

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

на правах рукописи

МАКАЗАН НАДЕЖДА ВИКТОРОВНА

**«Роль нарушений пострецепторного сигналинга в развитии  
мультигормональной резистентности и автономной гиперфункции  
эндокринных желез у детей».**

(14.01.02 - Эндокринология)

Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Научный руководитель:**  
Доктор медицинских наук  
профессор, академик РАН,  
Петеркова В.А.

Москва – 2017

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Механизмы действия пептидных и полипептидных гормонов: роль G-белка в пострецепторной передаче сигнала .....	11
1.2. Генетические основы нарушений пострецепторного сигналинга: особенности экспрессии гена <i>GNAS</i> .....	14
1.3. Функциональное значение стимулирующей альфа-субъединицы G-белка .....	16
1.4. Роль <i>Gas</i> в развитии мультигормональной резистентности: псевдогипопаратиреоз 18	
1.4.1. Псевдогипопаратиреоз: история вопроса .....	18
1.4.2. (Эпи)генетические дефекты при различных типах псевдогипопаратиреоза I типа как основа клинического полиморфизма заболевания .....	20
1.4.3. Клинические особенности ПГП: наследственная остеодистрофия Олбрайта и мультигормональная резистентность .....	23
1.5. Роль <i>Gas</i> в развитии автономной гиперфункции эндокринных желез: синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева .....	24
1.5.1. Синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева: история вопроса .....	24
1.5.2. Соматические мутации в гене <i>GNAS</i> как основа клинического полиморфизма синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева .....	27
1.5.3. Клинические проявления синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева .....	29
1.6. Современное состояние проблемы диагностики и лечения псевдогипопаратиреоза и синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева .....	32
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ .....	33
2.1. Методология .....	33
2.1.1. Дизайн исследования .....	34

2.1.2. Критерии соответствия .....	34
2.1.3. Клиническое обследование пациентов .....	36
2.1.4. Молекулярно-генетическое исследование.....	37
2.1.5. Анализ полученных результатов.....	37
2.2. Методы исследования.....	38
2.2.1. Диагностика компонентов псевдогипопаратиреоза .....	38
2.2.2. Диагностика компонентов синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева .....	39
2.2.3. Молекулярно-генетическое исследование гена <i>GNAS</i> .....	46
2.2.3.1. Сбор образцов для исследования и выделение ДНК. ....	46
2.2.3.2. Детекция соматических мутаций в <i>GNAS</i> .....	46
2.2.3.3. Детекция генеративных мутаций <i>GNAS</i> и дефектов метилирования .....	48
2.3. Анализ результатов.....	49
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	51
3.1. Клиническая характеристика пациентов с ПГП.....	51
3.2. Результаты молекулярно-генетического исследования гена <i>GNAS</i> при различных вариантах ПГП. ....	63
3.2.1. ПЦР и прямое секвенирование по Сэнгеру гена <i>GNAS</i> .....	64
3.2.2. Метил-специфическая мультиплексная амплификация лигированных зондов (MS-MLPA) .....	65
3.2.3. Соответствие спектра клинических проявлений характеру дефекта <i>GNAS</i> .....	65
3.3. Клиническая характеристика пациентов с синдромом МОБ .....	73
1.1. Результаты молекулярно-генетического исследования гена <i>GNAS</i> при синдроме МОБ.....	97
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	106

4.1. Обсуждение результатов клинико-генетического обследования пациентов с псевдогипопаратиреозом. ....	106
4.2.Обсуждение результатов клинико-генетического обследования пациентов с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева .....	117
4.3.Заключение .....	131
Глава 5. ВЫВОДЫ.....	133
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	135
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	
ПРИЛОЖЕНИЕ 1.....	151
ПРИЛОЖЕНИЕ 2.....	154

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Механизмы пострецепторной регуляции передачи сигнала играют важную роль в патогенезе многих эндокринных заболеваний. *Gas* ( $\alpha$ -субъединица G-белка) – один из ключевых механизмов пострецепторного сигналинга. *Gas* является продуктом гена *GNAS*. Ген *GNAS* является комплексным геном: благодаря наличию альтернативных промоторов и первых экзонов, соединяющихся с набором последующих общих экзонов, он экспрессирует ряд белков. *Gas* экспрессируется во многих тканях, являясь важным звеном в передаче сигнала от ряда гормонов к клеткам-мишеням, поэтому любые изменения ее активности приводят к полиорганным нарушениям. Активирующие мутации обуславливают развитие синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. Инактивирующие мутации и дефекты импринтинга ведут к нарушениям фосфорно-кальциевого обмена (псевдогипопаратиреозу), развитию мультигормональной резистентности и формированию определенного фенотипа (наследственная остеодистрофия Олбрайта). Изучение патологии *Gas* и комплексного гена *GNAS* имеет очень важное значение для фундаментальной и практической медицины, так как (эпи)генетические нарушения *GNAS* являются причиной развития тяжелых мультисистемных заболеваний.

### Степень разработанности темы исследования

Заболевания, обусловленные пострецепторными нарушениями сигналинга, являются предметом активного изучения в странах Европы и США. Исследование темы мультигормональной резистентности, обусловленной патологией гена *GNAS*, осуществляются в рамках работы Европейского общества по изучению псевдогипопаратиреоза. Существенную ясность в понимание клинико-генетических

особенностей синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева внесли исследования зарубежных авторов, проведенные за последние 15 лет. Тем не менее, остается множество вопросов, касающихся патогенеза заболеваний, обусловленных патологией гена *GNAS*, роли молекулярно-генетического исследования в диагностике ППП и синдрома МОБ, разработки алгоритмов обследования и лечения. Редкая частота встречаемости заболеваний не позволяет проводить исследования на больших группах пациентов, поэтому важно объединить усилия разных стран.

В РФ не проводилось клинико-генетического исследования детей с псевдогипопаратиреозом и синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева, есть лишь единичные описания клинических случаев. В связи с этим, является актуальным проведение клинико-генетического исследования пациентов с заболеваниями, обусловленными дефектами гена *GNAS* в РФ, в том числе оценка генотип-фенотипической корреляции, разработка протоколов ведения пациентов с этими редкими (орфанными) заболеваниями.

### **Цель исследования**

Установить связь между клиническими проявлениями и генетическими нарушениями и разработать алгоритмы диагностики и лечения наследственных заболеваний, связанных с дефектами гена *GNAS*, приводящих к мультигормональной резистентности и автономной гиперфункции эндокринных желез у детей.

### **Задачи**

1. Анализ клинического разнообразия и вариантов течения синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.
2. Анализ клинического разнообразия и вариантов течения

псевдогипопаратиреоза.

3. Анализ спектра молекулярно-генетических дефектов *GNAS* в структуре псевдогипопаратиреоза.

4. Оценка роли методов генетического тестирования соматических мутаций в диагностике синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

### **Научная новизна**

Впервые в России проведено комплексное (молекулярно-генетическое и клиническое) исследование заболеваний, связанных с дефектами гена *GNAS*, которые приводят к нарушению пострецепторного сигналинга, мультигормональной резистентности или мультигормональной гиперфункции.

Впервые в России проведен детальный клинический анализ большой выборки пациентов с псевдогипопаратиреозом – орфанным заболеванием, определен спектр клинических проявлений, установлены разные варианты течения данного заболевания. Нами были проведены генетические исследования для выявления мутаций в самом гене *GNAS* или эпигенетических нарушений с применением метода MS-MLPA и выявлены новые, неописанные ранее, генетические дефекты гена *GNAS*. Проведена оценка роли данных генетических методов для диагностики псевдогипопаратиреоза и семейного генетического консультирования. На основании полученных результатов разработаны алгоритмы диагностики и лечения псевдогипопаратиреоза.

Впервые в России проведен генетический анализ с применением современных молекулярно-генетических методов для диагностики соматических в гене *GNAS* при синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. Определена практическая ценность генетических методов в диагностике синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. Проведено клиническое исследование с оценкой частоты и характера клинических проявлений синдрома Мак-Кьюна-Олбрайта-Брайцева в большой когорте пациентов с России, предложена шкала оценки тяжести проявлений при данном синдроме.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Наша работа позволила оценить диагностическую значимость молекулярно-генетических методов исследования и создать практические рекомендации по диагностике и лечению псевдогипопаратиреоза и синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева. Редкость заболеваний, ограничивающая возможности формирования больших выборок, обуславливает значимость каждого отдельных исследований, включая настоящее – все они вносят вклад в определение спектра всех возможных клинических проявлений псевдогипопаратиреоза и синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева, создание алгоритмов диагностики и лечения и открывают дальнейшие перспективы совместных международных исследований.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

Проявления наследственной остеодистрофии Олбрайта определяются при всех вариантах дефекта в гене *GNAS*. При одном и том же виде молекулярно-генетического дефекта может определяться различная клиническая картина, что не позволяет делать прогнозы о спектре возможных клинических проявлений на основании результатов молекулярно-генетического исследования и ограничивают область применения методов молекулярно-генетической верификации диагноза медико-генетическим консультированием семей.

Учитывая вариабельность клинических признаков псевдогипопаратиреоза и возможность отсроченного развития проявлений резистентности к ПТГ, детям с фенотипическими признаками наследственной остеодистрофии Олбрайта необходимо проводить обследование для исключения псевдогипопаратиреоза.

Наиболее распространенными проявлениями при синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева в изученной выборке пациентов являются пятна цвета кофе-с-молоком, периферическое преждевременное половое развитие и фиброзная дисплазия.



Манифестация любых компонентов может возникать у детей до года, что обуславливает необходимость скрининга на возможные компоненты вне зависимости от возраста при выявлении синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

Высокопроизводительное параллельное секвенирование и детекция соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием технологии TaqMan™ определяют соматические мутации *GNAS* в случаях тяжелой и средней тяжести форм течения синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

### **Степень достоверности**

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

### **Апробация результатов**

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 29 ноября 2017 года на расширенной межотделенческой научной конференции ФГБУ НМИЦ Эндокринологии Минздрава России. Результаты работы доложены на 55-ом Съезде Европейского Общества Детских Эндокринологов ESPE 2016 (Париж, Франция, 09.2016), III-ем Всероссийском эндокринологическом конгрессе с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, РФ, 03.2017), XIII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Персонализированная эндокринологическая помощь в педиатрии» (Санкт-Петербург, РФ, 05.2017).

### Благодарности

Выражаю искреннюю признательность заведующему отделением наследственных эндокринопатий детского возраста Института Детской Эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ д.м.н. Тюльпакову Анатолию Николаевичу и сотруднику лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» к.б.н. Васильеву Евгению Викторовичу за осуществление впервые в России молекулярно-генетического исследования соматических мутаций в *GNAS*. Выражаю глубокую благодарность заведующей лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБУ «Медико-Генетический Научный Центр» д.м.н. Захаровой Екатерине Юрьевне и сотруднику лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБУ «Медико-Генетический Научный Центр» Крыловой Татьяне Дмитриевне за осуществление впервые в России молекулярно-генетического исследования нарушений метилирования в *GNAS*.

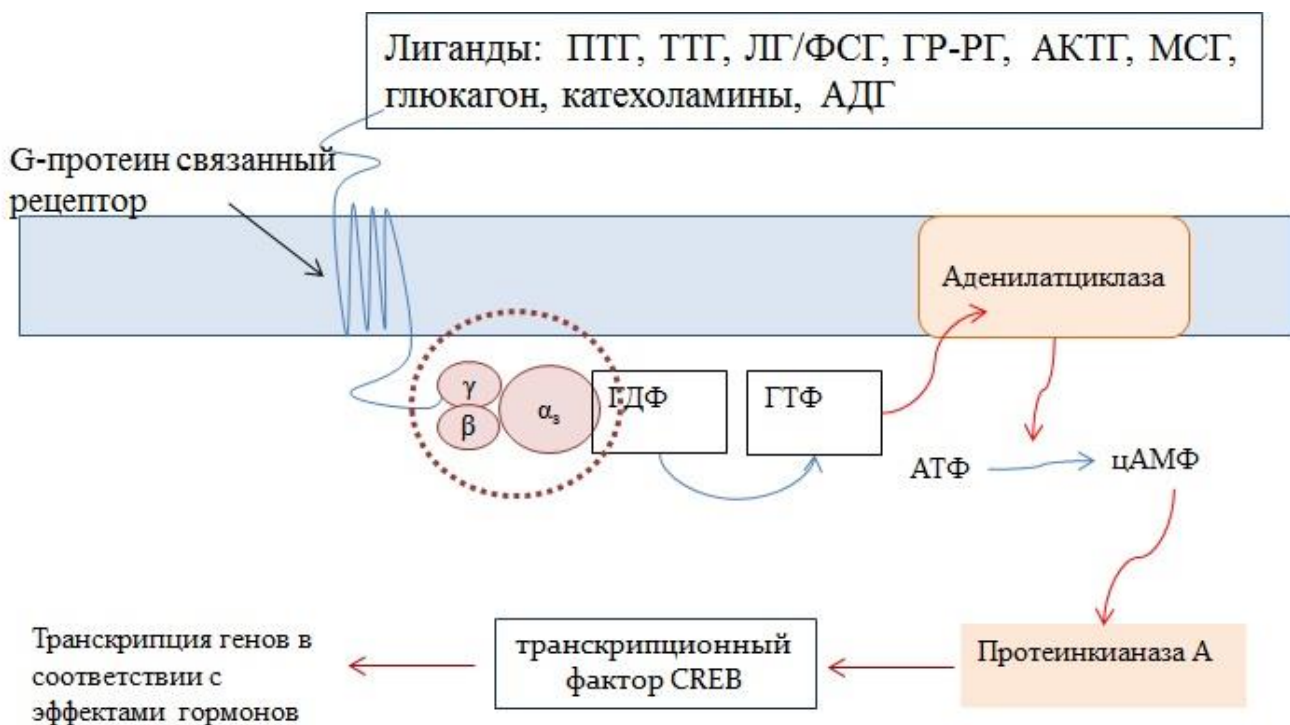
## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Механизмы действия пептидных и полипептидных гормонов: роль G-белка в пострецепторной передаче сигнала

Биологический ответ клеток-мишеней на действие гормонов выражается в изменении экспрессии генов, инициируемом биохимическим сигналом, который поступает от активированного рецептора в клеточное ядро. В зависимости от способности лиганда проникать через клеточную мембрану внутрь клетки, рецепторы к гормонам могут располагаться либо в ядре клетки, либо на поверхности. Если рецептор расположен в ядре, то его активация непосредственно приводит к реализации эффекта гормона на уровне ДНК. Если рецептор находится на поверхности клетки, являясь интегральным мембранным белком, то биологический ответ на действие гормона осуществляется через каскад внутриклеточного преобразования и передачи сигнала от активированного рецептора к клеточному ядру. Большая группа пептидных и полипептидных гормонов, а также катехоламины реализуют свое влияние на клетки-мишени через поверхностные рецепторы, связанные с гуанин-нуклеотид связанными белками, guanine nucleotide-binding protein, G-белки.[1]

G-белки (гуанин-нуклеотид связанные белки, guanine nucleotide-binding protein) – это большое семейство мембранно-связанных белков, регулирующих внутриклеточную передачу сигнала. G-белок состоит из трех субъединиц – альфа, бета и гамма. Альфа-субъединица G-белка ( $G\alpha$ ) инициирует каскад внутриклеточных реакций, цель которых состоит в передаче сигнала от лиганда к клеточному ядру. В неактивном состоянии  $G\alpha$  связана с гуаниндифосфатом (ГДФ). Соединение лиганда с рецептором приводит к освобождению ее из этого комплекса и связыванию с гуанинтрифосфатом (ГТФ). Комплекс  $G\alpha$ -ГТФ связывается со специфическим ферментом, изменяя его активность. Различают несколько типов альфа-субъединиц G-белка, определяющих особенности дальнейшего внутриклеточного каскада. Стимулирующая альфа-субъединица G-белка ( $G\alpha_s$ ) связывается с аденилатциклазой,

запуская синтез в клетке цАМФ с последующей активацией протеинкиназы А (рисунки 1), в то время как ингибирующая альфа-субъединица G-белка ( $G\alpha_i$ ), напротив, препятствует активности аденилатциклазы и снижает образование внутриклеточного цАМФ. Альфа-q-субъединица G-белка ( $G\alpha_q$ ) активирует фосфолипазу С, которая, в свою очередь, обеспечивает либо активацию протеинкиназы С, либо высвобождение ионов кальция. Конечным итогом каскада является реализация эффектов лиганда за счет активации транскрипции генов либо изменения активности ферментов и клеточного метаболизма [1–3]. Значимая роль в развитии мультигормональных заболеваний, обусловленных патологией пострецепторной передачи сигнала, принадлежит  $G\alpha_s$ , так как через нее осуществляется передача сигнала от множества пептидных и полипептидных гормонов (таблица 1).



**Рисунок 1. Схема механизма внутриклеточной передачи сигнала через G-белок ассоциированный рецептор на примере  $G\alpha_s$ .**

**Таблица 1. Рецепторы пептидных и полипептидных гормонов.**

Тип поверхностного рецептора	Тип G-белка по альфа-субъединице	Лиганды, имеющие сродство к рецептору	Эффекты
Рецепторы, сопряженные с G-белком	Gαs	Рецепторы к ПТГ (ПТГ-ПТГпП-рецептор), к ТТГ, ГР-РГ, к ЛГ/ФСГ, АКТГ, МСГ, рецепторы вазопрессина V2, глюкагона, β-адренергические	Активация аденилатциклазы
	Gαi	Рецепторы опиоидов, мускариновые холинергические рецепторы M2, рецепторы простагландинов E2-EP3, β2-адренергические,	Ингибирование аденилатциклазы
	Gαq	Рецепторы ангиотензина II, вазопрессина V1, ТРГ, β1-адренергические рецепторы, мускариновые холинергические M3, рецепторы простагландинов E2-EP1,	Активация фосфолипазы C
Рецепторы с собственной или опосредованной тирозинкиназной активностью.	-	Рецепторы инсулина, пролактина, ГР, ростовых факторов (ИФР-1, ФРФ, PDGF, ЭРФ)	Активация тирозинкиназы

Примечание. ПТГ – паратгормон, ПТГ-ПТГпП-рецептор – рецептор к ПТГ и ПТГ-подобному пептиду, ТТГ – тиреотропный гормон, ГР-РГ - гормон-роста-рилизинг гормон, ЛГ – лютеинизирующий гормон, ФСГ – фолликулостимулирующий гормон, АКТГ – адренокортикотропный гормон, МСГ – меланоцитостимулирующий гормон, ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1, ФРФ – фактор роста фибробластов, PDGF – тромбоцитарный фактор роста, ЭРФ – эпидермальный фактор роста.

## 1.2. Генетические основы нарушений пострецепторного сигналинга: особенности экспрессии гена *GNAS*

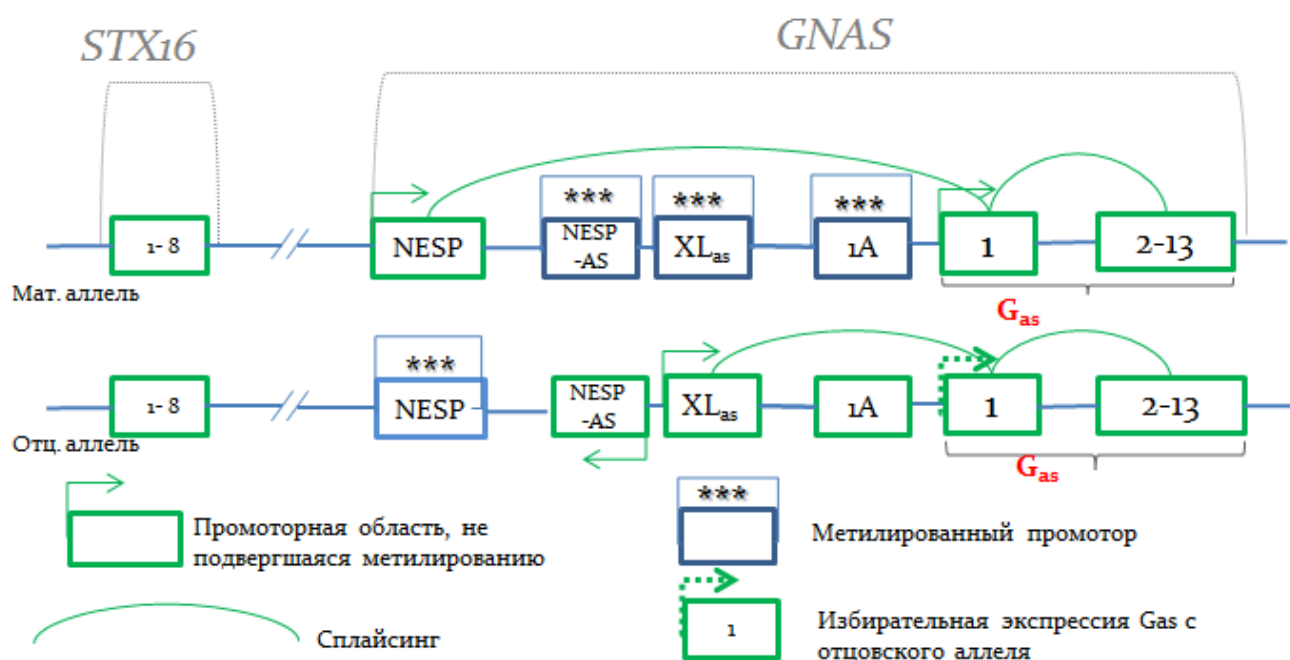
Ген *GNAS* (OMIM \*139320) локализован на длинном плече 20 хромосомы, содержит 12 общих экзонов, 12 интронов. Ген *GNAS* является комплексным геном. Имея в своей структуре альтернативные первые экзоны, соединяющиеся с набором общих последующих экзонов (со 2-го по 13-ий), этот ген может вырабатывать несколько продуктов. К ним относятся стимулирующая альфа-субъединица G белка (*Gas*), хромограниноподобный нейроэндокринный специфический белок массой 55 кДа (*NESP55*), экстра-крупная изоформа стимулирующей альфа-субъединицы G белка *XLas* (extra large *Gas*), а также некодирующий антисмысловой транскрипт *AS-1* и транскрипт *A/B*. Все продукты гена *GNAS*, за исключением *Gas*, синтезируются с материнского или с отцовского аллеля. Такая моноаллельная экспрессия становится возможной благодаря действию эпигенетических механизмов регуляции экспрессии генов. В сайтах старта транскрипции (CCT) промоторных областей альтернативных первых экзонов имеются дифференциально метилируемые регионы (ДМР), подвергающиеся метилированию на одном из аллелей. Метилирование, являясь одним из механизмов импринтинга, препятствует запуску трансляции и обуславливает моноаллельный характер экспрессии продуктов гена *GNAS* [4]. С материнского аллеля идет экспрессия *NESP55* и *Gas*, с отцовского аллеля образуется *XLas*, антисмысловой транскрипт *AS*, транскрипт *A/B* и в большинстве тканей с отцовского аллеля также идет образование *Gas* [5].

*NESP-55* – белок, принадлежащий к семейству хромогранинов, по-видимому, является маркером секреторной функции нейронов и эндокринных клеток, среди которых - лактотрофы и соматотрофы гипофиза [6,7]. *XLas* способна активировать аденилатциклазу и повышать уровень цАМФ [8], хотя имеет функции, отличные от функций *Gas*. *XLas* участвует в процессах внутриутробного и постнатального развития, в механизмах постнатальной адаптации пищевого поведения и регуляции обмена глюкозы у новорожденных [9–11]. Кроме того, *XLas* также обеспечивает

проведение сигнала от ПТГ в проксимальных почечных канальцах в раннем постнатальном периоде, действуя, подобно  $G\alpha_q$ , через активацию инозитолтрифосфатного пути [12].

$G\alpha_s$  экспрессируется с обоих аллелей в большинстве тканей, за исключением проксимальных почечных канальцев, щитовидной железы, гонад, соматотрофов гипофиза, паравентрикулярных и дорсомедиальных ядер гипоталамуса [13–17]. Кроме того, предполагается возможность моноаллельной экспрессии  $G\alpha_s$  в клетках крови и сердечной ткани [18]. Промотор 1-ого экзона  $G\alpha_s$  не содержит ДМР, и тканеспецифический синтез  $G\alpha_s$  зависит от транскрипции A/B. Нарушение метилирования ДМР сайта старта транскрипции A/B (*GNAS* A/B:CCT-ДМР), приводит к биаллельной экспрессии A/B и подавлению образования  $G\alpha_s$  в тех тканях, где в норме  $G\alpha_s$  синтезируется только с материнского аллеля [19]. В свою очередь, регуляция моноаллельной экспрессии A/B происходит за счет цис-регуляторных элементов, содержащихся в гене *STX16* [20], расположенном выше локуса *GNAS*, и регионе *NESP55* [21]. Механизм экспрессии *GNAS* представлен на [рисунке 2](#).

Из всего спектра кодируемых *GNAS* белков наибольшее функциональное значение для организма принадлежит стимулирующей альфе-субъединице G белка, участвующей в передаче сигнала от множества гормонов и нейротрансмиттеров. Сложные механизмы регуляции экспрессии *GNAS* обуславливают клинический полиморфизм заболеваний, возникающих при различных молекулярно-генетических дефектах *GNAS*.



**Рисунок 2. Схема экспрессии локуса *GNAS*.** Альтернативные первые экзоны, отмеченные как NESP 55, *XLas*, NESP-AS, 1A (A/B) и 1, соединяются с набором общих последующих экзонов, со 2-ого по 13-ый, и образуют несколько продуктов: NESP 55, *XLas*, транскрипт AS, A/B и *Gas*. Транскрипционно активные экзоны отмечены зеленым цветом, неактивные – синими цветами. Пунктирная стрелка от экзона 1 на отцовском аллеле означает, что экспрессия *Gas* идет биаллельно в большинстве тканей, но подавляется в некоторых тканях на отцовском аллеле.

### 1.3. Функциональное значение стимулирующей альфа-субъединицы G-белка

*Gas* обеспечивает возможность биологического ответа тканей-мишеней на действие большого числа пептидных и полипептидных гормонов и нейромедиаторов.

Опосредуя эффекты ПТГ, *Gas* участвует в поддержании гомеостаза костной ткани и кальций-фосфорного обмена. ПТГ является основным фактором, отвечающим за гомеостаз кальциевого обмена. Уровень ионизированного кальция крови должен всегда сохраняться в очень узком диапазоне нормальных значений, так как любое отклонение его от нормы немедленно сказывается на состоянии всего организма: гипокальциемия приводит к гипервозбудимости нервного волокна и повышенной



судорожной готовности, тогда как повышенный уровень кальция крови снижает реактивность нервно-мышечного проведения, приводя к комплексу неврологических, психических и гастроинтестинальных нарушений, увеличивает уровень реполяризации кардиомиоцитов, обуславливая аритмии, нарушает функцию почек. Почки и кости являются органами-мишенями для ПТГ. Влияние ПТГ на процессы костного ремоделирования двояки: в норме импульсный характер секреции ПТГ поддерживает формирование костной ткани, тогда как постоянно повышенный его уровень приводит к активации костной резорбции [22]. Точками приложения действия ПТГ являются мезенхимальные клетки-предшественники, остеобласты, остециты и макрофаги как предшественники остеокластов. Оказывая свое действие через ПТГ/ПТГпП-рецепторы, связанные с *Gas*, ПТГ активирует остеокластогенез [23,24], стимулирует продукцию FGF23 в остеоцитах [25, р. 23,26] и обеспечивает нормальную дифференцировку мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты или адипоциты за счет поддержания равновесия между активностями двух внутриклеточных сигнальных путей, обеспечивающих клеточную дифференцировку - Wnt-бета-катениновым и Hedgehog – сигнальными путями [27–29]. В почках ПТГ действует на уровне проксимальных и дистальных канальцев нефрона [30, р. 1]. В проксимальных почечных канальцах ПТГ индуцирует экспрессию гена, кодирующего 1-альфа гидроксилазу (*Cyp27b1*) и дестабилизирует экспрессию транскрипта витамин D- 24-гидроксилазы. 1 $\alpha$ -гидроксилаза катализирует синтез 1,25-дигидроксивитамина D, одним из основных эффектов которого является усиление всасывания кальция в кишечнике. Также ПТГ усиливает фосфатурию, активируя синтез FGF 23 и снижая количество натрий-зависимых фосфатных ко-транспортеров NPT2a и NPT2c на апикальной мембране в проксимальных почечных канальцах [31,32, р. 2]. В дистальных почечных канальцах ПТГ повышает реабсорбцию кальция [33].

Синтез и высвобождение гормонов щитовидной железы осуществляется при активации *Gas*, передающей сигнал от ТТГ [34,35]. Без нормальной функции *Gas* становится невозможным половое развитие и нормальное функционирование гонад,

так как через нее происходит передача сигнала от гонадотропных гормонов гипофиза [36]. *Gas* запускает один из двух путей проведения сигнала от меланокортиновых рецепторов MC2R и MC4R, обеспечивая в первом случае эффекты АКТГ, а во-втором – способствуя регуляции основного обмена [37–39]. ГР-РГ действует на соматотрофы гипофиза также через *Gas* [40]. Ретенция воды осуществляется благодаря активации вазопрессинового рецептора 2 типа (рецептора V2R), связанного с *Gas*. Глюкагон стимулирует гликогенолиз, глюконеогенез и кетогенез, действуя через *Gaq*- и *Gas*-связанные рецепторы гепатоцитов [41]. Катехоламины опосредуют свое действие на  $\beta$ -адренергические рецепторы через *Gas* [42].

Экспрессируясь практически во всех органах и тканях, *Gas* принимает участие в нормальном функционировании многих систем организма, поэтому нарушение ее действия проявляется в развитии мультикомпонентных заболеваний. Отражениями двух крайностей в функциональном состоянии *Gas* являются псевдогипопаратиреоз (ППП) и синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева (МОБ).

#### **1.4. Роль *Gas* в развитии мультигормональной резистентности: псевдогипопаратиреоз**

(Эпи)генетические нарушения в гене *GNAS* приводят к нарушению синтеза или функции *Gas*, что, в свою очередь, ведет к пострецепторной резистентности тканей-мишеней гормонов, действующих через *Gas*, обуславливая развитие псевдогипопаратиреоза.

##### **1.4.1. Псевдогипопаратиреоз: история вопроса**

Хотя пострецепторное нарушение сигналинга ведет к развитию нечувствительности ко многим лигандам, при псевдогипопаратиреозе первоначально была выявлена резистентность только к ПТГ, что связано с клиническими особенностями заболевания. В 1942 г. Фуллер Олбрайт (Albright Fuller) с коллегами

описал группу пациентов со специфическим фенотипом (ожирение, задержка роста, лунообразное лицо, подкожные кальцификаты, брахидактилия, умственная отсталость) и нарушениями фосфорно-кальциевого обмена в виде гипокальциемии и гиперфосфатемии [43]. Так как прямое измерение уровня ПТГ в крови в то время было недоступно, предположение о нарушении чувствительности органов-мишеней к ПТГ было сделано на основании результатов теста, отражающего эффекты ПТГ: после введения экзогенного ПТГ пациентам был измерен уровень кальция в крови и фосфора в моче, и не было получено ожидаемой гиперкальциемии и гиперфосфатемии. ПГП стал первым заболеванием, на примере которого было описано явление гормональной резистентности. На основании сочетания лабораторных признаков гипопаратиреоза и данных, свидетельствующих о нарушении чувствительности к ПТГ, Ф. Олбрайтом было предложено название заболевания –псевдогипопаратиреоз (ПГП). Десять лет спустя Олбрайт описал пациентов с таким же фенотипом, но без каких-либо лабораторных изменений и назвал это состояние псевдопсевдогипопаратиреозом (ППГП) [43]. Характерный фенотип, наблюдаемый при ПГП и ППГП, был впоследствии назван его именем – наследственная остеодистрофия Олбрайта (НОО).

