волнообразных линий, исходящих из одной центральной точки. Этот

самый частый вариант поражения органа зрения наблюдается более чем у половины больных (Рисунок 1.1).

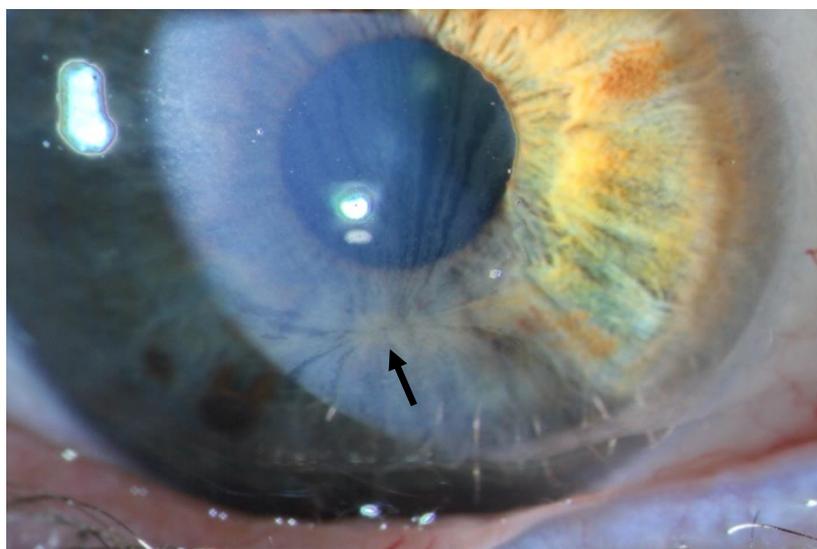


Рисунок 1.1. – Биомикроскопическая картина при вихревидной кератопатии. Видны отложения желтоватого цвета в виде волнообразных линий, исходящих из единого центра (стрелка)

Вихревидная кератопатия не влияет на зрение, но, вместе с другими типичными симптомами БФ, такими как ангиокератомы, нейропатическая боль, гипогидроз важна для своевременной диагностики болезни. Необходимо отметить, что некоторые авторы высказывают возможность ассоциации вихревидной кератопатии с более тяжелым течением БФ и худшим прогнозом [105].

Для выявления вихревидной кератопатии достаточно осмотра роговицы с помощью щелевой лампы. Так как специфические отложения пигмента не вызывают симптомов, они не заставят пациента обратиться к офтальмологу и требуют активного поиска при подозрении на БФ. У пациентов без классических проявлений болезни, а также у малосимптомных женщин для постановки диагноза БФ наличие вихревидной кератопатии может иметь решающее значение при отсутствии других возможных причин данных изменений. При обнаружении кератопатии необходимо иметь ввиду

возможность наличия сходных изменений в роговице, которые могут наблюдаться при лечении некоторыми лекарственными препаратами, в частности амиодароном, делагиллом или гидроксихлорохином [68].

Другими проявлениями поражения органа зрения при БФ, выявляемыми при офтальмоскопии, могут быть умеренная или выраженная извитость сосудов конъюнктивы и сетчатки [96,71,67]. Кроме того, описаны передняя и задняя субкапсулярная катаракты, причём последняя, являясь патогномоничным глазным симптомом БФ, называется «катаракта Фабри».

1.3.4. Другие ранние симптомы БФ

К ранним симптомам, характерным для детей, но часто беспокоящих и взрослых пациентов, относится поражение желудочно-кишечного тракта. Данная манифестация БФ зачастую остается не диагностированной [92]. Пациенты могут жаловаться на боли в животе (преимущественно после еды), диарею, тошноту и рвоту. Эти проявления болезни могут в некоторых случаях стать главными причинами анорексии [38]. Поражение желудочно-кишечного тракта обусловлено не только нарушением функции клеток кишечного эпителия, но и нарушением функции вегетативных ганглиев и кровеносных сосудов брыжейки в результате отложения в них субстратов накопления [27]. Синдром раздражённого кишечника, преимущественно проявляющийся диареей- самый частый диагноз в данной группе пациентов [38].

Более редкими ранними проявлениями БФ являются эпизоды лихорадки, которые сопровождаются повышением острофазовых показателей системного воспаления, артралгии, поражения органа слуха (нейросенсорная тугоухость и вертиго). Данные симптомы также являются малоспецифичными и часто ведут к неправильному диагнозу.

1.4. Клинические варианты течения БФ

Определяют несколько вариантов течения БФ: классический вариант и вариант с поздним началом.

При классическом варианте заболевания у пациентов с раннего возраста отмечают типичные симптомы БФ, а позднее присоединяются симптомы, связанные с поражением внутренних органов (Таблица 1.1).

У пациентов с неклассическим поздним началом БФ признаки органного поражения развиваются после 40-50 лет, а ранние классические симптомы могут полностью отсутствовать. Не классическое течение БФ с поздним началом как правило представлено кардиальным вариантом болезни [84]. Основными клиническими проявлениями кардиального варианта являются необъяснимая гипертрофия левого желудочка без обструкции выходного тракта с соответствующими ЭКГ-изменениями и инфаркт миокарда. Пациенты с поздним началом БФ, как правило, имеют миссенс-мутации в гене GLA и остаточную активность фермента. Например, у пациентов с мутацией N215S определяется активность фермента в плазме или лейкоцитах периферической крови близкая к нормальному уровню. Исключение составляет группа тайских пациентов с БФ, у которых определяется сплайс-мутация и остаточная активность фермента составляет 10%, при этом они демонстрируют развитие гипертрофии желудочков только на 4 или 5 десятилетия жизни [13].

Реже встречаются клинические варианты БФ с изолированным поражением почек у гемизиготных пациентов мужского пола. Такой вариант БФ обнаружен среди диализных пациентов в Японии, у которых причиной терминальной почечной недостаточности ошибочно считался хронический гломерулонефрит [64].

Таблица 1.1. - Клиническая характеристика БФ в соответствии с возрастом при классическом варианте течения [88]

Детский и подростковый возраст (до 16 лет)
1. Нейропатическая боль
2. Единичные ангиокератомы
3. Гипогидроз/ангидроз, плохая переносимость жары и душных помещений
4. Офтальмологические нарушения
5. Нейросенсорная тугоухость
6. Альбуминурия менее 0,5 мг/сут.
7. Диарея, боли в животе
8. Повышенная утомляемость и слабость
Ранний зрелый возраст (17-30 лет)
1. Множественные ангиокератомы
2. Альбуминурия более 1 г/сут.
3. Отеки или лимфостаз преимущественно нижних конечностей
4. Приступы немотивированной лихорадки
5. Гипогидроз/ангидроз
6. Лимфаденопатия
7. Боли в области сердца
8. Диарея, боли в животе
9. Кардиальные нарушения: брадикардия, укорочение интервала PR, гипертрофия ЛЖ, нарушения проводимости
Поздний зрелый возраст (старше 30 лет)
1. Выраженные кардиальные нарушения: миокардиальный фиброз, гипертрофия миокарда левого желудочка, дисфункция клапанов и аритмия, внезапная сердечная смерть, стенокардия, диастолическая дисфункция
2. Хроническая болезнь почек: в т.ч. хроническая почечная недостаточность, требующая программного гемодиализа или трансплантации почки
3. Инсульт и/или транзиторная ишемическая атака
4. Глухота, развившаяся остро или постепенно

Таким образом, БФ должна входить в диагностический поиск у пациентов с хронической болезнью почек при отсутствии ясной этиологии нефропатии и результатов нефробиопсии, а также у пациентов с гипертрофической кардиомиопатией и «ранним» инсультом, особенно в случаях семейной предрасположенности. Сложность в постановке данного диагноза определяется неспецифическими проявлениями болезни почек и сердца, отсутствием семейного анамнеза по крайней мере в 5% случаев и низкой распространенностью болезни во многих регионах, из-за чего, болезнь диагностируется поздно или не диагностируется вовсе [76]. Считается, что данную проблему можно решить только широким распространением скрининга среди групп повышенного риска. Раннее выявление данных пациентов важно для предупреждения последующих сосудистых событий, нарастания органических повреждений.

1.5. Значение семейного скрининга в диагностике БФ

С появлением ФЗТ проблема ранней диагностики БФ стала особо актуальной.

Проведение масштабных скрининговых программ сопряжено с высокими экономическими затратами, поэтому разрабатываются стратегии целевого скрининга в группах высокого риска, в которых вероятность выявления пациентов с БФ значительно выше, чем в общей популяции [63,81,99,26,73,48,69,70,23]. Однако пациенты из групп риска на момент диагностики уже имеют тяжелые органические поражения, такие как выраженная гипертрофия миокарда, терминальная почечная недостаточность и перенесенные инсульты.

Учитывая фенотипическую вариабельность БФ даже у пациентов с одинаковой мутацией гена GLA, ранняя диагностика заболевания, особенно у пациентов с поздним дебютом, которые, возможно, превосходят по

количеству пациентов с классическим течением БФ, представляет значительные трудности.

Поиск стратегий ранней диагностики заболевания привел к формированию концепции семейного скрининга. В связи с X-сцепленным типом наследования БФ, семейный скрининг стал высокоэффективным средством диагностики пациентов на ранних стадиях заболевания, с учетом охвата скринингом не менее трех поколений вокруг пробанда. Так, в исследовании Silva С. и соавт, проводили скрининг среди диализных пациентов с последующим семейным скринингом [94]. Хотя из 2583 пациентов, получавших лечение гемодиализом, было выявлено только 3 (0,12%) пациента с БФ, при обследовании родственников пробандов обнаружено еще 23 пациента с БФ на ранних стадиях заболевания, что, безусловно, важно для улучшения прогноза этих пациентов.

Учитывая X-сцепленный характер наследования БФ, у пробандов мужского пола необходимо обследовать всех родственников по женской линии, а у пробандов женского пола – как по женской, так и по мужской линии. Диагноз БФ у мужчины предполагает позитивный результат у матери и дочерей при отсутствии новых мутаций. Риск выявления БФ у родственников женщины составляет 50% [40]. Пациент с выявленной БФ должен быть консультирован врачом-генетиком или другим врачом для определения родственников, которые должны пройти генетическое консультирование и обследование, при этом необходимо рассмотреть варианты пренатальной и постнатальной диагностики. Положение о конфиденциальности и врачебной тайне в данном случае могут вступать в конфликт с риском поздней постановки диагноза у родственника [40]. При выявлении мутации в гене GLA все пациенты должны пройти полное клиническое обследование для оценки наличия органных поражений и необходимости начала ФЗТ. При отсутствии показаний к началу ФЗТ и

наличии патогенной мутации гена GLA за пациентом необходимо установить динамическое наблюдение.

1.6. Принципы молекулярно-генетической диагностики БФ

Диагностика БФ у мужчин базируется на определении активности α -галактозидазы А в лейкоцитах периферической крови или плазме [13,63,20,28,3]. По активности α -галактозидазы А можно прогнозировать развитие классического или неклассического варианта БФ с поздним дебютом. При классическом варианте БФ активность фермента составляет менее 3-5% или не определяется совсем [20]. В то же время, гетерозиготность женщин и случайная X-инактивация может приводить к сохранению нормальной активности α -галактозидазы А в плазме крови или лейкоцитах у 60% пациенток [35]. Поэтому у женщин для постановки диагноза БФ необходимо определение мутаций гена GLA.

Однако, как уже говорилось ранее, описано около 900 мутаций гена GLA. В дополнении к точечным мутациям, существуют мутации сдвига рамки считывания, делеции внутри экзона, большие делеции и интронные мутации [20]. Кроме того, существует множество генетических вариантов неопределенной значимости (ГВНЗ) в гене GLA, представляющие непатогенные полиморфизмы [104, 31]. Поэтому анализ гена GLA также не всегда является золотым стандартом диагностики, а клинические маркеры БФ остаются важным ориентиром в диагностике.

Мутации гена GLA можно разделить на два класса: мутации 1 класса с высокой вероятностью возникновения заболевания и мутации 2 класса, представляющие непатогенные генетические варианты [31]. Генетический анализ может окончательно идентифицировать БФ при наличии мутации 1 класса и не может однозначно отвергнуть или подтвердить болезнь при мутации 2 класса. Важно отметить, наличие выраженного полиморфизма клинической картины БФ. В семьях с одинаковой мутацией в гене GLA

отмечается разнообразие сочетаний клинических симптомов, а также различная тяжесть заболевания, даже у представителей одного пола, в связи с чем в алгоритме диагностики БФ необходимо учитывать варианты клинического течения заболевания.

Как уже говорилось выше, у пациентов с неклассическим течением БФ отсутствуют ранние проявления, такие как нейропатическая боль, ангиокератомы, вихревидная кератопатия и гипо- или ангидроз, и проявляются исключительно почечные, сердечные и/или церебральные нарушения. Распознать БФ с поздним началом сложно, такие не диагностированные пациенты могут превосходить по количеству пациентов с классическим течением БФ [13]. В диагностике как классического варианта БФ, так и заболевания с поздним дебютом участвуют нефрологи, кардиологи и неврологи, которые случайно идентифицируют пробандов с БФ на основании результатов биопсий почки и сердца, а затем для подтверждения диагноза проводят анализ гена GLA. Такие инвазивные биопсии относительно редки, поэтому многие случаи БФ могут остаться не диагностированными.

1.7. Определение концентрации биомаркера lyso-Gl3 в диагностике и оценке тяжести БФ

Учитывая недостаточную эффективность скрининга на основании энзимологического и молекулярно-генетического анализа, прежде всего среди женщин, важно найти надежные и неинвазивные биомаркеры для постановки предполагаемого диагноза БФ. Плазменный глоботриаозилсфингозин (lyso-Gl3) является таким биомаркером.

Среди японских пациентов был проведен скрининг на БФ у мужчин, получающих заместительную почечную терапию гемодиализом. Использовали активность α -галактозидазы А в плазме в качестве основного биомаркера и концентрацию lyso-Gl3, измеренную с помощью

высокоэффективной жидкостной хроматографии, в качестве вторичного биомаркера [58]. Это было первое исследование, в котором изучалось, можно ли использовать lyso-G13 в качестве вторичного биомаркера для выявления мужских пробандов в популяции с подозрением на БФ. Обнаружено, что скрининг lyso-G13 в плазме был эффективен для отбора кандидатов для генетического тестирования, выявления нераспознанных случаев болезни и сокращения количества ненужных генных анализов. Другие исследования также подтверждают, что деацилированная форма Gb3, глоботриаозилсфингозин (lyso-G13) – это сильный биомаркер классического варианта БФ у пациентов с поставленным диагнозом [1, 101, 82].

Значение lyso-G13 для скрининга пробандов изучалось в другом крупном японском исследовании [9]. Оценивалось значение lyso-G13 как биомаркера болезни Фабри для скрининга пациентов мужского и женского пола, у которых болезнь подозревалась на основании клинических симптомов. Проводилось измерение концентрации lyso-G13 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии / тандемной масс-спектрометрии и определялась активность α -галактозидазы А в плазме у всех пациентов. Данное исследование было первым, в котором изучалось, можно ли использовать lyso-G13 в качестве основного биомаркера для выявления мужских и женских пробандов у пациентов с подозрением на БФ на основании клинических данных. Пациенты (в возрасте 2-99 лет) с подозрением на БФ на основании клинической оценки были набраны в 169 клиниках Японии. Клиническая оценка включала: оценку состояния почек с биохимическим исследованием крови, анализа мочи, визуализацию и биопсию почки при хроническом заболевании почек [45] или необъяснимой протеинурии; оценку состояния сердца, в т.ч. электрокардиограмму, эхокардиограмму и магнитно-резонансную томографию сердца при ГЛЖ или сердечной недостаточности не ясной этиологии; неврологическое

обследование с магнитно-резонансной томографией при «раннем» инсульте или транзиторной ишемической атаке; и педиатрическое обследование у детей с ранними классическими проявлениями, такими как нейропатическая боль, ангиокератомы, вихревидная кератопатия и гипо- или ангидроз. Пациенты с поставленным ранее диагнозом БФ или наличием болезни у родственников были исключены. Было обследовано 2360 пациентов (1324 мужчин и 1036 женщин). Согласно результатам данного исследования, определение lyso-G13 в плазме позволяет диагностировать пробандов как с классическим течением БФ, так и с поздним дебютом болезни.

Скрининг с помощью определения lyso-G13 был эффективен для выявления мужских пробандов. Мужчины, у которых отсутствовало повышение уровня lyso-G13, но отмечалась низкая активность α -галактозидазы А, имели мутации p.E66Q или c.-10C> T в гене GLA, которые не являлись патогенными. Таким образом, БФ может быть исключена у пациентов мужского пола с нормальным уровнем lyso-G13 в плазме крови [57]. Мужчины с классическим вариантом БФ показали более высокие уровни lyso-G13, чем мужчины с поздним дебютом. Следовательно, уровень lyso-G13 может служить прогностическим критерием тяжести болезни у гемизиготных пациентов. Значение lyso-G13 выше 45 нг/мл предсказывает диагноз классической формы БФ у мужчин [105]. В другом исследовании сообщалось о минимальном значении около 50 нг/мл для классической формы болезни. Более низкие уровни lyso-G13 были обнаружены у пациентов с поздним дебютом болезни, за исключением одного, у которого уровень lyso-G13 был 74 нг/мл [101]. Нужны дополнительные данные для установления нижней границы значения lyso-G13 при классической форме БФ и верхней границы у пациентов с поздним дебютом для использования в клинической практике.

Скрининг с определением концентрации lyso-GI3 также помогает выявлять женских пробандов БФ. Анализ семейного скрининга показал, что уровни lyso-GI3 у бессимптомных женщин с мутациями 1 класса не превышали нормальных значений (2,0 нг/мл) [57]. Необходимы дополнительные исследования для определения необходимости установления более низкого порогового значения для женщин (ниже 2,0 нг/мл). Определение lyso-GI3 в качестве основного биомаркера скрининга может использоваться при отборе кандидатов, которым необходимо провести анализ генов. Обнаружение повышения субстратов накопления в соответствующих тканях позволяет диагностировать БФ, даже при выявлении изменений в гене GLA неуточненного значения [87]. Определение же нормального уровня lyso-GI3 может предотвратить ошибочное приписывание патогенности мутации и неверный диагноз, что привело бы к ненужному использованию дорогостоящей терапии [24].

Субстраты накопления, включая Gb3 и lyso-GI3, могут определяться в плазме крови и моче. Определение гликолипидов в моче может помочь в определении наличия поражения почек и эффективности терапии при болезни Фабри, однако данный показатель не подходит для диагностики болезни, поскольку повышение концентрации в моче Gb3 было описано у пациентов с заболеваниями сердца или при нефротическом синдроме, которые не страдали болезнью Фабри [86].

Таким образом, определение концентрации lyso-GI3, по-видимому, может стать более эффективным и экономически выгодным средством для выявления пациентов с БФ, чем определение активности α -галактозидазы А и мутаций гена GLA. По-видимому, также остаются не в полной мере изученными и факторы, определяющие клинические варианты заболевания. Дальнейшее изучение клинических проявлений с учетом гендерных и возрастных особенностей на разных этапах течения БФ – залог более раннего

распознавания болезни, своевременного начала и эффективности ферментзаместительной терапии, а также возможности изменения общего прогноза больных.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Описание выборки больных

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

Диагноз БФ устанавливали на основании следующих критериев:

- 1) наличие мутации гена GLA;
- 2) снижение активности α -галактозидазы А в высушенных каплях крови или лейкоцитах у мужчин;
- 3) наличие одного из следующих признаков:
 - a. по крайней мере одно типичное проявление БФ (нейропатическая боль, ангиокератомы, вихревидная кератопатия);
 - b. повышение концентрации лизо-глоботриаозилсфингозина (lyso-GI3) в высушенных каплях крови или плазме крови;
 - c. выявление у родственника определенного диагноза БФ и такой же мутации гена GLA.

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

Большинству пациентов были проведены: общий и биохимический анализы крови, общий анализ мочи, определение суточной протеинурии и

микроальбуминурии, анализ мочи по Нечипоренко, УЗИ почек и органов брюшной полости, МРТ головного мозга и сердца, суточное мониторирование ЭКГ, консультация офтальмолога и невролога, при наличии показаний консультации других специалистов.