Открытие цАМФ и его роли как медиатора действия гормонов, описанное Э.У. Сазерлендом и коллегами в 1960, принесло понимание механизмов, лежащих в основе ПГП [44]. За это открытие Сазерленд был удостоен Нобелевской премии. Дальнейшие исследования установили, что действие ПТГ на почки и костную ткань связаны с повышением уровня цАМФ и что при ПГП не отмечается ожидаемого увеличения экскреции цАМФ в ответ на введение экзогенного ПТГ [45]. Этот тест, впервые примененный Chase L.R. и Aurbach G.D., в комбинации с измерением экскреции фосфора, в дальнейшем стал использоваться для диагностики ПГП. На основании его результатов Drezner M. с коллегами в 1973 г. выделил два типа ПГП: ПГП I типа, при котором введение ПТГ не приводило к увеличению экскреции с мочой, как цАМФ, так и фосфора, и ПГП II типа, при котором ответ цАМФ на введение ПТГ был адекватен, но сохранялась гипофосфатурия [46,47].

С момента первых публикаций случаев ПГП, отмечались описания пациентов с резистентностью к ПТГ, но со стертыми признаками НОО или без таковых [48]. Такая форма ПГП была впоследствии отнесена к I b типу, тогда как сочетание гормональной резистентности и НОО стала называться ПГП Ia типа.

Изучение этапов внутриклеточной передачи сигнала выявило роль G-белка в повышении уровня цАМФ и в развитии псевдогипопаратиреоза [49–51]. Семейные случаи ПГП, связанные с дефицитом *Gas*, позволили предположить, что причиной заболевания является ген, кодирующий *Gas*, и в 1990 г было дано описание гена *GNAS* и мутации в нем, приведшей к развитию ПГП [52,53]. Так было положено начало изучению генетических основ ПГП, приведших впоследствии к раскрытию эпигенетических механизмов регуляции экспрессии *GNAS* и причин развития ПГП типа Ib [54–56].

#### **1.4.2. (Эпи)генетические дефекты при различных типах псевдогипопаратиреоза I типа как основа клинического полиморфизма заболевания**

Особенности гена *GNAS* – комплексный характер гена, роль механизмов импринтинга в экспрессии его продуктов – определяют клинический полиморфизм проявлений псевдогипопаратиреоза, когда различные типы молекулярно-генетических дефектов и особенности наследования обуславливают возможность развития нескольких вариантов ПГП I типа.

В основе ПГП Ia типа лежат инактивирующие мутации в гене *GNAS* на материнском аллеле, ведущие к формированию мультигормональной резистентности и развитию НОО [53,54]. Так как в большинстве тканей *Gas* синтезируется биаллельно, инактивирующие мутации в гене *GNAS* не приведут к значительной потере функции, и чувствительность органов-мишеней к действию лигандов сохранится. Но все же в некоторых тканях 50% активности *Gas* недостаточно для нормального

функционирования рецептора. Следствием такой гаплонедостаточности является формирование фенотипа наследственной остеодистрофии Олбрайта, развивающейся при любой инактивирующей мутации *GNAS* как на материнском, так и на отцовском аллеле [57]. В органах-мишенях для ЛГ, ТТГ, ГР-РГ, ПТГ, где идет моноаллельная экспрессия  $G\alpha$  (соматотрофы, проксимальные почечные каналы, гонады, щитовидная железа, [13–15]) инактивирующая мутация *GNAS* материнского аллеля приведет к отсутствию синтеза или снижению активности  $G\alpha s$  и, как следствие, невозможности передачи сигнала от активированного рецептора в клетку. Развивается резистентность к ПТГ, гипогонадизм, гипотиреоз, низкорослость. Ожирение и умственная отсталость также являются характерными для дефектов *GNAS*, локализованных на материнском аллеле, отражая моноаллельный характер экспрессии  $G\alpha s$  в центральной нервной системе [16,17,58–60].

Тканеспецифический импринтинг синтеза  $G\alpha s$  и моноаллельный характер экспрессии  $XLas$  с отцовского аллеля определяют клиническую специфику псевдопсевдогипопаратиреоза (ППГП) – состояния, развивающегося при наследовании/появлении *de novo* инактивирующей мутации в *GNAS* на отцовском аллеле. В отличие от ПГП Ia, для псевдопсевдогипопаратиреоза не характерны гормональная резистентность, ожирение и умственная отсталость в силу вышеописанных особенностей импринтинга. С другой стороны, при ППГП отмечается задержка внутриутробного развития плода, что обусловлено важной ролью  $XLas$  в обеспечении процессов роста в периоде пренатального развития [10]. Тем не менее, несмотря на доказанный импринтинг экспрессии  $G\alpha s$  с отцовского аллеля в проксимальных почечных каналах и соматотрофах гипофиза, в зарубежной литературе описаны случаи субклинической резистентности к ПТГ и нечувствительности к ГР-РГ у пациентов первых лет жизни, унаследовавших мутацию от отца [61–65]. При этом, в одном из этих случаев с доступными данными в динамике, отмечалась нормализация уровня ПТГ, подобные же результаты были получены на модели инактивации  $G\alpha s$  по отцовскому аллелю *Gnas* у мышей [64,66]. Данные результаты демонстрируют постнатальный характер развития тканеспецифического

импринтинга экспрессии *Gas* на отцовском аллеле в проксимальных почечных канальцах, показанный также в исследовании Turan S. et al [67]. Нечувствительность к ГР-РГ в то же время может также отражать принципиальную возможность и важность синтеза *Gas* с отцовского аллеля в соматотрофах, либо объясняться дефицитом *XLas*, которая экспрессируется только с отцовского аллеля и представлена в большом количестве в гипофизе [64,68].

Помимо ППГП, инактивирующие мутации гена *GNAS*, наследуемые или возникшие *de novo* на отцовском аллеле, могут приводить к развитию клинически отличающегося заболевания – прогрессирующей остеонидной гетероплазии (ПОГ). В отличие от классических подкожных кальцинатов при НОО, ПОГ отличается глубокая кальцификация, распространяющаяся в дерму и мышечную ткань, осложняющаяся анкилозами суставов [69]. При этом, мутации при ПОГ те же, что и при ППГП. Возможной причиной, приводящей к другому фенотипу при одном молекулярно-генетическом дефекте, может быть вторичная постзиготная мутация *GNAS* на втором аллеле [70].

На основе факта потери 50% активности *Gas* у пациентов с инактивирующими мутациями *GNAS* был разработан диагностический тест, при котором исследуется функциональная активность *Gas* эритроцитов пациента. При ППГП Ia и ППГП, в соответствии с фактом гаплонедостаточности *Gas* во всех тканях с биаллельной экспрессией, отмечается сниженная активность *Gas* в эритроцитах [64,71]. Результаты этого теста позволили выделить Ic подтип ППГП, при котором клиническая картина совпадает с таковой при ППГП Ia, однако активность *Gas* эритроцитов при стимуляции рецептор-независимым путем нормальна [72]. Причиной ППГП Ic являются мутации 13 экзона в гене *GNAS*, затрагивающие структуру С-терминального конца белка и приводящие к нарушению только рецептор-опосредованной активации *Gas*, тогда как ответ на прямую стимуляцию (холерный токсин или аналог ГТФ) сохранен [73].

ППГП Ib обусловлен дефектами эпигенетических механизмов регуляции экспрессии *GNAS*: нарушение метилирования сайтов старта транскрипции (CCT) ДМР

*A/B*, *GNAS-AS1* и *XLas* и *NESP55* ведут к дефициту *Gas* в тканях с моноаллельной экспрессией [13,21,74]. Клинически это проявляется резистентностью к ПТГ и к ТТГ и стертым проявлениям НОО [75–77]. ПГП может быть спорадическим либо аутосомно-доминантным, наследуемым от матери. АД-ПГП Ib возникает в результате микроделений, затрагивающих области цис-регуляторных элементов в гене синтаксина 16 (*STX16*) и *NESP55*, обеспечивающих в норме метилирование *A/B:CCT-ДМР* на материнском аллеле [56,78]. Кроме того, описаны случаи АД-ПГП при наследовании от матери делеций других ДМР (*GNAS AS1*: CCT-ДМР) [79]. При спорадических формах ПГП Ib выявляются различные варианты нарушения метилирования *GNAS*, от изолированной потери метилирования *GNAS A/B:CCT-ДМР* до сочетания ее с дефектами метилирования других CCT-ДМР *GNAS*. Молекулярно-генетические причины, лежащие в основе спорадических случаев ПГП остаются пока неизвестными, за исключением случаев отцовской дисомии 20 хромосомы, обуславливающих биаллельную экспрессию *A/B* и, соответственно, блокирование синтеза *Gas* [80].

#### **1.4.3. Клинические особенности ПГП: наследственная остеодистрофия Олбрайта и мультигормональная резистентность**

ПГП представляет собой сочетание двух компонентов – фенотипа наследственной остеодистрофии Олбрайта и мультигормональной резистентности, проявления которых индивидуальны и переменны. Наследственная остеодистрофия Олбрайта объединяет совокупность характерных фенотипических особенностей и включает в себя брахидактилию за счет укорочения пястных костей запястья и плюсневых костей стопы (тип E), подкожные кальцинаты, ожирение, лунообразное лицо, низкорослость, умственную отсталость. Гормональная резистентность при ПГП может проявляться либо изолированной нечувствительностью к ПТГ, либо в сочетании с резистентностью к ТТГ, к ЛГ/ФСГ, к ГР-РГ. Диагноз ПГП устанавливается

на основании клинико-лабораторных признаков резистентности к ПТГ: повышение уровня ПТГ выше верхней границы нормы в сочетании с гипокальциемией с гиперфосфатемией [57]. При этом следует исключать витамин D-дефицитный рахит, способный также привести к подобным проявлениям [81]. Фенотип НОО в отсутствие мультигормональной резистентности свидетельствует о ППП. При оценке фенотипа НОО следует учитывать специфичность наблюдающихся проявлений НОО: к специфичным компонентам НОО относятся эктопическая кальцификация и брахидактилия типа E, тогда как ожирение и лунообразное лицо, низкорослость, умственная отсталость являются характерными для ППП, но также могут отражать наличие другого заболевания.

### **1.5. Роль *Gαs* в развитии автономной гиперфункции эндокринных желез: синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева**

Активирующие мутации в гене *GNAS*, обуславливающие гиперактивность *Gαs* приводят к автономной гиперфункции органов и тканей, проявляющихся комплексом клинических проявлений, объединенных в понятие синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

#### **1.5.1. Синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева: история вопроса**

Американский эндокринолог Фуллер Олбрайт (Albright Fuller) не только впервые в мире описал синдром гормональной резистентности при псевдогипопаратиреозе, он также был одним из первых врачей, открывших другое редкое мультикомпонентное заболевание, обусловленное дефектами пострецепторного сигналинга на уровне *Gαs* (как это было установлено позднее).



В 1936 г Донован Джордж МакКьюн (Donovan George McCune) опубликовал статью с описанием девочки, у которой периферическое преждевременное половое развитие сочеталось с наличием очагов гиперпигментации, фиброзно-кистозными изменениями костной ткани и гипертиреозом [82]. Первоначально автор предполагал, что причина заболевания – нейрофиброматоз, но уже спустя год им был опубликован еще один подобный случай с обзором литературы, выявившим 9 пациентов с той же триадой признаков в виде гиперпигментации, повреждения костной ткани по типу фиброзно-кистозных очагов и преждевременного полового развития и 5 пациентов с двумя признаками из трех [83]. Одновременно в том же году Ф. Олбрайт с коллегами опубликовал описание пяти собственных наблюдений пациентов с триадой признаков и также привел описание ранее опубликованных подобных случаев [84]. Подробный анализ всех известных на тот момент случаев позволил выдвинуть Олбрайту предположение о существовании отдельного заболевания, обусловленного дефектами эмбрионального развития и выделить его ведущие признаки, легшие в основу критериев диагностики: пятна цвета «кофе-с-молоком», периферическое преждевременное половое развитие и характерное специфическое поражение костной ткани, названной Олбрайтом первоначально «osteitis fibrosa disseminata». В 1938 г. Лихтенштейн предложил термин «фиброзная дисплазия», который используется и по настоящее время. Вообще, первое время синдром носил название «полиоссальная фиброзная дисплазия», как это было предложено Олбрайтом в 1947 г. [85], по ведущему клиническому проявлению болезни, затем название трансформировалось и все чаще стал встречаться термин синдром Олбрайта. Это привело к тому, что в 50-х – 60-х годах 20 века именем Олбрайта назвались оба открытых им заболевания – болезнь Олбрайта как обозначение псевдогипопаратиреоза и синдром Олбрайта в случаях сочетания пятен гиперпигментации, полиоссальной фиброзной дисплазии и преждевременного полового развития. В 1962 г. в статье с очередным описанием клинического случая триады авторами был использован термин «синдром МакКьюна-Олбрайта» и впоследствии болезнь стала называться по именам обоих авторов, впервые описавших его в 1937 г [86]. За 10 лет до этого, в 1928 г., русским хирургом

Брайцевым было дано подробное описание фиброзной дисплазии (автор использовал термин *osteodystrophia fibrosa localisata cystica*), в связи с чем в русской транскрипции заболевание носит и его фамилию тоже [87].

Возможность мультиэндокринной патологии при синдроме МОБ была продемонстрирована в первых же опубликованных случаях – у пациентки, описанной Д. Дж. МакКьюном, помимо преждевременного полового развития, также имелся тиреотоксикоз [82]. В дальнейшем были описаны случаи сочетания синдрома МОБ с гиперкортицизмом, акромегалией, гипофосфатемическим рахитом [88–90]. Развитие методов определения уровня гормонов в сыворотке крови позволило установить автономный характер гиперфункции эндокринных органов при синдроме МОБ [91].

Причина заболевания долгое время оставалась неизвестной, хотя предположение о дефекте эмбрионального развития была высказана еще Ф. Олбрайтом [92]. Существенный вклад в понимание этиологии и патогенеза заболевания внес немецкий детский дерматолог Рудольф Хаппл, выявивший в 1986 г. мозаичный характер синдрома. Основываясь на собственных и ранее опубликованных наблюдениях пациентов с синдромом МОБ, он впервые обратил внимание на характер распределения пигментных пятен на коже, следующих линиям Блашко, и на спорадический вариант возникновения синдрома. Данные наблюдения позволили ему сделать вывод о наличии двух клеточных популяций, формирующихся в периоде раннего эмбриогенеза вследствие постзиготной мутации «летального» гена, когда выживаемость плода возможна только в случае сочетания мутантных клеток с клетками, свободными от мутаций. Это объясняло полиморфизм проявлений, вариабельность локализации очагов фиброзной дисплазии и отсутствие наследственных форм [93]. В том же году, основываясь на мультиэндокринном характере автономной гиперфункции, наблюдаемом при синдроме МОБ, и роли цАМФ в обеспечении ответа гонад, щитовидной железы, клеток гипофиза, клеток костной ткани на действие соответствующих тропных гормонов, Lee P.A. заключил, что в основе заболевания лежит общий дефект внутриклеточной регуляции синтеза цАМФ

[94–97]. Открытие роли  $G_{\alpha s}$  во внутриклеточной передаче сигнала и идентификация активирующих мутаций в гене *GNAS* в 8 и 9 экзоне у пациентов с объемными образованиями гипофиза и щитовидной железы, позволили L. S. Weinstein предположить, что «летальным» геном, ответственным за развитие заболевания, является ген *GNAS*, кодирующий  $G_{\alpha s}$  [51,98–100]. Базируясь на этой теории, L.S. Weinstein с коллегами провел молекулярно-генетическое исследование ДНК, выделенной из различных пораженных органов у 4 пациентов с синдромом МОБ, и выявил мутации в 8 экзоне R201H гена *GNAS*. Дальнейшие молекулярно-генетические исследования подтвердили эти результаты, доказав роль соматических мутаций в 8 экзоне гена *GNAS* R201H или R201C в развитии синдрома МОБ и возможность формирования других фенотипов при той же мутации [101–103].

### **1.5.2. Соматические мутации в гене *GNAS* как основа клинического полиморфизма синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева**

Активация G-белка, происходящая в норме при связывании лиганда с рецептором, ведет к замене гуанозин-дифосфата (ГТФ) в комплексе G-белка  $\beta\gamma\alpha_s$ +ГДФ на гуанозин-трифосфат (ГТФ). Комплекс ГТФ- $G_{\alpha s}$  является активным соединением, способным запускать каскад внутриклеточного преобразования сигнала от рецептора к ядру клетки. После активации следующего звена каскада (аденилатциклазы) активное соединение  $G_{\alpha s}$ -ГТФ вновь заменяется на неактивный комплекс  $\beta\gamma\alpha_s$ +ГДФ путем высвобождения одной фосфатной группы из ГТФ, причем ферментом, обладающим ГТФ-азной активностью является сама  $G_{\alpha s}$  [104]. В исследовании Landis С.А. было впервые продемонстрировано, что замена аргинина на цистеин или гистидин в позиции 201 8 экзона в гене *GNAS*, ведет к потере этой ГТФ-азной активности [98]. К такому же эффекту приводит замена глицина в 227 положении в 9 экзоне *GNAS* на лейцин, аргинин, лизин или гистидин, хотя она встречается крайне редко и описана только в случаях ФД [105,106]. В результате возникает

конститутивная активация *Gas* с неконтролируемым образованием внутриклеточного цАМФ, выражающаяся в автономной гиперфункции органов-мишеней.

Как уже было сказано в [главе 1.3](#), практически повсеместная экспрессия *Gas* в органах и тканях и ее важность в передаче сигнала от большого количества гормонов и нейротрансмиттеров, ведет к тому, что нарушение ее активности будет отражаться в развитии мультикомпонентных заболеваний. Активирующие мутации R201 и Q227 в гене *GNAS* нарушают функцию *Gas* столь значимо, что плод способен выжить только в случае появления этих мутаций постзиготно, тогда как при герминативных мутациях дальнейшее развитие зародыша становится невозможным [100,107,108]. При синдроме МОБ наблюдается поражение органов, происходящих из разных зародышевых листков: эпидермис кожи, кости черепа, гипофиз (эктодерма), кости осевого и добавочного скелета, гонады, надпочечники (мезодерма), щитовидная железа (энтодерма). Возможность поражения органов, имеющих различное эмбриональное происхождение, указывает на то, что возникновение мутаций происходит на ранних этапах эмбриогенеза, до деления на три зародышевых листка [107]. При этом, чем раньше возникла мутация, тем больше органов будет поражено. Отсюда вариабельность клинических признаков от легкого синдрома МОБ с минимумом проявлений до тяжелой мультикомпонентной формы, приводящей к развитию жизнеугрожающих состояний и снижению качества жизни.

Активирующие мутации в гене *GNAS* ведут не только формированию синдрома МОБ, но и обуславливают возможность развития двух других синдромов – изолированной фиброзной дисплазии и синдрома Мазабрауда, характеризующегося сочетанием фиброзной дисплазии с миксомами мягких тканей [109].

### 1.5.3. Клинические проявления синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева

Очевидно, что Ф. Олбрайт был прав, указывая на фиброзную дисплазию, как ведущий признак заболевания, так как поражение костной ткани встречается во всех трех фенотипических вариантах соматических активирующих мутаций *GNAS* R201 или Q227 – как при ФД, так и при синдроме МОБ и синдроме Мазабрауда, хотя она и может практически отсутствовать в легких случаях синдрома МОБ. Повреждение костной ткани демонстрирует важную роль *Gαs* в плюрипотентных стромальных клеток костного мозга, макрофагов, остецитов и остеобластов, обеспечивающей процессы клеточной дифференцировки и поддержания равновесия между резорбцией и регенерацией костей [108,110]. Пролиферация незрелых стромальных клеток, инициируемая активной *Gαs*, приводит к замещению нормальной костной структуры фиброзными массами и формированием очагов деструкции в виде кист.

Пятна цвета «кофе-с-молоком» являются вторым по частоте встречаемости признаком синдрома МОБ [111]. Являясь также одним из самых ранних проявлений, этот признак, в отсутствие другой видимой патологии, не всегда обращает на себя внимание, так как размеры и распространенность гиперпигментации при синдроме МОБ весьма вариабельна. Очаговая гиперпигментация с различной локализацией и размерами является следствием гиперпродукции меланина в мутантных меланоцитах, где происходит цАМФ-опосредованная активация гена тирозинкиназы [112]. Наличие пятен цвета «кофе с молоком» в отсутствие других признаков синдрома МОБ – повод провести дифференциальную диагностику с нейрофиброматозом I типа (НФ I типа), различия между которыми были отмечены еще Олбрайтом [85]. При синдроме МОБ пятна имеют неровный зазубренный край, редко пересекают тело по средней линии. При НФ I типа пятна с ровными краями, часто округлой формы, увеличиваются по мере роста ребенка, их количество, как правило, более шести.

Повсеместная экспрессия и значимость *Gαs* как первичного мессенджера в передачи сигнала от множества гормонов к тканям-мишеням объясняют возможность развития поражений различных органов эндокринной системы: преждевременное

половое развитие, синдром Кушинга, различные варианты поражения щитовидной железы, гиперпродукция соматотропного гормона; гипофосфатемический рахит, поражение желудочно-кишечного тракта, патология гепатобилиарной системы, тахикардия.

Наиболее частым вариантом эндокринной гиперфункции при синдроме МОБ является преждевременное половое развитие [111]. Так как *Gαs* служит медиатором в передаче сигнала от ЛГ и ФСГ, то клетки гонад, несущие мутантную аллель *GNAS*, проявляют автономную гиперреактивность, хотя длительно повышенный уровень половых стероидов может инициировать растормаживание центрального звена гипоталамо-гипофизарно-гонадной оси и приводить ко вторично центральному ППР [113]. Мутантные клетки распределяются в гонадах неравномерно. У девочек они могут локализоваться в одном или двух яичниках, обуславливая периодическое формирование односторонних либо двусторонних активных эстрогенпродуцирующих кист с последующим регрессом. У мальчиков распределение может отмечаться только в клетках Сертоли с меньшим содержанием или отсутствием таковых в клетках Лейдига, проявляющееся макроорхидизмом без повышения уровня половых стероидов [114].

Поражение щитовидной железы при синдроме МОБ проявляется в виде изменения структуры щитовидной железы по типу многоузлового зоба с неоднородной эхоструктурой с тиреотоксикозом или без такового и отражает неравномерную автономную активность тиреоцитов, содержащих мутантные аллели *GNAS* [115].

Гипофосфатемия обусловлена синтезом FGF23 в очагах ФД незрелыми клетками-предшественниками, измененными остеобластами и остеоцитами [116]. Гипофосфатемический рахит и СТГ–гиперсекреция осложняют течение заболевания, обуславливая прогрессирование ФД [117,118].

Синдром Кушинга возникает вследствие автономной активности *Gαs* в фетальной коре надпочечников, что приводит к двустороннему поражению

надпочечников и ранней манифестации, проявляющейся в первые месяцы жизни ребенка [119].

Помимо поражения эндокринных органов, кожи и костной ткани, при синдроме МОБ может развиваться ряд других патологий. Распределение мутантных аллелей в кардиомиоциты приводит к тому, что активация  $G\alpha_s$ , участвующей в передаче сигнала от бета-адренорецепторов, обуславливает развитие тахикардии [111]. Другие проявления включают различные поражения желудочно-кишечного тракта, такие как холестатический гепатит, гастроинтестинальные полипы, гастроинтестинальный рефлюкс [111,120].

При синдроме МОБ также описаны случаи рака щитовидной железы, костной ткани, молочных желез, поджелудочной железы, яичка [121–125]. Хотя во всех случаях было доказано наличие мутации в гене *GNAS*, редкость возникновения подобных случаев среди пациентов с синдромом МОБ, предполагает комбинацию соматических мутаций в нескольких онкогенах. Подтверждением этому являются результаты исследований по детекции молекулярно-генетических причин рака молочной железы и злокачественных новообразований поджелудочной железы. В исследовании Liu S. et al при раке молочной железы мутация в гене *GNAS* (p.R201C) в сочетании с мутациями в генах *IDH1* и *KRAS* была найдена в одном случае из 80 [126]. Несколько работ, посвященных изучению новообразований поджелудочной железы с высоким злокачественным потенциалом выявили, что для одного из типов неопластических кист поджелудочной железы — для внутрипротоковой папиллярно-муцинозной опухоли — характерны комбинации мутаций в генах *GNAS* (p.R201H и p.R201C) и *KRAS*, тогда как исследования на мышах показали, что мутации в *GNAS* (p.R201H) в отсутствие мутаций в *KRAS* приводят к расширению протока поджелудочной железы, атрофии ацинусов и фиброзу без дальнейшей трансформации в объемное образование [124,127–129].

### **1.6. Современное состояние проблемы диагностики и лечения псевдогипопаратиреоза и синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева**

Функциональная значимость *Gas* обуславливает высокий интерес к заболеваниям, связанным с патологией гена *GNAS*. Изучение клинических и молекулярно-генетических особенностей ППП и синдрома МОБ затруднены в силу редкой встречаемости данных состояний и сложностей формирования больших выборок. Распространенность ППП изучена лишь в отдельных странах и варьирует от 1,1 случая на 100 000 человек популяции до 1 случая на 300 000 человек [130–132], тогда как предполагаемая частота встречаемости синдрома МОБ варьирует в пределах 1:100 000 до 1:1000000 [103]. В мировой литературе есть описания отдельных исследований, характеризующих клинические и/или генетические особенности отдельных типов псевдогипопаратиреоза и эффективность применения метил-специфической мультиплексной амплификации лигированных проб для диагностики делеций и дефектов метилирования [74,76,77,133]. Имеющиеся публикации, посвященные описанию спектра возможных проявлений синдрома МОБ и оценка отдельных молекулярно-генетических методов исследования на малых группах пациентов не дают полного представления о возможностях применения молекулярно-генетических методов исследования в диагностике синдрома МОБ, особенно при сомнительных случаях заболевания [118,134]. Отсутствуют клинические рекомендации и алгоритмы ведения пациентов с ППП и синдромом МОБ. Неизвестна распространенность заболеваний и не проводилось клинико-генетического исследования детей с псевдогипопаратиреозом и синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева в России. Исследование пациентов с заболеваниями, обусловленными дефектами гена *GNAS* в РФ, с анализом спектра клинических проявлений и вариантов течения, определением возможности применения молекулярно-генетических методов в диагностике дефектов *GNAS* и разработкой протоколов ведения пациентов представляются значимыми как для практической, так и для фундаментальной медицины.



## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1. Методология

Объектом исследования являлась патология гена *GNAS*. Предметами исследования были заболевания, развивающиеся при различных нарушениях гена *GNAS*. Целевые популяции – пациенты с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева и псевдогипопаратиреозом. Исследовались группы пациентов возрастом от 0 до 18 лет, соответствующие критериям включения в выборки по псевдогипопаратиреозу и по синдрому МакКьюна-Олбрайта-Брайцева и не имевшие критериев исключения. С целью увеличения репрезентативности выборок с количественной точки зрения проводилось широкое внутреннее (в пределах Института Детской Эндокринологии ФГБУ НМИЦ эндокринологии) и внешнее (региональные центры детской эндокринологии) информирование об исследовании. Популяциями риска являлись все пациенты до 18 лет, направлявшиеся в ФГБУ НМИЦ эндокринологии на обследование из регионов и обращавшиеся самостоятельно за консультацией к детским эндокринологам в ФГБУ НМИЦ эндокринологии, а также детским эндокринологам других лечебно-профилактических и научных учреждений РФ, информированным о проводимом исследовании. Выборки формировались произвольным отбором. Улучшить качественные характеристики выборок позволяло подробное описание критериев включения, обеспечивавшее включение в выборки пациентов с различной степенью тяжести и различными вариантами клинических проявлений. Характер патологии, лежащий в основе предмета исследования, обуславливающий манифестацию проявлений заболевания в детском возрасте, обеспечивал возможность изучения спектра проявлений заболеваний на выборках пациентов от 0 до 18 лет достаточно полно по отношению к генеральной совокупности. Достижение цели исследования и решение поставленных задач проводилось с помощью общенаучных и специфических методов исследования. Было проведено наблюдение, опосредованное специфическими методами исследования и описание выявленных спектров проявлений заболеваний. Эксперимент включал в себя исследование спектра

молекулярно-генетических дефектов и проверку гипотезы о диагностической значимости примененных молекулярно-генетических методов исследования с последующим описанием его результатов. Анализ результатов исследования позволил сделать выводы и сформулировать практические рекомендации.

### **2.1.1. Дизайн исследования**

Работа включала в себя одномоментное наблюдательное исследование двух независимых несравнимых выборок пациентов с использованием ретроспективно полученной информации. В первую выборку были включены пациенты с псевдогипопаратиреозом (ПГП). Вторая выборка состояла из пациентов с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева (синдром МОБ). Набор пациентов в группы проводился на основании соответствия критериям включения и при отсутствии критериев исключения. Первый этап исследования включал клиническое обследование. В обеих группах регистрировались варианты манифестации заболеваний, исследовался спектр клинических проявлений, проводился скрининг осложнений. Второй этап – проведение молекулярно-генетического исследования. Анализ данных включал оценку результатов молекулярно-генетического исследования, сопоставление с данными клинического течения заболевания.

### **2.1.2. Критерии соответствия**

Критериями включения в выборку пациентов с ПГП являлось наличие одного из двух нижеприведенных вариантов сочетания клинико-лабораторных нарушений:

1). Повышенный ПТГ + гипокальциемия + гиперфосфатемия

2). Повышенный ПТГ при нормальных уровнях кальция и/или фосфора в сочетании с фенотипом наследственной остеодистрофии Олбрайта (НОО) и/или мультигормональной резистентностью.

Наличие фенотипа наследственной остедистрофии Олбрайта устанавливалось при выявлении одного специфического компонента НОО либо двух неспецифических компонентов НОО. Специфичность компонента определялась вероятностью наличия его при других состояниях, не ассоциированных с патологией гена *GNAS*. Специфические компоненты: брахидактилия, подкожные кальцификаты. Неспецифические компоненты: ожирение (SDS ИМТ более 2), округлое лицо, низкорослость (SDS роста менее 2), умственная отсталость. Мультигормональная резистентность устанавливалась при наличии нечувствительности к другим гормонам, действующим через *Gαs* (резистентность к ТТГ и/или к ГР-РГ, и/или ЛГ/ФСГ). Наличие двух и более признаков НОО определялось как клиническое соответствие ПГП типа Ia, тогда как наличие резистентности к ПТГ при отсутствии более двух компонентов НОО рассматривалось как ПГП Ib.

Критерием включения в выборку пациентов с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева являлось наличие двух из трех классических признаков: пятна цвета «кофе-с-молоком», фиброзная дисплазия, одно из проявлений автономной гиперфункции органов-мишеней для гормонов, действующих через *Gαs* (периферическое преждевременное половое развитие, макроорхидизм у мальчиков, неаутоиммунный тиреотоксикоз, СТГ-гиперсекреция, АКТГ-независимый гиперкортицизм, гиперфосфатурическая гипофосфатемия).

Критериями исключения при формировании выборки по изучению клинических особенностей ПГП являлось установление дефицита витамина D как причины имевшихся нарушений кальций-фосфорного обмена, хроническая почечная недостаточность, несогласие пациентов и/или их представителей на участие в исследовании клинических особенностей ПГП.

Критериями исключения при формировании выборки по изучению клинических особенностей синдрома МОБ являлись несогласие пациентов и/или их представителей на участие в исследовании клинических особенностей синдрома МОБ.

Набор биологического материала проводился среди пациентов, соответствовавших вышеперечисленным критериям включения и не имевшим вышеперечисленных критериев исключения. Критериями исключения при наборе биологического материала для выполнения молекулярно-генетического исследования являлись несогласие пациентов и/или их представителей на участие в молекулярно-генетическом исследовании, несоответствие качества биологического образца необходимым для выполнения исследования критериям.

### **2.1.3. Клиническое обследование пациентов**

На этапе клинического обследования пациентам был проведен скрининг возможных клинико-лабораторных проявлений, исследование осложнений, подбор терапии.

#### **Этап 1а. Клиническое обследование пациентов с ПГП.**

У пациентов с ПГП оценивались компоненты наследственной остеодистрофии Олбрайта и мультигормональной резистентности, показатели роста и веса при рождении. На основании имеющихся проявлений заболевания все пациенты с ПГП были разделены на группы: группа ПГП Ia, группа ПГП Ib. ПГП Ia устанавливался при сочетании резистентности к ПТГ с двумя и более критериями НОО и/или резистентностью к ГР-РГ или ЛГ/ФСГ. ПГП Ib устанавливался при выявлении у пациента резистентности к ПТГ в сочетании с резистентностью к ТТГ или без таковой, с одним критерием НОО или без такового. Всем пациентам с ПГП проводился скрининг возможных осложнений: синдром Фара, катаракта.

#### **Этап 1б. Клиническое обследование пациентов с синдромом МОБ**

Всем пациентам с диагностированным синдромом МОБ проводилось клинико-лабораторное обследование, направленное на скрининг возможных компонентов заболевания; оценивались варианты и возраст манифестации проявлений, тяжесть течения отдельных компонентов заболевания, осложнения.

#### **2.1.4. Молекулярно-генетическое исследование**

Исследование проводилось пациентам с установленным диагнозом синдром МОБ и пациентам с подозрением на этот диагноз (наличие одного критерия) двумя различными методами выявления соматических мутаций. Были разработаны отдельные подходы к молекулярно-генетическому методу исследования в зависимости от типа заболевания.

##### **Этап 2а. Молекулярно-генетическое обследование пациентов с ПГП**

Пациентам, чья клинико-лабораторная картина соответствовала ПГП Ia, в первую очередь проводился поиск точковых мутаций в гене *GNAS*. Пациентам, клинически соответствовавшим ПГП Ib и пациентам с ПГП Ia, у которых не было выявлено точковых мутаций в гене *GNAS*, проводилось исследование дефектов метилирования, крупных делеций в гене *STX16* и крупных делеций в *GNAS*.

##### **Этап 2 б. Молекулярно-генетическое исследование *GNAS* у пациентов синдромом МОБ по ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови**

Проводилось пациентам с установленным диагнозом синдром МОБ и группе пациентов с подозрением на этот диагноз (наличие одного критерия) двумя различными методами выявления соматических мутаций.

#### **2.1.5. Анализ полученных результатов.**

На этом этапе были сопоставлены результаты молекулярно-генетического исследования с данными клинического течения заболевания, определены варианты манифестации заболеваний, оценена частота встречаемости отдельных компонентов в представленных выборках, проанализирована возможность применения использованных молекулярно-генетических методов исследования в диагностике заболеваний, разработаны алгоритмы обследования и лечения.

## **2.2.Методы исследования**

Обследование пациентов включало в себя опрос с целью определения анамнеза заболевания, анамнеза жизни и семейного анамнеза; осмотр в соответствии с пропедевтическим алгоритмом системного обследования, измерение показателей роста и веса с расчетом стандартного отклонения при помощи компьютерной программы Auxology версия 1.0 b17 (Pfizer, New York, NY, USA). Лабораторные исследования проводились на базе лаборатории биохимического анализа ФГБУ НМИЦ эндокринологии. Значения биохимических и гормональных показателей сыворотки крови оценивались в соответствии с нормативными значениями, определенными для каждого возрастного периода. Лучевые методы исследования осуществлялись на базе отделения лучевой диагностики ФГБУ ЭНЦ. Молекулярно-генетическое обследование проведено на базе лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ НМИЦ эндокринологии под руководством д.м.н Тюльпакова А.Н. и на базе лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБНУ «Медико-генетический научный центр» под руководством д.м.н. Захаровой Е.Ю.

### **2.2.1. Диагностика компонентов псевдогипопаратиреоза**

Резистентность к ПТГ устанавливалась на основании сочетания повышенного уровня ПТГ с гипокальциемией и гиперфосфатемией при исключенной хронической почечной недостаточности и дефиците витамина D. Брахидактилия устанавливалась на основании данных осмотра и рентгенографии кистей рук при выявлении укорочения пястных костей запястья, плюсневых костей стопы. Подкожные кальцинаты выявлялись при осмотре, их наличие подтверждалось при рентгенографии и/или МСКТ. Критериями диагностики ожирения был SDS ИМТ более 2, низкорослости – SDS роста менее 2. Умственная отсталость диагностировалась на основании результатов оценки поведения, степени соответствия когнитивных навыков возрасту, необходимость обучения в специализированных учреждениях. Наличие резистентности к ТТГ определялось при повышенном уровне ТТГ в сочетании с

нормальным уровнем антител к ТПО и антител к ТГ. Резистентность к ЛГ/ФСГ устанавливалась на основании клинических данных (отсутствие инициации пубертата у девочек после 13 лет, мальчиков после 14 лет), повышении ЛГ и ФСГ в сочетании с низким уровнем эстрадиола у девочек, тестостерона у мальчиков. Критериями для установления резистентности к ГР-РГ считалось сочетание задержки роста с низкими значениями ИФР-1 и отсутствием выброса гормона роста более 10 нг/мл на СТГ-стимуляционных тестах с клофелином и инсулином. ППП Ia типа устанавливался при наличии двух признаков НОО.

Наличие синдрома Фара выявлялось при МСКТ головы при выявлении кальцификатов в ткани головного мозга. Вопрос о наличии/отсутствии катаракты решался при оценке прозрачности сред глазного яблока офтальмологом.

### **2.2.2. Диагностика компонентов синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева**

При осмотре кожного покрова определялось наличие пятен цвета «кофе-с-молоком». Гонадотропиннезависимое преждевременное половое развитие (ППР) устанавливалось при исключении центрального генеза ППР по данным пробы с аналогом ГН-РГ (выброс ЛГ менее 10 Ед/л) в сочетании с высоким уровнем эстрадиола сыворотки крови у девочек, повышенном уровне тестостерона сыворотки крови у мальчиков. Для определения наличия кист яичников выполнялось УЗИ органов малого таза. Для выявления макроорхидизма оценивался объем тестикул при пальпации с орхидометром; объем тестикул и изменения эхогенности и эхоструктуры уточнялись с помощью УЗИ органов мошонки. Детям с синдромом МОБ и отсутствием видимых изменений скелета и патологических переломов, для диагностики фиброзной дисплазии проводилась остеогаммасцинтиграфия. Наличие ФД устанавливалось при выявлении асимметрии накопления РФП или очагов повышения накопления РФП. Детям с синдромом МОБ и деформациями скелета и/или патологическим переломами в анамнезе проводилась мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) и рентгенография черепа, конечностей, позвоночника и грудной клетки. Критериями

наличия ФД по данным МСКТ и рентгенографии являлись признаки увеличения толщины костей, фиброзной деформации костей, кистовидные разрежения костной ткани. Патология щитовидной железы определялась с помощью лабораторных и инструментальных методов исследования. Визуализирующий метод диагностики (УЗИ) выявлял нарушение структуры щитовидной железы. Тиреотоксикоз как компонент синдрома МОБ определялся при наличии сниженного ТТГ в сочетании с высоким Т4св и/или Т3св и исключенном аутоиммунном генезе. Для оценки функции соматотрофов гипофиза проводилось исследование базального СТГ и ИФР-1. Уровень ИФР1 оценивался индивидуально в соответствии с возрастным периодом и степенью полового развития каждого пациента. В случае выявления уровня СТГ базального более 1 нг/мл в сочетании с SDS ИФР1 более 2 или повышения СТГ базального более 5 нг/мл и любом уровне ИФР1 проводился тест на подавление СТГ. СТГ-гиперфункция устанавливалась при отсутствии снижения СТГ менее 1,2 нг/мл на фоне проведения теста с глюкозой на подавление СТГ. Пациентам с СТГ-гиперсекрецией проводилось МРТ головного мозга для исключения аденомы гипофиза. Гиперпролактинемия диагностировалась при увеличении уровня пролактина сыворотки крови. Для диагностики гиперфосфатурии проводилось исследование коэффициентов экскреции фосфора – тубулярной реабсорбции фосфатов (Tubular Reabsorption of Phosphate – TRP) и максимальной реабсорбции фосфатов к скорости клубочковой фильтрации (СКФ) (TmP/GFR), рассчитанных по формулам Walton R.J. и Bijvoet O.L.M. [135].

Тубулярная реабсорбция фосфатов, выраженная в процентах:  $\% \text{TRP} = 100 \times [1 - \{(\text{Ur} / \text{Pr}) \times (\text{PCr}/\text{UCr})\}]$ , где Pr- фосфаты плазмы (ммоль/л), PCr – креатинин плазмы (ммоль/л), Ur- фосфаты в моче (ммоль/л), UCr – креатинин в моче (ммоль/л). Уровень максимальной реабсорбции фосфатов к СКФ (TmP/GFR), вычислялся в зависимости от значения показателя TRP. При  $\text{TRP} \leq 0,86$  (86%), использовалась формула:  $\text{TmP/GFR} = \text{TRP} \times \text{Pr}$ . При  $\text{TRP} \geq 0,86$  (86%) расчет проводился по следующей формуле:  $\text{TmP/GFR} = 0,3 \times \text{TRP} / (1 - 0,8 \times \text{TRP}) \times \text{Pr}$ . Уровень TmP/GFR оценивался в соответствии с референсными показателями, рассчитанными Payne R.B. по возрасту и полу ребенка [136].



Сниженная тубулярная реабсорбция фосфора менее 85% и сниженное отношение СКФ к тубулярной реабсорбции фосфора считались критериями гиперфосфатурии. Гипофосфатемия устанавливалась при уровне фосфора сыворотки крови ниже возрастной нормы.

Детям с ФД проводилась оценка осложнений: по данным МСКТ определялось наличие сужения каналов зрительных нервов и/или сужения слуховых проходов, облитерация придаточных пазух носа. По данным МСКТ и/или рентгенографии конечностей определялись очаги, угрожаемые по развитию переломов. Детям с ФД, перенесшим патологические переломы конечностей либо угрожаемым по развитию патологических переломов конечностей, проводилось оперативное лечение в Морозовской Детской Клинической Больнице в отделении травматологии и ортопедии под руководством травматолога-ортопеда к.м.н. Петрова М.А.: иссечение фиброзных очагов, костная пластика аллокостью с фиксацией металлическими пластинами на винтах.

Пациентам с МОБ определялась тяжесть течения заболевания в зависимости от проявлений. Степень тяжести определялась по разработанной нами шкале оценки тяжести течения отдельных проявлений. Каждый признак оценивался по шкале от 1 до 5 баллов. Тяжелая степень устанавливалась при общем сумме баллов от 15, средняя степень тяжести - от 5 до 15 баллов, легкая степень – до 5 баллов. Подробно критерии оценки степени тяжести представлены в таблице 1.

**Таблица 2. Критерии оценки степени тяжести течения синдрома МОБ.**

Признак		Баллы
Наличие пятен цвета «кофе-с- молоком»		1
Фиброзная дисплазия	ФД без деформаций, переломов и кистозных очагов, угрожаемых по переломам	1
	ФД с кистозными очагами в местах, угрожаемых по переломам	2
	Переломы или деформации после 6 лет	3
	Переломы или деформации 3-6 лет	4
	Переломы до 3х лет	5
	ФД черепа с деформациями, но без сужения каналов зрительных нервов,	2
	ФД черепа с деформациями черепа и сужением каналов зрительных нервов, без нарушения носового дыхания, без значимых эстетических дефектов	3

	ФД черепа с деформациями черепа и сужением каналов зрительных нервов с нарушением функции дыхания, слуха, эстетическими дефектами, без нарушения зрительной функции	4
	ФД черепа с сужением каналов зрительных нервов с нарушением зрительной функции	5
Гиперкортицизм	Наличие синдрома Кушинга	5
	Течение синдрома Кушинга потребовало адреналэктомии	5
СТГ-гиперсекреция	СТГ-гиперсекреция, SDS ИФР1 >1,5 в сочетании с ФД черепа, терапия аналогами сандостатина неэффективна и/или прогрессирующее увеличение аденомы гипофиза	5
	СТГ-гиперсекреция с SDS ИФР1 > 1,5 в сочетании с ФД черепа, требуется увеличение дозы аналога сандостатина, и/или наличие аденомы гипофиза	4
	СТГ-гиперсекреция с SDS ИФР1 > 1,5 с очагами ФД черепа, эффективно лечение аналогами соматостатина в минимальной дозе 10 мг/мес	3

	СТГ-гиперсекреция с SDS ИФР1 > 1,5 без очагов ФД черепа. Терапия аналогами сандостатина не требуется.	2
	СТГ-гиперсекреция без очагов ФД с SDS ИФР <1,5. Терапия аналогами сандостатина не требуется.	1
Патология щитовидной железы	Тиреоидэктомия, выполненная в связи с тиреотоксикозом, не поддающимся медикаментозному лечению либо в связи с прогрессирующим зобом	5
	Тиреотоксикоз, медикаментозно компенсированный	4
	Выраженные морфологические изменения щитовидной железы без нарушения функции, прогрессирующие	3
	Выраженные морфологические изменения щитовидной железы без нарушения функции, не прогрессирующие или при неизвестной степени прогрессии	2
	Начальные изменения щитовидной железы (нарушения эхоструктуры, эхогенности без узловых образований)	1
Фосфорный обмен	Гипофосфатемия, гиперэкскреция фосфора с мочой с Rg признаками дефицита фосфора	4
	Выраженная гипофосфатемия, гиперэкскреция фосфора с мочой без рентгенологических признаков дефицита фосфора	3

	Умеренная гипофосфатемия, гиперэкскреция фосфора с мочой без рентгенологических признаков дефицита фосфора	2
пППР	пППР с персистирующими кистами, потребовавшими овари- или цистэктомии – 5 баллов	5
	пППР с прогрессирующим ускорением роста и к.в.	4
	пППР с опережением роста более 2 SDS без ускорения роста и к.в. в динамике	3
	пППР без выраженного ускорения роста и костного возраста	2
Макроорхидизм	Макроорхидизм с микролитиазом и/или кистами тестикул.	3
	Макроорхидизм без нарушения структуры тестикул	2
Тахикардия	Тахикардия с выраженными морфо-функциональными нарушениями сердечно-сосудистой системы (гипертрофия сердца, клинически значимые нарушения гемодинамики)	4
	Тахикардия с прогрессирующими морфо-функциональными нарушениями сердечно-сосудистой системы (гипертрофия сердца, клинически незначимые нарушения гемодинамики)	3
	Тахикардия с начальными морфо-функциональными нарушениями сердечно-сосудистой системы (начальные признаки гипертрофии ЛЖ без нарушений гемодинамики)	2
	Тахикардия без морфо-функциональных нарушений сердечно-сосудистой системы	1

### **2.2.3. Молекулярно-генетическое исследование гена *GNAS*.**

#### **2.2.3.1. Сбор образцов для исследования и выделение ДНК.**

Пациентам проводился забор образцов периферической крови в пробирки с ЭДТА. Выделение ДНК из образцов периферической крови выполнено набором PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Life Technologies K1820). Оценка концентрации ДНК в полученных образцах проводилась с помощью флуориметра Qubit 3.0 (Life Technologies) и спектрофотометра с оценкой отношения поглощения при длинах волн 260 нм и 280 нм. Образец считался чистым, если отношение значений 260нм/280нм было более 1,7.

#### **2.2.3.2. Детекция соматических мутаций в *GNAS*.**

Использовались два метода детекции соматических мутаций. Метод высокопроизводительного параллельного секвенирования (Next generation sequencing, NGS) на платформе PGM™ (Personal Genome Machine) Ion Torrent (Life Technologies, США) – эмульсионная ПЦР и полупроводниковое секвенирование. Пробоподготовку ДНК библиотек проводили по технологии Ampliseq™ согласно инструкциям производителя. Для дизайна ПЦР-праймеров использовали онлайн инструмента Ion Ampliseq™ Designer. Исследуемая последовательность локуса *GNAS* chr20: 57484315-57484546. Далее ПЦР-продукты лигировали с двумя адаптерами, содержащими необходимые последовательности для клональной амплификации и последующего секвенирования, а также последовательности индивидуальных баркодов. Полученные фрагменты библиотек амплифицировались на микросферах методом эмульсионной ПЦР, что позволяло получать клоны единичных фрагментов ДНК на каждой микросфере. После обогащения микросфер, отжига праймера и инкубации с ДНК-полимеразой микросферы погружались в лунки полупроводникового микрочипа, где проводилась расшифровка последовательности ДНК (секвенирование). Анализ результатов проводился при использовании программ Torrent Suite (Ion Torrent). Для определения мутаций R201C и R201H *GNAS* был

проведен анализ глубины прочтений нормальных и мутантных нуклеотидов в положениях chr20:57484420 и chr20:57484421 соответственно с помощью программы VCFtools. Координаты соответствуют референсному геному человека hg19. Метод детекции соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием метода TaqMan™, Life Technologies™.

Метод детекции соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием технологии TaqMan™, Life Technologies, Inc (CAST-PCR). В исследовании использовались смеси производства Life Technologies для детекции R201C (с.601C>T, p. Arg201Cys, assay ID: GNAS\_27887\_mu), для детекции R201H (с.602G>A, p. Arg201 His, assay ID: GNAS\_27895\_mu), и GNAS\_rf для амплификации референсной ДНК дикого типа. Приготовление реакционных смесей (master-mixes) проводилось согласно протоколу производителя при увеличенном количестве исследуемой ДНК (рекомендованное производителем количество ДНК для смеси – от 10 до 20 нг, использованное количество ДНК – 50 нг) и было распределено на 96-луночной реакционной плашке для real-time-ПЦР-амплификатора StepOnePlus®. Условия для амплификации были установлены следующие: 95°C в течение 10 мин., затем 5 циклов при температуре 92°C по 15 секунд каждый, затем 1 минута при температуре 58°C, 40 циклов по 15 секунд при температуре 92°C и затем 1 минута при 60°C. Флуоресцентный сигнал регистрировался при последнем цикле амплификации и анализировался с помощью StepOne Software v2.3 (Life Technologies, США) путем определения разницы в пороговых циклах от проб с мутантной и референсной последовательностями GNAS ( $\Delta Ct = Ct_{mut} - Ct_{ref}$ ). Образец считался содержащим мутацию при  $\Delta Ct$  (дельта порогового цикла) со значением менее 9,96.

### 2.2.3.3. Детекция генеративных мутаций *GNAS* и дефектов метилирования

Определение мутаций в гене *GNAS*: ПЦР и прямое секвенирование по Сэнгеру. После денатурации ДНК и отжига праймеров, проводилась амплификация фрагментов геномной ДНК, охватывающих кодирующую последовательность *GNA*. Праймеры были подобраны по транскрипту NM\_000516.4, кодирующую *Gas*, с примыкающими участками интронов. После электрофореза и очистки продуктов ПЦР проводилось их секвенирование на автоматическом секвенаторе ABI Genetic Analyzer 3130 (Applied Biosystems, США).

Определение делеций и дефектов метилирования в локусе *GNAS* и делеций гена *STX16*: метил-специфическая мультиплексная амплификация лигированных зондов (Methylation-Specific Multiplex LiGation-dependent Probe Amplification (MS-MLPA®, MRC-Holland). Метод позволяет оценивать статус метилирования исследуемой последовательности геномной ДНК, наличие делеций и дупликаций. Каждый MLPA зонд состоит из двух олигонуклеотидов. Во время стадии гибридизации зонды связываются с комплементарными участками ДНК, ограничивая начало и конец лигирования. При лигировании происходит сшивка двух MLPA-олигонуклеотидов в один, который в дальнейшем подвергается амплификации. Во время стадии лигирования добавляется метил-чувствительная *HhaI*-рестриктаза. Если зонды гибридизировались с неметилированным участком ДНК, то под воздействием *HhaI*-рестриктазы происходит расщепление неметилированных последовательностей GCGC. Далее во время ПЦР лигированные зонды подвергаются амплификации. Условия для гибридизации, лигирования и амплификации были установлены в соответствии с протоколом проведения исследования MS-MLPA® MRC-Holland. Детекция ПЦР-ампликонов проводится во время электрофореза за счет добавления флуоресцентных меток. Расщепленные олигонуклеотиды не амплифицируются и не дают сигнал, что дает информацию о наличии неметилированных участков. После гибридизации каждый исследуемый образец был разделен на две части, одна из



которых использовалась для оценки наличия делеций в локусе *GNAS*, включая дифференциально метилированные региона и ген *STX16* (MLPA). В другую часть исследуемого образца во время стадии лигирования добавлялась метил-чувствительная *NhaI*-рестриктаза, фермент распознающий неметилированную последовательность GCGC. Если в стадию гибридизации зонды соединялись с комплементарным неметилированным участком ДНК, то под воздействием *NhaI*-рестриктазы происходило расщепление неметилированных последовательностей GCGC. Далее во время ПЦР лигированные зонды подвергались амплификации. Детекция ПЦР-ампликонов проводилась во время электрофореза за счет добавления флуоресцентных меток. Каждый ампликон давал сигнал, отображаемый в виде пика определенной длины в соответствии с длиной ампликона. Зонды, расщепленные *NhaI*-рестриктазой не амплифицировались и не давали сигнал, что свидетельствовало о наличии неметилированных участков. Норма длины пиков определялась при сравнении результатов образцов пациентов и контроля. Статус метилирования оценивался при сравнении результатов амплификации двух частей одного образца - части, где ПЦР-амплификации не предшествовало добавление *NhaI*-рестриктазы и части образца, подвергшегося воздействию *NhaI*-рестриктазы во время стадии лигирования. Анализ результатов проводился с использованием приложения Coffalyser (MRC-Holland).

### 2.3. Анализ результатов

Статистическая обработка данных проводилась с помощью прикладных программ Statistica 13.2 En (StatSoftInc., USA). При анализе данных использовалось руководство по применению прикладных программ Statistica [137]. Для описания количественных данных выборки указывалось число объектов исследования и медиана с интерквартильным размахом в виде Me [Q1;Q3]. Качественные данные выборки представлялись с указанием абсолютной и относительной частот признака. Относительная частота признака выражалась в процентах в виде целых чисел для выборок с числом объектов от 20 до 100. Числовые данные округлялись по правилам

арифметического округления. Ширина распределения относительной частоты признака представлялось в виде 95% доверительного интервала с указанием нижней и верхней границы, рассчитанного методом Клоппера-Пирсона. Для оценки различий между выборками использовались критерии непараметрической статистики. Сравнение независимых групп по количественным признакам проводилось путем проверки статистических гипотез с помощью U-критерия Манна-Уитни. Для сравнения зависимых групп по количественным и качественным порядковым признакам использовался критерий Вилкоксона. Критический уровень значимости различий принимался равным 0,05.

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 3.1. Клиническая характеристика пациентов с ПГП

*Количество пациентов.* Обследовано 38 пациентов с ПГП из 37 семей: 36 неродственных случая, 2 пациента являлись братом и сестрой.

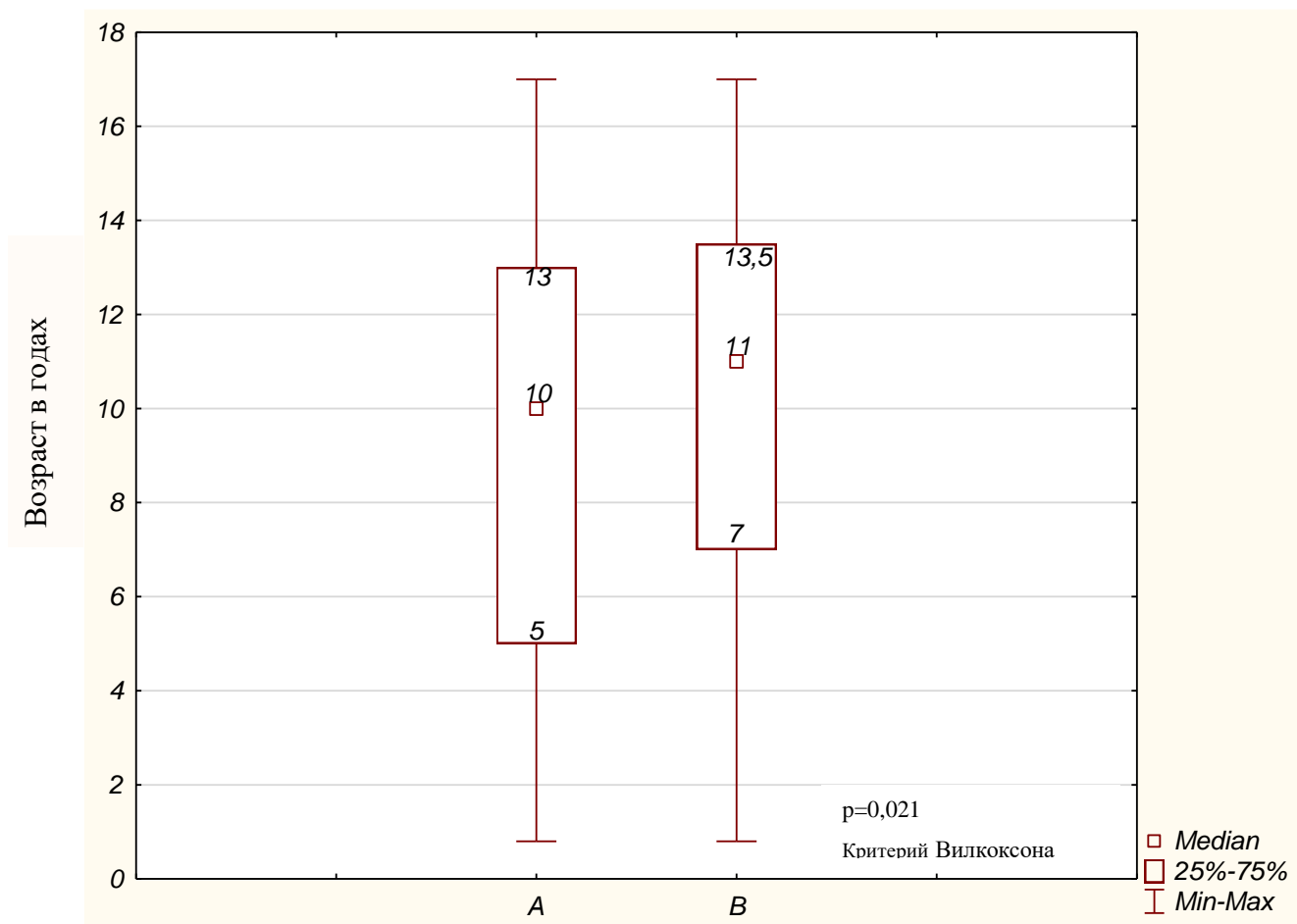
*Возраст пациентов.* Медиана возраста на момент диагностики составила 11,8 лет [8,9; 13,2], возраст варьировал от 0,8 до 17 лет

*Особенности наследственности.* Клинические признаки НОО у одного из родителей отмечались в трех случаях из 37 семей (8%; 3/37).

*Причина первичного обращения к врачу (манифестация).* В контексте ПГП под манифестацией заболевания имеется в виду, скорее, первый признак болезни, обративший на себя внимание и послуживший поводом обращения к врачу. У 68% детей (95% ДИ: 51% - 83%, 26/38) заболевание манифестировало различными проявлениями гипокальциемии. У 24% пациентов (95% ДИ: 11% - 40%, 9/38) поводом для обращения к врачу явилось раннее (с 2-3 летнего возраста) прогрессирующее ожирение, из них у трех детей с ожирением при обследовании была диагностирована субклиническая гипокальциемия. Один пациент (3%, 95% ДИ: 0,1% - 14%, 1/38) был обследован в связи с заболеванием у сестры, у двух пациенток признаки резистентности к ПТГ были выявлены при обследовании по поводу брахидактилии (5%, 95% ДИ: 1% - 18%, 2/38)

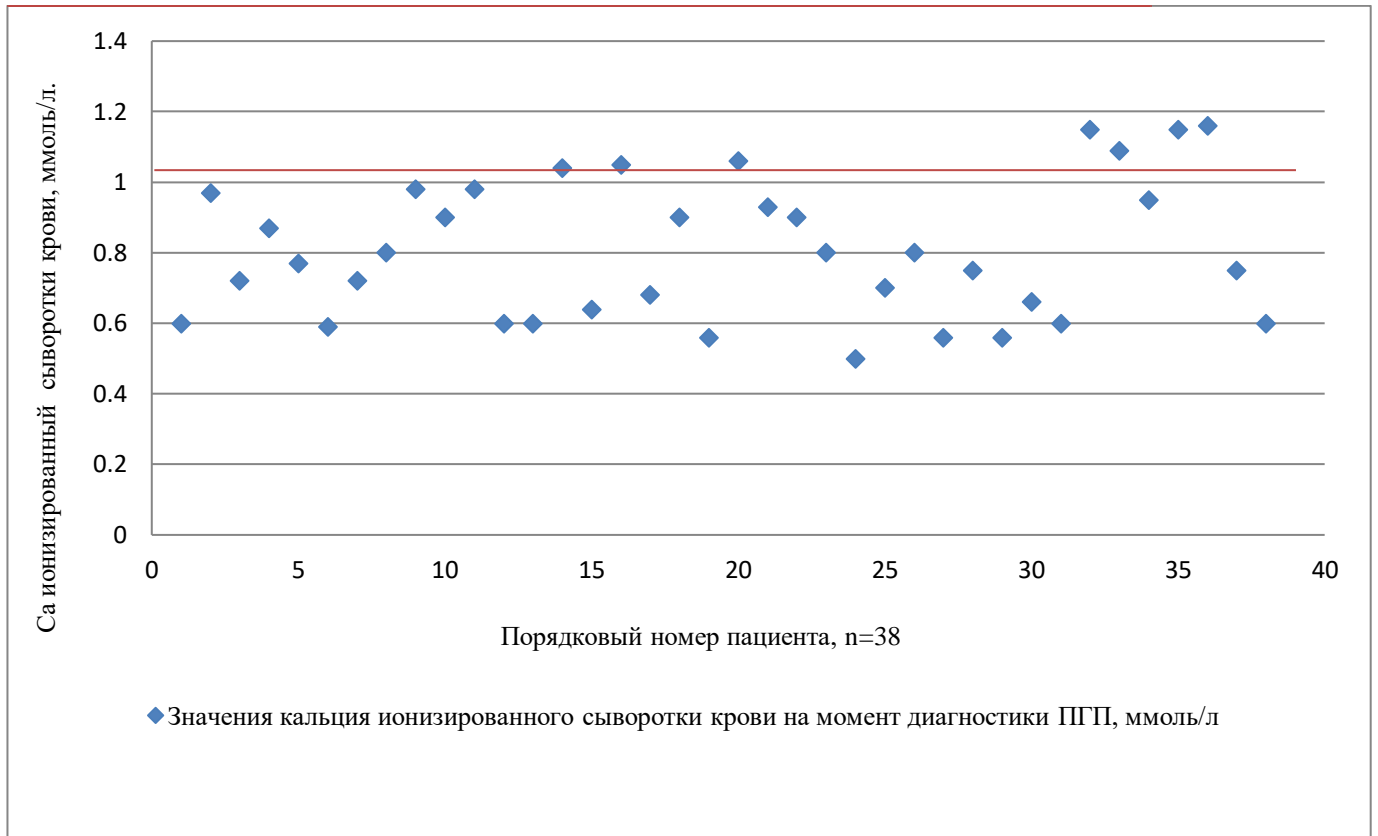
*Характеристика клинических проявлений гипокальциемии.* Проявления гипокальциемии отмечались у 29 детей (76%, 95% ДИ: 60% - 89%, 29/38), из них у 26 пациентов (90%, 95% ДИ: 73% - 98%, 26/29) гипокальциемия явилась первым проявлением заболевания, у трех других пациентов (10%, 95% ДИ: 2% - 27%, 3/29)

первым признаком заболевания было ожирение. Тонические судороги кистей, стоп, икроножных мышц отмечались у 41% (95% ДИ: 24% - 61%, 12/29), в 45% случаях (95% ДИ: 26% - 64%, 13/29) отмечались генерализованные судороги с нарушением сознания, у 10% пациентов (95% ДИ: 2% - 27%, 3/29) возникали эпизоды ларингоспазмов. У одного пациента (3%, 95% ДИ: 0,1% - 18%, 1/29) клиническим проявлением гипокальциемии являлись эпизоды потери сознания на фоне физической нагрузки без других клинических проявлений гипокальциемии. При этом биохимически отмечалась выраженная гипокальциемия (кальций ионизированный 0,56 ммоль/л) и синдром удлинённого QT по ЭКГ. Отмечалась тенденция к поздней постановке диагноза (более чем через 6 месяцев после манифестации судорожного синдрома) со статистически значимой разницей между возрастом манифестации гипокальциемии и возрастом на момент постановки диагноза ( $n=29$ ,  $p=0,021$ ; критерий Вилкоксона): у 45% пациентов с судорожным синдромом (95% ДИ: 26% - 64%, 13/29) первоначально был установлен диагноз эпилепсия и назначена противосудорожная терапия. Продолжительность противосудорожной терапии у таких пациентов составляла от 6 мес. до 7 лет. Данные по возрасту на момент дебюта гипокальциемических судорог и по возрасту на момент постановки диагноза представлены на рисунке 3.