2.2. Оценка тяжести БФ

Для оценки тяжести БФ определяли Mainz Severity Score index (MSSI), предложенный Whybra и др. [114]. Индекс состоит из четырех частей (общей, неврологической, сердечно-сосудистой и почечной) и 25 пунктов, предполагает оценку основных проявлений болезни в баллах. Максимальное значение индекса составляет 76 баллов. Суммарное значение индекса MSSI <20 баллов расценивается как легкое течение болезни Фабри, 20-40 баллов – как средне тяжелое, >40 баллов – как тяжелое.

БФ характеризуется прогрессирующим течением с постепенным нарастанием функциональных нарушений, причем у женщин поражение внутренних органов развивается позднее и нарастает медленнее, чем у мужчин, поэтому, чтобы учесть возраст и пол обследованных пациентов для оценки тяжести болезни, был рассчитан индекс aaFOS-MSSI, который может иметь как положительное, так и отрицательное значение [115]. Положительное значение индекса указывает на более тяжелое течение заболевания, чем можно было бы ожидать у пациента соответствующего возраста и пола, а отрицательное значение свидетельствует о том, что тяжесть болезни меньше ожидаемой. Для мужчин ожидаемый показатель FOS- MSSI рассчитывался по формуле $(2,29+0,05 \times \text{возраст})^2$, для женщин $(0,96+0,05 \times \text{возраст})^2$.

2.3. Молекулярно-генетические и биохимические методы

Уровень α -галактозидазы А и lyso-GI3 в высушенных каплях крови или плазме, а также молекулярно-генетическое исследование проводили в лабораториях Национального научно-практического центра здоровья детей

Минздрава РФ или Медико-генетического научного центра имени академика Н.П. Бочкова.

Количество *lyso-G13* также измеряли в высушенных каплях крови в лабораториях Centogene AG (Росток, Германия) или Archimed Life Science GmbH (Вена, Австрия). Новая технология анализа состава высохших на фильтровальной бумаге каплей крови позволила скринировать пациентов, находящихся в значительной удаленности от Москвы, а также проводить определение содержания *lyso-G13* в зарубежных лабораториях [1].

Участки фильтровальной бумаги (которых не касались руками) пропитывали капиллярной или венозной кровью насквозь для получения пятна диаметром не менее 2 см (Рисунок 2.1). Для увеличения достоверности исследования получали 4-10 пятен крови. Затем образец высушивали на воздухе в течение не менее 2 часов, избегая попадания на него влаги, прямых солнечных лучей, контакта с поверхностями. После высыхания образец упаковывали в чистый бумажный конверт.

Забор данного биологического материала не сложен технически и может быть выполнен любым медицинским персоналом. Сухие капли крови на фильтровальной бумаге не требуют особых условий хранения, легко транспортируются, в том числе могут пересылаться по почте в обычном конверте.

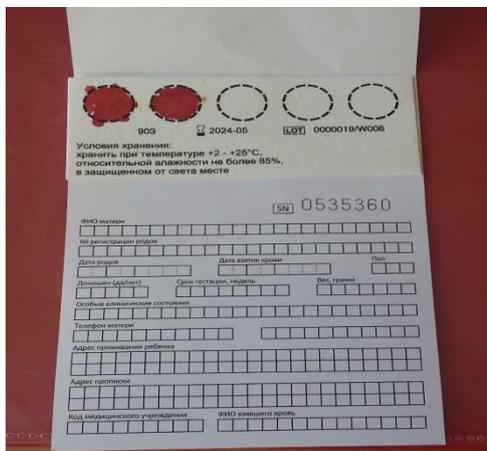


Рисунок 2.1. - Образец сухих капель крови

Активность α -галактозидазы А и уровень lyso-G13 в сухих каплях крови измеряли методом тандемной масс-спектрометрии с ионизацией распылением. В основе метода лежит ионизация молекул, входящих в состав восстановленного с помощью специального растворителя образца крови, с помощью электрического тока для последующей идентификации и подсчета образующихся ионов. Специальный дырокол (Рисунок 2.2) вырезает в карточке из фильтровальной бумаги кружок, содержащий образец крови объемом 50 микролитров (что эквивалентно 1-2 каплям крови), который можно восстановить и проанализировать.



Рисунок 2.2. - Специальный дырокол

Активность α -галактозидазы А в высушенных каплях крови или лейкоцитах у наших пациентов определялась в нескольких лабораториях, и референсные значения и единицы измерения могли значительно отличаться. Нормальными уровнями lyso-G13 в высушенных каплях крови и плазме считали значение менее 2,0 нг/мл.

На молекулярно-генетическую диагностику поступали образцы высушенных капель крови или крови мужчин со сниженной активностью α -галактозидазы А, а также женщин, у родственников которых был установлен диагноз болезни Фабри. Для проведения секвенирования по Сэнгеру вся исходная геномная ДНК подвергалась амплификации на оборудовании

ProFlex™ PCR System (Thermo Fisher Scientific, США). Продукты амплификации секвенировали при помощи набора реактивов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit производства компании Thermo Fisher Scientific (США) в соответствии с протоколами и рекомендациями производителя на оборудовании ABI 3500XL (Thermo Fisher Scientific, США). У всех пациентов методом прямого двунаправленного секвенирования были исследованы все кодирующие экзоны (1-7) с прилегающими интронными областями гена GLA.

2.4. Семейный скрининг

Все истории болезни были проанализированы для определения случаев БФ с учетом X-сцепленной модели наследования: у пробандов мужского пола анализировали всех родственников по женской линии, а у пробандов женского пола – как по женской, так и по мужской линии. При необходимости с родственниками пациентов связывались, чтобы получить более подробную информацию о семье. Мы построили и проанализировали родословную каждого пробанда. Были оценены следующие параметры: общее количество членов семьи, которые могут наследовать мутантный ген; количество родственников, обследованных на БФ; число родственников с подтвержденным диагнозом БФ. Умершие члены семьи были включены в исследование, только если диагноз БФ был подтвержден до развития летального исхода.

2.5. Статистический анализ

Описательный статистический анализ проводился с использованием программы Statistica 10 (StaSoft Inc.). Нормальность распределения определяли с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Данные для количественных показателей с нормальным распределением представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. Данные для количественных показателей с распределением, отличавшимся от

нормального, приведены в виде медианы и межквартильного размаха. Данные для качественных переменных представлены в виде абсолютных частот и доли в процентах. Медианы количественных показателей сравнивали с помощью t-критерия Стьюдента (при отсутствии значимых отклонений от нормального распределения) или U-критерия Манна-Уитни (при отклонении распределения от нормального). Сравнение групп по качественным признакам проводилось с помощью точного критерия Фишера. Для выявления взаимосвязи между количественными переменными использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Различия считали достоверными при величине $p < 0,05$. Все результаты приведены с двусторонним уровнем значимости.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Общая характеристика больных

Среди 102 пациентов с установленным диагнозом БФ, проходивших стационарное или амбулаторное обследование в клинике ревматологии, нефрологии и профессиональных болезней имени Е.М. Тареева Первого Московского Государственного Медицинского университета имени И.М. Сеченова с 2014 по 2019 гг., было 65 мужчин (63,7%) и 37 женщин (36,3 %). Медиана возраста по выборке на момент обследования составила 39 (31;50) лет. Медиана возраста у мужчин и женщин была сопоставимой. В подавляющем большинстве случаев возраст обследования совпадал с возрастом постановки диагноза. Среди мужчин преобладала возрастная группа от 31 до 40 лет. Возрастные группы женщин были сопоставимы (Рисунок 3.1).

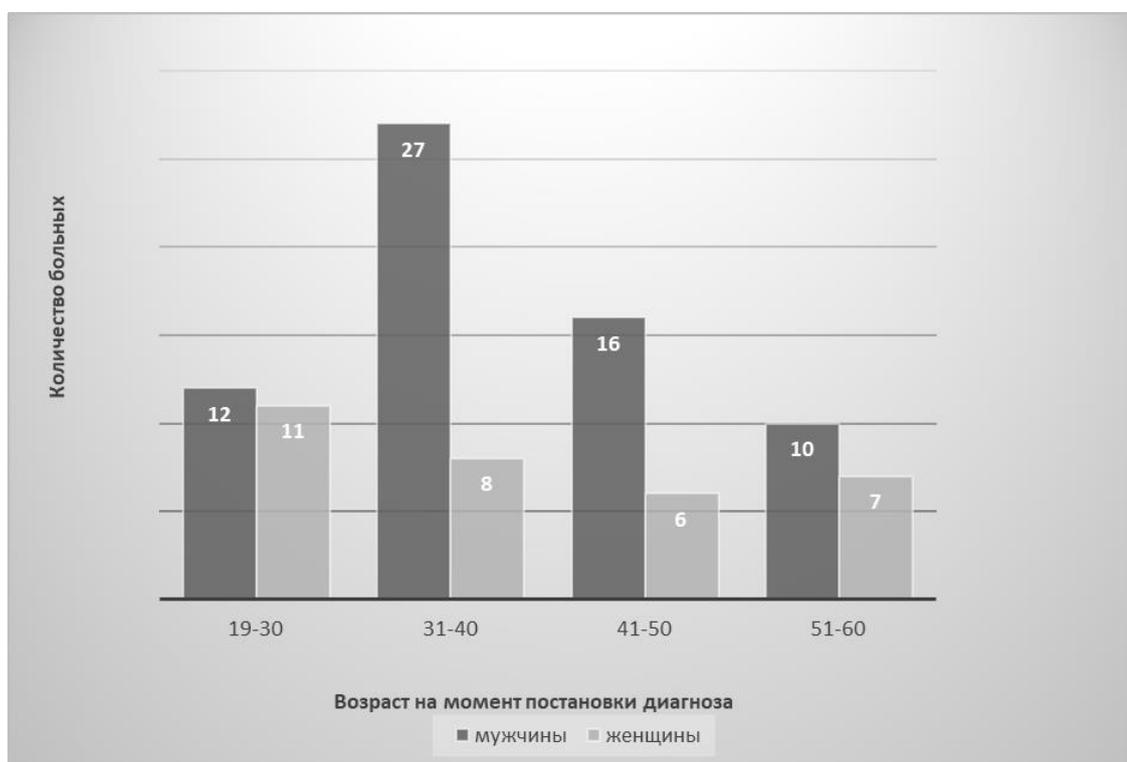


Рисунок 3.1. - Распределение больных с БФ по полу и возрасту

У 83 (81,4%) обследованных пациентов отмечался по крайней мере один ранний признак БФ. Наиболее частыми ранними классическими симптомами БФ являются поражение периферической нервной системы (85,5%), нарушенное потоотделение (44,6%) и поражение кожи (28,9%).

Частота и спектр ранних клинических проявлений БФ представлены на Рисунке 3.2.

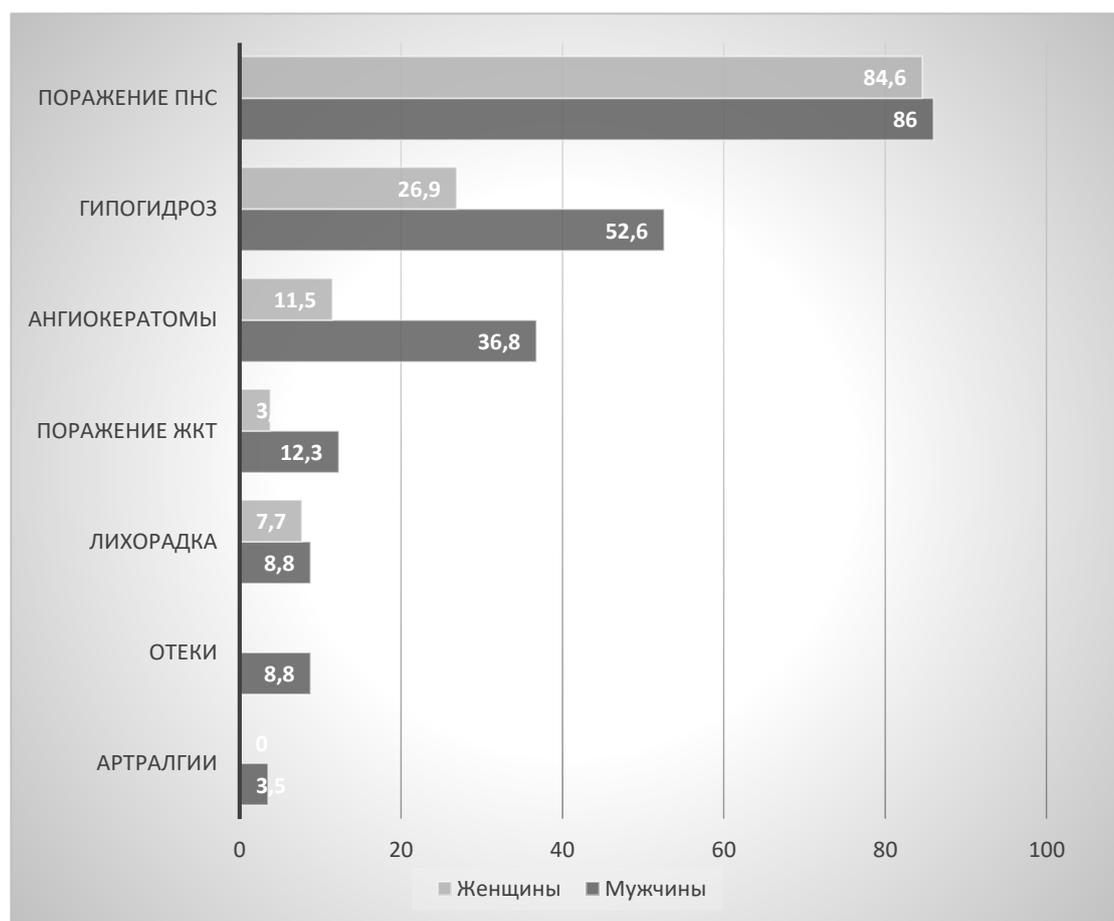


Рисунок 3.2. - Частота ранних проявлений БФ среди мужчин (n=57) и женщин (n=26)

3.2. Частота и клиническая характеристика ранних проявлений у пациентов с БФ

3.2.1. Поражение периферической нервной системы (ПНС)

Поражение ПНС (нейропатическая боль, акропарестезии)– было наиболее частым ранним симптомом БФ (77,5%) как среди мужчин, так и среди женщин (Таблица 3.1).

Таблица 3.1. - Частота ранних симптомов у пациентов с БФ (n=102)

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

Среди пациентов с поражением ПНС нейропатические боли имели приступообразный (60%) или постоянный (40%) характер. Постоянную нейропатическую боль достоверно чаще отмечали мужчины, чем женщины (Таблица 3.1). У 8,8% пациентов развивались болевые приступы – кризы Фабри. Продолжительность приступов была различной, от нескольких часов до нескольких суток. Значительная выраженность боли обуславливала более частые обращения за медицинской помощью, и, в единичных случаях, способствовала более ранней постановке диагноза. У трети пациентов поражение ПНС было единственным ранним проявлением БФ длительное время (Таблица 3.1).

Приводим наблюдение пациента Л., 18 лет, обследованного в клинике в 2017г.

В возрасте 10 лет (в сентябре 2009г.) ребенок стал активно заниматься теннисом, увеличилась физическая нагрузка. На этом фоне появились боли в стопах после занятий теннисом, которые после отдыха проходили. Родители обратились к ортопеду, патологии обнаружено не было. После очередного занятия теннисом вновь появились боли в кистях и стопах, которые сопровождались повышением температуры тела до 38,0С. Приступ длился несколько дней. Прием НПВП имел кратковременный эффект. В общем клиническом анализе крови отмечалось повышение СОЭ до 30 мм/ч, в остальном без патологии. В дальнейшем после физической нагрузки отмечал возникновение вышеописанных приступов, после отдыха и сна, как правило, состояние нормализовывалось. Последовательно обращались в НИИ ревматологии РАМН, педиатрическое отделение МОНИКИ, клинику педиатрии ПМГМУ им. Сеченова. По данным проведенных обследований и анализов установить диагноз не удалось. Состояние расценивалось как термоневроз, рецидивирующая вирусная инфекция. В течение последующих 2х лет боли стали возникать регулярно,

интенсивность их увеличилась, они сопровождались лихорадкой, кратковременно купировались приемом НПВП. Мальчик принимал Найз по 1 таблетке 3 раза в сутки. На фоне НПВП и ограничения физических нагрузок болевой синдром купировался - в течение 2010г. болей практически не отмечалось, ребенок стал заниматься физ. культурой в школе, играть в футбол.

Через год на фоне быстрого роста - возобновление болей. Пациент описывает их как жгучие боли в ладонях и стопах, ежедневные, очень интенсивные, купирующиеся приемом НПВП («Найз») на 6-8 часов или на короткое время помещением рук и ног в холодную воду. Отмечались подъемы температуры тела, сопровождающие приступы интенсивной боли. Также впервые обращено внимание на наличие гипогидроза. Обратились к неврологу, ребенок госпитализирован в ДГКБ №18, где впервые заподозрена болезнь Фабри. Проведено дообследование: выявлено снижение α -галактозидазы А до 1,1 нм/мг/час (при норме 26,2-93,8), мутация гена GLA с.1163T>A в гомозиготном состоянии. В ноябре 2012 года (13 лет) обследовался в отделении психоневрологии и психосоматической патологии НЦЗД РАМН. В отделении проведено обследование, по результатам которого не выявлено поражения почек, сердца, головного мозга или каких-либо органов и систем. В связи с наличием постоянных интенсивных нейропатических болей начата терапия препаратом «лирика» с постепенным повышением дозы до 600 мг/сут. На этом фоне боли стали появляться несколько реже, интенсивность их уменьшилась. 12.11.2012г. состоялся консилиум, по результатам которого, ребенку по жизненным показаниям рекомендовано внутривенное введение ферментзаместительного препарата Агалсидазы альфа в дозе 0,2 мг/кг один раз в две недели. С января 2013 года начата ФЗТ препаратом «Реплагал», переносимость препарата удовлетворительная. На фоне

терапии частота и интенсивность болей уменьшилась, улучшилось настроение, мальчик начал посещать школу. С сентября 2013 года отмечает выраженную положительную динамику – болевые ощущения слабой, реже средней интенсивности возникают редко, после физической нагрузки, при смене погоды. По результатам обследования в клинике им. Е.М. Тареева (18 лет) выявлена вихревидная кератопатия. Других органических поражений на момент обследования нет.

Данное клиническое наблюдение демонстрирует тяжелый вариант поражения периферической нервной системы, позволивший, однако, диагностировать БФ на ранней стадии, до возникновения органических поражений. Раннее назначение ФЗТ в данном случае оправдано. По современным рекомендациям ФЗТ у мальчиков необходимо начинать при установлении диагноза БФ. По мнению североамериканских экспертов педиатрической группы Фабри, наличие симптомов у мальчиков и девочек любого возраста является показанием к началу ФЗТ.

3.2.2. Нарушение потоотделения

Нарушение потоотделения, в том числе гипогидроз, и крайняя его степень ангидроз, зафиксировано у 53,9% больных, достоверно чаще у мужчин, чем у женщин (Таблица 3.1). Следует отметить, что снижение или отсутствие потоотделения часто не фиксировалось пациентами и выяснялось только при прицельном опросе. Однако пациенты часто жаловались на плохую переносимость жары, душных помещений, инсоляции, физической нагрузки, чему способствует гипогидроз. Нарушенное потоотделение было единственным ранним симптомом БФ только у 2 (2,0%) из 102 обследованных больных, и в обоих случаях не способствовало своевременной постановке диагноза.

3.2.3. Ангиокератомы

До постановки диагноза БФ наличие мелкоочечной сыпи в дебюте

болезни отмечали 24 (23,5%) из 102 пациентов, значимо чаще мужчины (36,8%), чем женщины (11,5%; $p=0,02$). Среди неправильных диагнозов, установленных на основании наличия мелкоточечной сыпи, были системные васкулиты ($n=6$), болезнь Рандю-Ослера ($n=5$), системная красная волчанка ($n=4$).

Однако при обследовании в клинике наличие ангиокератом зафиксировано у 44 (43,1%) из 102 больных, в том числе распространенные у 27 (26,5%), а локальные у 17 (16,7%) пациентов, также достоверно чаще ангиокератомы отмечались у мужчин (38/65 (58,8%) против 6/37 (16,2%); $p<0,0001$) (Таблица 3.1). Более высокая частота пациентов с ангиокератомами по результатам обследования в клинике связана с тем, что больные и/или врачи не всегда обращали внимание на наличие сыпи, например, при локализации в области пупка или ягодичной, паховой, поясничной областях, слизистой ротовой полости, при малом количестве элементов и/или мелких высыпаниях (Рисунок 3.3, 3.4).



Рисунок 3.3. - Ангиокератомы, расположенные по краю красной каймы губ



А.

Б.

Рисунок 3.4. - Ангиокератомы на коже нижних конечностей (А) и боковой поверхности туловища (Б)

У обследованных пациентов сыпь не сопровождалась зудом, жжением, имела медленно прогрессирующий характер с нарастанием количества элементов сыпи в течение нескольких лет и десятилетий. Пациенты не всегда могли ответить на вопрос о сроках появления высыпаний. Поэтому важным этапом диагностики является полный визуальный осмотр кожных покровов.

Представляем наблюдение пациента М., 36 лет, который был обследован в клинике в 2014г.

В 7 лет после перенесенной пневмонии у пациента появились высыпания на коже туловища и конечностей, преимущественно в проксимальных отделах, боли в кистях и стопах, ноющего, периодически стреляющего характера, усиливающиеся на фоне стресса, в жару. Тогда же отметил исчезновение потоотделения. В 19 лет (1997г.) в Донецком ГМИ по

результатам биопсии кожи была диагностирована «диффузная ангиокератома туловища Фабри». С этого времени наблюдается по м/ж с данным диагнозом. В 2005г. (27 лет) было проведено исследование ферментов в медико-генетическом научном центре РАМН, уровень α -галактозидазы А 0,8 нМ/мг/час (N 9,2-39), что подтвердило диагноз болезни Фабри. В течение последних 5 лет до госпитализации отмечал снижение зрения, эпизоды двоения в глазах, головокружения. В течение последних 3-х лет -эпизодические боли в животе, сопровождающиеся тошнотой, рвотой 3-4 раза в месяц, частым жидким стулом. Весной 2014г развился обморок, при КТ головного мозга данных за объемное образование, ОНМК не получено. При ЭХО-КТ от июня 2014г. — концентрическая гипертрофия миокарда ЛЖ до 1,35мм. При холтеровском мониторинге- эпизоды депрессии сегмента ST при физической нагрузке. При обследовании в клинике сформулирован диагноз: Болезнь Фабри (α -галактозидазы А- 0,8 нМ/мг/час (N 9,2-39), биопсия кожи от 1997г.) с поражением периферической нервной системы (полинейропатический синдром), кожи (множественные ангиокератомы), сердца (гипертрофия миокарда, безболевая ишемия миокарда), почек (микроальбуминурия), желудочно-кишечного тракта. Была рекомендована ФЗТ.

В случаях не ясного диагноза заподозрить БФ может помочь биопсия кожи (Рисунок 3.5).

Представленное наблюдение демонстрирует случай ранней диагностики БФ на основании типичных клинических проявлений – ангиокератом. В нашем исследовании диагноз БФ был заподозрен на основании биопсии кожи только у 2 пациентов.

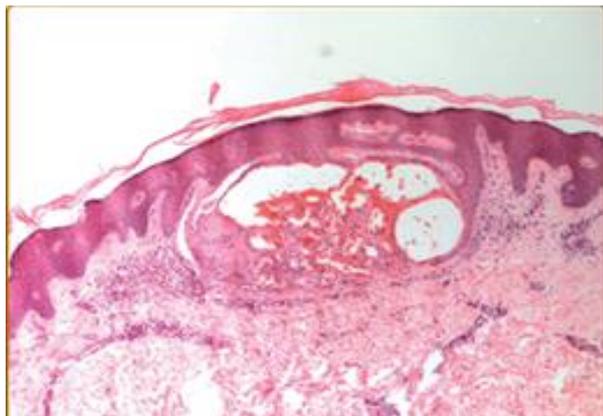


Рисунок 3.5. - Биоптат кожи (световая микроскопия): расширенные капилляры в папиллярном слое дермы с утолщением и гиперкератозом вокруг вследствие суммарного повреждения клеток сосудов дермы (Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrest BA, Paller AS, Leffell DJ, Wolff K: Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine, 8th Edition: www.accessmedicine.com)

3.2.4. Поражение органа зрения

До постановки диагноза БФ никому из наших пациентов не проводили офтальмологическое обследование с использованием биомикроскопии (Рисунок 3.6).

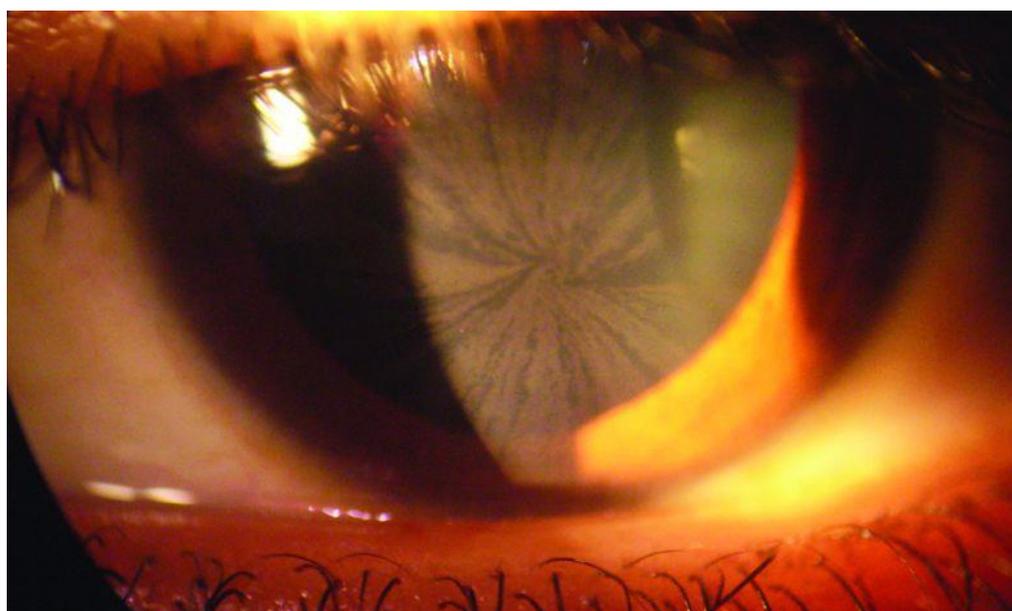


Рисунок 3.6. - Вихревидная кератопатия (Dr. Juan-Manuel Politei, Buenos-Aires, Argentina)

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

Поражение органа зрения выявлено у 55 (67,1%) из 82 пациентов, с одинаковой частотой у мужчин и у женщин (Таблица 3.1). Вихревидная кератопатия обнаружена у 52 (63,4%), катаракта Фабри – у 10 (12,2%) пациентов. У всех пациентов были исключены другие возможные причины данных изменений (длительный прием амиодарона и производных хлорохина). У 1 пациента имелась посттравматическая кератопатия. Специфическое поражение органа зрения было единственным специфическим признаком БФ у 4 (4,9%) пациентов (Таблица 3.1).

Приводим историю болезни пациентки П., 65 лет, у которой вихревидная кератопатия была единственным классическим признаком БФ.

Длительно страдает гипертонической болезнью. С 2011 года (59 лет) пациентка отмечает «перебои» в работе сердца, слабость и головокружение на фоне нарушения ритма сердца. В августе 2012 года проходила стационарное лечение в кардиологическом центре, была выявлена АВ- блокада II-III ст., пароксизмы желудочковой тахикардии, в связи с чем проведена имплантация ЭКС. По данным ЭХО-КГ выявлена концентрическая ГЛЖ. С 2013 года беспокоит одышка. С этого же времени отмечает ухудшение памяти и зрения, отмечала эпизод онемения левой руки в августе 2015 года, прошедший самопроизвольно. Получает кардиотропную терапию (кардиомагнил, бисопролол). В 2015 г. впервые выявлено повышение уровня креатинина сыворотки крови до 134,2 мкмоль/л. При скрининге в сентябре 2016 года (ввиду наличия БФ у сына) у пациентки выявлена мутация гена GLA [с. 1197G>A], снижение активности альфа-галактозидазы А до 34%. В 2017г. по результатам обследования в клинике им. Е.М. Тареева выявлены признаки поражения почек (минимальная

протеинурия до 0,06 г/л, снижение СКФ до 59 мл/мин/м²), сердца (ГЛЖ, дилатация левого предсердия). Также при осмотре офтальмологом была выявлена вихревидная кератопатия. В данном случае наличие изменений со стороны внутренних органов (сердца и почек) не очевидно связаны с БФ, учитывая возраст пациентки и указание на длительный анамнез гипертонической болезни. Наличие же вихревидной кератопатии, наряду с генетическим и энзимологическим анализами подтверждает диагноз и делает необходимым начало ФЗТ.

Представленное наблюдение демонстрирует случай поздней диагностики БФ у пациентки с классическим ранним симптомом – вихревидной кератопатией, что подчеркивает важность мультидисциплинарного подхода к обследованию пациентов.

3.2.5. Другие ранние симптомы БФ

Также к ранним, но менее специфичным симптомам можно отнести поражение ЖКТ (диарея, боли в животе различной локализации, тошнота, эпизоды рвоты), что отмечалось у 8 (7,8%) из 102 наших пациентов с БФ (Таблица 3.1). Только у одной женщины поражение ЖКТ было единственным симптомом БФ.

У 7 (6,9%) пациентов встречалась лихорадка, у 5 (4,9%) – отеки нижних конечностей (лимфедема), у 2 (2,0%) – упорные артралгии (Таблица 3.1). Лимфедема и артралгии отмечались в нашем исследовании только у мужчин. Однако малое количество больных не позволяет говорить о достоверных различиях между мужчинами и женщинами. Ни один из вышеперечисленных симптомов не позволил заподозрить БФ. Диагноз в данных случаях устанавливался при семейном скрининге или при появлении органических поражений значительно позднее дебюта болезни.

Представляем наблюдение пациентки М. 30 лет, которая проходила обследование в клинике в 2016, 2018 и 2019гг.

В возрасте 11 лет в течение года отмечалось стойкое повышение температуры тела до фебрильных цифр, повышение острофазовых показателей в крови, неоднократные госпитализация в связи с подозрением на инфекционный процесс, гематологическое заболевание. Были выполнены пункции костного мозга, трепанобиопсия, биопсия лимфоузла, множественные эндоскопические исследования. Пациентка провела в стационаре около 9 мес. Выполнены лапаротомия, аппендэктомия, нефротомия. После многоэтапного диагностического поиска установить причину лихорадки не удалось. В дальнейшем отмечена спонтанная нормализация Т тела, улучшение самочувствия.

В возрасте 19 лет без предшествующих жалоб развился правосторонний гемипарез, афазия. Врачами скорой медицинской помощи диагностировано ОНМК. По данным МРТ головного мозга: ОНМК в бассейне левой средне-мозговой артерии (лентикулостриарных ветвей). Пациентка от госпитализации отказалась. Восстановление двигательной функции конечностей произошло в течение 3 дней. Причина инсульта установлена не была.

С 2013г. (25 лет) отмечает появление жгучих болей в пальцах рук и ног преимущественно в вечернее время, что требовало ежедневного приема НПВП. Также у сына пациентки (6 лет) появились аналогичные боли в конечностях, а также упорная лихорадка. Диагноз установлен не был. Через год пациентка обратила внимание на появление у сына в ягодичной области ярко-красной мелкоочечной сыпи. В течение года элементы сыпи распространились на бёдра и спину. Сыну выполнена биопсия кожи, высказано предположение о наличии у ребенка БФ, был консультирован генетиком, в дальнейшем диагноз был подтверждён генетическим и энзимологическим методами.

С учётом наличия БФ у сына, пациентка обследована в 2016г.: выявлена мутация гена GLA [с.782G>T], активность α -галактозидазы А снижена- 1,53 мкмоль/литр/час (в норме > 1.89 мкмоль/л/час). При обследовании членов семьи по материнской линии (генетическое исследование, активность фермента) выявлены положительные результаты у матери, сестры, племянницы пациентки. Впервые госпитализирована в Клинику в ноябре 2016г. Диагностирована БФ с поражением центральной нервной системы (ОНМК в 2007 г.), периферической нервной системы (нейропатическая боль), почек (протеинурия), органа зрения (вихревидная кератопатия). С января 2017г. получает ФЗТ агалсидазой-альфа в дозе 0.2 мг/кг внутривенно 1 раз в 2 недели.

Таким образом, с момента дебюта болезни, которая манифестировала лихорадкой, до постановки диагноза прошло 17 лет, а диагноз был установлен при семейном скрининге.

3.3. Клиническая диагностика БФ

3.3.1. Принципы диагностики БФ на основании ранних симптомов

В нашем исследовании диагноз БФ был установлен разными способами (Рисунок 3.7).

Среди 102 обследованных пациентов диагноз БФ был установлен с помощью семейного скрининга у 46 пациентов (45,1%), во время общенационального скрининга в российских отделениях гемодиализа – у 24 (23,5%) и еще у 24 (23,5%) диагноз заподозрен на основании клинических данных, у 6 (5,9%) – с помощью биопсии почки и у 2 (2,0%) – с помощью биопсии кожи (Рисунок 3.7).

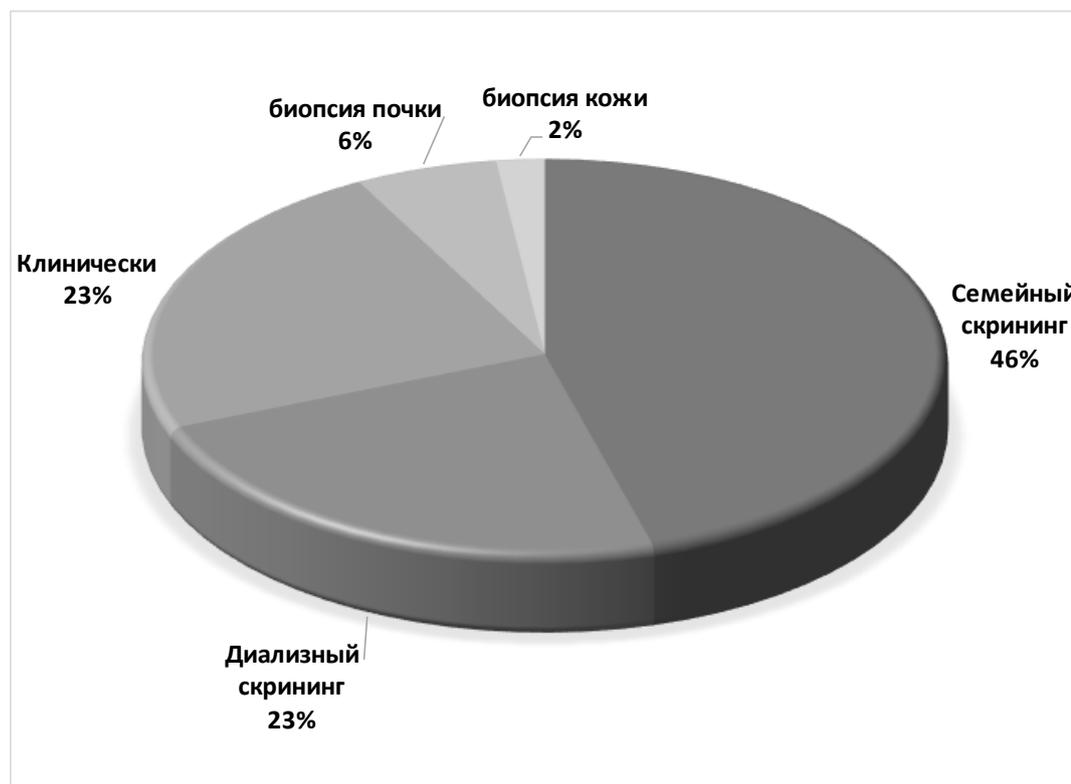


Рисунок 3.7. - Методы постановки диагноза (n=102)

Медиана возраста начала болезни у пациентов с классическим течением составляла 10 (7;15) лет и не различалась у мужчин и женщин ($p=0,40$; Таблица 3.2). Срок до постановки диагноза с момента появления ранних проявлений болезни составил 21 год (11;30), и также не различался у мужчин и женщин ($p=0,32$). Даже после появления органных повреждений (признаки поражения почек, сердца, ЦНС) срок до постановки диагноза среди обследованных нами пациентов с ранними симптомами составил 6 лет (2,5;12,5) и был сопоставим у мужчин и женщин ($p=0,59$; Таблица 3.2).

Среди 24 (23,5%) из 102 пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных, преобладали мужчины (21/65 (32,3%) против 3/37 (8,1%), $p=0,003$). У всех пациентов в данной группе был хотя бы один классический ранний признак БФ (Таблица 3.3).

Таблица 3.2. - Возраст начала болезни и постановки диагноза у пациентов с ранними симптомами

Показатели	Общие (n=83)	Мужчины (n=57)	Женщины (n=26)	Достоверность различий
Возраст начала болезни, лет	10 (7;15)	10 (7;18)	14 (8;27)	0,4
Диагностическая задержка, лет	21 (11;30)	21 (11;29)	21 (12;33)	0,32
Диагностическая задержка после появления органических повреждений, лет	6 (3;12)	6 (3;13)	6 (2;11)	0,59

Таблица 3.3. - Частота ранних проявлений БФ у пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных, и у пациентов, которым диагноз был поставлен при скрининге или биопсии

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

Поражение ПНС достоверно чаще встречалось в группе пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных (23/24 (95,8%), чем в группе остальных пациентов (56/78 (71,8%), $p=0.012$).

Гипогидроз выявлялся с одинаковой частотой в двух группах пациентов (15/24 (62,5%) против 40/78 (51,3%), $p=0,36$).

Ангиокератомы также встречались достоверно чаще в группе пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных (19/24 (79,2%), чем в группе остальных пациентов (25/78 (32,1%), $p<0,0001$).

Вышеперечисленные классические ранние симптомы БФ встречались у наших пациентов в различном сочетании. Все три признака (поражение ПНС, гипо- или ангидроз, ангиокератомы) в раннем периоде болезни чаще фиксировались в группе пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных (6/24 (25%), чем у остальных больных (5/78 (6%), различия были статистически значимы ($p=0,019$). Сочетание двух классических признаков БФ отмечено примерно у 30% пациентов, статистической разницы между группами пациентов выявлено не было (Таблица 3.3).

Среди 24 пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных, мы выделили группу больных, которым диагноз был поставлен до развития органических повреждений. Данная группа пациентов является важной моделью своевременной диагностики, в нее вошли 11 пациентов, 10 мужчин и 1 женщина, что составило 13,3% всех пациентов с ранними симптомами болезни. В данной группе также преобладали мужчины (10/57 (17,5%) против 1/26 (3,8%), однако разница не достигла статистической значимости ($p=0,160$). Для определения факторов ранней диагностики мы сравнили данную группу пациентов с остальными пациентами, у которых были ранние симптомы болезни ($n=83$).

Частота поражения ПНС и гипогидроза была сопоставимой в группах больных, у которых диагноз был поставлен на основании клинических

данных до развития органных проявлений, и в группе остальных пациентов (Таблица 3.4).

Ангиокератомы являлись единственным более частым симптомом в группе пациентов, у которых диагноз был поставлен на основании клинических данных до развития органных повреждений (10/11 (90,9%), по сравнению с группой остальных пациентов с ранними симптомами (34/72 (47,2%); $p=0,008$).

Таблица 3.4. - Частота ранних проявлений БФ у пациентов, которым диагноз был поставлен до развития органных поражений, и у остальных пациентов с ранними симптомами БФ

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

Сочетание трех или двух классических признаков БФ по нашим данным не имело преимуществ в ранней постановке диагноза до развития органных повреждений (Таблица 3.4).