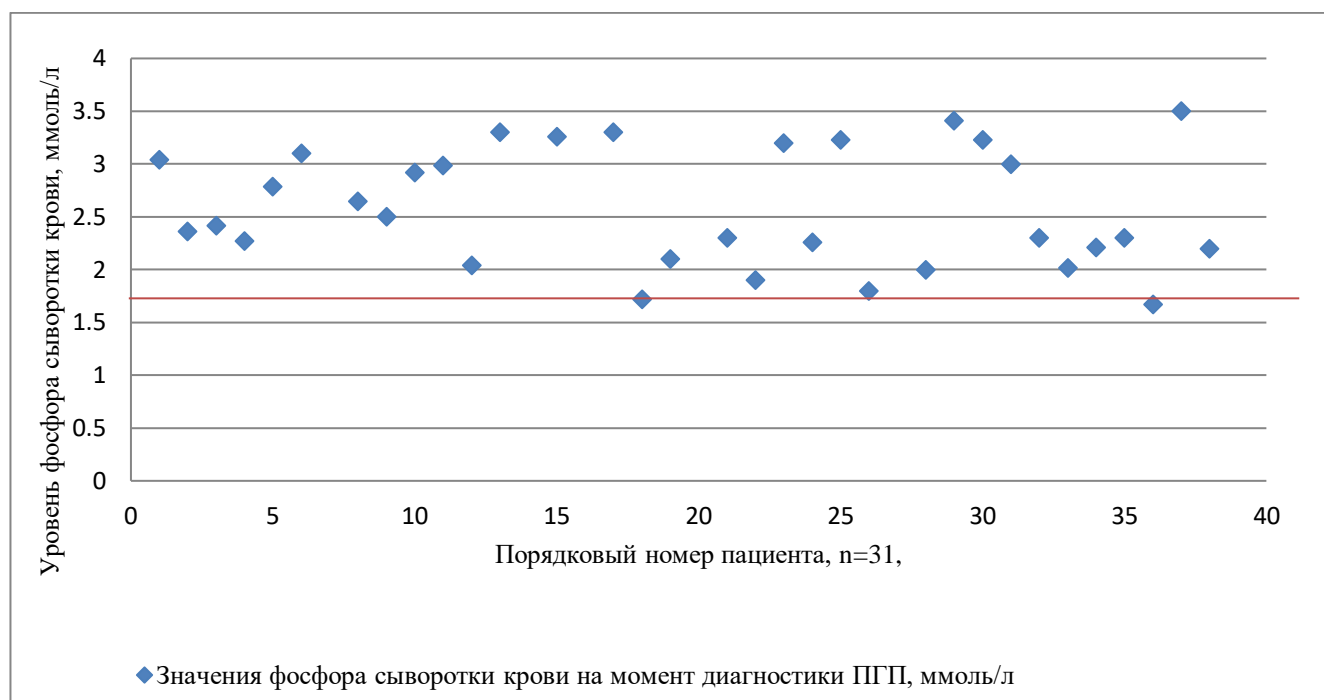


**Рисунок 3. Диаграмма диапазонов возраста дебюта судорожного синдрома и возраста диагностики гипокальциемии, n=29.** По оси ординат: возраст в годах. По оси абсцисс: А – возраст пациентов на момент манифестации судорожного синдрома. В – возраст на момент диагностики гипокальциемии.

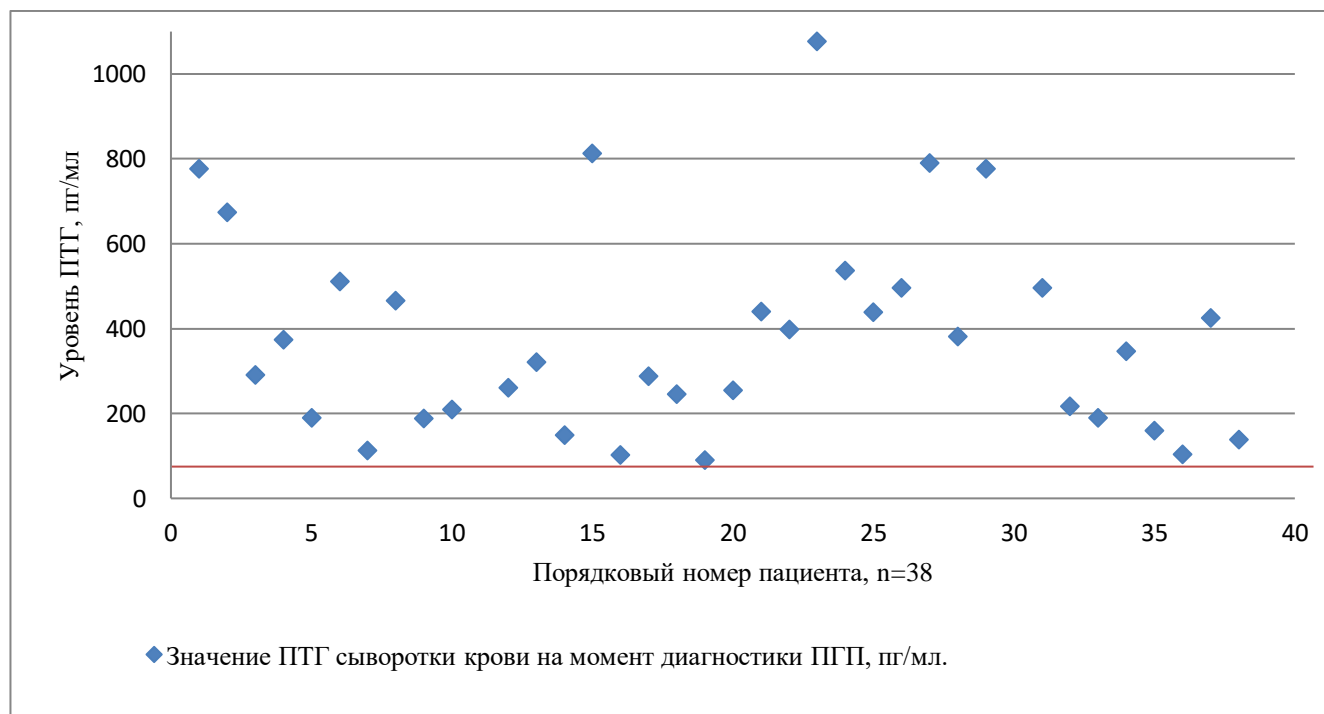
*Данные кальций-фосфорного обмена на момент диагностики заболевания.* На момент диагностики заболевания уровень ПТГ был повышен у 100% пациентов (95% ДИ: 91% - 100%, 38/38), уровень фосфора был повышен у 91% пациентов с измеренным фосфором на момент диагностики ПГП (95% ДИ 76% - 98%, 30/33), уровень кальция сыворотки крови был ниже нормы у 82% пациентов (95% ДИ: 66% - 92%, 31/38), у 18% пациентов (95% ДИ: 8% - 34%, 7/38) уровень кальция ионизированного был в пределах нормы на момент диагностики и гипокальциемия развилась позднее. Данные об уровнях кальция, фосфора и ПТГ сыворотки крови на момент диагностики ПГП обмена представлены на рисунках 4-6 соответственно.



**Рисунок 4. Уровень ионизированного кальция сыворотки крови у пациентов на момент первичного обследования. n=38. Красной линией отмечена нижняя граница нормы Са ион (1,03 ммоль/л).**



**Рисунок 5. Уровень фосфора сыворотки крови, ммоль/л, на момент диагностики гипокальциемии.** По оси ординат: уровень фосфора сыворотки крови, ммоль/л. По оси абсцисс: порядковый номер пациента, n=31. Красной линией отмечена верхняя граница нормы фосфора (1,78 ммоль/л).

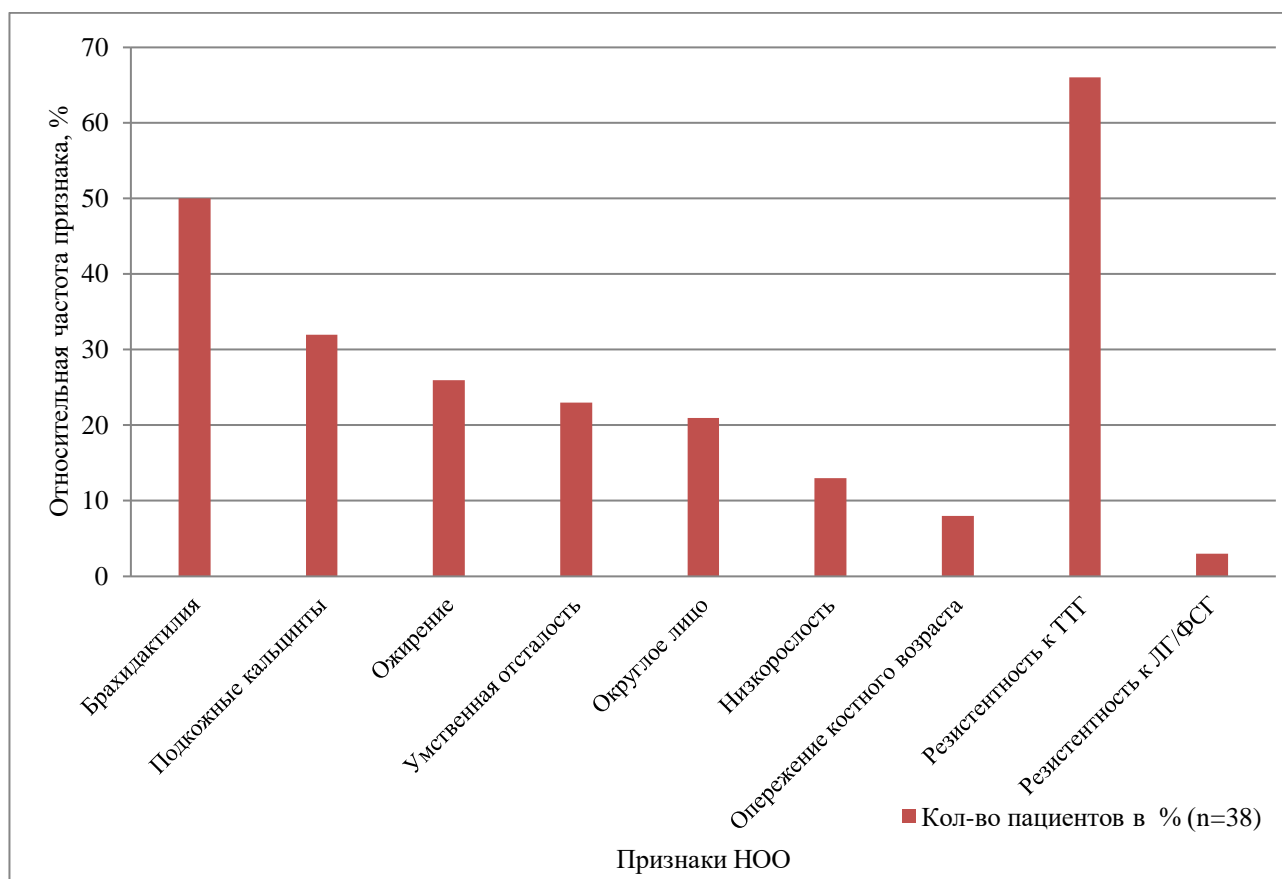


**Рисунок 6. Значение ПТГ сыворотки крови на момент диагностики ПГП.** Красной линией отмечена верхняя граница нормы ПТГ (68 пг/мл).

*Фенотип наследственной остеодистрофии Олбрайта.* Брахидактилия встречалась в 50% случаев (95% ДИ: 33% - 67%, 19/38), как в сочетании только с резистентностью к ПТГ, так и в комбинации с другими компонентами НОО. Частота встречаемости подкожных кальцификатов составила 32% (95% ДИ: 18% - 49%, 12/38). Ожирение отмечено у 10 пациентов (26%, 95% ДИ: 13% - 43%, 10/38). У 8 пациентов (21% ДИ: 10% - 37%, 8/38) обращало на себя внимание наличие округлой формы лица, при этом двое из них не имели других характерных признаков НОО, кроме ожирения и округлого лица. Умственная отсталость различной степени выраженности наблюдалась у 9 пациентов (23%, 95% ДИ: 11% - 40%, 9/38). SDS роста пациентов варьировал от -3,35 до 3,35, медиана SDS роста пациентов -0,41 [-1,24; +0,5]. Низкорослость (SDS роста менее -2) отмечалась у пяти пациентов (13%, 95% ДИ: 4% - 28%, 5/38). Опережение костного возраста было выявлено у трех пациентов 8% (95% ДИ: 2% - 21%, 3/38), при этом у одной из них SDS роста на момент обследования составлял +3 (в возрасте 6 лет)

Фенотипические варианты течения ПГП разделились на четыре группы: изолированная ПТГ-резистентность - 26% (95%ДИ: 13% - 43%, 10/38), ПТГ-резистентность в сочетании наследственной остеодисторфией Олбрайта – 11% (95% ДИ: 3% - 25%, 4/38), мультигормональная резистентность без компонентов НОО - 16% (95%ДИ: 6% - 31%, 6/38), мультигормональная резистентность в сочетании наследственной остеодисторфией - 47% (95% ДИ: 31% - 64%, 18/38). Визуализация распространенности признаков НОО в выборке представлена на рисунке 7, в таблице 3 указаны фенотипические варианты пациентов.





**Рисунок 7. Частота фенотипических признаков наследственной остеодистрофии Олбрайта и мультигормональной резистентности у пациентов с ПГП.**

**Таблица 3. Варианты фенотипов пациентов с ПГП (n=38).**

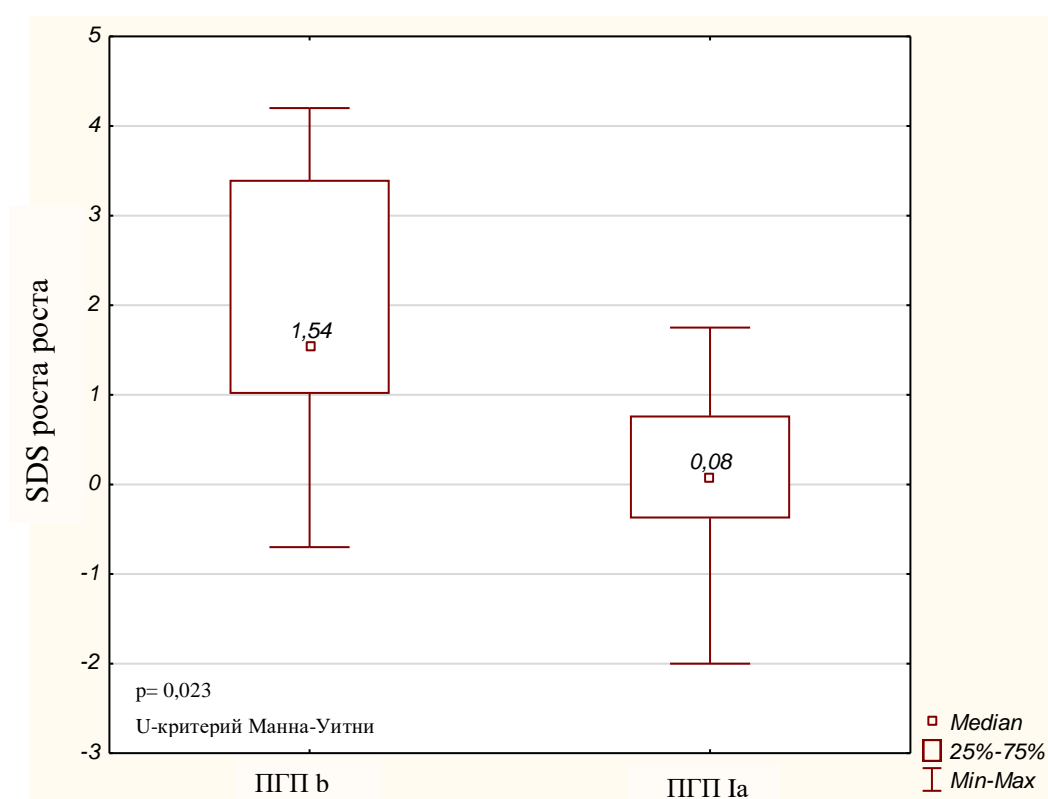
Компоненты ПГП	Кол-во пациентов
Резистентность к ПТГ	10
Резистентность к ПТГ + брахидактилия	2
Резистентность к ПТГ + ожирение + круглое лицо	2

Резистентность к ПТГ и к ТТГ	<b>6</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + Низкорослость+ опережение костного возраста	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + умственная отсталость	<b>2</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ +брахидактилия + подкожные кальцинаты + ожирение	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + умственная отсталость	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + низкорослость	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + низкорослость + умственная отсталость	<b>3</b>

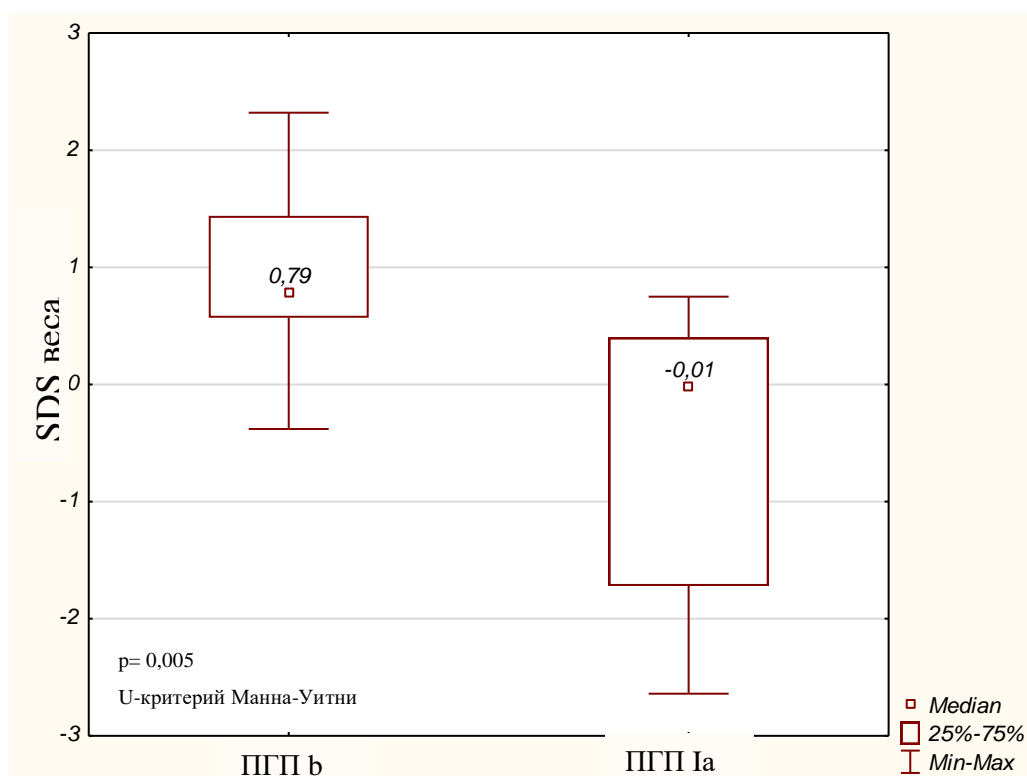
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + ожирение + круглое лицо	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ + к ТТГ + брахидактилия + ожирение + круглое лицо + умственная отсталость + резистентность к ЛГ/ФСГ	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ +брахидактилия + подкожные кальцинаты + ожирение+круглое лицо	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + ожирение+круглое лицо + умственная отсталость	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + ожирение+ круглое лицо +опережение костного возраста	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия +подкожные кальцинаты + ожирение+ круглое лицо + умственная отсталость + опережение костного возраста	<b>1</b>
Резистентность к ПТГ и к ТТГ + подкожные кальцинаты +ожирение +округлое лицо + опережение костного возраста	<b>1</b>

*Гормональная резистентность.* Помимо резистентности к ПТГ в 66% случаев встречалась резистентность к ТТГ (95% ДИ: 49% - 80%, 25/38). В одном случае (с наиболее выраженным фенотипом НОО) была выявлена резистентность к ЛГ/ФСГ (3%, 95 ДИ: 0,1% - 14%, 1/38).

*Оценка весо-ростовых показателей при рождении.* Данные о росте и весе при рождении были доступны у 23 пациентов, из них 13 пациентов с клиническими признаками ПГП Ib и 10 пациентов с клиническими признаками ПГП Ia. При оценке весо-ростовых показателей при рождении отмечены различия в показателях SDS роста при рождении (U-критерий Манна-Уитни,  $p=0,023$ ) и SDS веса при рождении (U-критерий Манна-Уитни,  $p=0,005$ ) Медиана показателей SDS роста и SDS веса при рождении пациентов с ПГП Ia и ПГП Ib указаны в виде диаграмм распределения на рисунках 8 и 9 соответственно.



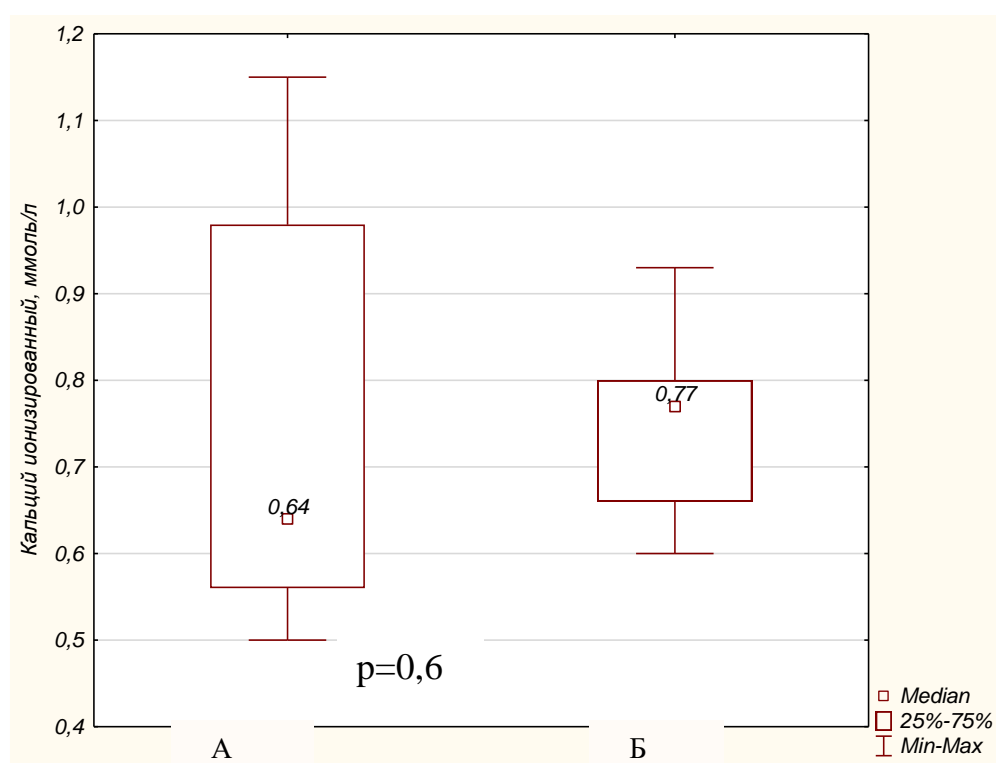
**Рисунок 8. Диаграмма размаха показателей SDS роста при рождении у пациентов с ПГП.** По оси ординат: значение SDS роста пациентов с ПГП при рождении. По оси абсцисс: «ПГП Ib» - значения медианы SDS роста с интерквартильным размахом у пациентов с клинически установленным диагнозом ПГП Ib,  $n=13$ . «ПГП Ia» - значения медианы SDS роста с интерквартильным размахом у пациентов с клинически установленным диагнозом с ПГП Ia,  $n=10$ .



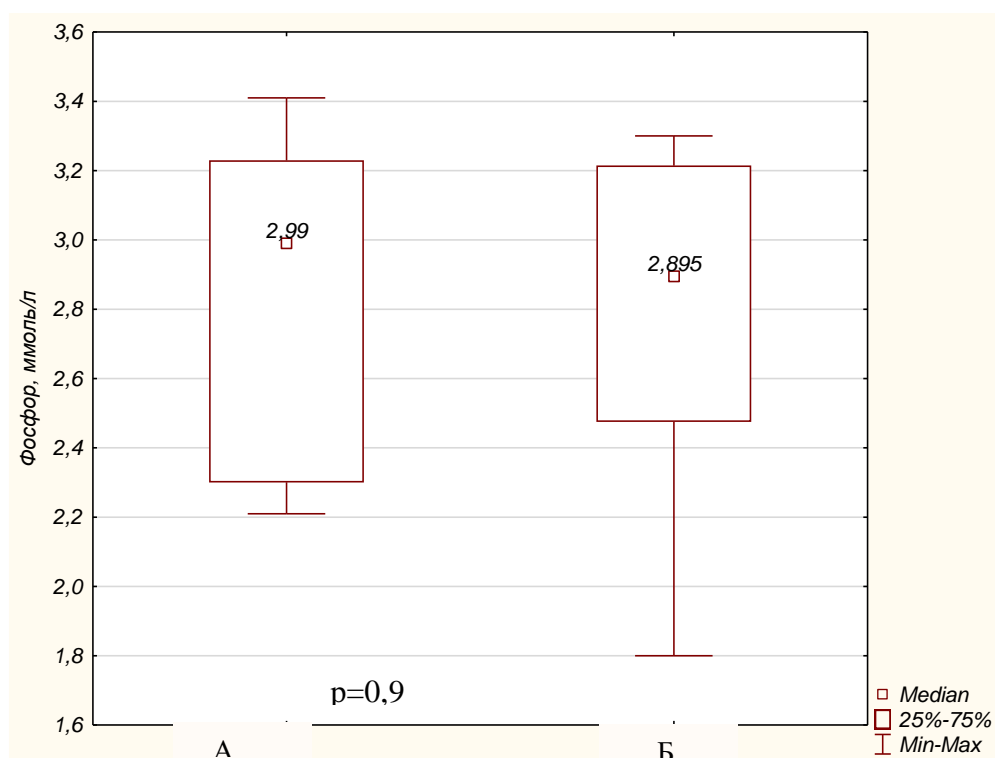
**Рисунок 9. Диаграмма размаха для значений SDS веса при рождении у пациентов с ПГП Ib.** По оси ординат: значение SDS роста пациентов с ПГП при рождении. По оси абсцисс: «ПГП Ib» - значения медианы SDS роста с интерквартильным размахом для ПГП Ib, n=13. «ПГП Ia» - значения медианы SDS роста с интерквартильным размахом у пациентов с ПГП Ia, n=10.

*Осложнения нарушений кальций-фосфорного обмена.* Осложнения нарушений кальций-фосфорного обмена отмечались как среди пациентов со своевременной диагностикой заболевания, так и среди пациентов, у которых период времени от манифестации до диагностики ПГП занял более одного года. Синдром Фара был выявлен у 23 пациентов (61%, 95% ДИ: 43% - 76%, 23/38), из них у пяти отмечались также начальные проявления катаракты (13%, 95% ДИ: 4% - 28%, 5/38), у трех пациентов - признаки гипоплазии эмали (8%, 95% ДИ: 2% - 21%, 3/38). У 14 пациентов (61%, 95% ДИ: 39% - 80%, 14/23) данные осложнения были выявлены уже на момент манифестации или в течение года от момента манифестации гипокальциемии (пациенты со своевременной диагностикой ПГП). У 8 пациентов (35%, 95% ДИ: 16% - 57%, 8/23) с осложнениями длительность клинически выраженных нарушений

кальций-фосфорного обмена составляла более одного года, прежде чем им был диагностирован ПГП и выявлен синдром Фара (пациенты с отсроченным диагнозом). Из пациентов с осложнениями данные значений кальция ионизированного крови на момент первичной диагностики были доступны у 19 пациентов, данные об уровне фосфора сыворотки крови – у 20 пациентов. Распределение данных кальция ионизированного и фосфора сыворотки крови представлено в виде диаграмм диапазонов (рисунки 11 и 12 соответственно). При сравнении группы пациентов со своевременной диагностикой ПГП и группы пациентов с отсроченным диагнозом не выявлено статистически значимых различий по уровню кальция ионизированного ( $p=0,6$ , U-критерий Манна-Уитни) и фосфора сыворотки крови ( $p=0,9$ , U-критерий Манна-Уитни).



**Рисунок 10. Распределение значений ионизированного кальция сыворотки крови, ммоль/л.** По оси ординат: значения Са ион, ммоль/л. По оси абсцисс: «А» - медиана значений Са ион с интерквартильным размахом у пациентов с осложнениями и с ранней диагностикой ПГП,  $n=12$ . «Б» - медиана значений Са ион с интерквартильным размахом у пациентов с осложнениями и с поздней диагностикой ПГП,  $n=7$ .