3.3.2. Принципы диагностики БФ у пациентов с поздним вариантом заболевания

Среди обследованных пациентов ранние проявления болезни отсутствовали у 19 пациентов (8 мужчин и 11 женщин).

Среди пациентов с поздним дебютом БФ наиболее часто диагноз был установлен с помощью семейного скрининга (12/19 (63,2%) пациентов). У 5/19 (26,3%) пациентов (все мужского пола) диагноз был поставлен в результате общенационального скрининга в российских отделениях гемодиализа, и у 2 (10,5%) пациентов (1 мужчина и 1 женщина) диагноз поставлен с помощью биопсии почки (Рисунок 3.8).

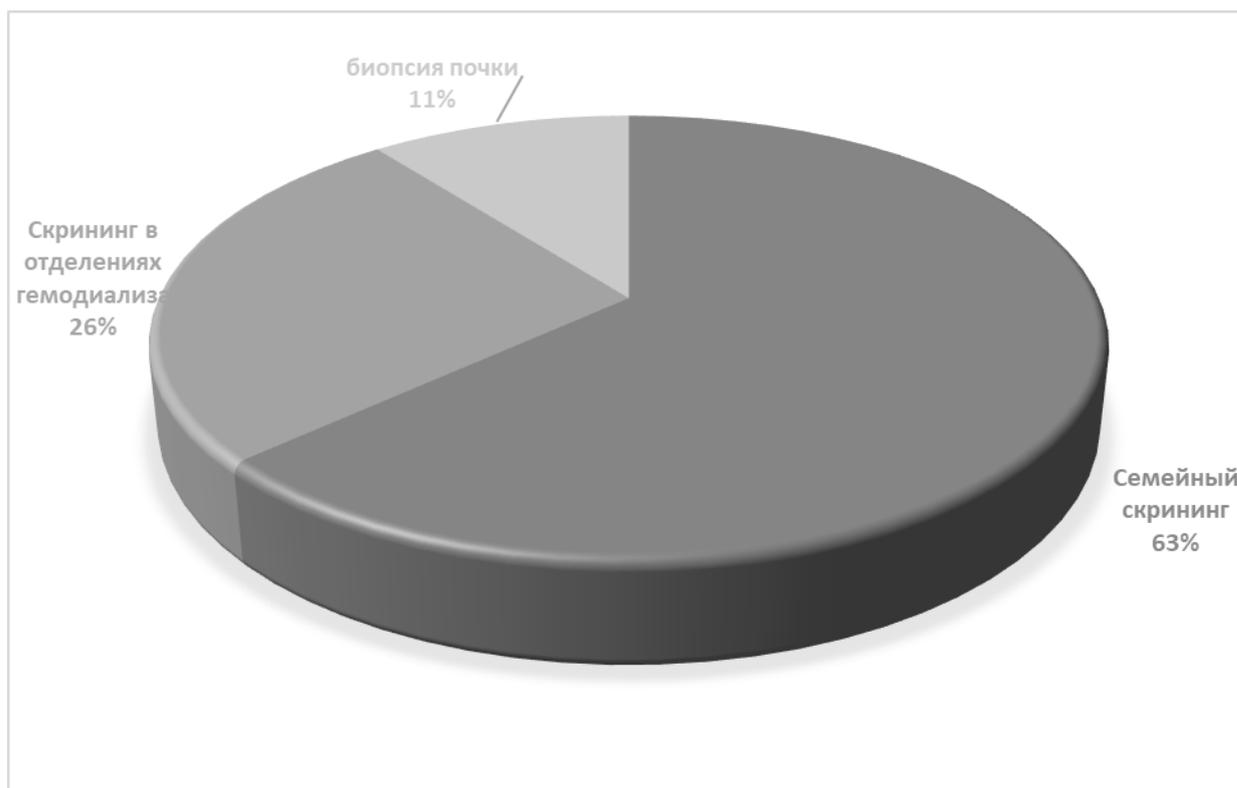


Рисунок 3.8. - Методы постановки диагноза у пациентов без ранних классических симптомов болезни

Медиана возраста начала болезни у пациентов с поздним дебютом БФ составила 37 лет (24; 54) и была несколько ниже у мужчин (35,5 (19,75; 40,75) лет), чем у женщин (48 (27;58) лет), однако разница не достигла статистически значимого уровня ($p=0,129$).

Среди пациентов с поздним дебютом БФ поражение сердца констатировано у 9/19 (47,4%), поражение почек – у 7/19 (36,8 %), признаки

поражения нескольких органов – у 15,8%. Изолированного поражения ЦНС у пациентов с поздним дебютом БФ отмечено не было (Рисунок 3.9).

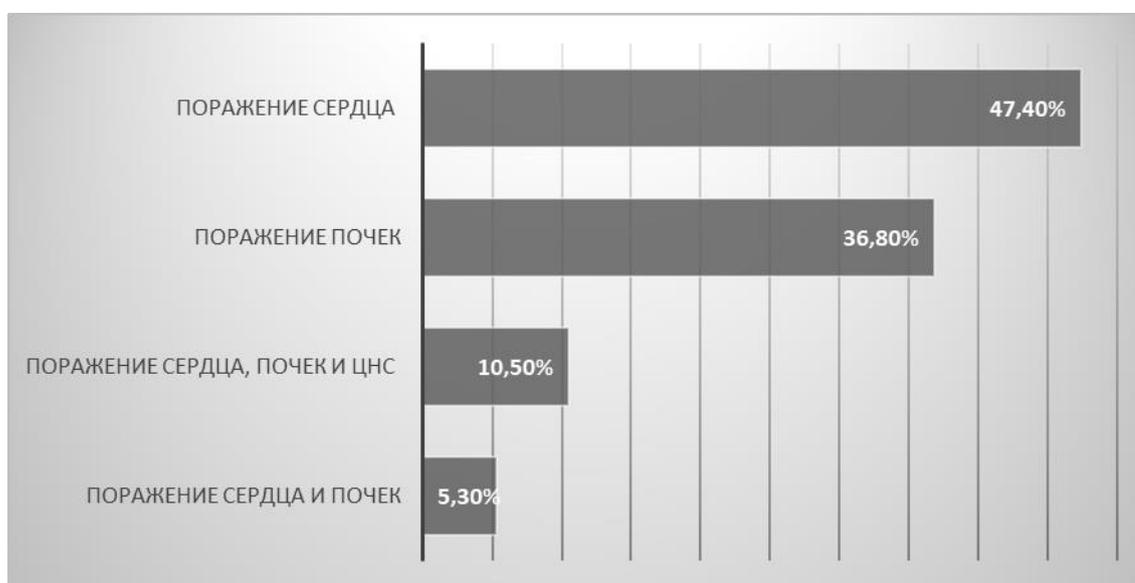


Рисунок 3.9. - Спектр и частота первых органных проявлений БФ у пациентов без ранних классических симптомов (n=19)

Следует отметить, что у 10 из 19 пациентов с поздним дебютом БФ, вовлечение органов-мишеней выявлено только после постановки диагноза методом семейного скрининга, а специфические жалобы, связанные с поражением сердца, почек или ЦНС, отсутствовали. 7/19 пациентов с поздним дебютом БФ наблюдались у нефрологов, 2/19 – у кардиологов, однако диагноз БФ им был поставлен только с помощью семейного скрининга. Именно проведение семейного скрининга способствует более ранней постановке диагноза, что улучшает прогноз больных.

3.4. Роль семейного скрининга в ранней диагностике БФ

В исследование включено 56 пробандов, клинико-демографическая характеристика которых представлена в Таблице 3.5.

Таблица 3.5.-Клинико-демографическая характеристика пробандов с БФ

Параметры	Мужчины (n= 51)	Женщины (n=5)	Достоверность различий
Возраст, годы	39 [32; 47]	40 [31;57]	0,56
Возраст начала симптомов, годы	10 [7;16]	6 [5;19]	0,31
Время до постановки диагноза, годы	19 [10; 26]	23 [12;49]	0,27
Ранние симптомы, n (%)			
Нейропатическая боль	40 (78,4)	3 (60)	0,25
Ангиокератомы	31 (60,7)	3 (60)	0,36
Гипо/ангидроз	37 (72,5)	2 (40)	0,13
Поражение ЖКТ	7 (13,7)	0	1,0
Поражение почек, n (%)			
Альбуминурия/протеинурия	35 (68,6)	4 (80)	0,37
pСКФ<60 ml/min/1.73 m ²	3 (5,9)	2 (40)	0,05
ХПН	27 (52,9)	1 (20)	0,15
Гемодиализ	27 (52,9)	1 (20)	0,15
Трансплантация почки	4 (7,8)	0	0,68
Поражение сердца, n (%)			
ГЛЖ (по данным ЭХО-КГ или МРТ)	34 (66,7)	2 (40)	0,19
Постановка кардиостимулятора	1 (2,0)	0	0,91
Поражение ЦНС, n (%)			
Очаги в головном мозге	18/48(37,5)	0/4	0,17
ОНМК	12 (23,5)	2 (40)	0,27
Офтальмологические признаки, n (%)			
Вихревидная кератопатия	20/34 (58,8)	3/ 4 (75)	0,24
Мутации, n (%)			
Миссенс	36 (70,6)	1 (20)	0,04
Нонсенс	7 (13,7)	3 (60)	0,03
Другие	8 (15,7)	1 (20)	0,42
Дефицит/отсутствие АГАЛ, n (%)	45/45 (100)	3 (60)	<0,01
Уровень lyso-GI3, нг/мл	79,9	11,8	0,02
Умершие, n (%)	9 (17,6)	0	0,45

Всего было оценено 408 родственников пробандов от 1 до 4 поколений на одну семью (Таблица 3.6).

Таблица 3.6. - Анализ родословных 56 пробандов

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

Число родственников на одну семью, которые могут наследовать мутантный ген, варьировало от 1 до 20 (среднее значение составило 7,3). Более 60% родственников были обследованы на наличие БФ (определение активности α -галактозидазы А, генетическое тестирование и определение уровня lyso-GI3). Самой частой причиной отсутствия обследования родственников явились плохие внутрисемейные связи и отсутствие общения, что часто было связано с географическим фактором (83,6%). Только 13% родственников отказались от предложенного генетического тестирования. Диагноз БФ был подтвержден у 123 (46,9%) родственников пробандов (38

мужчин и 85 женщин). Важно отметить, что 19,5% были детьми или подростками в возрасте до 18 лет (Таблица 3.6).

Среднее число родственников, страдающих БФ, на одного пробанда составило $2,2 \pm 0,3$. У 60% определялись симптомы БФ, однако ФЗТ была начата только у 25 (20,3%) из 123 родственников с установленным диагнозом БФ (Таблица 3.6).

3.5. Взаимосвязь ранних клинических проявлений БФ с общей тяжестью течения заболевания

Нейропатическая боль

Пациенты с поражением ПНС и пациенты без поражения ПНС были сопоставимы по полу и возрасту. Мы не выявили различий в частоте органических поражений в данных группах пациентов (Таблица 3.7).

Медиана MSSI у пациентов с поражением ПНС (31,0 (20,5; 43,5) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без поражения ПНС (18,5 (6,7; 37,5) баллов, $p < 0,0001$). У пациентов с поражением ПНС медиана aaFOS-MSSI также была выше (12,2 (5,3; 21,9) баллов), чем у пациентов без них (-0,9 (-5,7; 11,6) баллов; $p < 0,0001$; Рисунок 3.10). Кроме того, в группе пациентов с поражением ПНС достоверно реже наблюдали легкое течение БФ, чем в группе пациентов без поражения ПНС (Таблица 3.7).

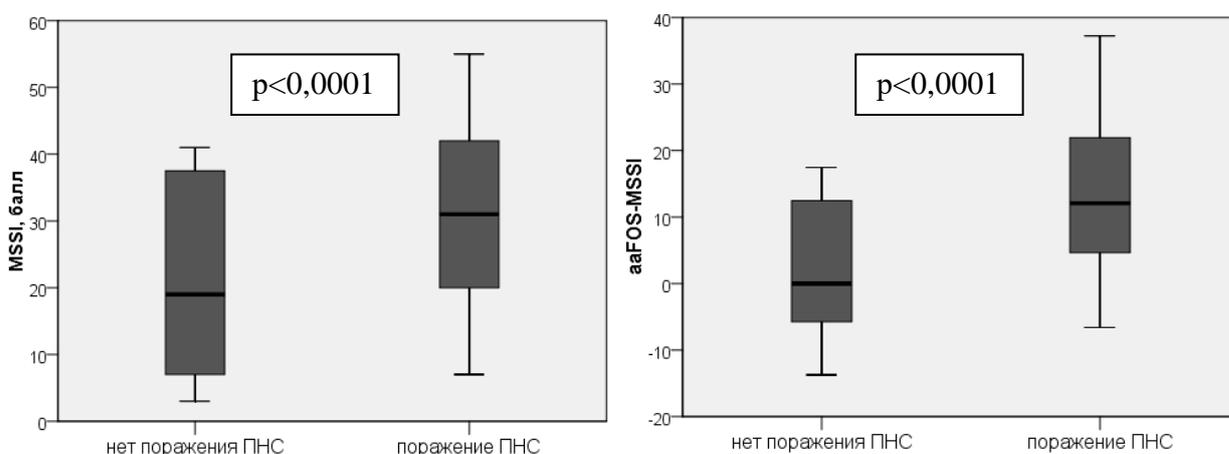


Рисунок 3.10. - Значения индекса MSSI и aaFOS-MSSI у пациентов с поражением ПНС и без поражения ПНС

Таблица 3.7. - Сравнительная характеристика пациентов с поражением ПНС и без поражения ПНС

Показатели	Пациенты с поражением ПНС (n=79)	Пациенты без поражения ПНС (n=23)	Достоверность различий
Женщины, n (%)	27 (34,2)	10 (43,5)	0,464
Медиана возраста, лет	37 (31; 49)	45 (33; 52)	0,184
Поражение почек, n (%)			
Протеинурия >0,3 г/л	33 (41,8)	7 (30,4)	0,467
рСКФ<60 мл/мин/1,73 м ²	10 (12,7)	3 (13,0)	1,0
Терминальная ХПН	25 (31,6)	6 (26,1)	0,797
Поражение головного мозга, n (%)			
Очаги в белом веществе на МРТ	30 (38,0)	9 (39,1)	1,0
Инсульт	16 (20,3)	1 (4,3)	0,110
Поражение сердца, n (%)			
Гипертрофия миокарда	53 (67,9)	12 (52,2)	0,216
Очаги фиброза	17 (21,5)	3 (13,0)	0,552
Клинически значимые аритмии	7 (8,9)	3 (13,0)	0,690
Летальный исход, n (%)	7 (8,9)	2 (8,7)	1,0
Индекс MSSl, n (%)			
<20	26 (32,9)	15 (65,2)	0,008
20-40	33 (41,8)	6 (26,1)	0,225
>40	20 (25,3)	2 (8,7)	0,147

Нарушение потоотделения

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

чем в группе пациентов без гипогидроза. (Таблица 3.8).

Таблица 3.8. - Сравнительная характеристика пациентов с нарушением потоотделения и с нормальным потоотделением

Показатели	Пациенты с гипогидрозом (n=55)	Пациенты без гипогидроза (n=47)	Достоверность различий
Женщины, n (%)	12 (21,8)	25 (53,2)	0,002
Медиана возраста, лет	36 (31; 49)	40 (31; 51)	0,161
Поражение почек, n (%)			
Протеинурия >0,3 г/л	22 (40,4)	18 (38,3)	1,0
pСКФ<60 мл/мин/1,73 м ²	7 (12,7)	6 (12,8)	1,0
Терминальная ХПН	26 (47,3)	5 (10,6)	<0,0001
Поражение головного мозга, n (%)			
Очаги в белом веществе на МРТ	19 (34,5)	20 (42,6)	0,422
Инсульт	12 (21,8)	5 (10,6)	0,184
Поражение сердца, n (%)			
Гипертрофия миокарда	35 (64,8)	30 (63,8)	1,0
Очаги фиброза	11 (20,0)	9 (19,1)	1,0
Клинически значимые аритмии	3 (5,5)	7 (14,9)	0,180
Летальный исход, n (%)	8 (14,5)	1 (2,1)	0,036
Индекс MSSI, n (%)			
<20	16 (29,1)	25 (53,2)	0,016
20-40	18 (32,7)	21 (44,7)	0,228
>40	21 (38,2)	1 (2,1)	<0,0001

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

пациентов с гипогидрозом, вероятно, обусловлено преобладанием в данной группе пациентов мужского пола с тХПН.

Однако при отдельном анализе медиана MSSI также была достоверно выше у мужчин с гипогидрозом – 34 (20; 42) балла, чем у мужчин без гипогидроза – 21 (14; 30) баллов ($p=0,003$). Среди женщин различий выявлено не было ($p=0,142$; Рисунок 3.11).

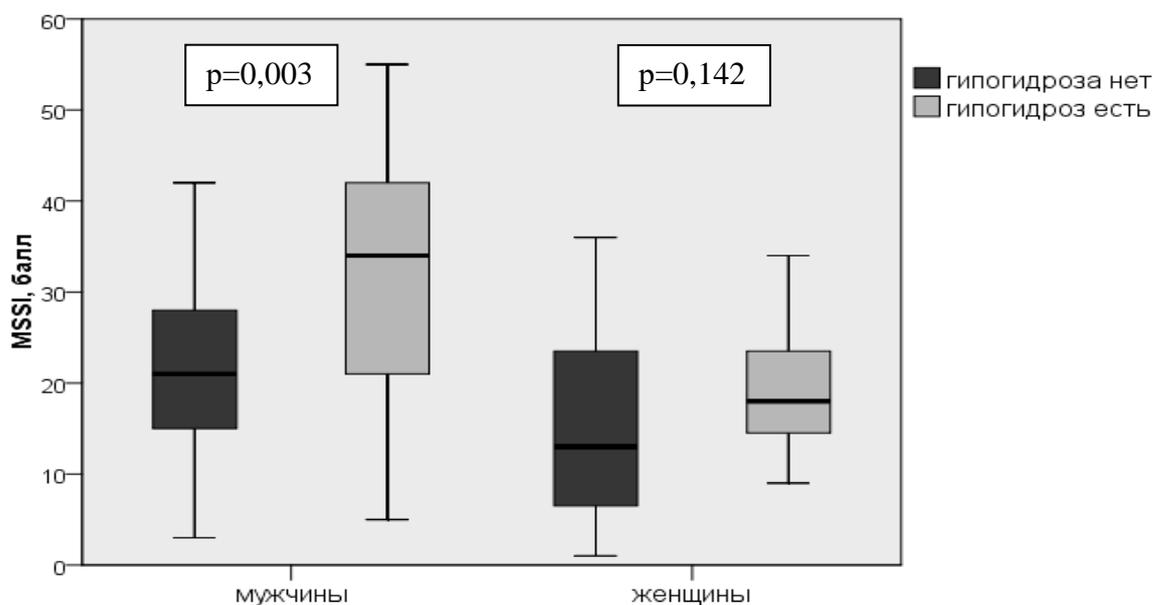


Рисунок 3.11. - Значения индекса MSSI у мужчин и женщин в зависимости от нарушения потоотделения

Ангиокератомы

Пациенты с ангиокератомами и пациенты без ангиокератом были сопоставимы по возрасту. Ангиокератомы чаще встречались у мужчин, кроме того, в группе с ангиокератомами чаще выявляли пациентов с явной протеинурией. Различий в частоте других органных поражений в данных группах пациентов мы не выявили (Таблица 3.9).

Таблица 3.9. - Сравнительная характеристика пациентов ангиокератомами и без ангиокератом

Показатели	Пациенты с ангиокератомами (n=44)	Пациенты без ангиокератом (n=58)	Достоверность различий
Женщины, n (%)	6 (13,6)	31 (53,4)	<0,0001
Медиана возраста, лет	36,5 (31,3; 44,0)	41,5 (30,0; 51,0)	0,195
Поражение почек, n (%)			
Протеинурия >0,3 г/л	25 (56,8)	15 (25,9)	0,002
рСКФ<60 мл/мин/1,73 м ²	6 (13,6)	7 (12,1)	1,0
Терминальная ХПН	15 (34,1)	16 (27,6)	0,520
Поражение головного мозга, n (%)			
Очаги в белом веществе на МРТ	13 (29,5)	26 (44,8)	0,151
Инсульт	11 (25,0)	6 (10,3)	0,062
Поражение сердца, n (%)			
Гипертрофия миокарда	8 (18,2)	12 (20,7)	0,806
Очаги фиброза	4 (9,1)	6 (10,3)	1,0
Клинически значимые аритмии	7 (15,9)	2 (3,4)	0,037
Индекс MSSI, n (%)			
<20	19 (43,2)	20 (34,5)	0,415
20-40	12 (27,3)	10 (17,2)	0,236
>40	13 (29,5)	28 (48,0)	1,0

Медиана MSSI у пациентов с ангиокератомами (27,5 (17,8; 38,2) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без них (19,5 (10,0 ; 34,0) баллов, $p=0,033$). У пациентов с ангиокератомами медиана aaFOS-MSSI также была выше 11,2 (2,7; 20,1) баллов), чем у пациентов без них (8,5 (-1,6; 15,1) баллов), однако разница была статистически не значимой ($p=0,081$) (Рисунок 3.12).

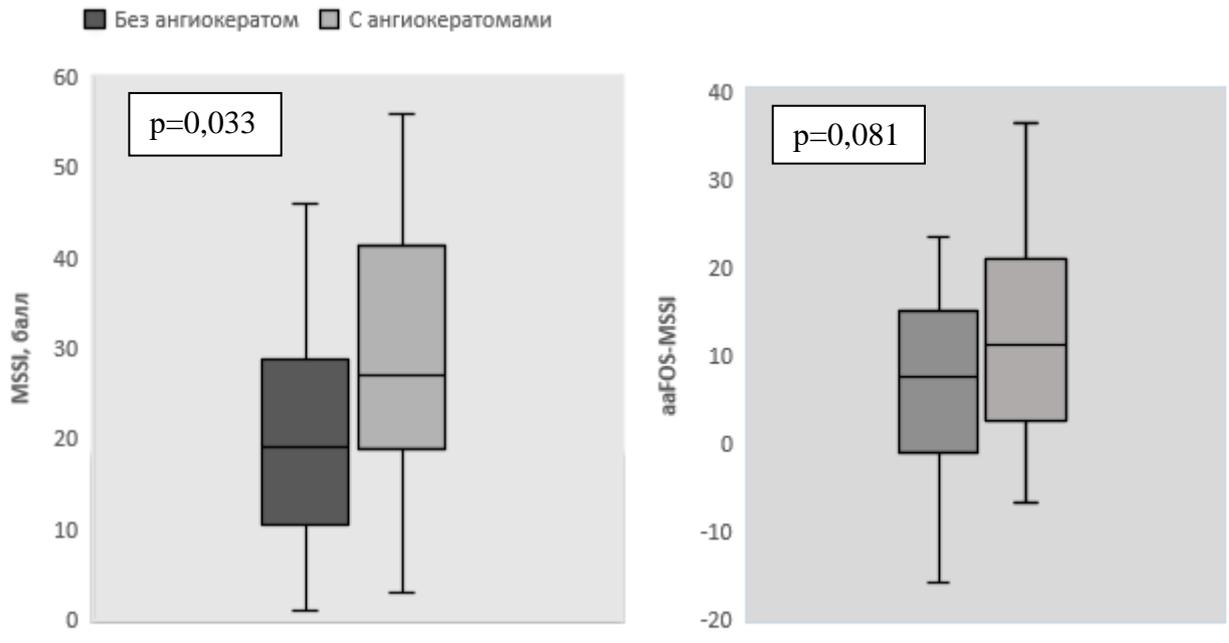


Рисунок 3.12. - Значения индекса MSI и aaFOS-MSI у пациентов с ангиокератомами и без них

При раздельном анализе по полу медиана MSI не различалась в группе мужчин ($p=0,934$) и женщин ($p=0,379$) с ангиокератомами и без них (Рисунок 3.13).

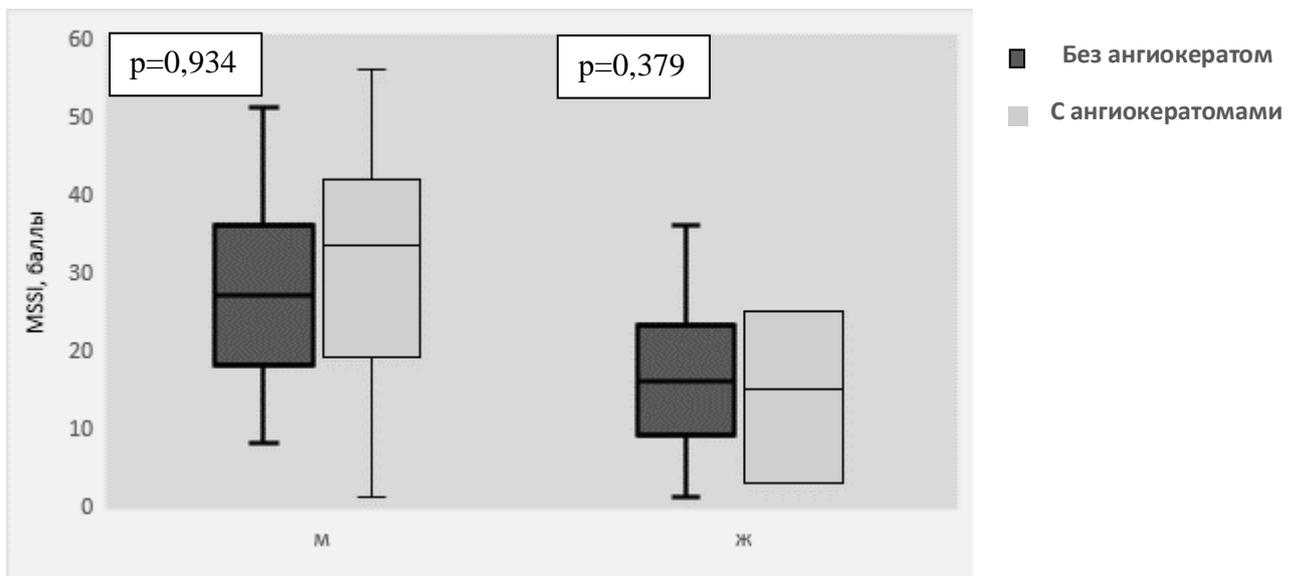


Рисунок 3.13. - Значения индекса MSI у пациентов с ангиокератомами и без них при раздельном по полу анализе

Вихревидная кератопатия

Дальнейший анализ проводился среди пациентов, обследованных офтальмологом на наличие вихревидной кератопатии- наиболее частое проявление поражения органа зрения (n=82). Пациенты с кератопатией и пациенты без кератопатии были сопоставимы по полу и возрасту. Мы не выявили различий в частоте классических симптомов БФ, а также частоте органических поражений в данных группах пациентов (Таблица 3.10).

Таблица 3.10. - Сравнительная характеристика пациентов с кератопатией и без кератопатии

Показатели	Пациенты с кератопатией (n=55)	Пациенты без кератопатии (n=27)	Достоверность различий
Женщины, n (%)	24 (43,6)	11 (40,7)	1,0
Медиана возраста, лет	38 (30; 50)	43 (31; 52)	0,456
Поражение почек, n (%)			
Протеинурия >0,3 г/л	21 (38,2)	9 (33,3)	0,808
рСКФ<60 мл/мин/1,73 м ²	7 (12,7)	4 (14,8)	1,0
Терминальная ХПН	10 (18,2)	9 (33,3)	0,165
Поражение головного мозга, n (%)			
Очаги в белом веществе на МРТ	25 (45,5)	10 (37,0)	0,489
Инсульт	9 (16,4)	3 (11,1)	0,742
Поражение сердца, n (%)			
Гипертрофия миокарда	33 (60,0)	20 (74,1)	0,231
Очаги фиброза	10 (18,2)	6 (22,2)	0,769
Клинически значимые аритмии	6 (10,9)	3 (11,1)	1,0
Летальный исход, n (%)	0	4 (14,8)	0,010
Индекс MSSl, n (%)			
<20	23 (41,8)	13 (48,1)	0,640
20-40	26 (47,3)	5 (18,5)	0,015
>40	6 (10,9)	9 (33,3)	0,030

Медианы индекса тяжести MSSI были сопоставимы у пациентов с кератопатией (21 (15; 32) баллов) и без кератопатии (20 (6; 42) баллов; $p=0,56$). У пациентов вихревидной кератопатией медиана aaFOS-MSSI была в четыре раза выше, чем у пациентов без вихревой кератопатии (8,9 (3,2; 14,1) и 1,3 (-5,5; 20,1), соответственно), однако разница была статистически незначимой ($p=0,271$; Рисунок 3.14).

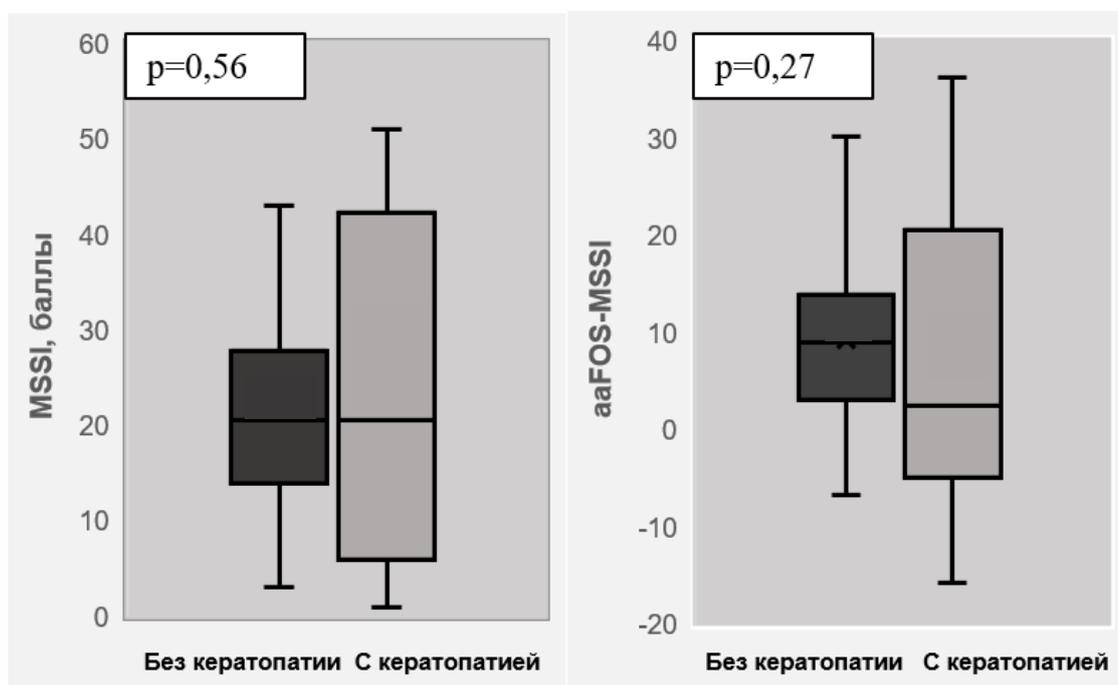


Рисунок 3.14. - Значения индексов MSSI у пациентов с кератопатией и без нее

У пациентов с вихревидной кератопатией выявлена корреляция индекса тяжести MSSI с возрастом, в отличие от пациентов без кератопатии, у которых данная взаимосвязь не обнаружена (Рисунок 3.15).

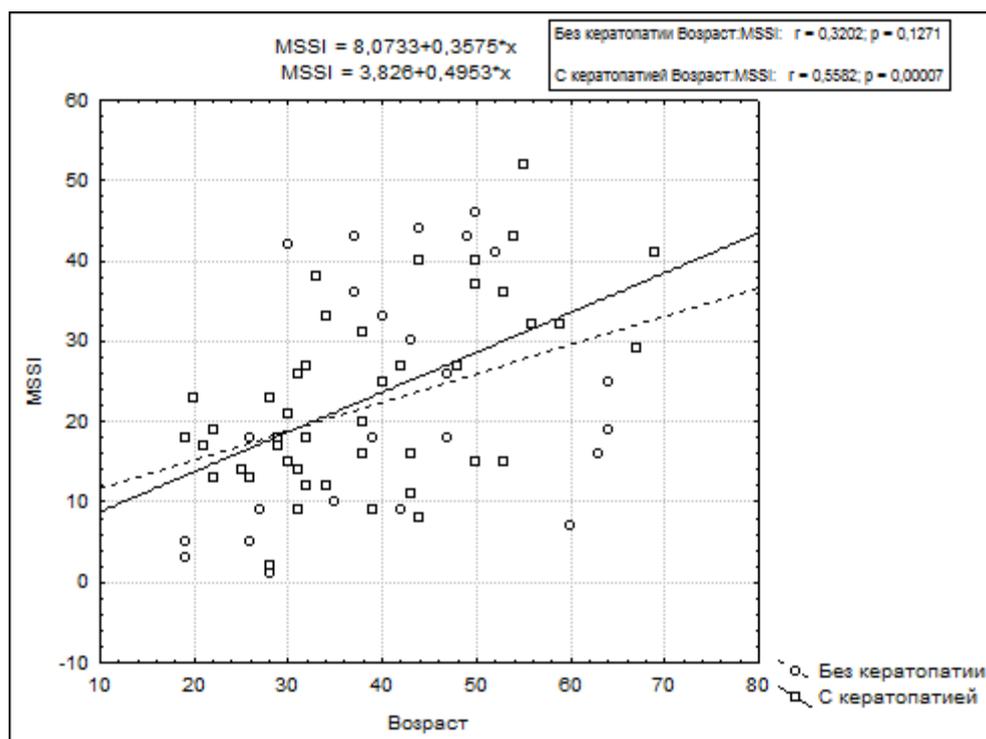


Рисунок 3.15. - Зависимость индекса FOS-MSSI от возраста. Сплошная линия (квадраты) – пациенты с кератопатией, пунктирная (кружки) – без кератопатии

3.6. Значение определения концентрации субстрата накопления глоботриаозилсфингозина (lyso-GI3) для диагностики БФ

3.6.1. Роль определения активности α -галактозидазы А

Диагностика БФ у мужчин базируется на определении активности α -галактозидазы А в лейкоцитах периферической крови или плазме [13, 63, 20, 28, 3].

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

У женщин активность α -галактозидазы А была определена у 28 пациенток. У 17 из них были зафиксированы нормальные уровни активности

фермента, что составляет 60,7%. Отсутствие активности фермента не было зафиксировано ни у одной женщины. Таким образом, мы подтвердили низкую эффективность скрининга на основании определения активности α -галактозидазы А среди женщин.

3.6.2. Роль определения уровня глоботриаозилсфингозина (lyso-G13)

Среди обследованных пациентов с БФ концентрация lyso-G13 в сухих пятнах крови или плазме была определена у 70 пациентов (38 мужчин и 32 женщин). У мужчин медиана уровня lyso-G13 была достоверно выше (84,4 (27,45; 116,25) нг/мл), чем у женщин (7,2 (4,7; 9,34) нг/мл, $p < 0,0001$).

Концентрация lyso-G13 прямо коррелировала с индексом тяжести (MSSI) и индексом aaFOS-MSSI, который учитывает возраст и пол пациента. Выявленная взаимосвязь была статистически значимой для женщин, однако для мужчин данная корреляция оказалась не значимой (Таблица 3.11).

Таблица 3.11. - Корреляции индексов тяжести БФ с уровнем lyso-G13

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

По данным литературы уровень lyso-G13 выше 45 нг/мл предсказывает диагноз классической формы БФ у мужчин [57], а более низкие уровни lyso-G13 ассоциированы с поздним дебютом болезни [101], поэтому дальнейший анализ мы проводили среди пациентов с низкой концентрацией lyso-G13 (менее 45 нг/мл).

У 12 из 38 обследованных мужчин значение lyso-G13 было ниже 45нг/мл. Среди них у троих пациентов в возрасте 30, 31 и 35 лет отмечалось классическое течение болезни с наличием 3-х ранних признаков болезни и развитием органичных повреждений после 20 лет. При этом уровни lyso-G13 были 28,6; 29,2 и 35,4 нг/мл, соответственно (Таблица 3.12).

Таблица 3.12. - Характеристика мужчин, у которых уровень lyso-G13 был ниже 45нг/мл

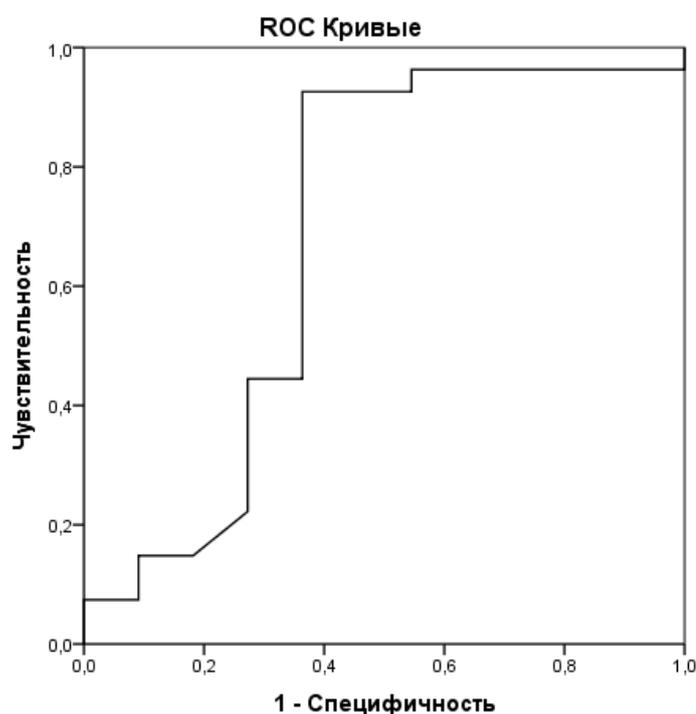
N	Значение lyso-G13	Ранние признаки	Возраст появления органичных повреждений, лет	Возраст постановки диагноза, лет	aaFOS-MSSI
1.	35,5	+	26	29	18.9
2.	29.2	+	19	31	16.7
3.	28,6	+	20	20	11.9
4.	24,0	+	40	49	22.6
5.	14,1	+	46	49	-2.5
6.	11,4	+	42	49	16.6
7.	8,7	-	34	34	-15.7
8.	7,0	-	37	37	-3.0
9.	5,0	-	41	41	-10.7
10.	4,6	-	19	19	-7.5
11.	4,2	-	18	31	12.5
12.	3,5	-	8	15	-5.5

При анализе историй болезни оставшихся девяти пациентов мы выяснили, что наряду с органичным повреждением ранние классические признаки БФ (поражение ПНС, гипогидроз, **но не ангиокератомы**) отмечались только у трех пациентов, однако они развивались поздно на 5-м десятилетии.

Другие 6 пациентов не имели ранних признаков болезни, а уровень lyso-G13 у них был самый низкий. В данный список вошли 3 пары братьев.

Таким образом, по данным нашего исследования при классической форме БФ концентрация lyso-G13 была $\geq 28,6$ нг/мл, при поздней форме БФ – ниже этой границы. Однако объем выборки является, безусловно, малым (Таблица 3.12).

Для оценки прогностической значимости уровня lyso-G13 при классическом фенотипе БФ была построена ROC-кривая (Рисунок 3.16).



Диагональные сегменты, сгенерированные связями.

Рисунок 3.16. - Прогностическая значимость уровня lyso-G13 для классического фенотипа БФ.

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

Среди женщин, как уже говорилось ранее, уровни lyso-G13 были значимо меньше, медиана значений составила 7,2 (4,7; 9,34). Высокие,

сравнимые с мужскими показатели определялись у 3-х женщин. Все пациентки демонстрировали классический вариант болезни Фабри с ранним началом в детском возрасте, полисистемностью поражения, высокими индексами тяжести болезни, по сравнению с медианой aaFOS-MSSI среди женщин, которая составляла 5,4 (0,2;11,7; Таблица 3.13).