**Рисунок 11. Распределение значений фосфора сыворотки крови, ммоль/л.** По оси ординат: значения фосфора сыворотки крови, ммоль/л. По оси абсцисс: «А» - медиана значений фосфора с интерквартильным размахом у пациентов с осложнениями и с ранней диагностикой ПГП, n=11. «Б» - медиана значений фосфора с интерквартильным размахом у пациентов с осложнениями и с поздней диагностикой ПГП, n=9.

### 3.2. Результаты молекулярно-генетического исследования гена *GNAS* при различных вариантах ПГП.

Молекулярно-генетическое исследование гена *GNAS* выполнено 32 пациентам. В выборке пациентов с псевдогипопаратиреозом дефекты в *GNAS* выявлены в 75% (95% ДИ: 57 – 89%, 24/32), генные мутации в *GNAS* в 41% (95% ДИ 24% - 59%, 13/32), эпимутации в *GNAS*: 34% (95% ДИ 19% - 53%, 11/32), дефекты в *GNAS* не выявлены 25% (95% ДИ: 11% - 43%, 8/32).

### 3.2.1. ПЦР и прямое секвенирование по Сэнгеру гена *GNAS*

22 пациентам, имевшим признаки НОО, был проведено молекулярно-генетическое исследование гена *GNAS* методом ПЦР с прямым секвенированием по Сэнгеру. Гетерозиготные мутации выявлены в 50% случаев (11/22), в одном из них установлено наследование мутации от матери. Все мутации были патогенны, согласно базе Mutation Taster, и, за исключением одной мутации, выявлены впервые. Описанный ранее молекулярно-генетический дефект был выявлен у 4 человек из 11, двое из которых были родственники. При анализе локализации мутаций по экзонам, установлено, что подавляющее большинство дефектов – 63% мутаций (n=7) были выявлены в 7 экзоне, остальные определялись во 2, 5, 6, 12 экзонах. Характеристика мутаций представлена в таблице 4.

**Таблица 4. Характеристики выявленных мутаций в гене *GNAS* (n=11).**

Экзон	Кол-во пац-ов	нуклеотидная последовательность	аминокислотная последовательность	Тип мутации	Патогенность, MutationTaster	Описана/ впервые выявлена
6	1	NM_000516.4: c.467A>T; c.468T>A	p. D156V p.D156E	Несинонимичная замена	патогенная	Впервые выявлена
7	1	NM_000516.4: c.550dupG	p.V184GfsX6	Дупликация	патогенная	Впервые выявлена
7	4	NM_000516.4: c.565_568delGACT	p.D189MfsX14	Делеция	патогенная	Описана в международной базе данных по мутациям HGMD CD920862
7	2	NM_000516.4: c.576delG	p.A193fsX203	Делеция	патогенная	Впервые выявлена



12	1	NM_000516.4:c.G1032C	p.E344D	Несинонимичная замена	патогенная	Впервые выявлена
2	1	NM_000516.4:c.199delG	p.G68Lfs*32	Делеция	патогенная	Впервые выявлена
5	1	NM_000516.4:c.343insC	p.P117Rfs*139	Инсерция	патогенная	Впервые выявлена

### 3.2.2. Метил-специфическая мультиплексная амплификация лигированных зондов (MS-MLPA)

Пациентам с клинически диагностированным ПГП Ia, у которых не было выявлено мутаций *GNAS* (n=11) и пациентам, у которых не было признаков НОО (клинически диагностированный ПГП Ib, n=21), было выполнено исследование дефектов метилирования *GNAS* и поиск делеций в генах *GNAS* и *STX16*. Делеции в *GNAS* были выявлены у 1 пациента с фенотипом НОО и у одной пациентки с ПГП Ib. Делеции в *STX16* в сочетании с нарушением метилирования A/B, выявлены в трех случаях, из них два случая – спорадические и в одном случае наследование от матери. Изолированное нарушение метилирования *GNAS* A/B:CCT-ДМР выявлено у двух пациентов. Множественное нарушение метилирования *GNAS* CCT-ДМР выявлено в 6 случаях, при этом отмечались вариации клинических проявлений от изолированной резистентности к ПТГ до сочетания резистентности к ПТГ и ТТГ с брахидактилией. У 8 пациентов не обнаружено молекулярно-генетических дефектов *GNAS* и *STX16*.

### 3.2.3. Соответствие спектра клинических проявлений характеру дефекта *GNAS*

Результаты молекулярно-генетического исследования с указанием фенотипа пациентов представлены в таблице №5.

**Таблица 5. Клинические признаки и данные молекулярно-генетического исследования (n=32).**

	Клиническая картина	Наличие/отсутствие мутации гена <i>GNAS</i> нуклеотидная последовательность (NM_000516.4)	Делеции <i>GNAS</i> , экзоны	Делеции <i>STX16</i> , экзоны	Нарушение метилирования	Дупликация
1.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ +брахидактилия + подкожные кальцинаты + ожирение+круглое лицо	-	7,9,11,13	-	-	-
2.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ +брахидактилия + подкожные кальцинаты + ожирение	c.467A>T; c.468T>A	-	-	-	-
3.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + умственная отсталость +	c.576delG	-	-	-	-

	ожирение+круглое лицо					
4.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + низкорослость + умственная отсталость	c.576delG	-	-	-	-
5.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + низкорослость	c.550dupG	-	-	-	-
6.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + низкорослость + умственная отсталость	c.565_568del GACT	-	-	-	-
7.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + умственная отсталость + подкожные кальцинаты	c.565_568del GACT	-	-	-	-
8.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ +	c.G1032C	-	-	-	-

	брахидактилия + ожирение + круглое лицо					
9.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + Брахидактилия + умственная отсталость	c.565_568del GACT	-	-	-	-
10.	Резистентность к ПТГ + к ТТГ + Брахидактилия + ожирение + круглое лицо + умственная отсталость + резистентность к ЛГ/ФСГ	c.565_568del GACT	-	-	-	-
11.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + п/к кальцинаты+ожи рение+округлое лицо	c.199delG p.F68LfsX32.	-	-	-	-
12.	Резистентность к ПТГ + к ТТГ + Брахидактилия + ожирение + круглое лицо + умственная отсталость + опережение к.в.	c.343insC	-	-	-	-

13.	Резистентность к ПТГ	Не проводилось	-	-	A/B, NESP55, XLas	-
14.	Резистентность к ПТГ + гипокалиемия	-	1-2	-	-	-
15.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ	Не проводилось			A/B, NESPAS, NE SP55, XLas	
16.	Резистентность к ПТГ + ожирение + круглое лицо	Не выявл	-	5-6 экзоны	A/B	-
17.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ	Не проводилось	-		A/B	+
18.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + Брахидактилия + Подкожные кальцинаты	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.
19.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ	Не выявл.	-	-	A/B, NESPAS, NE SP55, XLas	-
20.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + брахидактилия + подкожные кальцинаты + низкорослость + умственная отсталость	Не выявл	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.

21.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ	Не проводилось		5-6 экзоны	A/B	
22.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + Брахидактилия	Не выявл		5-6 экзоны	A/B	
23.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + Брахидактилия + Низкорослость	Не выявл	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.
24.	Резистентность к ПТГ + ожирение + круглое лицо	Не выявл.			A/B, NESPAS, NE SP55, XLas	
25.	Резистентность к ПТГ + брахидактилия	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.
26.	Резистентность к ПТГ	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.
27.	Резистентность к ПТГ				A/B, NESP55	
28.	Резистентность к ПТГ				A/B	
29.	Резистентность к ПТГ		Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.
30.	Резистентность к ПТГ				A/B, NESPAS, NE SP55, XLas	
31.	Резистентность к ПТГ+брахидактилия	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.

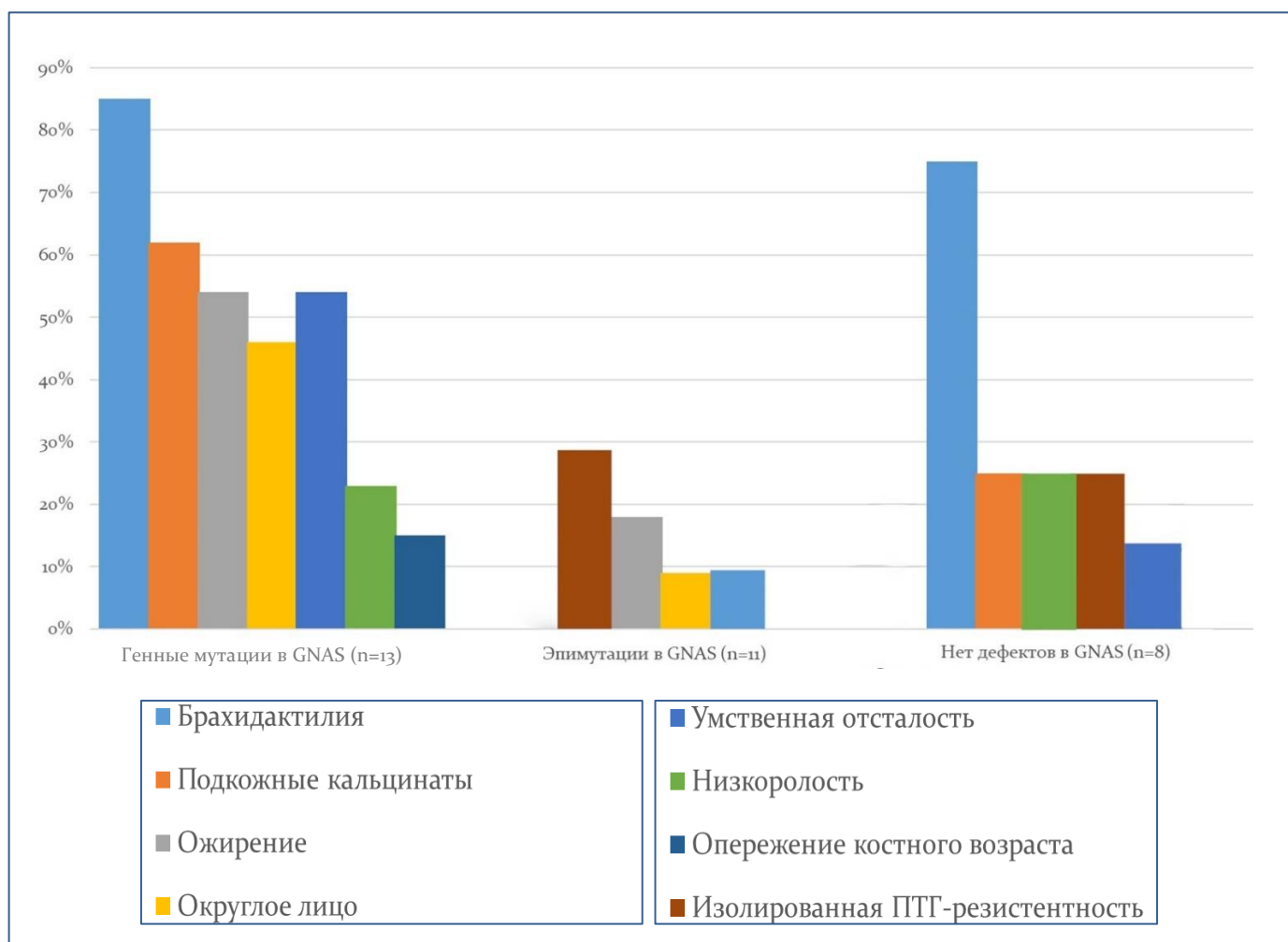
32.	Резистентность к ПТГ и к ТТГ + Брахидактилия	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.	Не выявл.
-----	--	-----------	-----------	-----------	-----------	-----------

Брахидактилия, ожирение, округлое лицо, резистентность к ТТГ встречались как при мутациях и делециях в гене *GNAS*, так и при дефектах метилирования. У пациентов с низкорослостью, подкожными кальцинатами, умственной отсталостью определялись либо мутации и делеции в *GNAS* либо патологии локуса *GNAS* выявлено не было. Также не было выявлено дефектов *GNAS* у двух пациентов с изолированной резистентностью к ПТГ.

У пациентов с мутациями в гене *GNAS* (n=11) наследственный характер установлен в одной семье. У брата и сестры (пациенты №3 и №4 в таблице №5), унаследовавших мутацию от матери, отмечались разные фенотипы. У матери пациентов фенотипических особенностей и нарушений кальций-фосфорного обмена не определялось.

Пациент с крупной делецией *GNAS* (пациент №1 в таблице №4) также унаследовал этот дефект от матери, в фенотипе которой определялась низкорослость, брахидактилия и подкожные кальцинаты в отсутствие изменений кальций-фосфорного обмена.

Компоненты НОО и мультигормональной резистентности в зависимости от характера дефекта *GNAS* представлены на рисунке 12.



**Рисунок 12. Компоненты НОО и мультигормональной резистентности в зависимости от характера дефекта GNAS.**

Из трех пациентов с микроделециями в *STX16* в сочетании с нарушением метилирования *GNAS A/B:CCT*-ДМР в одном случае (пациент №21 в таблице №5) установлено наследование от матери. Пациентка имела нормальные показатели роста и веса при рождении (таблица №6), у матери не было выявлено особенностей фенотипа и нарушений кальций-фосфорного обмена.



**Таблица 6. Показатели роста и веса при рождении у пациентов с микроделециями *STX16*.**

Номер пациента	SDS роста при рождении	SDS веса при рождении	Делеции STX16
16	4,2	1,44	STX16 3 kb del
21	-0,96	-0,69	STX16 3 kb del
22	2,5	0,2	STX16 3 kb del

### 3.3. Клиническая характеристика пациентов с синдромом МОБ

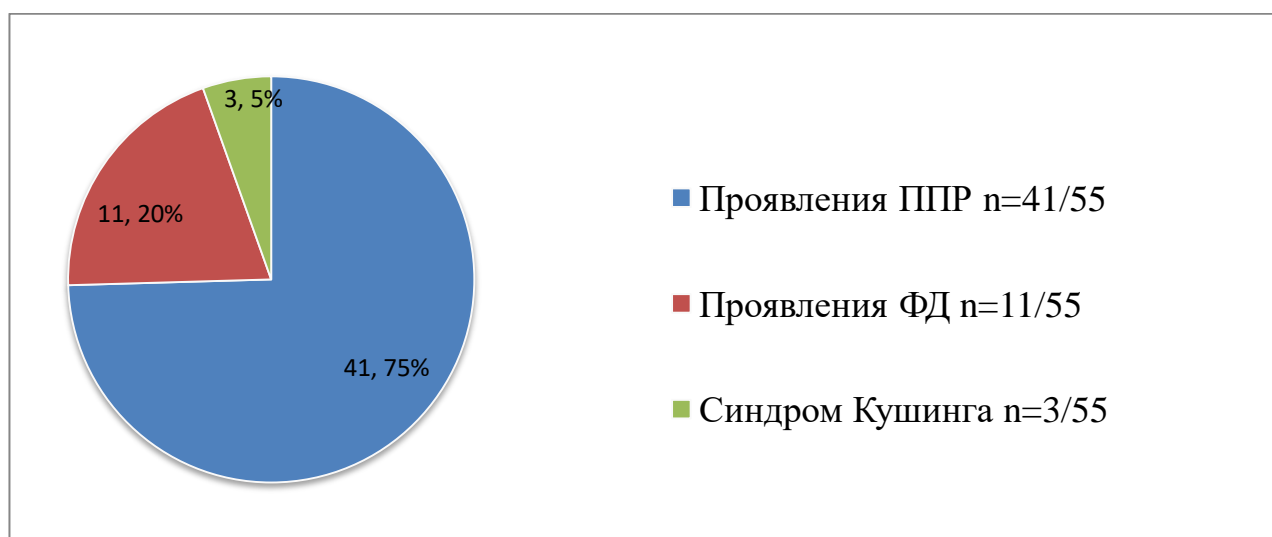
В исследование были включены 66 пациентов, из них 55 пациентов (44 девочки, 11 мальчиков) соответствовали критериям синдрома МОБ и 11 пациентов имели лишь один из трех критериев синдрома МОБ (пППР у 10 девочек и ФД у одного мальчика).

Медиана возраста пациентов на момент первичного обследования составляла 2 года [1,7;5,5], возраст варьировал от 0,5 до 11 лет. Распространенность найденных признаков синдрома МОБ представлена в таблице 7. Варианты манифестации представлены на рисунке 13.

**Таблица 7. Частота проявлений различных признаков синдрома МОБ.**

Признак синдрома МОБ	% пациентов (n=55, 44 девочки, 11 мальчиков)
Фиброзная дисплазия	78% (95% ДИ: 65% - 88%, 43/55),
Пятна цвета «кофе-с-молоком»	84% (95% ДИ: 71% - 92%, 46/55)
Девочки: пППР	98% (95% ДИ: 88% - 99%, 43/44)

<b>Мальчики: макроорхидизм без ППР</b>	64 % (95% ДИ: 31% - 89%, 7/11)
<b>Мальчики: пППР</b>	36% (95% ДИ: 11% - 69%, 4/11)
<b>Диффузные/узловые изменения щ.ж. (УЗИ)</b>	35% (95% ДИ: 22% - 49%, 19/55)
<b>Тиреотоксикоз</b>	13% (95% ДИ: 5% - 24%, 7/55)
<b>Гипофосфатемия</b>	33% (95% ДИ: 21% - 47%, 18/55)
<b>Гиперсекреция СТГ</b>	26% (95% ДИ: 15% - 39%, 14/55)
<b>Аденома гипофиза (СТГ-секретирующая)</b>	7% (95% ДИ: 2% - 15%, 4/55)
<b>Синдром Кушинга</b>	9% (95% ДИ: 3% - 20%, 5/55)
<b>Тахикардия (не связанная с тиреотоксикозом)</b>	20 % (95% ДИ: 10% - 33%, 11/55)



**Рисунок 13. Варианты клинической манифестации синдрома МОБ - причина первичного обращения к врачу, n=55.**

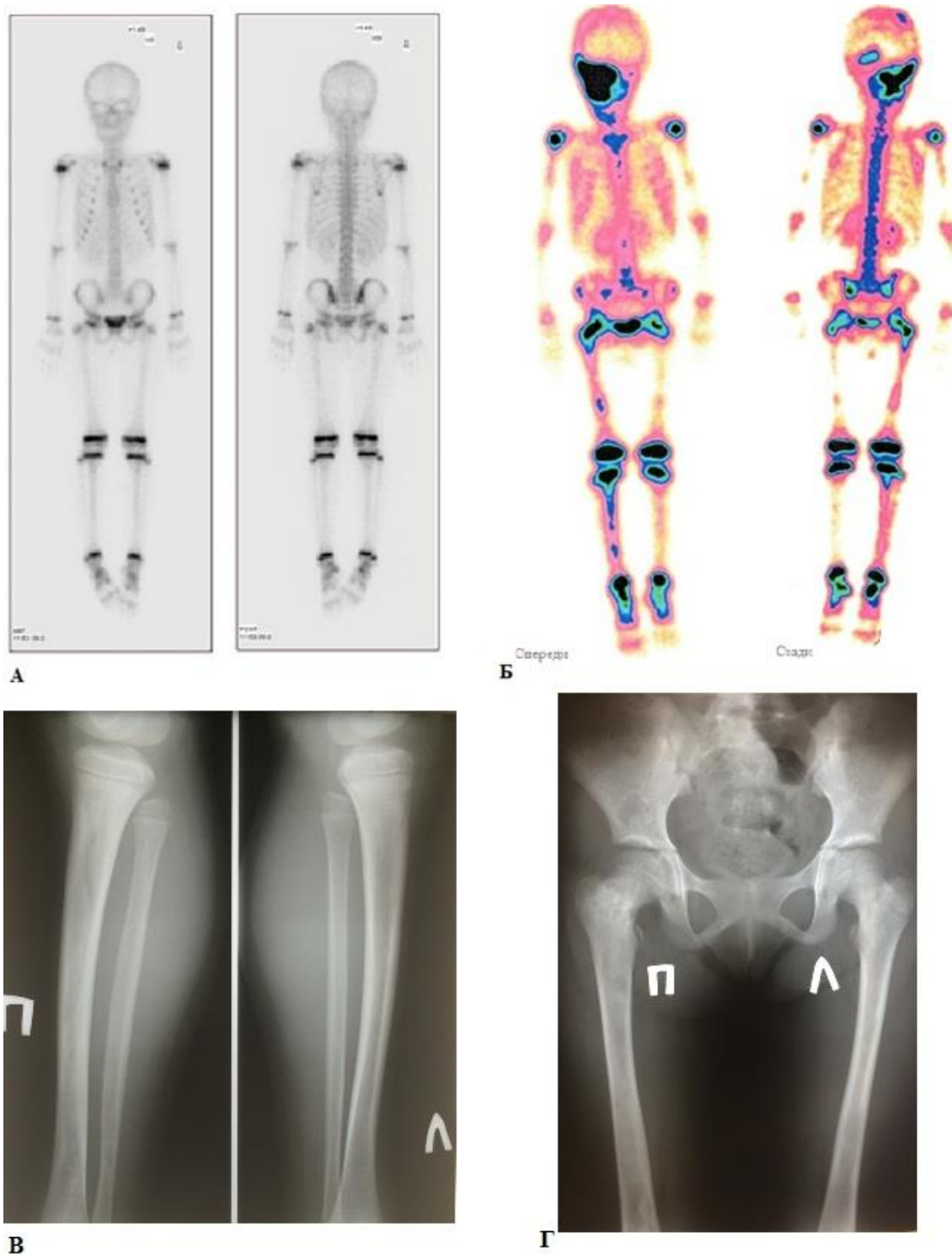
*Фиброзная дисплазия* отмечалась у 78% детей (95% ДИ: 65% - 88%, 43/55) с синдромом МОБ и у одного ребенка среди пациентов с подозрением на синдром МОБ (1/11).

У 18% пациентов с синдромом МОБ (95% ДИ: 9% - 31%, 10/55, 9 мальчиков и 1 девочка) проявления ФД (деформации костей и патологические переломы) являлись поводом для первичного обследования.

У 49% (95 ДИ: 35% - 63%, 27/55, девочки) имелись проявления ФД при первичном обследовании, хотя поводом для обращения к врачу у этих детей послужили проявления пППР. Из них 37% (10/27, девочки) имели видимые деформации при осмотре, у остальных 63% (17/27, девочки) ФД была выявлена при инструментальной диагностике. У 6 пациентов (6/55, 1 мальчик, 5 девочек) не было проведено скрининга ФД на момент первичного обследования и ФД была диагностирована позже, в связи с появлением клинических проявлений в виде боли в конечностях, деформаций и патологических переломов, развившихся в сроки наблюдения от 6 месяцев до 5 лет от момента постановки диагноза синдром МОБ.

Возраст детей на момент выявления ФД варьировал от 0,9 до 13 лет, медиана возраста на момент диагностики ФД составила 4 года [2,5; 6]. Возраст детей на момент возникновения первого патологического перелома был от 0,9 до 10,5 лет, медиана 4,6 лет [3,4; 6,8].

Диагностика ФД проводилась методами остеогаммасцинтиграфии и рентгенографии. (см.рисунки 14, 15) Наиболее часто очаги ФД определялись в бедренных костях (65%) и костях черепа (62%), реже – в костях верхнего пояса (предплечье 40%, плечо 26%), костях голени (35%), у 7 человек отмечались очаги повышенного накопления РФП в ребрах (16%), у 5 – в позвонках (11%), ФД костей стоп и кистей встречалась наиболее редко (5% и 2% соответственно).



**Рисунок 14. Остеогаммасцинтиграфия при фиброзной дисплазии.** А – нормальное распределение РФП в зонах роста. Б, В, Г – девочка Т., 5 лет, результаты остеогаммасцинтиграфии и рентгенографии. Б - очаги повышения РФП в области проекции костей черепа, таза, нижних конечностей. В – рентгенограмма костей голени. Неравномерные участки разрежения на протяжении диафиза правой большеберцовой кости. Г - рентгенограмма тазовых и бедренных костей. Очаги ФД в правой бедренной кости.



**Рисунок 15. Вид очагов фиброзной дисплазии различной локализации на рентгенограммах.**

При определении очагов ФД, угрожаемых по развитию переломов конечностей, рекомендовалось выполнение оперативного лечения с целью предупреждения развития переломов. Риск перелома оценивался специалистами травматологами-ортопедами при определении толщины коркового слоя кости по данным МСКТ. Объем операции включал в себя иссечение фиброзных очагов, костную пластику аллокостью с фиксацией металлическими пластинами на винтах. Превентивно операции в виде иссечения фиброзных очагов, костной пластики аллокостью были выполнены 4 пациентам на бедренных костях. Из них рецидив перелома в месте проведения остеотомии отмечался у одной пациентки через год после оперативного вмешательства. У другой пациентки, несмотря на оперативное лечение, развилась деформация оперированной кости (см. рисунок 16). Медиана периода постоперационного наблюдения за пациентами 4,5 [3,3; 5,3] года.

Оперативное лечение по факту перелома в виде иссечения фиброзных очагов, костной пластики аллокостью с фиксацией металлическими пластинами на винтах на бедренных и/или большеберцовых костях было выполнено 6 пациентам. Из них у 3 пациентов – однократное оперативное вмешательство, у 3 пациентов – многократные операции по поводу множественных очагов ФД нижних конечностей. У одного пациента отмечались повторные переломы оперированной кости (см. рисунок 17). У 2 пациентов возникали переломы других локализаций. У всех 3 вышеупомянутых пациентов отмечались деформации оперированных костей различной степени выраженности (рисунок 16 Б, рисунок 17 А, Б, Г,Д). Медиана периода постоперационного наблюдения за пациентами 4[1;8] года.

Распространенность ФД в костях черепа оценивалась с помощью МСКТ (см.рисунок 18). По поводу ФД костей черепа оперативное лечение выполнено 3 пациентам – на верхней челюсти с целью восстановления воздушности придаточных пазух носа и купированием эстетических дефектов в возрасте 5, 6 и 8 лет. У двух пациентов через год после оперативного лечения отмечался рецидив, потребовавший в одном из этих случаев повторного оперативного вмешательства в связи с рецидивом

в виде выраженного болевого синдрома с прогрессирующим разрастанием фиброзных масс. На рисунке 19 представлены данные о локализации очагов ФД, частоте встречаемости переломов и деформаций.



**Рисунок 16. Фиброзная дисплазия нижних конечностей у девочки Д., наблюдение в динамике. А** – в возрасте 3,4 лет, до переломов и операций. Клинически: утиная походка. **Б** – в возрасте 5,8 лет. Превентивное оперативное лечение очагов ФД левой бедренной кости в 3,5 года, оперативное лечение очагов ФД правой бедренной кости в 4,5 года, через 6 месяцев после перелома правой бедренной кости. Клинически: деформация бедренных костей по типу «пастушьего посоха», больше выраженная слева, утиная походка. **В** – рентгенограмма левой бедренной кости, аллотрансплантат и металлоконструкция левой бедренной кости.

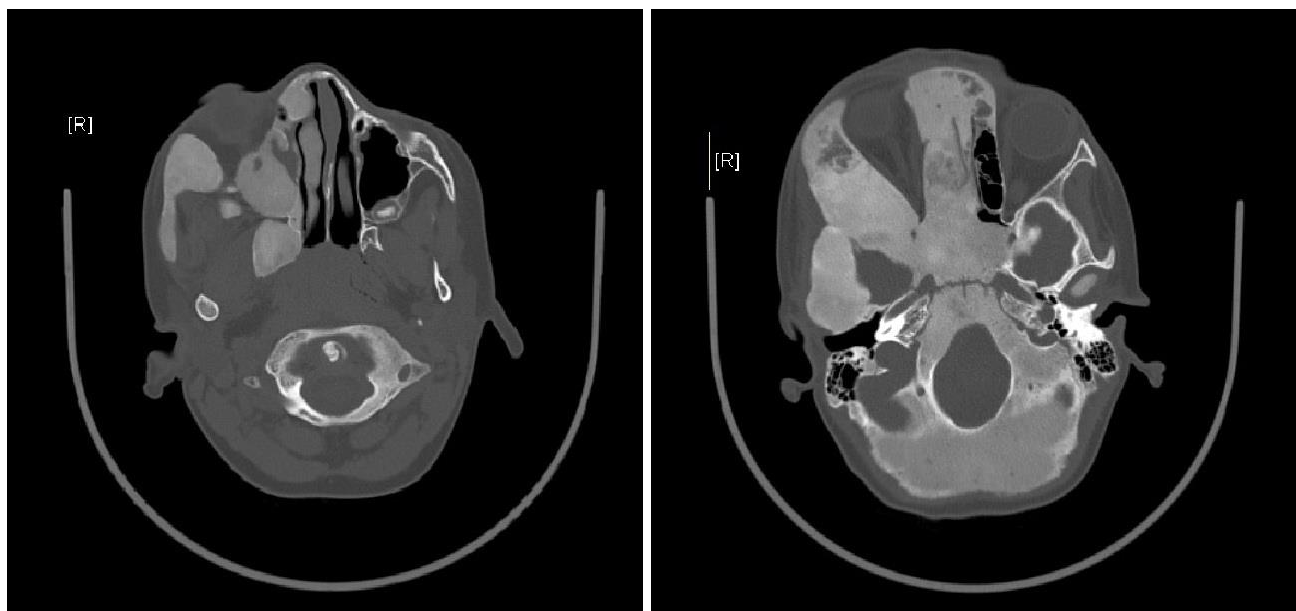




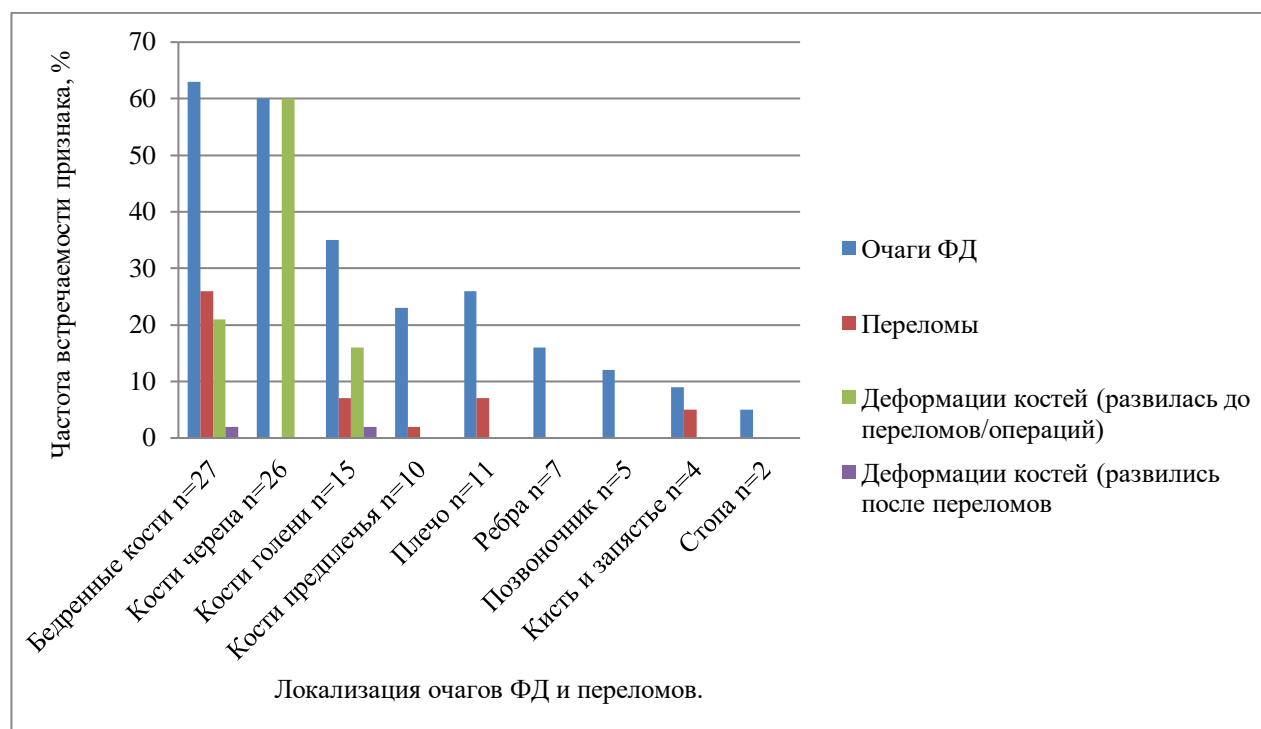
**Рисунок 17. Фиброзная дисплазия у мальчика Р. в динамике. А, Б, В – в возрасте 5,5 лет. А - деформация левой большеберцовой кости. Состояние после перелома правых костей голени (в возрасте 2,5 лет, лечение – гипсовая иммобилизация), перелома и оперативного лечения левой большеберцовой кости (в возрасте 4,5 лет). Б – рентгенограмма большеберцовой кости, через 1 год после перелома и оперативного лечения. В – рентгенограмма левой бедренной кости через 3 года после оперативного лечения. Г, Д, Е – в возрасте 7 лет. Г – деформация левой**



большеберцовой кости. Д – рентгенограмма большеберцовой кости, через 2,5 года после перелома и оперативного лечения, снятия металлоконструкций. Е – рентгенограмма левой бедренной кости через 4,5 года после оперативного лечения.