Таблица 3.13. - Характеристика женщин с высоким уровнем lyso-GI3

N	Значение lyso-GI3	Возраст на момент обследования	Ранние признаки	Возраст начала болезни, лет	aaFOS-MSSI
1.	23,4	56	+	5	9.7
2.	26,8	50	+	7	14.0
3.	44,7	27	+	5	9.2

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

БФ – это прогрессирующее состояние с опасными для жизни почечными, сердечными и цереброваскулярными проявлениями, которые обычно развиваются в течение третьего или четвертого десятилетия жизни. Ранняя диагностика БФ имеет решающее значение для своевременного терапевтического вмешательства и замедления развития угрожающих жизни органических повреждений. Сложность диагностики БФ обусловлена прежде всего ее редкостью, а также разнообразием симптомов и синдромов, которые могут привести к неправильному диагнозу.

Ишемический и геморрагический инсульт при БФ встречается с той же частотой, что и в общей популяции, но обычно в более раннем возрасте. Wozniak MA и соавт. [111] собрали данные о госпитализированных мужчинах в возрасте от 15 до 49 лет с первым криптогенным инфарктом головного мозга (n=154). Только у 1 пациента (0,65%) с инсультом неясной этиологии была не диагностированная БФ.

Kotanko P. и соавт. [48] провели общенациональный скрининг на БФ 2480 австрийских пациентов, получающих лечение гемодиализом в 2002 и 2003г. и определили распространенность БФ в 0,161%.

Данные скрининги подтверждают редкость БФ, а затратность генетического и энзимологического исследования делает необходимым определение более экономически выгодных способов диагностики БФ, к которым относятся клинические маркеры болезни (нейропатическая боль, гипо- или ангидроз, ангиокератомы, вихревидная кератопатия), ранняя биопсия почки при протеинурии неясной этиологии или нарушении функции почек, биопсия кожи, а также определение биохимического маркера накопления (lyso-GI3).

Основной целью данной работы было разработать алгоритм диагностики БФ с помощью характеристики ранних клинических

специфических симптомов, оценить эффективность и диагностическое значение различных методов диагностики, в том числе семейного скрининга, а также определить диагностическую и прогностическую роль нового биохимического маркера глоботриаозилсфингозина (lyso-GI3).

Среди 102 пациентов с установленным диагнозом БФ, проходивших стационарное или амбулаторное обследование в клинике ревматологии, нефрологии и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева Первого Московского Государственного Медицинского университета имени И.М. Сеченова с 2014 по 2019 гг., было 65 мужчин (63,7%) и 37 женщин (36,3 %). Медиана возраста по выборке на момент обследования составила 39 (31;50) лет.

У 83 пациентов, что составило 81,4% обследованных пациентов, отмечался по крайней мере один ранний признак БФ. К ранним признакам мы относили наличие ангиокератом, нейропатической боли, гипогидроза/ангидроза, лихорадки не ясного генеза, поражения желудочно-кишечного тракта, лимфедему, артралгии, вихревидную кератопатию.

Самый большой обзор педиатрических пациентов с БФ младше 18 лет включал 352 пациента в возрасте от 0 до 17 лет со средним возрастом 12 лет [39]. Средний возраст появления симптомов составлял 6 лет у мальчиков и 9 лет у девочек. В нашем исследовании медиана возраста начала болезни у пациентов с классическим течением составляла 10 лет (7;15), у мальчиков 9 (7;15), у девочек -10 (7;19) ($p=0,40$), достоверных различий возраста начала болезни между полами получено не было.

Наиболее часто встречающимся симптомом как у мальчиков, так и девочек по данным исследования [39] была невропатическая боль, о которой сообщили 59% мальчиков (средний возраст 7 лет) и 41% девочек (средний возраст 9 лет). Однако возраст появления симптомов варьировал от человека к человеку, даже в пределах одной семьи. По данным регистра FOS о

невропатической боли, которая обычно начиналась в детстве, сообщали ~ 60 - 80% мальчиков и ~ 40-60% девочек. У девочек проявления болезни начинались часто на несколько лет позже, чем у мальчиков [79, 80].

В нашем исследовании также самым частым ранним симптомом было поражение периферической нервной системы (ПНС)- однако оно было зафиксировано чаще (у 85,5% пациентов с ранними симптомами). У 28,4% наших пациентов поражение ПНС было единственным проявлением БФ длительное время. Также у каждого десятого пациента развивались болевые приступы- кризы Фабри.

Термин "диффузная ангиокератома тела" используется как синоним болезни Фабри с момента ее первоначального описания. Не все пациенты имеют широко распространенные ангиокератомы. Наблюдаются также макулярные (плоские) ангиомы без какого - либо вышележащего гиперкератоза и папулезно-вишневые ангиомы. Помимо этих кожно-сосудистых поражений, кожные признаки включают характерные черты лица, лимфедему нижних конечностей, нарушения потоотделения. Кожные признаки являются очевидным внешним проявлением болезни и как таковые являются важными признаками для диагностики. Особый интерес представляет вопрос о том, может ли кожный фенотип быть важным не только при постановке диагноза БФ, но и при оценке или прогнозировании общей тяжести заболевания.

В нашем исследовании ангиокератомы в дебюте болезни встречались более чем в 40% случаев. Значимо чаще высыпания отмечались у мужчин, (58,8%), чем у женщин (16,2%; $p < 0.0001$), также у мужчин чаще отмечались распространенные высыпания ($p = 0,001$)

Нарушение потоотделения, в том числе гипогидроз, и крайняя его степень ангидроз, зафиксировано у 53,9% больных, достоверно чаще у мужчин, чем у женщин ($p = 0,002$).

Только у 5 наблюдаемых нами мужчин (5%) фиксировались отеки нижних конечностей (лимфедема).

К ранним диагностически важным симптомам болезни относится вихревидная кератопатия. Как упоминалось ранее, вихревидная кератопатия не ухудшает зрение. Тем не менее, это ценный признак, который может подтвердить неопределенный диагноз БФ. На сегодняшний день идентифицировано почти 900 мутаций гена GLA. Значительная часть из них не вызывает дефицита α -галактозидазы А и развития БФ, или их клиническое значение остается неизвестным. Следовательно, наличие мутации в гене GLA само по себе недостаточно для установления диагноза БФ, особенно у женщин, у которых активность α -галактозидазы А часто нормальна (до одной трети случаев) даже в присутствии классического фенотипа заболевания. У пациентов без классических проявлений болезни, а также у малосимптомных женщин для постановки диагноза БФ наличие вихревидной кератопатии может иметь решающее значение при отсутствии других возможных причин данных изменений (длительного приема амиодарона и производных хлорохина).

При поступлении в клинику опытным офтальмологом было осмотрено 82 из 102 пациентов с БФ (47 мужчин и 35 женщин). В нашем исследовании вихревидная кератопатия была выявлена у 52 пациентов (63,4%), с одинаковой частотой у мужчин и у женщин ($p=0,489$). Аналогичные данные были представлены в зарубежных исследованиях. Van der Tol. и соавторы изучали распространенность вихревидной кератопатии среди 753 пациентов с БФ [96]. Кератопатия была выявлена у 69% пациентов и с одинаковой частотой встречалась у мужчин и женщин. В самой большой когорте пациентов с БФ, которые были включены в глобальную базу данных FOS, вихревидная кератопатия также одинаково часто встречалась у мужчин (50,8%) и у женщин (51,1%) [77].

По нашим данным специфическое поражение роговицы было единственным признаком БФ у 4-х пациенток (4,9%). Остальные имели и другие ранние признаки болезни. Медиана возраста пациентов, а также частота классических симптомов БФ и частота органических поражений в группах с и без кератопатии была сопоставима.

Помимо описанных выше симптомов у пациентов с БФ встречаются артралгии и эпизоды необъяснимой лихорадки, сопровождающиеся упорным длительным повышением СОЭ и уровня С-реактивного белка, у некоторых пациентов данные изменения в анализах крови сохраняются постоянно. Обсуждается роль аутовоспаления в патогенезе заболевания. По мнению некоторых экспертов, БФ следует включать в алгоритм обследования пациентов с лихорадкой неясного генеза [79].

В нашем исследовании у 7 (6,8%) пациентов встречалась необъяснимая лихорадка, у 2 (2,0%) – упорные артралгии, причем, последние только у мужчин.

К ранним, но менее специфичным симптомам можно отнести и поражение ЖКТ (диарея, боли в животе различной локализации, тошнота, эпизоды рвоты), что отмечалось у 8 (7,8%) наших пациентов. Только у одной женщины поражение ЖКТ было единственным ранним симптомом болезни.

По данным литературы распространенность желудочно-кишечных симптомов достигает 70% у пациентов с болезнью Фабри. Симптомы включают в себя спазмы в животе, тошноту и рвоту, а также диарею и запор. В редких статьях также документируются случаи прогрессирующей потери веса, связанной, в частности, с сильной болью после приема пищи, что нарушает качество жизни [66]. В исследовании Hoffmann В. и др. [38] были изучены истории болезни 342 пациентов, взрослых и детей, включенных в регистр FOS. Общая распространенность желудочно-кишечных симптомов составила 52%, причем наиболее частыми были боли в животе и диарея. У

пациентов женского пола желудочно-кишечные симптомы наблюдали чаще, чем у мужчин, отмечена высокая распространенность этих нарушений среди детей (боль в животе 49,3%; диарея 25,4%).

Наши данные по частоте гастроинтестинальных проявлений болезни значительно ниже (около 8%). Это возможно обусловлено, тем, что в наше исследование были включены только взрослые пациенты, и давность симптомов повлекла приспособление к своему самочувствию и низкое восприятие плохого состояния здоровья. Также, отсутствие прямого опроса о признаках поражения ЖКТ и сходство симптомов при БФ и при синдроме раздраженного кишечника приводит к игнорированию врачами и пациентами поражения ЖКТ как симптома болезни.

У пациентов, включенных в наше исследование, диагноз БФ был установлен разными способами. Чаще всего- с помощью семейного скрининга- 45 %, у 23,5% в результате общенационального скрининга пациентов в отделениях гемодиализа, еще у 23,5% заподозрен на основании клинических данных, только у 6 пациентов (6%) с помощью биопсии почки и у 2 (2%)-с помощью биопсии кожи.

Медиана времени до постановки диагноза с момента появления ранних симптомов болезни в нашем исследовании составляла 21 год (11;30), у мужчин- 21 год (10,5;29), у женщин- 22,5 года (12,75;40,75) ($p=0,40$). Данные регистра FOS (Fabry Outcome Survey) показывают, что средняя диагностическая задержка составляет около 11 лет для обоих полов [110]. В европейском исследовании 2017г. [80] проведено сравнение двух групп больных, наблюдавшихся в период с 2001 по 2006г. и с 2007 по 2013г., всего 598 пациентов. Медиана задержки в диагностике составила 14 лет в первом периоде и 10,5 лет - во 2-м. Разница, по мнению авторов, является не существенной.

По данным нашего исследования диагноз устанавливался в среднем еще на 10 лет позже, что обосновывает формирование стратегии по повышению осведомленности педиатров, нефрологов, неврологов и кардиологов.

У мальчиков первые признаки поражения почек (микроальбуминурия, минимальная протеинурия) нередко появляются в подростковом возрасте [43, 102]. В возрасте старше 20 лет у большинства из них отмечается протеинурия, которая не сопровождается изменением мочевого осадка и постепенно нарастает, но обычно не достигает нефротического уровня.

Диагноз БФ может быть установлен при биопсии почки, которая имеет особенно важное значение, если отсутствуют типичные проявления заболевания и/или предполагаются другие причины поражения почек, в том числе хронический гломерулонефрит или интерстициальный нефрит, который может быть вызван длительным приемом анальгетиков для лечения нейропатической боли. При световой микроскопии в биоптате почки определяются включения в подоцитах и других клетках, расширение мезангия и очаги гломерулосклероза. Для подтверждения диагноза необходимо проведение электронной микроскопии, позволяющей выявить типичные внутриклеточные зевровидные включения.

Следует отметить неоправданно низкую частоту проведения биопсии почки для постановки диагноза у наших пациентов (6%), при том, что у четверти наших пациентов болезнь диагностирована при общенациональном скрининге в отделениях гемодиализа, а 70% из них имели в анамнезе ранние симптомы болезни.

Нами были определены возможные факторы наиболее ранней диагностики заболевания, в том числе до развития органических поражений.

Среди 24 (23,5%) из 102 пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных, преобладали мужчины (21/65 (32,3%) и 3/37 (8,1%), соответственно, $p=0,003$), определялся хотя бы один классический признак БФ, а поражение ПНС и ангиокератомы встречались достоверно чаще (95,8% против 71,8% ($p=0,012$) и 79,2% против 32,1%, ($p<0,0001$), соответственно). Все три признака (поражение ПНС, гипо- или ангидроз, ангиокератомы) также фиксировались чаще в группе пациентов, у которых диагноз был заподозрен на основании клинических данных (25%), чем у остальных (6,4%), различия были статистически значимы ($p=0,019$). Сочетание двух классических признаков БФ не давало преимуществ в постановке диагноза на основании клинических данных.

Из вышеописанных 24 пациентов 11-ти (среди которых 10 мужчин и 1 женщина) удалось поставить диагноз до развития органических повреждений. При анализе только наличие ангиокератом имело преимущество для постановки диагноза до развития органических повреждений (10/11 (90,9%) против 34/72 (47,2%) соответственно).

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

Нами также был проведен анализ клинических характеристик и способов постановки диагноза у пациентов с неклассическим (без ранних проявлений) течением БФ ($n=19$).

Медиана возраста начала болезни в данной группе составила 37 (24;54) лет, у мужчин -35,5 (19,75; 40,75) лет, у женщин- 48 (27; 58) лет, однако разница не достигла статистической достоверности ($p=0,129$). Данные показатели соответствуют данным литературы.

Пробандов с неклассическим течением БФ было 7, среди них 1 женщина. У 5 мужчин (26,3%) диагноз был поставлен при скрининге пациентов в отделениях гемодиализа и у 2 пациентов (1 мужчина и 1 женщина) (10,5%) диагноз поставлен с помощью биопсии почки.

Среди симптомов болезни чаще всего определялись поражение сердца – около 50%, реже- поражение почек – около 37%, около 16% пациентов имели признаки поражения нескольких органов. Среди наших пациентов с неклассическим течением БФ не отмечалось изолированного поражения ЦНС.

Следует отметить, что в данной группе ($n=19$) семеро пациентов наблюдались нефрологами, а две женщины длительно наблюдались кардиологами, но диагноз им был поставлен только с помощью семейного скрининга.

В европейском кардиологическом журнале [22] приведен алгоритм действий кардиолога при подозрении на наличие БФ у пациента (Рисунок 4.1).

Как уже говорилось ранее, низкая частота БФ делает общенациональный или младенческий скрининг высокочастотным [97, 60, 30, 75, 48, 111]. Тем не менее, протоколы скрининга субпопуляций высокого риска на предмет БФ не бесполезны, поскольку они открывают путь к семейному скринингу для выявления пострадавших родственников, включая детей, которые могут получить более раннее лечение и генетическое консультирование. Мы оценивали возможность и эффективность семейного скрининга и потенциальных препятствий, с которыми сталкиваются при тестировании семьи выявленного пробанда с БФ.

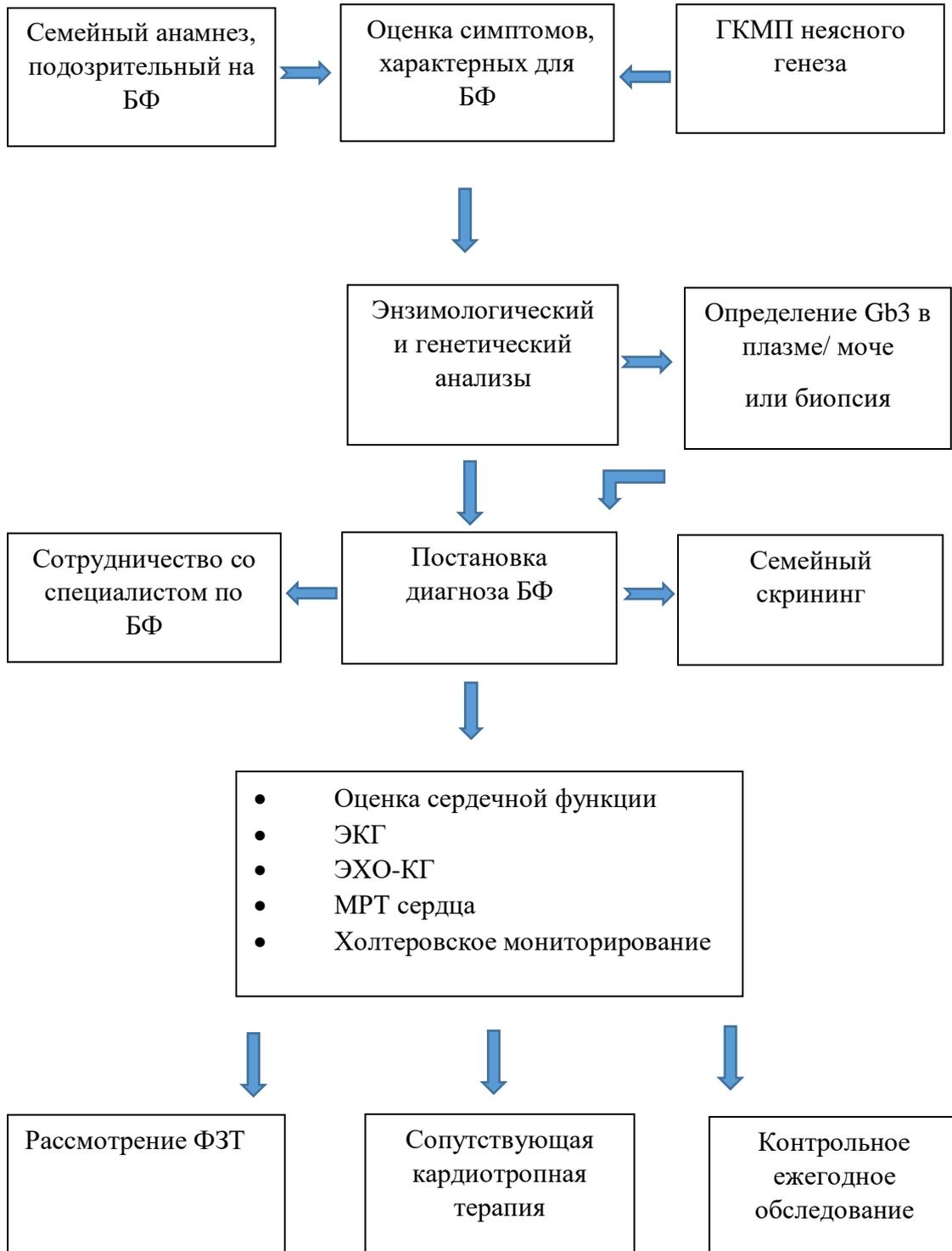


Рисунок 4.1. - Алгоритм действий кардиолога при подозрении на наличие БФ у пациента

Наше исследование показало, что анализ родословной позволяет диагностировать БФ почти у половины членов семьи, потенциально несущих

мутантный ген, или в среднем у двух родственников каждого пробанда. Среднее число пострадавших родственников в нашем исследовании было ниже, чем в проведенном ранее американском исследовании [17]. Laney et al. проанализировал родословные 74 пациентов (54 мужчин и 20 женщин) с БФ, которые были зарегистрированы в четырех медицинских центрах США, специализирующихся на пациентах с лизосомными болезнями. БФ была диагностирована в среднем у 5 родственников в каждой семье. В России количество родственников на одного пробанда, которые могли бы потенциально иметь мутантный ген было значительно ниже (в среднем 7 против 14).

В любом случае, эффективность семейного скрининга была значительно выше, чем любого другого протокола скрининга, например, у пациентов, получающих лечение гемодиализом [48], криптогенным инфарктом головного мозга [111] или необъяснимой гипертрофией левого желудочка, которые связаны с большими затратами и имеют низкую диагностическую ценность (менее 1%). Таким образом, тестирование семьи пациентов с БФ улучшает экономическую эффективность протокола скрининга.