**Рисунок 18. Фиброзная дисплазия костей черепа мальчика Р. в возрасте 5,5 лет, МСКТ-снимки. Полная облитерация правой гайморовой. Уменьшение правой орбиты в объеме со смещением глазного яблока кпереди на 3-5 мм. Сужение каналов зрительных нервов, больше выраженное справа.**



**Рисунок 19. Частота встречаемости очагов ФД, деформаций и переломов костей у пациентов с синдромом МОБ в процентах.** На графике представлены сравнительные данные по локализации очагов ФД, переломов и деформаций костей. Данные о наличии очагов ФД получены методами остеогаммасцинтиграфии и рентгенографии костей. Количество пациентов с ФД – 43.

*Автономная гиперфункция гонад* отмечалось в 98% случаев (95% ДИ: 90% - 100%, 54/55 детей, 43 девочки и 11 мальчиков) и в 75% (95% ДИ: 61% - 85%, 41/55) случаев являлось первым проявлением заболевания. Возраст начала проявлений ППР варьировал от 2 месяцев до 6 лет. Медиана возраста манифестации пППР составила 0,2[1,6; 4].

Периферическое преждевременное половое развитие у девочек манифестировало телархе и менструалоподобными кровотечениями. Течение пППР у девочек было вариабельно: от частых эпизодов кровотечений (до 20 эпизодов в год) и до 2 эпизодов от момента манифестации пППР до инициации центрального звена полового развития. Максимальный период наблюдения за девочками с пППР – 15,5 лет, медиана период наблюдения за девочками с пППР составила 4,9 [2,4 – 9,1].

Из 33 девочек, у которых период наблюдения составлял более 2 лет, у 16 (49%, 16/33) кисты яичников определялись всегда в одном яичнике, у 17 – в обоих (51%). Персистирующий характер кист устанавливался в случае наличия образования в яичнике более 3 месяцев и отмечен в 7 случаях (16%, 95% ДИ: 7% - 31%, 7/43). В 5 случаях по поводу персистирующих кист яичников была выполнена цистэктомия, при этом наименьший срок персистенции кисты составлял 3 месяца, наибольший – 6 лет. Рецидив кист яичников отмечался у всех пяти пациенток после цистэктомии. В двух случаях отмечена инволюция персистирующих кист: у одной девочки с двусторонними персистирующими кистами отмечался регресс образования с одной стороны через 1,5 года от момента выявления, у другой – отмечалась остаточная кистозная полость через 2 года от момента выявления кисты.

Двум пациенткам была выполнена овариэктомия при манифестации пППР (в возрасте 4 месяцев и 4 лет) в связи с ошибочным расцениванием кисты как объемного процесса, одной пациентке удаление кисты также было проведено при манифестации заболевания в связи с большим объемом кисты и высокой гормональной активностью: в возрасте 9 месяцев диаметр кисты составлял 4 см на фоне уровня эстрадиола 3700 пмоль/л. У обеих пациенток после овариэктомии отмечались впоследствии кисты в оставшемся яичнике.

Антиэстрогенная терапия проводилась 13 девочкам, 10 пациенток получали конкурентный антагонист эстрогеновых рецепторов фулвестрант, три девочки – блокатор эстрогеновых рецепторов со слабыми эстрогенными свойствами тамоксифен. Показаниями к терапии являлись частые эпизоды гиперэстрогении: эпизоды менструалоподобных кровотечений, сопровождавшиеся прогрессирующим ускорением костного возраста. Цель лечения – улучшение ростового прогноза путем блокирования эстрогеновых рецепторов костной ткани. Эффективность терапии оценивалась по данным роста (SDS роста) и костного возраста, также проводилась оценка морфо-функциональной активности гонад (наличие кист, эпизоды кровотечений). Для оценки прогрессии костного возраста определялась дельта

прогрессии костного возраста ( $\delta KB$ ) в годах, которая рассчитывалась как разница между биологическим и паспортным возрастом и темпы прогрессирования, которые рассчитывались как разница между значениями костного возраста, оцениваемыми ежегодно:  $KB_{1-0}$ ,  $KB_{\text{через год лечения}} - KB_{\text{на момент назначения терапии}}$ ;  $KB_{2-1}$ . Данные приведены в таблицах 8-11.

**Таблица 8. Показатели эффективности терапии фаслодексом n=10.**

	Показатели на момент начала терапии (n=10)	1 год терапии (n=7)	2 года терапии (n=5)	3 года терапии (n=4)	4 года терапии (n=3)
<b>Медиана SDS роста</b>	2,52 [1,88; 3,22]	2,9 [2,25; 3,85]	2,5 [2,3; 3,4]	1,86 [1,32; 2,8]	1,4 [1,1; 1,8]
<b>Медиана <math>\delta KB</math></b>	2,5 [2,5; 4,2]	5 [3,2; 5,5]	4,5 [2,5; 5]	3,25 [2,75; 3,9]	2,5 [2,25; 2,5]

**Таблица 9. Показатели эффективности терапии тамоксифеном (n=3).**

	Показатели на момент начала терапии	1 год терапии (n=3)	2 год терапии (n=2)
<b>Медиана SDS роста</b>	3,05 [2,3; 3,7]	3,15 [2,2; 3,3]	1,7 [1,3; 2,05]
<b>Медиана <math>\delta KB</math></b>	3 [2,5; 4,65]	4 [3; 4,65]	1,75 [1,6; 1,9]

**Таблица 10. Показатели роста и активности гонад у девочек, получавших терапию фулвестрантом.**

	Год лечения	Возраст на момент начала терапии	SDS роста	К.В.	Mensis в течение года	Данные УЗИ ОМТ на момент ежегодного осмотра	
						Кисты ПЯ	Кисты ЛЯ
<b>1</b>	-1	3,5	1,6	6,5	+	-	-
	0	4,5	1,7	8,5	+	+	-
	0,5	5,0	1,2	11	+	-	-
	1	5,5	0,67	11	-	-	-
<b>2</b>	-1	5,5	2,2	8,5	+	-	-
	0	6,5	2,5	10	+	-	-
	1	7,5	2,45	10,5	-	+	-
	2	8,5	2,45	11	-	-	-
<b>3</b>	0	6,5	1,94	10	+	-	-
	1	7,5	1,9	11	-	-	-
	4	10,5	1,46	13	-	-	-
<b>4</b>	0	0,9	3,1	2,5	+	+	-

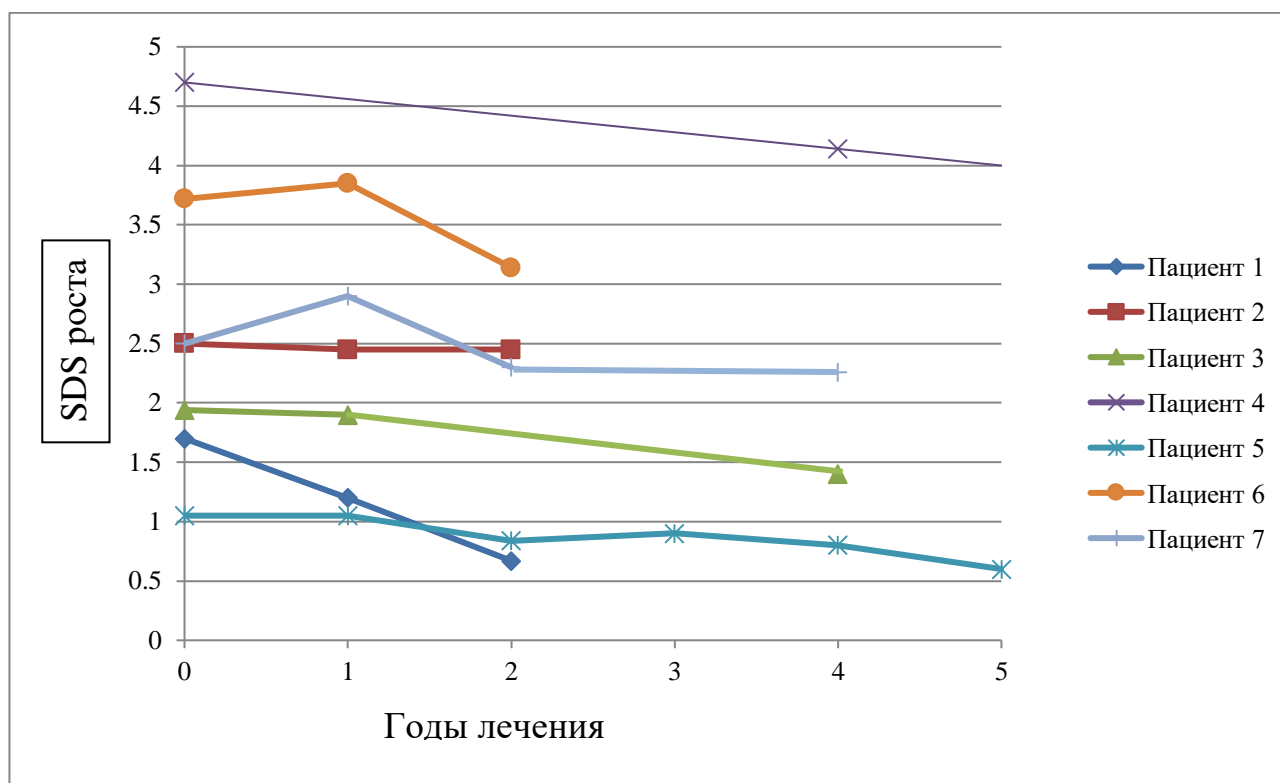
	1	2	4,74	7	+	-	+
	2	3	4,74	9	+	+	+
	3	4	4,5	9	+	+	+
	4	5	4,14	9	+	+	+
<b>5</b>	0	6	1,05	8,5	+	+	-
	1	7	1,05	9	-	-	+
	2	8	0,84	10,5	-	+	+
	3	9	0,9	11	-	-	+
	4	10	0,78	11,5	-	-	+
	5	11	0,6	11,5	+	-	-
<b>6</b>	-1	1	2,67	2	-	+	-
	0	2	3,72	4,5	+	+	-
	1	3	3,85	6,6	-	-	-
	2	4	3,14	8	+	+	-
	3	5	3,5	10,5	+	+	-
<b>7</b>	-1	4,5	2,15	8,5	+	+	-
	0	5,5	2,5	9	+	+	-
	1	6,5	2,9	12	+	+	-

	2	7,5	2,3	12	+	+	-
	3	8,5	2,27	12,5	+	+	-
	4	9,5	2,26	12,5	+	+	-
<b>8</b>	-1	7	3,7	8,5	+	+	-
	0	8	4,15		+	-	-
<b>9</b>	-1	2	+2,42	3	+	+	+
	0	3		8	+	-	+
<b>10</b>	-1	5	+2	9	+	-	-
	0	6	+2,8	11	+	+	-

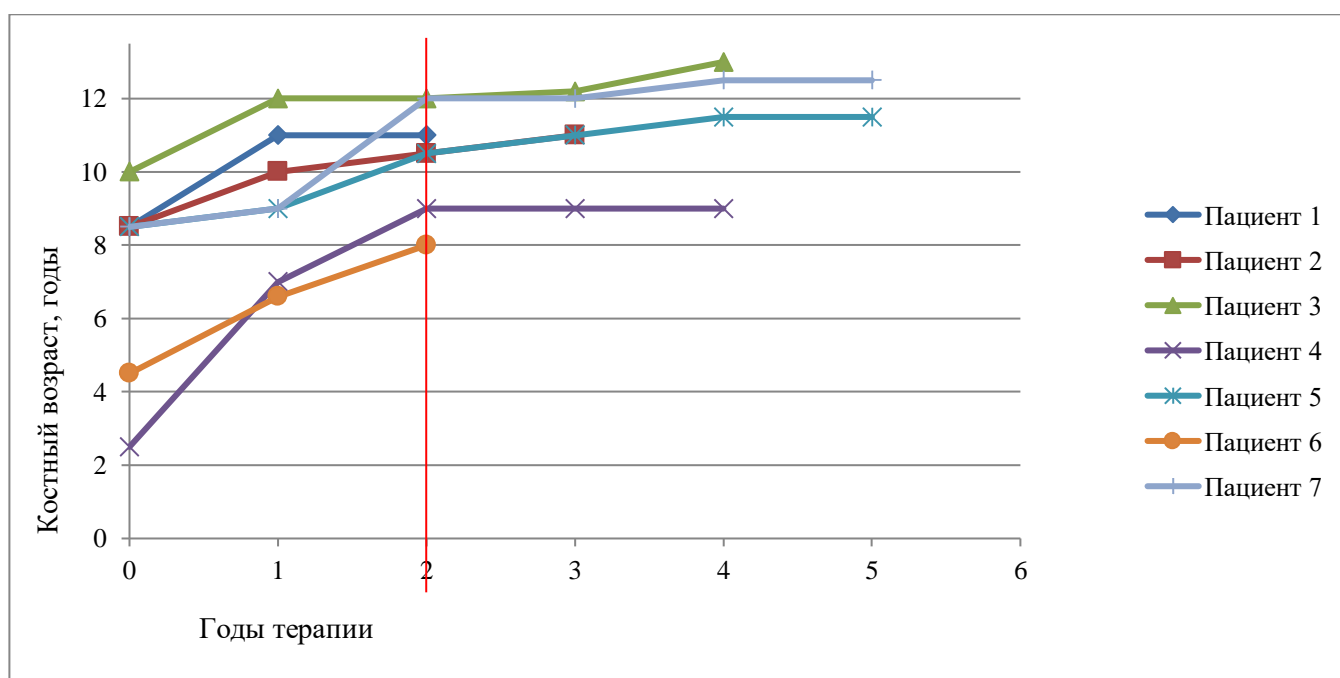
**Таблица 11. Показатели роста и активности гонад у девочек, получавших терапию тамоксифеном.**

Пациент	Год лечения	Возраст на момент начала терапии	SDS роста	К.В.	Mensis в течение года	Данные УЗИ ОМТ на момент ежегодного осмотра	
						Кисты ПЯ	Кисты ЛЯ
1	-1	4,2	0,64	8,5	+	-	+
	0	5,2	1,6	11,5	+	-	-
	1	6,0	1,4	11,5	+	-	-
	2	7,0	1,0	12,0	+	+	+
2	-1	5,5		9			
	0	6,5	4,34	11	+	-	+
	1	7,5	3,38	11,5	-	-	-
	2	8,5	2,4	11,5	-	-	+
	3	9,5	2,7	11,5	-	-	+
3	0	6,5	3,02	9	+	-	+
	1	7,5	3,1	9	-	-	-



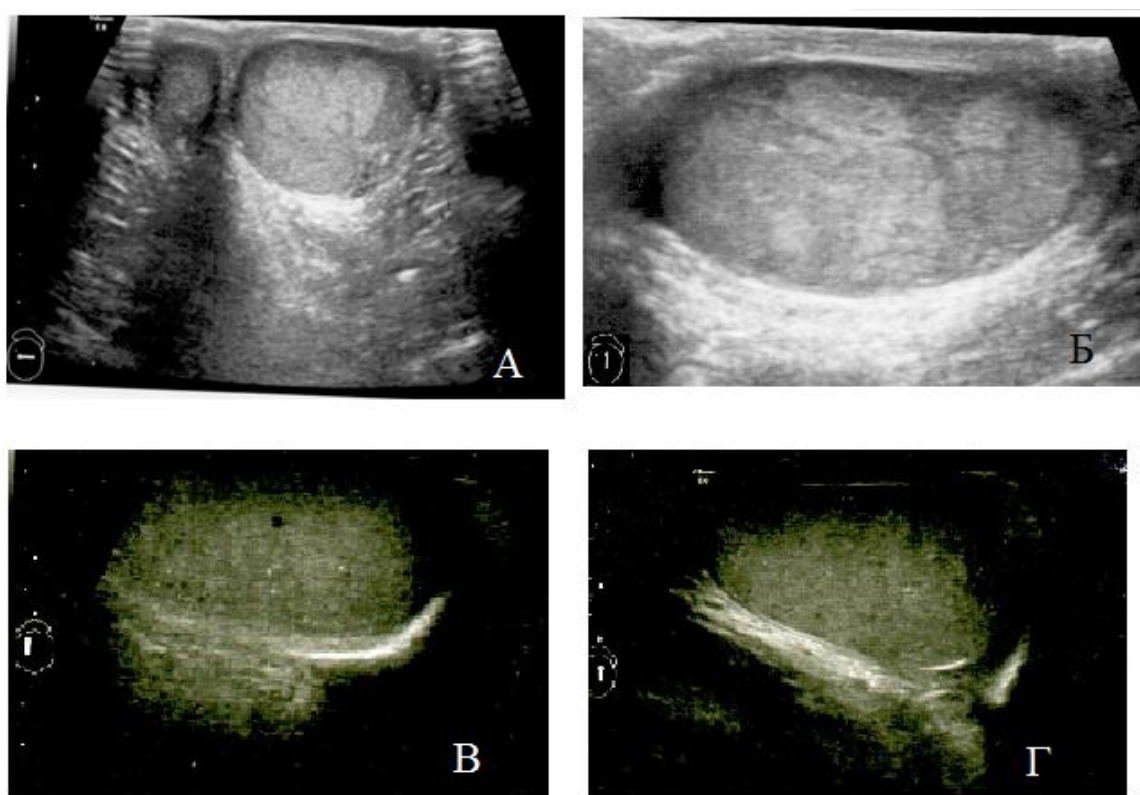


**Рисунок 20. Динамика SDS роста на фоне терапии фулвестрантом.** По оси ординат: SDS роста. По оси абсцисс: годы лечения.



**Рисунок 21. Костный возраст в динамике у пациентов, получавших фулвестрант.** Выраженная прогрессия костного возраста отмечалась в первый год терапии.

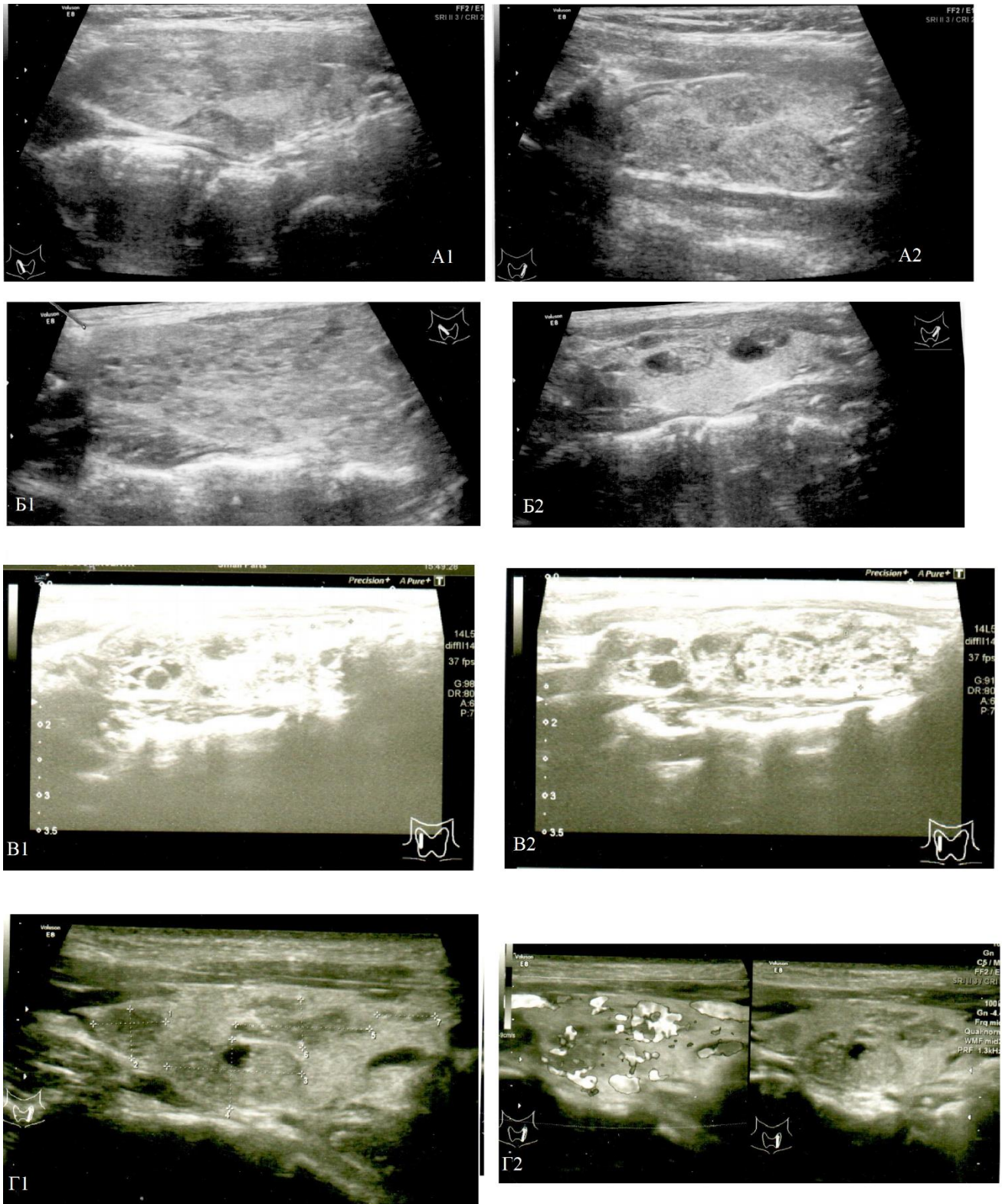
*Преждевременное половое развитие и макроорхидизм у мальчиков.* Из 11 наблюдаемых мальчиков макроорхидизм отмечался у 7 пациентов (64 % (95% ДИ: 39% - 83%, 7/11): объем тестикул у мальчиков допубертатного возраста варьировал от 4 до 10 мл. Из них у 4 пациентов развилось периферическое ППР. При оценке морфологической структуры тестикул методом УЗИ в 3 случаях отмечались нарушения эхоструктуры и эхогенности, сопровождавшиеся в двух случаях кальцинатами (см. рисунок 22).



**Рисунок 22. УЗИ тестикул при синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.** А, Б – мальчик Р, 7 лет. А – правый и левый тестикулы. Правый тестикул – объем 0,6 см<sup>3</sup>, форма не изменена, контуры ровные, эхоструктура эхогенность не изменены. Б – левый тестикул, 3,3 см<sup>3</sup>, структура гетерогенная, определяются зоны повышенной эхогенности В, Г – мальчик М., 15 лет. С микрокальцинатами яичек. Объем, эхоструктура тестикул в норме.

*Патология щитовидной железы.* Изменения щитовидной железы были выявлены у 19 детей (35%, 95% ДИ: 22% - 49%, 19/55). Морфологические изменения щитовидной железы отличались вариабельностью: в виде многоузлового

одностороннего или двустороннего зоба, либо диффузных нарушений эхо-структуры и эхогенности (см. рисунок 23). Помимо нарушений морфологии щитовидной железы, у 7 пациентов (7/19) отмечался тиреотоксикоз, из них у двух пациентов данные обследования соответствовали субклиническому тиреотоксикозу. Во всех случаях отмечался прогрессирующий характер изменений (увеличение в размерах узлов, изменений эхоструктуры и эхогенности, и/или объема щитовидной железы). Возраст диагностики тиреопатии варьировал от 1,3 лет до 13 лет (медиана 5,25 [4;7]). Истинные сроки манифестации нарушений функций щитовидной железы определить сложно, так как не всем детям УЗИ щитовидной железы проводилось с момента манифестации заболевания, можно лишь отметить, что у всех 19 пациентов измененная структура щитовидной железы выявлялась при первом выполнении УЗИ. По поводу гиперфункции щитовидной железы дети получали тирозол, в двух случаях была выполнена тиреоидэктомия в связи с развитием выраженного зоба (20 мл у девочки 8,5 лет, 18 мл у девочки 9 лет). По данным гистологического заключения в обоих случаях - картина узлового коллоидного зоба с очаговой пролиферации фолликулярного эпителия. Случаев спонтанной ремиссии тиреотоксикоза не выявлялось, и, хотя потребность в тирозоле у некоторых пациентов снижалась до минимальных 2,5 мг/сут, при наблюдении в динамике доза могла вновь возрастать до 7,5 - 10 мг/сут. Оценка функционального статуса щитовидной железы включала в себя определение клинических признаков тиреотоксикоза, определение ТТГ, Т4св и Т3св. Подбор терапии иногда определялся именно по последнему показателю, так как в динамике неоднократно отмечался повышенный уровень Т3св при нормальном или сниженном уровне Т4св (см. таблицу 12).



**Рисунок 23. Варианты патологии щитовидной железы при синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.** А1,2 - УЗИ щитовидной железы мальчика Р., 7 лет. Объем щитовидной железы 9,5 см<sup>3</sup>. Неоднородная, "дольчатая" эхоструктура с неравномерно сниженной эхогенностью. Б1,2 – УЗИ щитовидной железы девочки В., 5,5 лет. Объем железы 13,2 мл. Двусторонний многоузловой зоб. Васкуляризация (на

рисунке не представлена) диффузно усилена в паренхиме долей и в узлах. В1,2 - УЗИ щитовидной железы девочки Д., 5,5 лет. Общий объем железы 4 см<sup>3</sup>. Правосторонний многоузловой зоб, TIRADS 2. Васкуляризация (на рисунке не представлена) не изменена. Г1,2 – УЗИ щитовидной железы мальчика М., 15 лет. Общий объем железы 11,7 мл. Многоузловой зоб с умеренным усилением васкуляризации.

**Таблица 12. Динамика показателей функционального статуса щитовидной железы у пациентки с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева**

<b>Возраст</b>	<b>ТТГ, мМЕ/л</b>	<b>Т4св, пмоль/л (11-22)</b>	<b>Т3св, пмоль/л (3,8 – 7,3)</b>	<b>Доза Тирозола, мг/сут</b>	<b>Объем щитовидной железы</b>	<b>ЧСС, уд/мин</b>
<b>1,4</b>	0,0004	21,11	12,75	5		140
	0,0004	25,5	10,75	7,5		140
<b>1,5</b>	0,0005	15	6,0	7,5		140
	0,0003	18,6	8,0	10		140
<b>1,6</b>	0,0035	13,3	7,2	10		140
<b>1,8</b>	1,67	10,5	6,2	7,5		140
<b>2</b>	1,23	11,12		5	5 мл	140
<b>2,8</b>	0,004	12,4	6,4	7,5		140
<b>3,2</b>	0,47	8,6		7,5		120
<b>3,3</b>	5,3	9,72		5	10мл	110
<b>3,8</b>	3,028	10,2	6,31	5	10,6 мл	115

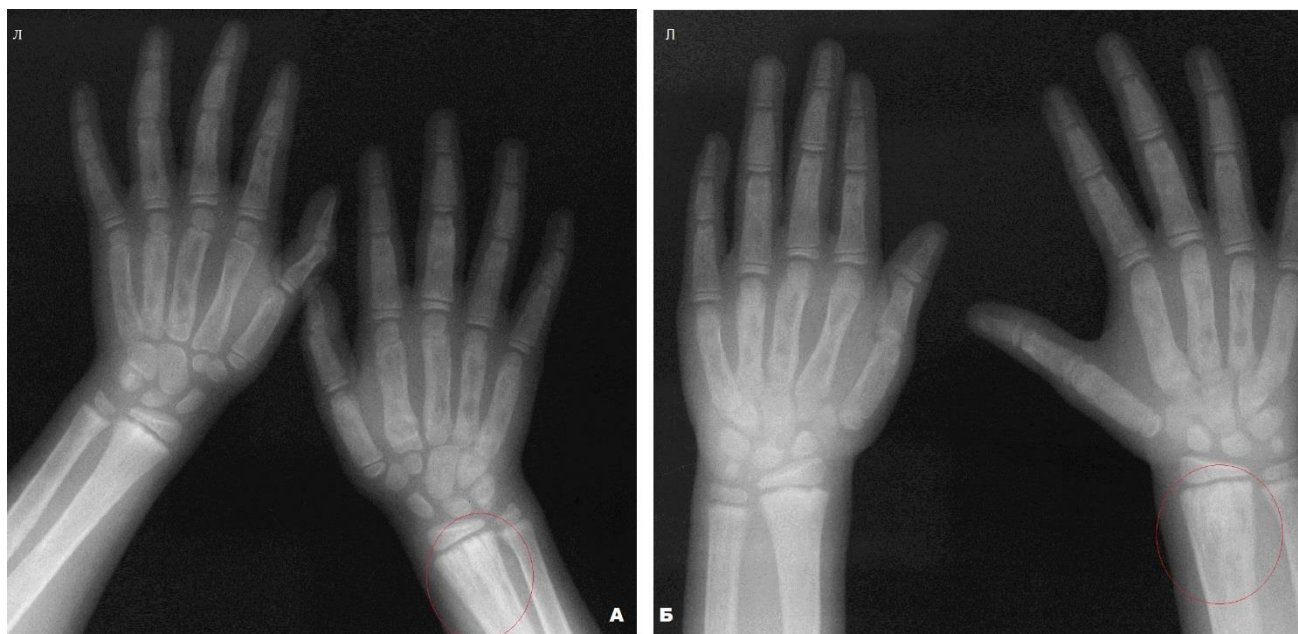
4	0	9,86		5		120
4,2	0,1	9,83		5	11,0	115
4,6	0,27	8,34		5		110
5	0,655	8,38		5		125
5,5	0,3	8,8	8,5	7,5	13,2	140

*Гипофосфатемическая гиперфосфатурия* выявлена у 18 детей (33%, 95% ДИ: 21% - 47%, 18/55). Детям с гипофосфатемией в сочетании с распространенной ФД прогрессирующего течения назначались препараты фосфора или фосфор-обогащенная диета. Признаки рахита в виде частичного просветления проксимальных метафизов большеберцовых костей отмечались в одном случае (см. рисунок 24), в другом случае на фоне терапии фосфором в течение года было отмечено снижение выраженности неравномерности краевой зоны метафиза лучевой кости при отсутствии положительной динамики состояния кистозных очагов (см. рисунок 25).



**Рисунок 24. Рентгенограмма костей голени девочки 6 лет. Частичное просветление проксимальных метафизов большеберцовых костей у девочки 5 лет с ФД и гиперфосфатурической гипофосфатемией.**





**Рисунок 25. Рентгенограммы кистей рук девочки В. в динамике. А – в возрасте 2,8 лет, до назначения препаратов фосфора. ЩФ сыворотки крови 709 Ед/л, фосфор сыворотки крови 1,2 ммоль/л. Неровный край метафиза правой лучевой кости, множественные кистозные очаги. Б – 3,5 года, на фоне терапии препаратом фосфора 45 мг/кг/сут в течение 10 мес. Край метафиза более ровный.**

*Гиперсекреция СТГ* отмечалась у 14 детей (26%, 95% ДИ: 15% - 39%, 14/55). Из них сочетание ФД черепа с СТГ-гиперфункцией было выявлено у 11 пациентов (79% детей с гиперсекрецией СТГ, 11/14 и 20% из общего числа пациентов с МОБ, 11/55). Аденома гипофиза отмечена в 4 случаях СТГ-гиперфункции (7%, 95% ДИ: 2% - 15%, 4/55). Базальный уровень СТГ у пациентов с СТГ-гиперсекрецией варьировал от 2,6 до 42,6 нг/мл (медиана 5,4 [4,9; 11,8]). Четырём пациентам (возрастом 13, 6, 5, 4 лет) по поводу гиперсекреции СТГ была назначена терапия аналогами соматостатина. Показаниями к терапии было сочетание с прогрессирующей ФД костей черепа.

*Синдром Кушинга*, отмечался у 5 пациентов (9%, 95% ДИ: 3% - 20%, 5/55). Первые симптомы заболевания манифестировали с рождения: низкие темпы роста, прогрессирующая прибавка в весе, в одном случае также отмечались проявления гиперандрогении, другой пациент с момента рождения до лечения перенес несколько пневмоний, сложно поддававшихся терапии. У всех пациентов отмечалась



двусторонняя гиперплазия надпочечников. Двум пациентам была выполнена двусторонняя адреналэктомия (возраст на момент операции 5 месяцев и 1,5 года). Двум пациентам был назначен кетоконазол, один из них был в дальнейшем потерян для наблюдений, у другого в течение года терапии не было получено улучшения состояния, в связи с чем была проведена сначала левосторонняя адреналэктомия, также не давшая эффекта, затем правосторонняя адреналэктомия. У одной пациентки симптомы регрессировали после односторонней адреналэктомии, выполненной в возрасте 7 месяцев, период ремиссии на данный момент составляет 7 лет.

*Автономная тахикардия при* (отсутствии тиреотоксикоза) отмечалась у 11 пациентов (20%, 95% ДИ: 10% - 33%, 11/55). ЭХО-признаков гипертрофии миокарда не отмечалось.

### **1.1. Результаты молекулярно-генетического исследования гена *GNAS* при синдроме МОБ.**

Из 55 пациентов, у которых диагноз МОБ не вызывал сомнений, образцы периферической крови для проведения молекулярно-генетического исследования были доступны у 39 пациентов. Кроме того, в молекулярно-генетическое исследование были включены 6 детей, диагноз МОБ у которых был под сомнением. В эту группу были отнесены девочки с эпизодами кровотечений при исключенном центральном генезе ППР и пациенты с изолированной фиброзной дисплазией и отсутствием других данных за синдром МОБ). Контрольную группу составили 7 образцов от людей, не имевших синдрома МОБ или подозрений на него. Мутации в гене *GNAS* R201C и R201N найдены у 16 пациентов с МОБ (41% 16/39). У детей подозрением на МОБ и в контрольной группе мутации выявлены не были. Результаты проведенного обследования представлены в таблице №13. Диагностическая значимость рассчитывалась без учета группы с подозрением на синдром МОБ, так как

наличие/отсутствие у данной группы пациентов диагноза неизвестно. Показатели диагностической значимости представлены в таблице №14.

**Таблица 13. Результаты молекулярно-генетического исследования соматических мутаций в гене GNAS.**

	R201H			R201C		
	deltaCT	RealTime	NGS	deltaCT	RealTime	NGS
1.	10,85			7,18	+	+
2.	11,42			15,01		
3.	8,95			14,87		
4.	10,53			11,96		
5.	4,32	+	+	7,31		
6.	5,53	+	+	17,51		
7.	20,16			14,58		
8.	19,20			14,86		
9.	12,70			14,83		
10.	13,19			21,87		
11.	13,20			14,72		
12.	10,17			17,69		
13.	11,41			18,39		
14.	13,28			16,52		
15.	12,76			9,67	+	+
16.	14,61			20,67		
17.	8,26	+	+	15,14		

18.	13,45			23,32		
19.	5,00	+	+	16,13		
20.	14,37			14,63		
21.	18,07			15,07		
22.	6,93	+	+	20,01		
23.	15,61			20,74		
24.	6,53	+	+	17,56		
25.	18,99			8,10	+	+
26.	17,62			20,08		
27.	13,82			14,02		
28.	11,47			7,75	+	+
29.	12,36			9,9	+	+
30.	10,27			14,71		
31.	8,56	+		15,64		
32.	10,01			21,13		
33.	8,51	+		20,60		
34.	7,29	+		14,30		
35.	18,94			16,35		
36.	11,36			14,96		
37.	3,43	+		17,95		
38.	11,53			18,12		
39.	12,39			15,32		

40.	7,33	+		15,72		
41.	10,94			12,61		
42.	14,37			16,31		
43.	14,70			17,71		
44.	17,83			19,91		
45.	15,04			16,36		
K1	13,48			16,85		
K2	15,88			15,41		
K3	12,87			15,91		
K3	16,61			16,90		
K4	12,54			15,34		
K5	15,50			19,78		
K6	12,33			20,15		
K7	14,46			16,58		

**Таблица 14. Показатели диагностической значимости примененных молекулярно-генетических методов исследования соматических мутаций *GNAS*.**

	Пациенты с синдромом МОБ	Контрольная группа	Всего
Положительный результат	16	0	16
Отрицательный результат	23	7	30



10.	+	+	+	-	+	-	-	-	14	-	-
11.	+	+	-	-	-	-	-	-	4	-	-
12.	+	+	+	-	-	-	-	-	7	-	-
13.	+	+	-	-	-	-	-	-	6	-	-
14.	+	+	-	-	-	-	-	-	4	-	-
15.	+	+	+	-	-	-	-	-	7	-	+
16.	+	+	+	-	-	-	-	+	7	-	-
17.	+	+	+	+	+	+	-	+	19	+	
18.	+	-	+	-	-	-	-	-	2	-	-
19.	+	+	+	-	-	-	-	-	10	+	-
20.	+	+	+	-	-	-	-	+	7	-	-
21.	-	+	-	-	-	-	-	-	3	-	-
22.	+	+	+	+	-	-	-	-	12	+	
23.	+	+	-	-	-	-	-	-	2	-	-
24.	+	+	+	+	+	+	-	-	19	+	-
25.	+	+	+	-	+	+	-	+	16		+
26.	+	+	+	-	-	+	-	-	11	-	-
27.	+	+	+	+	-	+	-	-	14	-	-
28.	+	+	+	-	+	-	+	-	21		+
29.	+	+	+	+	+	-	-	+	19	-	+
30.	+	+	+	-	-	-	-	-	2	-	-
31.	+	+	+	-	-	-	-	-	6	+	-

32.	+	+	-	-	-	-	-	-	4	-	-
33.	+	+	+	-	-	-	-	+	7	+	
34.	+	+	+	+	+	+	-	-	11	+	-
35.	+	+	-	-	-	-	-	-	4	-	-
36.	+	+	-	-	-	-	-	-	3	-	-
37.	+	+	+	+	+	+	-	+	19	+	-
38.	+	+	-	-	-	-	-	-	3	-	-
39.	+	+	+	-	-	-	-	-	13	+	-
40.		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
41.		-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
42.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
44.		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
45.	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Примечание.** Пятна к/м – пятна цвета кофе-с-молоком. ППР/м-орх – ППР и/или макроорхидизм.

При оценке частоты выявляемости мутаций по группам, было установлено, что с помощью примененных методов молекулярно-генетического анализа мутации R201H и R201C в *GNAS* выявлялись практически у всех пациентов с тяжелым течением (88%, 7/8), более чем у половины пациентов со средней тяжестью течения (53%, 9/17). При делении в зависимости от количества проявлений, было сформировано 3 группы А-С: А – пациенты с классической триадой и более чем одной эндокринной гиперфункцией, В – пациенты с классической триадой с поражением одного органа эндокринной системы, С – пациенты с двумя признаками МОБ. Не было получено значительной разницы в результатах между группами А и В: 64% мутаций найдено у пациентов с мультигормональной гиперфункцией, в 50% случаев выявлены мутации у пациентов с классической триадой и одним признаком эндокринной гиперфункции, у пациентов с двумя признаками МОБ, мутации найдены не были (группа С). Данные о результатах исследования среди пациентов, разделенных на группы по степеням тяжести и по количеству имевшихся проявлений, представлены в таблице 16 и 17.

**Таблица 16. Количественные данные о пациентах с синдромом МОБ с проведенным молекулярно-генетическим исследованием, разделенных на группы по степеням тяжести.**

Степень тяжести	Количество пациентов с данной формой течения заболевания	Количество пациентов с найденной мутацией
Тяжелое	8	88% (7/8) 95% ДИ: 47% - 100%
Средней тяжести	17	53% (9/17) 95% ДИ: 28% - 77%
Легкой степени	14	0% (0/14) 95% ДИ: 0% - 23%



Один компонент МОБ	6	0% (0/6) 95% ДИ: 0% - 46%
-----------------------	---	------------------------------

**Таблица 17. Количественные данные о пациентах с проведенным молекулярно-генетическим исследованием, разделенных по группам в зависимости от количества имеющихся проявлений.**

Степень тяжести	Количество пациентов с данной формой заболевания	Количество пациентов с найденной мутацией
А – Пациенты с классической триадой и мультигормональной гиперфункцией	14  36% (95% ДИ: 21% – 53%)	64% (9/14)  95% ДИ: 35% - 87%
В – Пациенты с классической триадой (пятна цвета кофе-с-молоком, ФД, поражение одного органа эндокринной системы)	14  36% (95% ДИ: 21% – 53%)	50% (7/14)  95% ДИ: 23% - 77%
С – Пациенты с двумя признаками МОБ	11  28% (95% ДИ: 15% – 45%)	0%(0/11)  95% ДИ: 0% - 28%
МОБ под сомнением	6	0% (0/6)  95% ДИ: 0% - 46%

## **ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.**

### **4.1. Обсуждение результатов клинико-генетического обследования пациентов с псевдогипопаратиреозом.**

Признаки НОО при ПГП проявляются в первые годы жизни, в то время как резистентность к ПТГ может манифестировать позднее. И, тем не менее, именно симптомы гипокальциемии являлись в большинстве случаев ведущей причиной для первичного обращения к врачу. Объяснить это можно тем, что компоненты НОО в большинстве своем неспецифичны, а характерные для ПГП брахидактилия и подкожные кальцинаты могут не обращать на себя внимания. Среди наших пациентов отмечались две ведущие причины для первичного обследования: судорожный синдром и ожирение. Обследование по поводу судорожного синдрома вело к выявлению характерных для ПГП лабораторных нарушений, а осмотр детей с ожирением часто обнаруживал другие компоненты НОО, позволявшие заподозрить ПГП.

Среди обследованных пациентов не было детей с врожденным характером гипокальциемии, что можно объяснить постнатальным характером импринтинга экспрессии *Gas* с отцовского аллеля и ролью *XLas*, способной обеспечивать проведение сигнала от ПТГ в проксимальных почечных канальцах у новорожденных [12,67]. Поздняя диагностика ПГП, наблюдавшаяся в 45% случаев детей с проявлениями гипокальциемии, была обусловлена отсутствием измерения кальция крови при судорожном синдроме. Для своевременного выявления истинной причины эпилептикоподобных приступов в алгоритм дифференциальной диагностики судорожного синдрома следует обязательно включать исследования кальция крови.

Одной из особенных черт ожирения при ПГП, характерных для моногенных форм в целом, является ранняя манифестация и прогрессирующий характер. Точно

указать возраст начала прогрессирующего набора веса у обследованных пациентов затруднительно, на избыток массы тела родители начинали обращать внимание с 1,5-2 лет и у одной девочки ожирение отмечалось с первых месяцев жизни. Ожирение развивается за счет нарушения процессов расхода энергии и может отмечаться как при ПГП Ia так и при ПГП Ib, но не свойственно ППГП [58,138,139]. Механизм развития ожирения при ПГП связан с резистентностью к активации меланокортиновых рецепторов 4 типа (MC4R), действующих в дорсомедиальных ядрах гипоталамуса через  $G\alpha_s$ , экспрессия которой в этих видах клеток происходит только с материнского аллеля [17,38]. Нарушение пути проведения сигнала MC4R- $G\alpha_s$  приводит к снижению расхода энергии. При этом отсутствует гиперфагия и высокорослость, наблюдающиеся при патологии MC4R, так как пищевое поведение и темпы роста регулируются через MC4R, расположенные в паравентрикулярных ядрах гипоталамуса, где действие меланокортина опосредуется через  $G\alpha_{q/11}$  [17,140].

Умственная отсталость встречалась среди пациентов с частотой 23%, тяжесть варьировала от олигофрении до сохранной способности к обучению. Ментальная ретардация проявляется, как правило, с первых лет жизни, однако бывают и исключения. У одной пациентки снижение умственных способностей стало прогрессировать с 7 лет, хотя до этого времени в развитии она не отставала. Подобное отсроченное прогрессирование снижения умственных способностей при ПГП было также описано в литературе, когда первые признаки деградации умственных у пациентки стали проявляться после 20 лет [141]. Умственная отсталость – неспецифичный признак ПГП, поэтому у детей с ПГП с признаками нарушения психомоторного развития следует иметь в виду и другие возможные причины задержки развития (тяжелые поражения ЦНС в неонатальном периоде, ДЦП и т.д.).

Специфичными проявлениями НОО при ПГП являются брахидактилия и подкожные кальцинаты. При этом, согласно результатам данного исследования, брахидактилия была также и самым частым признаком НОО. Брахидактилия при ПГП формируется за счет укорочения, как правило, IV и V пястных и плюсневых костей.

Удостовериться в том, что укорочение пальцев происходит за счет пястных костей помогает простой способ: при сжатии руки в кулак IV, V пястно-фаланговые суставы не видны по сравнению со II и III пястными-фаланговыми суставами (см рисунок 26).



**Рисунок 26. Кисти рук у девочки с брахидактилией. Сглаженность IV, V пястно-фаланговых суставов при сжатии руки в кулак.**

Gαs играет важную роль в процессах роста костей (препятствует дифференцировке хондроцитов и преждевременному закрытию зон роста), и отражением ослабления ее активности является укорочение пястных и плюсневых костей, а также преждевременное закрытие эпифизов и как следствие – низкорослость [142,143].

Gαs предупреждает развитие эктопической кальцификации, регулируя дифференцировку остеобластов: снижение экспрессии Gαs приводит к перерождению мезенхимальных стволовых клеток, локализованных в жировой ткани, в остеобласты с последующим образованием подкожных кальцификатов [27,28,144]. Они представляют собой различные по размерам и распространенности образования – от

мелких безболезненных пальпирующихся горошин и пластин до крупных образований с болезненными ощущениями. В описываемой нами группе пациентов подкожные кальцификаты отмечались у 10 детей. У одного из них кальцификаты образовали единый подкожный конгломерат в области поясничного отдела позвоночника с ограничением подвижности. У другого пациента отмечалось глубокое расположение кальцификатов – по ходу мышечной фасции. Так как нельзя исключить риск рецидива при оперативном удалении кальцификатов, при отсутствии ограничений в движении и болезненности рекомендуется не подвергать эти образования хирургическому лечению.

Помимо проявлений НОО и нарушений кальций-фосфорного обмена, обусловленных нечувствительностью к ПТГ, у пациентов отмечалась резистентность и к другим гормонам.

Резистентность к ГР-РГ и гипергонадотропный гипогонадизм встречается при ПГП редко. В 2013 году Fernández-Rebollo E. Et al опубликовали первые данные клинико-генетического исследования большой группы пациентов с различными вариантами ПГП: из 63 пациентов (из них 29 ПГП Ia) гипогонадизм не был выявлен ни у одного, однако 15 пациентов на момент обследования находились в допубертатном возрасте [76]. Из 36 наших пациентов гипергонадотропный гипогонадизм был диагностирован лишь у одной девочки. Следует отметить, что 12 пациентов на момент публикации данных находились в возрасте младше 14 лет, из них три пациента с ПГП Ia, у которых нельзя исключить возможность развития резистентности к гонадотропным гормонам.

Низкорослость при ПГП I может быть обусловлена как резистентностью к ГР-РГ и последующим СТГ-дефицитом, так и являться отражением патологии хондроцитов. Поэтому всем детям с задержкой роста на фоне ПГП определялось содержание ИФР-1. В описываемой группе пациентов среди детей с выраженной задержкой роста SDS ИФР-1 был в пределах нормы, оснований для подозрения СТГ-дефицита не было. В случае сниженного ИФР-1 следует проводить СТГ-стимуляционные пробы и при

установлении СТГ-дефицита назначать ростостимулирующую терапию препаратом рекомбинантного гормона роста. Как было показано в исследовании Mantovani G. et al, при иницировании ростостимулирующей терапии в допубертатный период ростовой прогноз у детей с СТГ-дефицитом на фоне ПГП Ia улучшается [145].

Еще одним интересным компонентом ПГП, отражающим важность Gax для процессов роста и созревания костей, стало опережение костного возраста, отмечавшееся у трех пациентов с ПГП I. При этом дети находятся в допубертатном периоде и преждевременное половое развитие у них было исключено. Описания этого компонента не было найдено по данным литературы.

Наиболее распространенным признаком мультигормональной резистентности была ТТГ-резистентность (субклинический или клинический неаутоиммунный гипотиреоз), отмечавшаяся у 22 из наблюдаемых нами пациентов, встречался у пациентов в сочетании с другими проявлениями НОО и в отсутствие каких-либо фенотипических особенностей.

Отражениями нарушений кальций-фосфорного обмена, являются синдром Фара, катаракта, гипоплазия эмали, которые встречаются как при резистентности к ПТГ, так и при его дефиците. Обращает внимание возможность наличия данных осложнений не только у детей с длительным анамнезом некупируемой клинической гипокальциемии, но и у пациентов с коротким сроком от момента клинической манифестации гипокальциемии до ее диагностики и лечения. Возможными объяснениями может являться длительные субклинические изменения показателей кальций-фосфорного обмена, достаточные для формирования кальцификатов, но не превышающие индивидуальный пороговый уровень чувствительности, либо более серьезные отклонения от нормы уровней кальция и фосфора крови у детей, имеющих осложнения на момент манифестации проявлений гипокальциемии. Последнее предположение не поддерживается полученными данными: статистически значимой разницы в уровнях кальция ионизированного и фосфора крови пациентов со своевременной и отсроченной диагностикой ПГП получено не было, хотя малые размеры выборок не

позволяют расценивать эти результаты как окончательные:  $n=18$  при сравнении показателей кальция и  $n=19$  при сравнении показателей фосфора.

Результаты молекулярно-генетического исследования демонстрируют отсутствие четкой генотип-фенотипической корреляции: проявления НОО отмечались как у пациентов с делециями и мутациями в гене *GNAS*, так и у пациентов с нарушениями метилирования, при этом один и тот же молекулярно-генетический дефект в *GNAS* приводил к различным вариантам фенотипа. Обращает внимание результат молекулярно-генетического исследования у одной пациентки, с отсутствием каких-либо проявлений НОО, у которой, тем не менее, была делеция первого экзона. Единственная клиническая особенность, отличающая пациентку с отсутствием НОО и делецией 1 экзона, в том, что, помимо резистентности к ПТГ, у нее отмечалась гипокалиемия, причина которой, как и связь с функцией *Gαs*, пока не выяснена. В литературе есть описание ПГП Ib вследствие мутации *GNAS* в 13 экзоне, приведшей к экспрессии *Gαs*, не способной связываться с рецептором к ПТГ, однако нормально взаимодействующей с другими G-протеинсвязанными рецепторами [146], что указывает на принципиальную возможность развития ПГП без НОО в случае мутаций *GNAS*, однако делеция экзона является достаточно крупным дефектом и причина ПГП со стертыми проявлениями при таком дефекте остается неясной.

Дефекты метилирования могут развиваться спонтанно либо быть следствием микроделений в гене *STX 16*, регулирующем метилирование в промотерной области A/B [20]. Микроделеции *STX16* обуславливают возможность аутосомно-доминантного ПГП Ib. Из всех пациентов с эпигенетическими дефектами, в трех случаях выявлены микроделеции *STX16*. У всех трех пациентов была разнообразная клиническая картина, что вновь подчеркивает отсутствие четкой генотип-фенотипической корреляции.

Если мутации и делеции в гене *GNAS* в большинстве случаев приводят к формированию выраженных проявлений НОО, то эпигенетические дефекты, обуславливающие ПГП Ib, также имеют свои клинические особенности. Среди наших пациентов с предполагаемым ПГП Ib и доступными данными о росте и весе при

рождении, SDS ИМТ и SDS роста при рождении были выше, чем у пациентов с ПГП Ia. Разница в показателях физического развития в зависимости от характера молекулярно-генетического дефекта указывает на роль других продуктов гена *GNAS* в процессах внутриутробного развития. (73) Приближенность показателей веса и роста у детей с ПГП Ia к средне-нормальным значениям объясняется сохранным синтезом XLas с отцовского аллеля. Функциональную значимость XLas в обеспечении процессов внутриутробного роста плода была продемонстрирована в исследовании Richard N. et al, когда при сравнении показателей роста и веса при рождении у детей с ПГП Ia и ППГП, отмечалась тенденция к задержке внутриутробного развития в случаях локализации мутации на отцовском аллеле [10]. У всех пациентов с ПГП Ib отмечалось нарушение метилирования в промоторе A/B, спорадическое либо обусловленное делециями в гене *STX16*. Подобные результаты были получены в исследовании Bréhin et al, в котором также дети с ПГП Ib отличались более высокими антропометрическими данными при рождении по сравнению со здоровыми братьями и сестрами (в случаях АД-ПГП Ib) и средне-популяционными значениями (в случаях как АД-ПГП, так и спорадического ПГП Ib) [147]. Более высокие показатели роста у детей с ПГП Ib демонстрируют, что биаллельная экспрессия A/B способствует увеличению темпов внутриутробного развития. Эти данные приносят свой вклад в понимание функций продуктов гена *GNAS*, но не могут использоваться как надежный клинический критерий ПГП Ib, так как дефекты метилирования не во всех случаях обеспечивают этот эффект высокого темпа внутриутробного развития: из трех пациентов с АД-ПГП (с микроделециями *STX16*) у одного ребенка с аутосомно-доминантным ПГП весо-ростовые данные при рождении не были выше нормы, подобные же случаи были отмечены и в исследовании Bréhin, где в 25% SDS роста и веса у пациентов с ПГП Ib был менее 0 [147].

Инактивирующие мутации в *GNAS* ведут к тому, что во всех тканях, где экспрессия Gas идет с двух аллелей, будет отмечаться 50% дефицит функции Gas (с аллеля, где мутации нет, синтезируется нормальная Gas, с мутантного аллеля идет образование функционально неактивной Gas). И поэтому развитие компонентов НОО



можно связать с гаплонедостаточностью *Gαs* вследствие мутаций и делеций *GNAS* [57]. В то же время, как показало наше исследование, дефекты метилирования также могут приводить к развитию признаков НОО. При сопоставлении отдельных компонентов НОО с дефектами *GNAS* у обследованных пациентов отмечена возможность формирования брахидактилии, ожирения, умственной отсталости и подкожных кальцинатов на фоне эпигенетических дефектов в *GNAS*, что демонстрирует роль механизмов импринтинга в регуляции экспрессии *Gαs* в нервной системе и костной ткани [17,60].

Отсутствие дефектов в *GNAS* у 8 пациентов с ПГП демонстрирует роль других нарушений передачи сигнала от ПТГ/ПТГпП-рецептора к ядру клетки. В соответствии с текущей классификацией, эти пациенты могут быть отнесены к ПГП II типа. Продемонстрированная в исследовании возможность развития признаков НОО при эпигенетических дефектах ставит под сомнение рентабельность текущей классификации ПГП в силу имеющегося генотип-фенотипического «перекреста» между подтипами ПГП: исходя из определения текущей классификации, ПГП Ib – это резистентность к ПТГ и ТТГ в отсутствии проявлений НОО. ПОГ, являясь следствием тех же мутаций в гене *GNAS* что и при ПГП, в своем названии вовсе не подчеркивает единой генетической основы этих заболеваний. Также, классификация не учитывает наличия клинически схожих состояний, обусловленных дефектами на других уровнях передачи сигнала от рецептора в клетку, таких как акродизостоз, при котором клиническая картина может быть сходной с ПГП и по результатам теста Элсворта-Говарда относится к ПГП II типа. Учитывая данные нюансы, Европейской рабочей группой по исследованию ПГП была разработана новая классификация, включающая все заболевания, связанные с нарушением передачи сигнала от ПТГ/ПТГ-пП рецептора внутрь клетки - *inactivating PTH/PTHrP signalling disorder (iPPSD)* [148]. В новой классификации усовершенствован использующийся в клинической практике подход к диагностике заболевания, основанный на наличии специфичных признаков ПГП. В соответствии с этим принципом, проявления ПГП разделены на большие и малые критерии варианты сочетания которых позволяют с уверенностью говорить о наличии

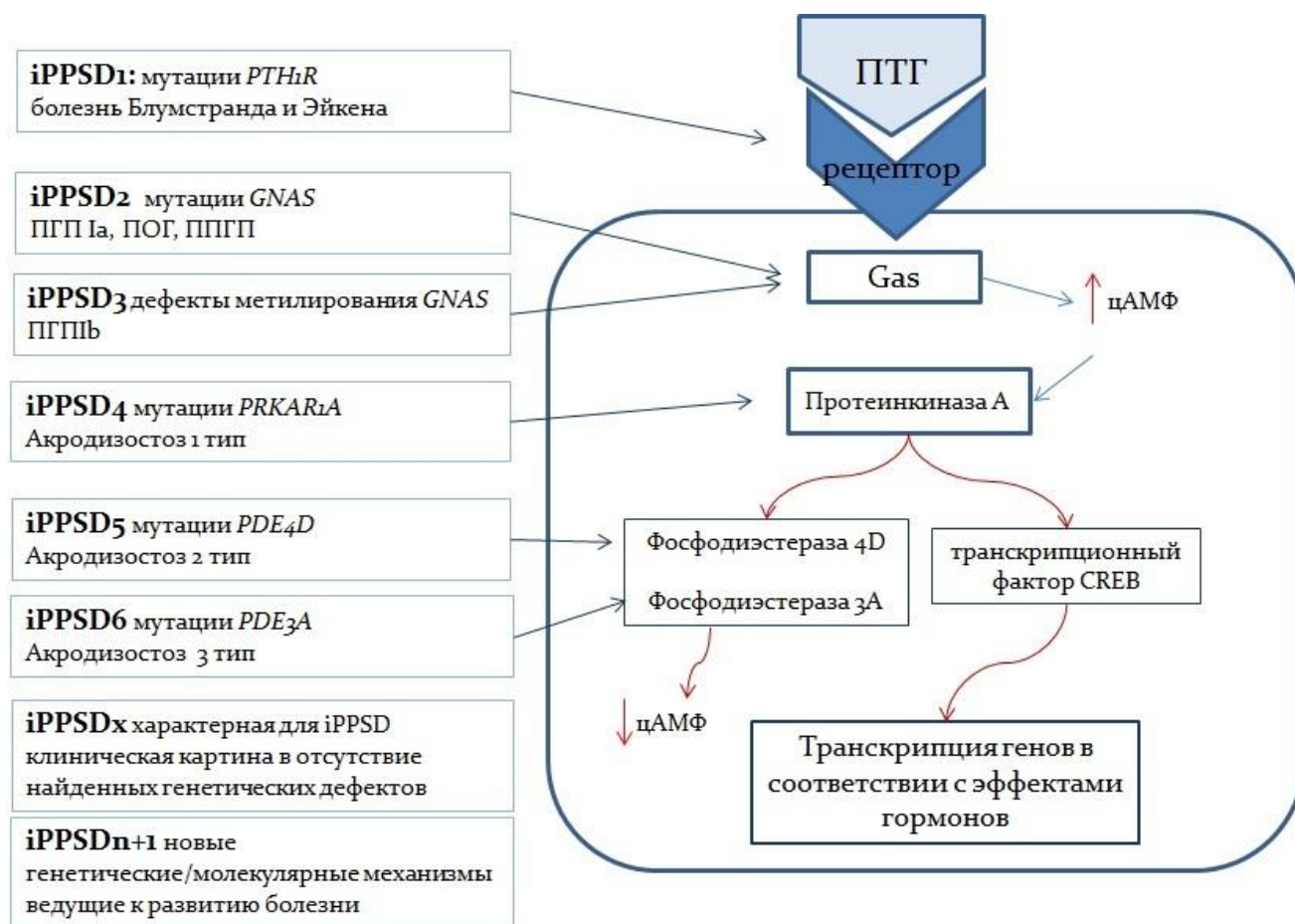
патологии внутриклеточной передачи сигнала от рецептора к ПТГ/ПТГпБ в ядро клетки (описание 28).



**Рисунок 27. Клинические критерии постановки диагноза по новой классификации EuroRHP network на основе специфичности проявлений [148].** Примечание. К специфичным признакам и, соответственно, большим критериям, относятся ПТГ-резистентность, эктопическая подкожная кальцификация и брахидактилия. Остальные проявления НОО могут иметь под собой другие причины и поэтому относятся к малым критериям. Основанием для диагноза iPPSD (inactivating PTH/PTHrP signalling disorder, заболевание, обусловленное инактивацией ПТГ/ПТГпР сигнального пути), является наличие одного большого критерия – либо ПТГ-резистентности или эктопических кальцинатов либо сочетание больших и малых критериев. Брахидактилия, хотя и относится к специфичным проявлениям, может иметь другие причины развития (например, синдром брахидактилии и умственной отсталости, OMIM # 600430), поэтому в отсутствие других критериев не является основанием для диагноза iPPSD.

Являясь более корректным с точки зрения патогенеза, предложенное название остается сложным для восприятия на слух – inactivating PTH/PTHrP signalling disorder (iPPSD), чему в русской транскрипции соответствует «заболевание, обусловленное инактивацией ПТГ-сигнального пути». Возможно, альтернативным вариантом описания диагноза ПГП, будет перечисление имеющихся компонентов без уточнения подтипа. Например, «псевдогипопаратиреоз: резистентность к ПТГ, резистентность к ТТГ, брахидактилия, ожирение». При уточнении молекулярно-генетического дефекта в названии диагноза корректно упоминать уровень поражения ПТГ/ПТГпР сигнального пути в соответствии с новой классификацией - рисунок 28.

Отсутствие четкой генотип-фенотипической корреляции также затрудняет подход к определению тактики молекулярно-генетического исследования. Исходя из полученных данных, представляется разумным проводить сначала поиск мутаций у пациентов с выраженными признаками НОО, когда большой критерий сочетается с малыми (клиническое соответствие ПГП Ia). MS-MLPA зарекомендовал себя как надежный метод детекции дефектов метилирования и делеций (56–58) который следует использовать в случаях ПГП со стертыми проявлениями или отсутствием признаков НОО и для поиска делеций у пациентов с выраженным фенотипом НОО после исключения наличия мутаций.