Следует отметить, что почти 20% пациентов, у которых болезнь была диагностирована на основании семейного скрининга были детьми и подростками в возрасте до 18 лет, а около 40% пациентов были бессимптомными. Также, в нашем исследовании из 19 пациентов с неклассическим течением БФ (без ранних проявлений), у 10 человек повреждения органов-мишеней были выявлены при комплексном обследовании только после постановки диагноза методом семейного скрининга, а специфические жалобы, связанные с поражением сердца, почек или ЦНС, отсутствовали.

Основными препятствиями для семейного скрининга являются незаинтересованность врачей, финансовые затраты на тестирование, слабая специализированная медицинская помощь (необходимость преодолевать большие расстояния из-за нехватки специалистов или генетических лабораторий), отсутствие национальных программ поддержки пациентов, культурные и социальные проблемы (отказ и запрет на тестирование членов семьи; предрассудки, связанные с диагнозом генетического заболевания), плохое общение с членами семьи. Тем не менее, удалось проверить две трети родственников, у которых потенциально могла бы развиться БФ. Самым распространенным препятствием для семейного скрининга было плохое общение (83,6%), что часто было связано с географическими причинами. Только 13% родственников отказались от генетического тестирования по разным причинам. Проблема финансовых затрат и удаленности от генетических лабораторий были сведены к минимуму, использовался метод лабораторной диагностики в сухих пятнах крови, которые могут быть переправлены в генетическую лабораторию в почтовом конверте.

Таким образом, семейный скрининг может значительно увеличить число пациентов с диагностированной БФ, помогает поставить диагноз на наиболее ранней стадии, до развития органических повреждений, в том числе у детей, что улучшает прогноз больных, определяет своевременность ФЗТ. Поэтому следует поощрять тестирование всех членов группы риска, включая мужчин и женщин. В идеале, каждый пациент с диагностированной БФ должен быть направлен к генетику для подробного изучения родословной. Но родословную может составить и врач любой специальности, который готов посвятить время опросу пациента и членов его семьи.

В дальнейшей части диссертации мы постарались оценить факторы, влияющие на прогноз и ассоциированные с большей тяжестью болезни.

В исследовании пациентов, включенных в регистр FOS зафиксирована связь наличия кожного поражения с большей тяжестью органных проявлений заболевания [72]. В данном исследовании в кожные проявления болезни были включены ангиокератомы, гипо- или ангидроз, как поражение придатков кожи, а также лимфедема как проявления поражения мелких лимфатических сосудов подкожно-жировой клетчатки. По данным регистра FOS глазные признаки БФ также коррелировали с тяжестью заболевания [88].

В нашем исследовании мы постарались оценить роль каждого из ранних проявлений болезни как фактора более тяжелого прогноза. Оценить вклад лимфедемы в тяжесть болезни в рамках нашего исследования сложно в связи с малым количеством случаев.

Медиана MSSI у пациентов с поражением ПНС (21,0 (20,5; 43,5) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без поражения ПНС (18,5 (6,7; 37,5) баллов, $p < 0,0001$). У пациентов с поражением ПНС медиана aaFOS-MSSI также была выше (12,2 (5,3; 21,9) баллов), чем у пациентов без них (-0,9 (-5,7; 11,6) баллов; $p < 0,0001$). Кроме того, в группе пациентов с поражением ПНС достоверно реже наблюдалось легкое течение БФ, чем в группе пациентов без поражения ПНС.

Медиана MSSI у пациентов с нарушением потоотделения (31,5 (18,0; 42,0) баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без нарушения потоотделения (16,5 (9,0; 26,3) баллов, $p < 0,0001$). У пациентов с нарушением потоотделения медиана aaFOS-MSSI также была выше (11,9 (3,2; 20,6) баллов против (3,7 (-4,3; 9,2) баллов; $p < 0,0001$). Однако при отдельном анализе медиана MSSI различалась только у мужчин (34 (20; 42) балла, против 21 (14; 30) балла ($p = 0,003$). Среди женщин различий выявлено не было ($p = 0,142$).

Медиана MSSI у пациентов с ангиокератомами (27,5 (17,8; 38,2)

баллов) была достоверно выше, чем у пациентов без них (19,5 (10,0; 34,0) баллов, $p=0,033$). Но разница медиан aaFOS-MSSI в данных группах пациентов не достигла статистической значимости ($p=0,081$), и при отдельном анализе по полу медиана MSSI не различалась в группе мужчин ($p=0,934$) и женщин ($p=0,379$) с ангиокератомами и без них.

Среднее значение MSSI у пациентов с вихревидной кератопатией в нашем исследовании было сопоставимо с данными регистра FOS. Медианы MSSI были сопоставимы у пациентов с и без кератопатии (20,0 и 18,5 соответственно, $p = 0,92$), как у мужчин (26,5 и 30,0; $p = 0,97$), так и у женщин (16,0 и 16,0; $p = 0,45$). Процент пациентов с общим MSSI ≥ 20 в обеих группах также был одинаковым (51,1% и 45,8% соответственно). У пациентов с вихревидной кератопатией медиана aaFOS-MSSI была в три раза выше, чем у пациентов без вихревой кератопатии (8,9 и 2,6 соответственно). Однако разница была статистически незначимой ($p = 0,41$).

Таким образом, в нашем исследовании мы выявили, что поражение ПНС и нарушение потоотделения у мужчин может быть прогностическим маркером тяжести БФ. Мы не подтвердили, что ангиокератомы и вихревидная кератопатия имеют значение в оценке прогноза болезни. Относительно небольшая выборка по сравнению с данными регистра FOS является основным ограничением нашего исследования. Однако БФ- это очень редкое заболевание, а в наше исследование было включено около половины российских пациентов с диагностированной БФ.

Диагностика у мужчин базируется на определении активности α -галактозидазы А в лейкоцитах периферической крови или плазме [13, 63, 20, 28, 3]. При классическом варианте БФ, который развивается у мужчин, гемизигот, активность фермента составляет менее 3-5% или не определяется [20]. В дальнейшем необходим генетический анализ с подтверждением мутации в гене GLA.

В нашем исследовании в 100% случаев у мужчин определялось снижение активности фермента. Активность фермента отсутствовала, т.е. была ниже 5% от нормы, у 11 пациентов (19,6%).

Гетерозиготность женщин и случайная X-инактивация может приводить к повышению активности α -галактозидазы А в плазме крови или лейкоцитах до нормы у 60% пациенток [35].

В нашем исследовании у женщин активность α -галактозидазы А была определена у 28 пациенток. У 17 из них были зафиксированы нормальные уровни активности фермента, что составляет 60,7% и соответствует данным литературы [35]. Отсутствие активности фермента не было зафиксировано ни у одной женщины. Таким образом, мы подтвердили низкую эффективность скрининга на основании определения активности α -галактозидазы А среди женщин.

Секвестирование гена GLA необходимо для постановки диагноза у большинства женщин. Однако существует множество генетических вариантов неопределенной значимости (ГВНЗ) в гене GLA [20]. Поэтому, как уже было сказано ранее, наличие мутации в гене GLA само по себе недостаточно для установления диагноза БФ. Таким образом, важно иметь другие надежные биомаркеры для скрининга БФ.

Многие исследования подтвердили, что деацилированная форма Gb3, лизо-глоботриаозилсфингозин (lyso-GI3) –это сильный биомаркер классического варианта БФ у пациентов с поставленным диагнозом [1, 101, 82]. Оценивалось также и значение lyso- GI3 как биомаркера болезни Фабри для скрининга пациентов мужского и женского пола, у которых болезнь подозревалась на основании клинических симптомов [57]. Согласно результатам данного исследования, определение lyso-GI3 в плазме позволяет диагностировать пробандов как с классическим течением БФ, так и с поздним дебютом, также БФ может быть исключена у пациентов мужского

пола с нормальным уровнем lyso-G13 в плазме крови, даже при определении низкой активности α -галактозидазы А, а уровни lyso-G13 у бессимптомных женщин с мутациями, определяющими высокую вероятность возникновения заболевания, не превышает нормальных значений (2,0 нг/мл).

Обнаружение повышения субстратов накопления lyso-G13 в крови позволяет диагностировать БФ, даже при выявлении изменений в гене GLA неуточненного значения [87]. Определение же нормального уровня lyso-G13 может предотвратить ошибочное приписывание патогенности мутации и неверный диагноз, что привело бы к ненадлежащему использованию дорогостоящей терапии [24].

Среди наших пациентов содержание lyso-G13 в сухих пятнах крови было определено у 69 пациентов, среди них было 37 мужчин и 32 женщин. Среди мужчин медиана показателя lyso-G13 составляла 84,4 нг/мл (27,45; 116,25), у женщин она была значимо меньшей (7,2 (4,7; 9,34) нг/мл, $p < 0,0001$), что соответствует данным других исследований [1, 101, 82, 57].

Уровень lyso-G13 может служить прогностическим критерием тяжести болезни по данным литературы [57].

В нашем исследовании уровень lyso-G13 прямо коррелировал с индексом тяжести (MSSI) и индексом aaFOS-MSSI, который учитывает возраст и пол пациента, однако среди мужчин данная корреляция не достигла статистической значимости.

Мужчины с классическим вариантом БФ по данным литературы имеют более высокие уровни lyso-G13, чем мужчины с поздним дебютом [57]. Значение lyso-G13 выше 45 нг/мл предсказывает диагноз классической формы БФ у мужчин [105]. В другом исследовании сообщалось о минимальном значении около 50 нг/мл для классической формы болезни [101]. Более низкие уровни lyso-G13 были обнаружены у пациентов с

поздним дебютом болезни, за исключением одного, у которого уровень lyso-G13 был 74 нг/мл.

В нашем исследовании у 12 мужчин из 38 значение lyso-G13 было ниже 45 нг/мл. Среди них у троих пациентов в возрасте 30, 31 и 35 лет отмечалось классическое течение болезни с наличием 3-х ранних признаков болезни и развитием органических повреждений после 20 лет. При этом уровни lyso-G13 были 28,6; 29,2 и 35,4 нг/мл соответственно. Для оценки прогностической значимости lyso-G13 при классическом фенотипе БФ была построена ROC-кривая. В качестве порогового значения была выбрана концентрация lyso-G13 26,3 нг/мл, которому соответствует чувствительность 92,6%, специфичность 63,6%. Данное значение близко к 28,6 нг/мл - наименьшей концентрации lyso-G13, которое отмечалось у наших пациентов с классическим течением болезни.

Таким образом, по данным нашего исследования нижняя граница уровня lyso-G13 при классической форме БФ ниже, чем по данным литературы, хотя объем выборки является безусловно малым.

Нужны дополнительные данные для установления нижней границы значения lyso-G13 при классической форме БФ и верхней границы у мужчин с поздним дебютом для использования в клинической практике.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время в России выявлено около 230 пациентов с БФ, а предполагаемая распространенность этого заболевания среди населения в целом должна составлять примерно 1 на 50-100 000 человек, то есть минимум в десять раз выше.

У половины пробандов в нашем исследовании диагноз БФ был поставлен во время общенационального скрининга в отделениях гемодиализа, из них более 70 % имели в анамнезе ранние симптомы болезни, знание которых имеет определяющее значение для ранней диагностики БФ.

Стратегии по повышению осведомленности педиатров, нефрологов, неврологов и кардиологов о БФ чрезвычайно важны.

ВЫВОДЫ

1. При классическом течении БФ наиболее частым (85,5%) ранним симптомом является поражение периферической нервной системы; нарушенное потоотделение и поражение кожи в дебюте болезни отмечается в 45% и 28,9% случаях и значимо чаще встречается у мужчин ($p < 0,05$).
2. Дебют классических проявлений БФ относится к возрасту 10 (7; 15) лет; при этом задержка в установлении диагноза с момента ранних проявлений болезни составляет 21 (11; 30) год, а с момента появления органических повреждений - 6 (2,5; 12,5) лет, что обуславливает необходимость новых подходов к диагностике и актуальность данной работы.
3. Семейный скрининг – наиболее частый метод диагностики БФ в российской популяции, по результатам которого выявляемость пациентов на ранних стадиях БФ составляет 45%, в том числе пациентов в возрасте до 18 лет (19,5%) и бессимптомных пациентов (40%). Наиболее распространенным препятствием, затрудняющим проведение семейного скрининга, является географическое разобщение семей, в 83,6% случаев, и только в 13% случаев - отказ от генетического тестирования по разным причинам.
4. К факторам ранней диагностики БФ на основании клинических данных относятся мужской пол и наличие одного из классических признаков, среди которых наиболее значимы поражение периферической нервной системы и ангиокератомы; при диагностике до развития органических повреждений - только ангиокератомы. Также диагностическую ценность имеет наличие триады признаков (поражение ПНС, гипо/ангидроз и ангиокератомы).

5. Поражение ПНС ассоциируется с более тяжелым течением БФ: значение индексов MSSI и aaFOS-MSSI у пациентов с поражением ПНС выше, чем у пациентов без поражения ПНС (31 балла против 18,5 баллов и 12,5 балла против -0,9 баллов, $p < 0,0001$); гипогидроз также ассоциируется с большей тяжестью БФ, но только среди мужчин: индекс MSSI у мужчин с гипогидрозом выше, чем у мужчин с сохраненным потоотделением (34 балла против 21 балла, $p = 0,003$); связь других ранних симптомов с тяжестью течения БФ не выявляется).
6. У мужчин медиана уровня lyso-G13 достоверно выше, чем у женщин (84,4 против 7,2 нг/мл, $p < 0,0001$), но у женщин уровень lyso-G13 имеет прогностическое значение, прямо коррелируя с величинами индексов тяжести (MSSI ($r_s = 0,554$; $p = 0,001$) и aaFOS-MSSI ($r_s = 0,406$; $p = 0,019$)). У мужчин повышение концентрации lyso-G13 выше 26,3 нг/мл определяет высокую вероятность формирования классического фенотипа БФ (чувствительность 92,6%, специфичность - 63,6%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

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

2. Пациентам с подозрением на БФ необходимо проводить прежде всего биохимическое исследование: определение уровня lyso-G13 в плазме крови, а при получении превышающих норму результатов, энзимологическое и молекулярно-генетическое исследования. При подтверждении диагноза показано комплексное обследование для выявления поражения органов-мишеней (Приложение А).

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

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГАЛ – альфа-галактозидаза А

АГ- артериальная гипертензия

АД- артериальное давление

БФ- болезнь Фабри.

ДИ- доверительный интервал

ГВНЗ- генетические варианты неопределенной значимости

ГЛЖ- гипертрофия левого желудочка

ЖКТ- желудочно-кишечный тракт

МРТ – магнитно-резонансная томография

НПВП – нестероидные противовоспалительные препараты

ОНМК- острое нарушение мозгового кровообращения

ПНС- периферическая нервная система

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

СОЭ – скорость оседания эритроцитов

СРБ – С-реактивный белок

ТИА- транзиторная ишемическая атака

тХПН – терминальная стадия хронической почечной недостаточности

ФЗТ – ферментозаместительная терапия

ХБП – хроническая болезнь почек

ХПН – хроническая почечная недостаточность

ЦНС- центральная нервная система

ЭХО-КГ- эхокардиография

aaFOS-MSSI- предполагаемый индекс тяжести болезни с учетом пола и возраста

GLA – ген галактозидазы А

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

Lyso-GI3- лизо-глоботриаозилсфингозин

MSSI- Mainz Severiti Score Index, индекс тяжести болезни Фабри

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aerts J.M., Groener J.E., Kuiper S. et al. Elevated globotriaosylsphingosine is a hallmark of Fabry disease // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008. № 26. С. 2812–2817.
2. Altarescu G., Moore D.F., Pursley R. et al.: Enhanced endothelium-dependent vasodilation in Fabry disease // *Stroke*. 2001. №32. С. 1559-1562.
3. Andrade J., Waters P.J., Singh R.S. et al. Screening for Fabry disease in patients with chronic kidney disease: limitations of plasma alpha-galactosidase assay as a screening test // *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008. №3 С.139–145.
4. Baron R. Mechanisms of disease: neuropathic pain--a clinical perspective // *Nat Clin Pract Neurol*. 2006. № 2. С. 95-106.
5. Bernstein H.S., Bishop D.F., Astrin K.H. et al. Fabry disease: six gene rearrangements and an exonic point mutation in the alphasgalactosidase gene // *J Clin Invest*. 1989. №83. С. 1390-1399.
6. Biegstraaten M., Hollak C.E.M., Bakkens M. et al. Small fiber neuropathy in Fabry disease // *Mol Genet Metab*. 2012. №106 (2). С. 135–141.
7. Birklein F. Mechanisms of neuropathic pain and their importance in Fabry disease // *Acta Paediatr Suppl*. 2002. № 91. С. 34-37.
8. Bouwien E. Smid et al. Plasma globotriaosylsphingosine in relation to phenotypes of Fabry disease // *J Med Genet*. 2015. № 52(4). С. 262-268.
9. Brady R.O., Gal A.E., Bradley R.M., Martensson E., Warshaw A.L. & Laster L. Enzymatic defect in Fabry's disease ceramidetrihexosidase deficiency // *N Engl J Med*.1967. №276. С. 1163–1167.
10. Burlina A.P., Sims K.B., Politei J.M. et al. Early diagnosis of peripheral nervous system involvement in Fabry disease and treatment of neuropathic pain: the report of an expert panel // *BMC Neurol*. 2011. 11:61.
11. Cable W.J., Dvorak A.M., Osage J.E., Kolodny E.H. Fabry disease: significance of ultrastructural localization of lipid inclusions in dermal nerves //

Neurology. 1982. № 32 C. 347-353.

12. Cable W.J., Kolodny E.H., Adams R.D. Fabry disease: impaired autonomic function // Neurology. 1982. № 32. C. 498-502.

13. Chien Y.H., Lee N.C., Chiang S.C. et al. Fabry disease: incidence of the common later-onset alpha-galactosidase A IVS4p919G→A mutation in Taiwanese newborns—superiority of DNA-based to enzyme-based newborn screening for common mutations // Mol Med. 2012. №18 C. 780–784.

14. Cole A.L., Lee P.J., Hughes D.A., Deegan P.B., et al. Depression in adults with Fabry disease: a common and under-diagnosed problem // J Inherit Metab Dis. 2007. № 30. C. 943-951.

15. Crosbie T.W., Packman W., Packman S. Psychological aspects of patients with Fabry disease // J Inherit Metab Dis. 2009. №32. C. 745-753.

16. David F. Moore et al. Increased Signal Intensity in the Pulvinar on T1-Weighted Images: A Pathognomonic MR Imaging Sign of Fabry Disease // AJNR Am J Neuroradiol. 2003. № 24. C. 1096-1101.

17. Dawn A. Laney, Paul M. Fernhoff et al., Diagnosis of Fabry Disease via Analysis of Family History // Journal of Genetic Counseling. 2008. №17 (1). C.79-83.

18. DeGraba T., Azhar S., Dignat-George F., Brown E. et al. Profile of endothelial and leukocyte activation in Fabry patients // Ann Neurol. 2000 № 47. C. 229-233.

19. Desnick R.J., Brady R.O. Fabry disease in childhood // J Pediatr. 2004. №144. C. 20-26.

20. Desnick R.J., Ioannou Y.A., Eng C.M. Alpha-galactosidase A deficiency: Fabry disease. In: Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, et al. (eds). The Online Metabolic and Molecular Bases of inherited disease // McGraw-Hill: New York; 2014.

21. Dobyns W.B., Filauro A., Tomson B.N. et al. Inheritance of most X-linked

- traits is not dominant or recessive, just X-linked // *Am J Med Genet A*. 2004. №129. C. 136-143.
22. Dr. Jessica Sánchez-Quiñones, Prof. Vicente Climent-Payá, Prof. Francisco Marin. Second in a series on Fabry disease: clues for early diagnosis of Fabry disease in the clinic // *e-Journal of Cardiology Practice*. 2016. Tom 14, № 8-19.
23. Dubuc V., Moore D.F., Gioia L.C. et al. Prevalence of Fabry disease in young patients with cryptogenic ischemic stroke // *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2013. №22. C. 1288–1292.
24. Duro G., Zizzo C., Cammarata G., Burlina A. Mutations in the GLA Gene and LysoGb3: Is It Really Anderson-Fabry Disease? // *Int J Mol Sci*. 2018. №19(12). C. 3726.
25. Dworkin R.H., O'Connor A.B., Backonja M., Farrar J.T. et al. Pharmacologic management of neuropathic pain: evidence-based recommendations // *Pain*. 2007. №132. C. 237-251.
26. Elliott P., Baker R., Pasquale F. et al. Prevalence of Anderson-Fabry disease in patients with hypertrophic cardiomyopathy: the European Anderson-Fabry Disease survey // *Heart*. 2011. №97. C.1957–1960.
27. Eng C.M., Germain D.P., Banikazemi M. et al. Fabry disease: guidelines for the evaluation and management of multi-organ system involvement // *Genet Med*. 2006. №8. C.539-548.
28. Ferreira S., Ortiz A., Germain D.P. et al. The alpha-galactosidase A p.Arg118Cys variant does not cause a Fabry disease phenotype: data from individual patients and family studies // *Mol Genet Metab*. 2015. №114. C. 248–258.
29. Fukuhara N., Suzuki M., Fujita N., Tsubaki T. Fabry's disease on the mechanism of the peripheral nerve involvement // *Acta Neuropathol*. 1975. №33. C.9-21.
30. Fuller M., Meikle P.J., Hopwood J.J. Epidemiology of lysosomal storage diseases: an overview. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford,

UK // Oxford Pharma Genesis Ltd. 2006. Глава 2.

31. Gal A., Hughes D.A. & Winchester B. Toward a consensus in the laboratory diagnostics of Fabry disease—recommendations of a European expert group // *J Inher Metab Dis.* 2011. №34 C. 509–514.
32. Germain D.P. Fabry's disease (alpha-galactosidase-A deficiency): physiopathology, clinical signs, and genetic aspects // *J Soc Biol.* 2002. №196. C.161-173.
33. Gold K.F., Pastores G.M., Botteman M.F., Yeh J.M. et al. Quality of life of patients with Fabry disease // *Qual Life Res.* 2002. №11. C.317-327.
34. Grewal R.P. Psychiatric disorders in patients with Fabry's disease // *Int J Psychiatry Med.* 1993. № 23. C. 307-312.
35. Gupta S., Ries M., Kotsopoulos S. et al. The relationship of vascular glycolipid storage to clinical manifestations of Fabry disease: a cross-sectional study of a large cohort of clinically affected heterozygous women // *Medicine (Baltimore).* 2005. №84. C. 261–268.
36. Gupta S.N., Ries M., Murray G.J. et al. Skin-impedance in Fabry Disease: a prospective, controlled, non-randomized clinical study // *BMC Neurol.* 2008. №8:41.
37. Hilz M.J., Stemper B., Kolodny E.H. Lower limb cold exposure induces pain and prolonged small fiber dysfunction in Fabry patients // *Pain.* 2000. №84. C. 361-365.
38. Hoffmann B., Schwarz M., Mehta A., Keshav S. Gastrointestinal symptoms in 342 patients with Fabry disease: prevalence and response to enzyme replacement therapy // *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2007. № 5. C. 1447-1453.
39. Hopkin R.J., Bissler J., Banikazemi M. et al. Characterization of Fabry disease in 352 pediatric patients in the Fabry Registry // *Pediatr Res.* 2008. №64. C. 550–555.
40. Hughes D.A., Evans S., Milligan A. et al. A multidisciplinary approach to

the care of patients with Fabry disease. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G (eds). *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS* // Oxford, UK: Oxford Pharma Genesis Ltd. 2006.

41. Ishii S., Chang H.H., Kawasaki K., et al. Mutant alphasgalactosidase A enzymes identified in Fabry disease patients with residual enzyme activity: biochemical characterization and restoration of normal intracellular processing by 1-deoxygalactonojirimycin // *Biochem J.* 2007. № 406. C. 285-295.

42. Ishii S., Kase R., Sakuraba H., Suzuki Y.. Characterization of a mutant alpha-galactosidase gene product for the late-onset cardiac form of Fabry disease // *Biochem Biophys Res Commun.* 1993. №197. C. 1585-1589.

43. Kampmann C., Wiethoff C., Whybra C. et al. Cardiac manifestations of AndersonFabry disease in children and adolescent // *Acta Paediatr.* 2008 №97. C.463-469.

44. Kang W.H., Chun S.I., Lee S. Generalized anhidrosis associated with Fabry's disease // *J Am Acad Dermatol.* 1987. №17. C. 883-887.

45. KDIGO 2012: clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease // *Kidney Int Suppl.* 2013. №3. C. 1–150.

46. Kocen R.S., Thomas P.K. Peripheral nerve involvement in Fabry's disease // *Arch Neurol.* 1970. № 22 C. 81-88.

47. Kornreich R., Bishop D.F., Desnick R.J. α -Galactosidase A gene rearrangement causing Fabry disease Identification of short direct repeats at breakpoints in an Alu-rich gene // *J Biol Chem.* 1990. № 265. C. 9319-9326.

48. Kotanko P., Kramar R., Devrnja D. et al. Results of a nationwide screening for Anderson-Fabry disease among dialysis patients // *J Am Soc Nephrol.* 2004. №15. C.1323–1329.

49. Lacomis D., Roeske-Anderson L., Mathie L. Neuropathy and Fabry's disease // *Muscle Nerve.* 2005, №31 C. 102-107.

50. Laney D.A., Gruskin D.J., Fernhoff P.M., Cubells J.F. Ousley OY, Hipp H,

- Mehta AJ. Social-adaptive and psychological functioning of patients affected by Fabry disease // *J Inher Metab Dis*. 2010. №33, дополнение 3, С. 73-81.
51. Laney D.A., Peck D.S., Atherton A.M. et al. Fabry disease in infancy and early childhood: a systematic literature review // *Genet Med*. 2015. №17 С. 323–330.
52. Lidove O., Ramaswami U., Jaussaud R. et al. Hyperhidrosis: a new and often early symptom in Fabry disease. International experience and data from the Fabry Outcome Survey // *Int J Clin Pract*. 2006. №60. С. 1053-1059.
53. Low M., Nicholls K., Tubridy N., Hand P., Velakoulis D., Kiers L., Mitchell P., Becker G. Neurology of Fabry disease // *Intern Med J*. 2007. №37. С. 436-447.
54. Luciano C.A., Russell J.W., Banerjee T.K., Quirk J.M., Scott L.J., Dambrosia J.M., Barton N.W., Schiffmann R. Physiological characterization of neuropathy in Fabry's disease // *Muscle Nerve*. 2002. № 26 С. 622-629.
55. Lyon M.F. et al. Gene action in the X-chromosome of the mouse (*mus musculus* L.) // *Nature*. 1961. №190. С. 372-373.
56. Marchesoni C.L., Roa N., Pardal A.M., Neumann P. et al. Misdiagnosis in Fabry disease // *J Pediatr*. 2010. № 156. С. 828-831.
57. Maruyama H., Miyata K., Mikame M., et al. Effectiveness of plasma lyso-Gb3 as a biomarker for selecting high-risk patients with Fabry disease from multispecialty clinics for genetic analysis // *Genet Med*. 2019. № 21(1). С. 44-52.
58. Maruyama H., Takata T., Tsubata Y. et al. Screening of male dialysis patients for Fabry disease by plasma globotriaosylsphingosine // *Clin J Am Soc Nephrol*. 2013. №8. С. 629–636.
59. Mehta A., Ricci R., Widmer U. et al. Fabry disease defined: baseline clinical manifestations of 366 patients in the Fabry Outcome Survey // *Eur J Clin Invest*. 2004. №34 С.236–242.
60. Meikle P.J., Hopwood J.J., Clague A.E. et al. Prevalence of lysosomal storage disorders // *JAMA*. 1999. №281. С. 249–254.

61. Mohrenschlager M., Braun-Falco M., Ring J., Abeck D. Fabry disease: recognition and management of cutaneous manifestations // *Am J Clin Dermatol.* 2003. № 4. C.189-196.
62. Moller A.T., Jensen T.S. Neurological manifestations in Fabry's disease // *Nat Clin Pract Neurol.* 2007. № 3 C. 95-106.
63. Monserrat L., Gimeno-Blanes J.R., Marin F. et al. Prevalence of fabrydisease in a cohort of 508 unrelated patients with hypertrophic cardiomyopathy // *J Am Coll Cardiol.* 2007. №50. C.2399–2403.
64. Nakao S., Kodama C., Takenaka T., Tanaka A., Yasumoto Y., Yoshida A., Kanzaki T., Enriquez A.L., Eng C.M., Tanaka H., Tei C., Desnick R.J. et al. Fabry disease: detection of undiagnosed hemodialysis patients and identification of a «renal variant» phenotype // *Kidney Int.* 2003. № 64. C. 801-807.
65. Naleschinski D., Arning K., Baron R. Fabry disease – Pain doctors have to find the missing ones // *Pain.* 2009. №145. C.10-11.
66. Nelis, G.F. and Jacobs, G.J. Anorexia, weight loss, and diarrhea as presenting symptoms of angiokeratoma corporis diffusum (Fabry-Anderson's disease) // *Dig Dis Sci.* 1989. №34. C.1798–1800.
67. Nguyen T.T., Gin T., Nicholls K. et al. Ophthalmological manifestations of Fabry disease: a survey of patients at the Royal Melbourne Fabry Disease Treatment Centre // *Clin Experiment Ophthalmol.* 2005. №33. C.164-168.
68. Nielsen C.E., Andreasen F., Bjerregaard P. Amiodarone induced cornea verticillata // *Acta Ophthalmol (Copenh).* 1983. №61 (3). C.474-80.
69. Nishino T., Obata Y., Furusu A. et al. Identification of a novel mutation and prevalence study for fabry disease in Japanese dialysis patients // *Ren Fail.* 2012. №34. C.566–570.
70. Okur I., Ezgu F., Biberoglu G. et al. Screening for Fabry disease in patients undergoing dialysis for chronic renal failure in Turkey: identification of new case with novel mutation // *Gene.* 2013. №527 C. 42–47.

71. Orssaud C., Dufier J., Germain D.P.. Ocular manifestations in Fabry disease: a survey of 32 hemizygous male patients // *Ophthalmic Genet.* 2003. № 24 C. 129-139.
72. Orteu C.H., Jansen T., Lidove O. et al. Fabry disease and the skin: data from FOS, the Fabry Outcome Survey // *Br J Dermatol.* 2007. №157. C. 331-337.
73. Palecek T., Honzikova J., Poupetova H. et al. Prevalence of Fabry disease in male patients with unexplained left ventricular hypertrophy in primary cardiology practice: prospective Fabry cardiomyopathy screening study (FACSS) // *J Inherit Metab Dis.* 2014. № 37. C. 455–460.
74. Pellissier J.F., Van Hoof F., Bourdet-Bonerandi D., Monier-Faugere M.C., Toga M. Morphological and biochemical changes in muscle and peripheral nerve in Fabry's disease // *Muscle Nerve.* 1981. №4. C. 381-387.
75. Pinto R., Caseiro C., Lemos M. et al. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal // *Eur J Hum Genet.* 2004. №12. C.87–92.
76. Pisani A., Daniele A., Di Domenico C. et al. Late diagnosis of Fabry disease caused by a de novo mutation in a patient with end stage renal disease // *BMC Res Notes.* 2015. №. C.711.
77. Pitz S., Kalkum G., Arash L., Karabul N., Sodi A., Larroque S. et al. Ocular Signs Correlate Well with Disease Severity and Genotype in Fabry Disease // *PLoS ONE.* 2015. № 10(3).
78. Poorthuis B.J., Wevers R.A., Kleijer W.J. et al. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands // *Hum Genet.* 1999. № 105. C. 151-156.
79. Ramaswami U., Whybra C., Parini R., Pintos-Morell G., Mehta A., Sunder-Plassmann G., Widmer U., Beck M. Clinical manifestations of Fabry disease in children: data from the Fabry Outcome Survey // *Acta Paediatr.* 2006. № 95. C. 86-92.
80. Ricardo Reisin, Amandine Perrin, Pablo García-Pavía, Time delays in the diagnosis and treatment of Fabry disease // *Int J Clin Pract.* 2017. № 71(1).

81. Rolfs A., Fazekas F., Grittner U. et al. Acute cerebrovascular disease in the young: the Stroke in Young Fabry Patients study // *Stroke*. 2013. № 44. C. 340–349.
82. Rombach S.M., Dekker N., Bouwman M.G. et al. Plasma globotriaosylsphingosine: diagnostic value and relation to clinical manifestations of Fabry disease // *Biochim Biophys Acta*. 2010. №1802 C.741–748.
83. Sadek J., Shellhaas R., Camfield C.S., Camfield P.R., Burley J. Psychiatric findings in four female carriers of Fabry disease // *Psychiatr Genet*. 2004. № 14. C.199-201.
84. Schiffmann R. Fabry disease // *Pharmacol Ther*. 2009. №122. C. 65–77.
85. Schiffmann R. Neuropathy and Fabry disease: pathogenesis and enzyme replacement therapy // *Acta Neurol. Belg*. 2006. № 106 (2). C. 61–65.
86. Schiffmann R., Forni S., Swift C. et al. Risk of death in heart disease is associated with elevated urinary globotriaosylceramide // *J Am Heart Assoc*. 2014. №3 (1).
87. Schiffmann R., Fuller M., Clarke L.A., Aerts JM. Is it Fabry disease? // *Genet Med*. 2016. №1. C. 1181–1185.
88. Schiffmann R., Hughes D.A., Linthorst G.E., et al. Screening, diagnosis, and management of patients with Fabry disease: conclusions from a “Kidney Disease: Improving Global Outcomes” (KDIGO) // *Controversies Conference. Kidney Int*. 2017. №91 (2). C.284-293.
89. Schiffmann R., Scott L.J. Pathophysiology and assessment of neuropathic pain in Fabry disease // *Acta Paediatr Suppl*. 2002. № 91. C. 48-52.
90. Schiffmann R., Warnock D.G., Banikazemi M., Bultas J. et al. Fabry disease: progression of nephropathy, and prevalence of cardiac and cerebrovascular events before enzyme replacement therapy // *Nephrol Dial Transplant*. 2009. №24 C. 2102-2111.
91. Shelley E.D., Shelley W.B., Kurczynski T.W. Painful fingers, heat

intolerance, and telangiectases of the ear: easily ignored childhood signs of Fabry disease // *Pediatr Dermatol.* 1995. №12. C. 215-219.

92. Sheth K.J., Werlin S.L., Freeman M.E., Hodach A.E. Gastrointestinal structure and function in Fabry's disease // *Am J Gastroenterol.* 1981. № 76. C. 246-251.

93. Sigmundsdottir L., Tchan M., Knopman A., et al. Cognitive and psychological functioning in Fabry disease // *Arch Clin Neuropsychol.* 2014. № 29 (7). C. 642-650.

94. Silva C., Barreto F., Reis M., Moura Junior J. et al. Targeted Screening of Fabry Disease in Male Hemodialysis Patients in Brazil Highlights Importance of Family Screening // *Nephron - Physiology.* 2016. №134(4). C. 2-10.

95. Sima A.A., Robertson D.M. Involvement of peripheral nerve and muscle in Fabry's disease. Histologic, ultrastructural, and morphometric studies // *Arch Neurol.* 1978. № 35. C. 291-301.

96. Sodi A., Ioannidis A.S., Mehta A., Davey C., Beck M., Pitz S. Ocular manifestations of Fabry's disease: data from the Fabry Outcome Survey // *The British Journal of Ophthalmology.* 2007. №91(2). C. 210-214.

97. Spada M., Pagliardini S., Yasuda M., et al. High incidence of later-onset fabry disease revealed by newborn screening // *Am J Hum Genet.* 2006. №79. C. 31-40.

98. Street N.J., Yi M.S., Bailey L.A., Hopkin R.J. Comparison of health-related quality of life between heterozygous women with Fabry disease, a healthy control population, and patients with other chronic disease // *Genet Med.* 2006. № 8. C. 346-353.

99. Terryn W., Deschoenmakere G., De Keyser J. et al. Prevalence of Fabry disease in a predominantly hypertensive population with left ventricular hypertrophy // *Int J Cardiol.* 2013. №167. C. 2555-2560.

100. Thurberg B.L., Randolph Byers H., Granter S.R., Phelps R.G., Gordon R.E.,

- O'Callaghan M. Monitoring the 3-year efficacy of enzyme replacement therapy in Fabry disease by repeated skin biopsies // *J Invest Dermatol.* 2004. №122 C. 900-908.
101. Togawa T., Kodama T., Suzuki T. et al. Plasma globotriaosylsphingosine as a biomarker of Fabry disease // *Mol Genet Metab.* 2010. №100. C. 257–261.
102. Tondel C., Bostad L., Hirth A., Svarstad E. Renal biopsy findings in children and adolescents with Fabry disease and minimal albuminuria // *Am J Kidney Dis.* 2008. № 51. C. 767-776.
103. Toyooka K., Said G. Nerve biopsy findings in hemizygous and heterozygous patients with Fabry's disease // *J Neurol.* 1997. №244 C.464-468.
104. Van der Tol L., Smid B.E., Poorthuis B.J. et al. A systematic review on screening for Fabry disease: prevalence of individuals with genetic variants of unknown significance // *J Med Genet.* 2014. №5 C.1–9.
105. Van der Tol L., Sminia M.L., Hollak C.E., Biegstraaten M. Cornea verticillata supports a diagnosis of Fabry disease in non-classical phenotypes: results from the Dutch cohort and a systematic review // *Br J Ophthalmol.* 2016. № 100 (1) C. 3-8.
106. Vital A., Vital C., Maleville J. Fabry's disease: an ultrastructural study of muscle and peripheral nerve // *Clin Neuropathol.* 1984, № 3. C. 168-172.
107. Watt T., Burlina A.P., Cazzorla C., Schonfeld D. et al. Agalsidase beta treatment is associated with improved quality of life in patients with Fabry disease: Findings from the Fabry Registry // *Genet Med.* 2010. №12. C. 703-712.
108. Wattanasirichaigoon D., Svasti J., Cairns J.R., et al. Clinical and molecular characterization of an extended family with Fabry disease // *J Med Assoc Thai.* 2006. № 89. C.1528-1535.
109. Weidemann F., Strotmann J.M., Breunig F., Niemann M. et al. Misleading terms in Anderson-Fabry disease // *Eur J Clin Invest.* 2008. №38. C. 191-196.
110. Wilcox W.R., Oliveira J.P., Hopkin R.J., Ortiz A. et al. Females with Fabry

disease frequently have major organ involvement: lessons from the Fabry Registry // *Mol Genet Metab.* 2008. №93. С. 112-128.

111. Wozniak M.A., Kittner S.J., Tuhim S., Cole J.W., Stern B., Dobbins M. et al. Frequency of unrecognized Fabry disease among young European-American and African-American men with first ischemic stroke // *Stroke.* 2010. № 41. С. 78–81.

112. Wraith J.E., Tyłki-Szymanska A., Guffon N., Lien Y.H., Tsimaratos M., Vellodi A., Germain D.P. Safety and efficacy of enzyme replacement therapy with agalsidase beta: an international, open-label study in pediatric patients with Fabry diseases // *J Pediatr.* 2008. №152. С. 563-570.

113. Волгина С. Я. Болезнь Фабри // *Практическая медицина (научно-практический медицинский журнал).* 2012. № 6(7). С.75-79.

114. Моисеев С.В., Новиков П.И., Фомин В.В. Лечение болезни Фабри // *Клиническая фармакология и терапия.* 2016; №25(4):63-70.

115. Мухин Н.А., Моисеев В.С., Моисеев С.В. и др. Диагностика и лечение болезни Фабри // *Клин фармакология и терапия.* 2013. №22(2). С.11-20.

Приложение А. Алгоритм диагностики и ведения пациента с БФ