**Рисунок 28. Новая классификация ПГП и других заболеваний, обусловленных инактивацией сигнального пути ПТГ/ПТГпР.** В зависимости от уровня поражения сигнального пути от ПТГ/ПТГпР, в соответствии с новой классификацией выделяют 6 известных типов заболевания, каждому из которых соответствует свой уровень молекулярно-генетического дефекта. ПГП Ia, ПОГ, ППГП оказываются в одной группе iPPSD2, так как в их основе – инактивирующие мутации в гене *GNAS*. Начиная с 3 по 6 тип выделены разные типы акродизостоза. iPPSDx учитывает случаи, когда диагноз установлен клинически, но не выявлено молекулярно-генетических дефектов. Номенклатура предусматривает возможность открытия новых путей передачи сигнала от ПТГ/ПТГпР и присвоения новому подтипу своего номера – iPPSD n+1, где n – номер предыдущего известного типа заболевания.

## **4.2. Обсуждение результатов клинико-генетического обследования пациентов с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева**

*Фиброзно-кистозная дисплазия* по данным литературы встречается в 98% случаев (M.Collins et al, наблюдение 140 пациентов [111], по нашим данным ее частота составила 78%. В костной ткани изменения, обусловленные активностью Gas объясняются тем, что она играет важную роль в процессах клеточной дифференцировки и поддержании гомеостаза в костной ткани, опосредуя действие ПТГ на плюрипотентные стромальные клетки костного мозга, остециты и остеобласты [150–152]. Пролиферация незрелых стромальных клеток приводит к замещению нормальной костной структуры фиброзными массами с формированием очагов деструкции в виде кист.

Как показывает наше исследование, ФД может быть первым признаком синдрома МОБ: перелом конечности, случившейся при малейшей травме, либо очевидные деформации костей ведут к дальнейшему обследованию ребенка, которое выявляет другие компоненты синдрома МОБ. При этом возраст манифестации может быть очень ранним – среди наших пациентов деформации конечностей развивались с момента начала ходьбы, в одном случае перелом возник в 0,9 лет. С другой стороны, часто заболевание диагностируется на основании других проявлений синдрома МОБ, без видимых клинических признаков ФД, хотя, как показывают наши данные, очаги поражения могут быть сформированы даже и до года жизни и приводить к развитию переломов. Поэтому всем детям с синдромом МОБ должно проводиться обследование с целью оценки состояния костной ткани, чтобы не пропустить кистозные очаги, угрожающие патологическими переломами.

Есть несколько доступных методов диагностики ФКД: остеогаммасцинтиграфия, рентгенография и МСКТ. Остеогаммасцинтиграфия представляет собой метод функциональной визуализации. Внутривенно вводится остеотропный препарат (вектор) с гамма-излучающей радионуклидной «меткой». Радиофармпрепарат (РФП, в настоящее время используются меченые  $^{99m}\text{Tc}$

фосфатные комплексы) распределяется в скелете в соответствии со степенью активности метаболических процессов в костной ткани, в то время как радионуклидная «метка» продуцирует гамма-лучи, улавливаемые гамма-камерой. На сцинтиграмме отображается степень накопления РФП. При ФКД РФП накапливается в очагах с повышенной васкуляризацией. Кроме того, предполагается, что увеличенная аккумуляция Тс-99m связана с тем, что фиброзно измененные участки костной ткани больше по площади и, соответственно, могут поглотить больше препарата, чем нормальная костная ткань [153]. Следует иметь в виду, что результаты сцинтиграфии не всегда соответствуют результатам рентгенографии: наличие больших очагов повышенного накопления РФП может соответствовать начальными признаками формирования кист по данным Rg (см. рисунок 14). Метод остеогаммасцинтиграфии позволяет ответить на два основных вопроса: есть ли ФД и насколько она выражена (полиоссальная либо монооссальная формы).

После того, как диагноз ФКД установлен, оценку состояния костной ткани в динамике целесообразно проводить с помощью рентгенографии и МСКТ. Рентгенография позволяет визуализировать кости, оценить тяжесть деформаций и риск переломов, с помощью МСКТ можно оценить более детально степень поражения, вовлеченность костей черепа, толщину коркового слоя костей конечностей, что имеет значение при планировании объема операции. С клинической точки зрения наиболее важными областями скелета, пораженными ФКД, являются череп и конечности. ФКД в костях черепа в тяжелых случаях обуславливает осложнения со стороны органов зрения, слуха, может нарушить носовое дыхание. Очаги костной дегенерации в бедренных костях и костях голени приводят к формированию тяжелых деформаций и патологических переломов, так как на эту область приходится больше всего нагрузки. Если по данным сцинтиграфии есть «горячие очаги» накопления РФП в нижних конечностях, то необходимо регулярное проведение рентгенографии, так как и в этих зонах либо уже имеются, либо могут сформироваться кисты. Наши данные демонстрируют важность динамического наблюдения за состоянием костной ткани. Ранняя диагностика позволяет провести своевременное оперативное лечение, что

существенно снижает риск переломов и последующих тяжёлых деформаций нижних конечностей.

Подход к терапии фиброзной дисплазии у пациентов с МОБ индивидуален. На данный момент, к сожалению, не существует препарата, который мог бы значительно улучшить функцию костной ткани и предотвратить развитие осложнений. Двухлетнее рандомизированное исследование показало, что прием ингибитора костной резорбции перорально не оказывает значимого эффекта на выраженность болевого синдрома и состояние костной ткани при ФД [154], однако внутривенные введения бифосфонатов и использование деносумаба (моноклональное антитело человека к лиганду рецептора активатора ядерного фактора  $\kappa$ B (RANKL) могут снизить выраженность болевого синдрома [155–157].

Оптимальные решения по хирургическому лечению ФД нижних конечностей у детей еще разрабатываются. Примененный в данном исследовании метод в виде иссечения фиброзных очагов с заполнением очагов аллокостью не смог оградить пациентов от будущих деформаций и переломов (см. рисунки 16 и 17). В настоящее время активно обсуждаются возможные преимущества использования интрамедуллярного остеосинтеза, обеспечивающего длительную стабилизацию трубчатых костей [157–159].

Оперативное лечение фиброзной дисплазии костей черепа проводилось нашим пациентам по поводу функциональных нарушений со стороны органов дыхания (нарушение дыхания за счет фиброзной дисплазии пазух и сужения носовых проходов). Другими показаниями для хирургического вмешательства по поводу ФД черепа являются выраженные деформации, снижающих качество жизни пациентов, риск полной потери зрения на фоне компрессии каналов зрительных нервов, нарушение слуха на фоне сужения слуховых каналов [160]. Решая вопрос о необходимости оперативного вмешательства также следует учитывать, что риск рецидивов формирования очагов ФД снижается с возрастом, так как мутантные стволовые клетки не способны к самообновлению [161]. Поэтому, при отсутствии

агрессивного течения, сопровождающегося выраженными эстетическими дефектами и/или функциональными осложнениями со стороны органов зрения и слуха, хирургическое лечение следует откладывать по возможности до момента скелетного созревания [162]. Прогрессирующему характеру ФД черепа способствует сопутствующая гиперсекреция СТГ, часто встречающаяся при синдроме МОБ, в связи с чем для снижения риска прогрессии и функциональных осложнений ФД черепа показан регулярный контроль уровня ГР со своевременным назначением соматостатинов [117].

*Автономная гиперфункция гонад*) при синдроме МОБ – самое частое проявление эндокринной гиперфункции как и по собственным наблюдениям в 98% случаев (95% ДИ: 90% - 100%, 54/55 детей, 43 девочки и 11 мальчиков), так и по данным литературы [111]. Есть различия пППР при синдроме МОБ у девочек и мальчиков, подтвержденные нашими данными: как правило, именно жалобы на признаки преждевременного полового развития служат причиной обращения к врачу и отправной точкой в установлении диагноза у девочек, в то время как у мальчиков чаще причиной обследования являются проявления ФКД.

У девочек пППР при синдроме МОБ имеет своих характерные черты: периодическое нагрубание молочных желез и менструалоподобные кровотечения различной частоты. Наличие в ткани яичника клеток, содержащих активирующую мутацию *GNAS*, обуславливает автономную гиперфункцию гонад с м появлением эстрогенсекретирующих кист яичников. В зависимости от распределения мутантных аллелей, кисты могут возникать в одном либо в двух яичниках. У девочек высокий уровень эстрогена приводит к прогрессирующему развитию половых признаков, менструалоподобным кровотечениям, опережению костного возраста. Кисты являются гормонально активными на протяжении нескольких дней или недель и затем, как правило, исчезают, чтобы затем вновь возникнуть либо в этом же, либо в другом яичнике. У девочек с менструалоподобными кровотечениями на фоне кист яичников с высоким уровнем эстрадиола (до 3500 пмоль/л) при поступлении в больницу может



ошибочно диагностироваться опухоли яичников и проводиться ненужная овари- или цистэктомия. Оперативное удаление кист показано только в случае их ретенции, когда на протяжении нескольких месяцев из-за отсутствия уменьшения в объеме они начинают угрожать нормальной ткани яичника, сдавливая ее. Односторонняя овариэктомия возможна в случае четко прослеживающегося молатерального характера кист и частых эпизодов гиперэстрогении, сопровождающихся выраженным ускорением роста и не поддающихся терапии блокаторами эстрогенов.

Сроки манифестации менструалоподобных кровотечений у наших пациенток варьировали в возрасте от 2 мес до 6 лет. Спрогнозировать время появления следующего эпизода кровянистых выделений и частоту их в целом при синдроме МОБ, к сожалению, нельзя. Невозможность предугадать интенсивность течения пППР может затруднять в свою очередь решение вопроса о сроках начала терапии блокаторами эстрогеновых рецепторов: когда при первичном осмотре показания к терапии неочевидны, требуется наблюдение ребенка от 6 месяцев до года. При анализе необходимо оценить ростовую кривую, костный возраст в динамике. Частота кровотечений тоже имеет значение, однако следует иметь в виду, что эпизоды гиперэстрогении не всегда могут проявляться кровотечениями – кратковременный эпизод может привести только к увеличению молочных желез с последующей регрессией и остаться незамеченным родителями. Таким образом, в случае неблагоприятного ростового прогноза целесообразно назначать антиэстрогеновую терапию. Термин «пробное лечение» уместен здесь потому, что эффективность лечения индивидуальна.

Существуют два основных подхода к лечению пППР у девочек: препятствие биосинтезу эстрогена путем использования ингибиторов ароматазы либо предотвращение действия эстрогена за счет антагонистов эстрогеновых рецепторов в тканях-мишенях. Кроме того, описан опыт применения медрокпрогестерона в качестве препарата, препятствующего кровотечениям, но не влияющего на ростовой прогноз [163]. Из всех представителей ингибиторов ароматазы, эффективность в плане

улучшения ростового прогноза показал лишь летрозол (исследование Collins M.T. et al., n=9 девочек от 3 до 8 лет), с другой стороны, по данным этого исследования, было отмечено увеличение в объеме яичников и случай перекрута кисты на фоне приема [164]. Среди наших пациентов лишь одна девочка получала лечение аромазином без эффекта в течение года.

Из антагонистов эстрогеновых рецепторов в настоящее время используются тамоксифен и фулвестрант. Тамоксифен является избирательным модулятором эстрогеновых рецепторов. Конкурентно связывается с эстрогеновыми рецепторами и, в зависимости от ткани, действует как эстроген, либо как антиэстроген. Антиэстрогеновый эффект наиболее ярко проявляется в ткани молочной железы, с чем связано его широкое применение при раке молочных желез. Тамоксифен опосредует эффекты эстрогена в матке, чем обусловлен риск развития рака эндометрия при его применении. Действие же его на кости неоднозначно. Тамоксифен ингибирует остеокластогенез (напрямую и путем повышения синтеза остеопротегерина, OPG, в остеобластах), снижает резорбтивную активность остеокластов, способствует их апоптозу, что в целом выражается в снижении процессов костной резорбции, повышении минеральной плотности костей [165]. Эффекты тамоксифена на остеокласты подобны действию эстрогена, исключая тот факт, что эстроген, в отличие от тамоксифена, не оказывает прямого действия на остеокласты [166]. В то же время, действие тамоксифена на хондроциты обратное эффектам эстрогенов – блокирование дифференцировки хондроцитов, торможение созревания зон роста, в связи с чем попытки улучшить ростовой прогноз у детей с пППР на фоне синдрома МОБ оправданны [167]. При исследовании эффективности тамоксифена на 25 девочках с синдромом МОБ отмечалось снижение частоты эпизодов кровотечений, улучшение ростового прогноза, снижение выраженности ускорения роста, сохранялся увеличенный объем матки и яичников, высокий уровень эстрадиола [168]. Из наших пациентов лечение тамоксифеном в дозе 5 – 10 мг/сут получали 3 девочки. Показаниями к терапии у них являлось высокие темпы роста и ускорения костного возраста, неблагоприятный ростовой прогноз. Одной из девочек изначально был

назначен только медроксипрогестерон, на фоне которого в первый год лечения сохранялась прежняя частота кровотечений (до 3 раз в год) и прогрессирование костного возраста. Со второго года терапии эпизодов не отмечалось, но прогрессировал костный возраст, в связи с чем к терапии был добавлен тамоксифен. Другой пациентке терапия изначально комбинировалась с приемом препарата медроксипрогестерона (депо-провера™) в виду высокой частоты кровотечений (до 25 в год) и связанного с этим психологического дискомфорта. На фоне лечения отмечалось снижение частоты и интенсивности кровотечений (до 10 эпизодов в год, скудные выделения в течение суток). Из 3 пациенток к данному моменту терапия была завершена у одной и была успешна: отсутствие прогрессии костного возраста на фоне терапии, улучшение ростового прогноза (пациент 3 в таблице 11).

Фулвестрант – это первый полный антагонист эстрогеновых рецепторов. В отличие от тамоксифена, он не обладает свойствами агониста в отношении ткани матки и яичников и имеет сниженный риск осложнений, обусловленных эстрогеноподобным действием [169]. Еще одно мультицентровое международное исследование эффективности Фаслодекса™ (торговое название фулвестранта) проводится выпускающей фармкомпанией с 2006 г, данные этого исследования, в котором наши пациенты также принимали участие, пока не опубликованы. Среди наблюдаемых нами пациенток терапию фулвестрантом получали 11 девочек, из них четыре девочки входили в группу международного исследования эффективности Фаслодекса™. Показанием к назначению у них являлось диагноз синдром МОБ, SDS роста более +2, опережение костного возраста на 2 года и более, частые эпизоды кровотечений. Одной девочке Фаслодекс™ был назначен в раннем возрасте (9 месяцев) в связи с агрессивным течением ППП (три эпизода кровотечений, SDS роста +3, опережение костного возраста на 2 года). Остальным девочкам Фаслодекс™ назначался после оценки состояния в динамике, когда очевидной становилась частота эпизодов гиперэстрогении, прогрессирующее ускорение костного возраста и ухудшение ростового прогноза. Не всем девочкам с пППП на фоне синдрома МОБ назначалась сразу терапия блокаторами эстрогеновых рецепторов, даже если на момент

диагностики у них отмечалось опережение костного возраста: при наблюдении в динамике на фоне редких эпизодов гиперэстрогении скорость роста может замедляться до возрастной нормы и темпы костного созревания могут снижаться. Лечение фаслодексом дорогое, степень эффективности индивидуальна, поэтому в настоящее время в нашей стране лечение назначается только при очевидной отрицательной динамике в плане ростового прогноза.

Учитывая, что пяти девочкам терапия только была инициирована на момент написания данной работы, оценить эффективность применения возможно на примере 6 пациенток, получавших лечение продолжительностью от двух до пяти лет. В первый год лечения отмечалось прогрессирование к.в. от 0,5 до 4,5 лет за год, на втором году терапии темпы прогрессирования снизились: от 0 до 2 лет за год. Более трех лет терапию получали 4 девочки, ускорение к.в. составило у них от 0 до 0,5 лет за год. В целом на фоне лечения отмечалось снижение темпов прогрессии костного возраста. Помимо оценки ростовых показателей на фоне лечения антиэстрогенами отслеживается динамика частоты менструалоподобных выделений, уровня эстрадиола и размеров матки и яичников. Это позволяет дифференцировать причины замедления темпов пППР между эффективностью лекарства и просто отсутствием эпизодов повышения эстрадиола. В целом у наших пациенток на фоне лечения кратность эпизодов менструалоподобных выделений снижалась на фоне сохраняющихся эпизодов повышения эстрадиола, сопровождаемых периодическими клиническими проявлениями. К сожалению, среди наших пациентов не всем удавалось оценивать регулярно по месту жительства уровень Э2 каждые 3 месяца и проводить ультразвуковое исследование матки и яичников чаще чем 1 раз в 6-12 месяцев: как уже было сказано выше, полагаться на наличие кровотечений как единственный клинический признак наличия эстрогенпродуцирующих кист яичников нецелесообразно.

Преждевременное половое развитие мальчиков при синдроме МОБ имеет свои особенности, обусловленные различными вариантами распределения мутантных

аллелей в клетках тестикул. Может наблюдаться макроорхидизм в отсутствии других проявлений ППР в случае концентрации несущих мутацию аллелей *GNAS* в основном в клетках Сертоли с меньшим содержанием или отсутствием таковых в клетках Лейдига. При этом отмечается увеличение в объеме тестикул, сопровождающееся повышенным уровнем ингибина В и АМГ, без гиперпродукции половых стероидов и клинических признаков ППР (увеличение пениса, ускорение костного возраста) [114]. На течение пППРу мальчиков также может оказывать влияние другие компоненты заболевания: гиперпродукция тестостерона при синдроме Кушинга может также быть причиной появления признаков ППР в то время как тестикулы остаются интактными. Из наблюдаемых нами 11 мальчиков с синдромом МОБ лишь у четверых отмечались признаки ППР. Девять пациентов были обследованы по поводу ФД, у двоих мальчиков заболевание манифестировало синдромом Кушинга. При этом макроорхидизм отмечался у 7 (включая мальчика с полной формой ППР) и в 3 случаях сопровождался нарушениями экоструктуры и экзогенности. Изменения морфологической структуры увеличенных тестикул при синдроме МОБ в целом неспецифичны и включают в себя такие эхографические признаки как гипер- или гипозохогенные участки, микролитиаз, гетерогенность, нодулярная или диффузная гиперплазия [125]. Учитывая возможность развития опухолей из клеток Лейдига или Сертоли, пациентам с макроорхидизмом показано наблюдение в динамике с решением вопроса о необходимости орхидэктомии по показаниям [125].

Тиреопатии при синдроме МОБ по данным литературы встречаются в 66%, гипертиреозидизм - в 28% случаев [111]. В нашей выборке определялась более низкая частота встречаемости патологии щитовидной железы: 35% (95% ДИ: 22% - 49%, 19/55)) имели ЭХО-признаки изменений ткани щитовидной железы и у 13% (95% ДИ: 5% - 24%, 7/55) пациентов отмечался тиреотоксикоз. Минимальный возраст манифестации тиреопатий, согласно нашим наблюдениям, был 1,4 года, однако тиреотоксикоз может манифестировать и раньше, в неонатальный период или даже внутриутробно (33). Как показали наши данные, изменения щитовидной железы при синдроме МОБ неспецифичны и могут быть представлены множественными

коллоидными кистами, снижением эхоструктуры и эхогенности, многоузловым зобом, повышенной или нормальной васкуляризацией очаговых изменений структуры. Возможная схожесть эхографической картины тиреопатии при синдроме МОБ с АИТ обуславливает необходимость оценки уровня аутоантител к ТГ и ТПО при выявлении ЭХО-признаков патологии щитовидной железы. Также среди наших пациентов отмечались узловые образования, с умеренными темпами прогрессии в размерах в динамике. Узловых образований было несколько, в одной или обеих долях щитовидной железы, всегда на фоне изменённой структуры ткани железы. Учитывая природу диффузно-узлового зоба и низкий риск злокачественности по шкале TIRADS, пункционная биопсия узлов у детей с МОБ не проводилась. У пациентов с тиреотоксикозом отмечался увеличенный ТЗсв даже при нормальном Т4св. Увеличение цАМФ в тиреоцитах (вследствие активирующей мутации Gas) приводит к повышенной активности 5'-дейодиназ, переводящих тироксин в более активный метаболит трийодтиронин [170]. Тиреотоксикоз при МОБ поддается успешному лечению тиреостатиками. Подавляя избыточную продукцию гормонов щитовидной железы, тиреостатическая терапия у наших пациентов не влияла на прогрессирующие морфологические изменения в ткани, которые могут потребовать в будущем тиреоидэктомию в случае формирования выраженного зоба.

*Гипофосфатемическая гиперфосфатурия, выявленная у 18 детей (33%, 95% ДИ: 21% - 47%, 18/55) сопровождалась умеренными признаками рахита лишь в двух случаях. Вопрос о показаниях к терапии гипофосфатемической гиперфосфатурии при синдроме МОБ дискуссионен. С одной стороны, при исследовании гистоморфометрических характеристик костной ткани у детей с ФД не было получено убедительных данных за влияние гипофосфатемии на тяжесть течения ФД, хотя отмечались диффузные дефекты минерализации костной ткани без явных рентгенологических признаков рахита [171]. Кроме того, следует учитывать возможность развития нефрокальциноза на фоне терапии препаратами фосфора. С другой стороны, есть данные о том, что присутствие данного метаболического нарушения коррелировало с ранними и более частыми эпизодами переломов у детей*

с ФД [118]. Отсутствие единого консенсуса по ведению данного компонента синдрома МОБ в настоящее время оставляет возможность индивидуального подхода при решении вопроса о терапии, учитывающего степени выраженности гипофосфатемии, тяжести течения ФД и наличия признаков рахита.

*Гиперсекреция СТГ*, отмечавшаяся в 26% случаев (95% ДИ: 15% - 39%, 14/55) может оказывать большое влияние на тяжесть заболевания в целом. С одной стороны, СТГ-гиперсекреция у детей с ранней манифестацией ППР, может способствовать более хорошему ростовому прогнозу за счет высоких темпов линейного роста. С другой стороны, она ухудшает течение ФД в костях черепа, способствуя возникновению осложнений со стороны органов зрения и слуха [117]. Ретроспективный анализ пациентов с СТГ-гиперсекрецией показал, что раннее назначение терапии, подавляющей избыточную продукцию СТГ, способствует снижению риску развития оптической нейропатии и прогрессии ФД [172]. Помимо эффекта на ФД, СТГ-гиперсекреция, в случае отсутствия терапии, может вызывать у пациентов с синдромом МОБ сердечно-сосудистые осложнения [111]. Исходя из данных мировой литературы, решая вопрос о назначении терапии соматостатином нашим пациентам с СТГ-гиперсекрецией, мы оценивали следующие показатели: выраженность СТГ-гиперсекреции по показателю SDS ИФР, тяжесть течения ФД черепа по оценке состояния костей в динамике по МСКТ и наличию осложнений (диаметр каналов зрительных нервов, слуховых проходов, воздушность придаточных пазух). В соответствии выбранными критериями, наибольший риск в плане развития осложнений отмечался у четырех пациентов с выраженной ФД черепа и повышенным уровнем SDS ИФР и наличием диффузной гиперплазии аденогипофиза в одном случае. Аденома гипофиза при синдроме МОБ развивается на фоне гиперфункции сомато- и лактотрофов гипофиза, но наблюдается при СТГ-гиперфункции не всегда. Среди наших пациентов с гиперсекрецией ГР, она встречалась у 4 пациентов, из них терапия соматостатином была назначена одному пациенту, в остальных случаях при наблюдении в динамике не отмечалось значимого увеличения аденом в размерах либо развития осложнений ФД черепа, хотя в одном случае с наиболее длительным

периодом наблюдения (10 лет) можно было отметить увеличение размеров черепа в динамике без функциональных осложнений. Оперативное лечение аденом гипофиза при синдроме МОБ связано с большими трудностями: во-первых, может быть затруднен трансфеноидальный доступ к турецкому седлу из-за распространенных очагов фиброза, во-вторых, аденома не всегда может быть четко дифференцирована от нормальной ткани гипофиза из-за диффузной гиперплазии соматотрофов. Радиотерапия может обусловить риск озлокачествления фиброзных очагов, в связи с чем не рекомендуется пациентам с синдромом МОБ [173]. Поэтому предпочтительная тактика ведения – это снижение СТГ-гиперсекреции за счет применения лекарственных средств – аналогов соматостатина, антагонистов рецепторов к СТГ.

*Синдром Кушинга* – одно из редких компонентов синдрома МОБ: среди наших пациентов был отмечен в 9% случаев, тогда как по данным литературы частота встречаемости его составляла 4% [111]. АКТГ-независимый гиперкортицизм развивается в случае распределения мутантных аллелей в фетальную кору надпочечников и поэтому носит врожденный характер: дети рождаются с более низкими показателями роста и веса при рождении, быстро набирают вес по кушингоидному типу, практически не растут, также у них может отмечаться гиперандрогения, гипергликемия, гипертензия. Синдром Кушинга также может считаться одним из самых грозных компонентов синдрома МОБ, так как у таких детей повышен риск смерти от осложнений гиперкортицизма, таких как развитие оппортунистических инфекций на фоне иммунодефицита и сердечной недостаточности на фоне гипертензии [174]. Будучи редким состоянием, неонатальный АКТГ-независимый гиперкортицизм чаще всего обусловлен именно синдромом МОБ и может явиться первым проявлением заболевания. Морфологически АКТГ-независимый гиперкортицизм при синдроме МОБ представляет собой узелковую двустороннюю гиперплазию надпочечников. Учитывая двусторонний характер поражения, логично предположить, что односторонняя адреналэктомия не может быть эффективным методом лечения, однако, как показывает наш собственный опыт и случаи, описанные в литературе, может быть регресс гиперкортицизма после удаления



одного надпочечника [175]. При этом, во всех случаях отмечалась двусторонняя гиперплазия и поэтому регресс проявлений после удаления одного надпочечника может быть связан не столько с эффективностью операции, сколько со спонтанной инволюцией мутантных клеток коры оставшегося надпочечника. Этим в настоящее время объясняются случаи регресса синдрома Кушинга [119,176,177].

*Тахикардия*, не связанная с тиреотоксикозом, может объясняться наличием активирующих мутаций в сердечной мышце [100]: бета-адренорецепторы передают сигнал через альфа-субъединицу G белка, поэтому автономная гиперфункция Gas в кардиомиоцитах может обусловить тахикардию. Кроме того, фиброзная ткань, будучи богато васкуляризованной, может увеличивать нагрузку на сердце, обуславливая повышенную функциональную активность. Ни по нашим данным, ни по данным зарубежных коллег (Collins et al., длительность наблюдения 10 лет), тахикардия при МОБ (не являющаяся осложнением другого компонента МОБ), не ведет к сердечной недостаточности [111]. Таким пациентам рекомендуется регулярное наблюдение с проведением ЭХО-КГ и назначение терапии бета-блокаторами в случае выявления возможных признаков декомпенсации.

*Молекулярно-генетическое подтверждение диагноза синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева* затруднено. В силу соматического характера мутации рутинные методы молекулярно-генетического исследования ДНК периферической крови неинформативны. Разработка доступного и эффективного метода молекулярно-генетической верификации диагноза имеет значение для пациентов со стертыми формами, у которых наличие синдрома сомнительно. Подтверждение диагноза способствовало бы определению тактики ведения таких пациентов. До настоящего времени поиск оптимальных методов диагностики соматических мутаций *GNAS* при синдроме МОБ, ограничивался в основном проведением исследования по образцам, полученным из пораженных тканей, тогда как исследования ДНК пациентов с синдромом МОБ, полученной из образцов крови, немногочисленны и ограничены малыми выборками, до 16 образцов [134,178,179]. В процессе работы апробировались

два метода исследования — метод высокопроизводительного параллельного секвенирования и метод детекции соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием метода TaqMan™. Метод высокопроизводительного параллельного секвенирования обеспечивает независимый анализ миллионов ПЦР-ампликонов, что позволяет обнаруживать мутантные аллели, представленные в низком количестве в образце (соматические мутации). Метод детекции соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием метода TaqMan™ заключается в проведении аллель-специфического ПЦР в режиме реального времени в образцах, содержащих большое количество нормальной ДНК и позволяет проводить аллель-специфическую амплификацию за счет подавления образования копий с аллелем дикого типа. Оба типа исследования зарекомендовали себя как эффективные способы выявления соматических мутаций при онкологических заболеваниях, что позволяло предполагать их эффективность при детекции соматических мутаций *GNAS*.

Для определения чувствительности методов исследования, все пациенты были разделены на группы по степени тяжести заболевания. Следует отметить, что официальной классификации МОБ по тяжести течения не существует. При выборе критериев учитывались два фактора: наличие мультикомпонентности и течение отдельных компонентов, способных значимо повлиять на уровень жизни пациента. Разделение пациентов на группы позволило оценить возможность применения использованных молекулярно-генетических методов обследования для пациентов с минимумом клинических проявлений или подозрением на МОБ.

Мутации были найдены в 88% (95% ДИ: 47% - 100%, 7/8) у пациентов с тяжелым течением заболевания, в 53% (95% ДИ: 28% - 77%, 9/17) случаев у пациентов со средней тяжестью течения и ни в одном случае легкого течения (0%, 95% ДИ: 0% - 23%, 0/14) или подозрения на МОБ 0%, (95% ДИ: 0% - 46%, 0/6). Высокий процент выявляемости мутаций в группах с тяжелой степенью тяжести можно объяснить тем, что тяжелые формы заболевания обусловлены более высоким содержанием мутантных

аллелей *GNAS* в различных тканях организма, что делает возможным их детекцию по ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови. При легких формах заболевания, сопровождающихся минимумом клинических проявлений, по всей видимости, концентрация мутантных аллелей в периферической крови ниже порога чувствительности проведенных методов исследований. Несмотря на высокую специфичность, низкая прогностическая значимость отрицательного результата и очевидно низкая чувствительность использованных методов диктуют необходимость дальнейшего изучения проблемы молекулярно-генетической верификации диагноза синдрома МОБ.

#### 4.3. Заключение

Проведенное исследование позволило впервые в РФ оценить соответствие дефектов гена *GNAS* фенотипическим проявлениям при ПГП на относительно большой группе пациентов, оценить варианты проявлений синдрома МОБ в российской популяции, определить возможность применения молекулярно-генетических методов диагностики ПГП и синдрома МОБ в практике.

Учитывая примерную распространенность ПГП, рассчитанную в других странах, можно предполагать наличие гораздо большего числа пациентов с этим заболеванием, чем приведенная в исследовании выборка. Тем не менее, результаты описательной статистики, демонстрирующие частоту встречаемости признаков ПГП и осложнений в обследованной выборке, представляют научный интерес, учитывая редкость заболевания и малое количество публикаций подобных работ в мире. Сопоставление результатов молекулярно-генетического исследования с данными клинических проявлениях ПГП продемонстрировало возможность развития признаков НОО как при мутациях и делециях в гене *GNAS*, так и при дефектах метилирования. Определение типа дефекта *GNAS* не может служить основанием для прогнозирования течения заболевания и вероятности развития тех или иных компонентов. Тем не менее, пациентам с ПГП рекомендуется проводить секвенирование гена *GNAS* и определение дефектов метилирования для уточнения типа ПГП и возможности дальнейшего

медико-генетического консультирования семьи. Эффективный метод молекулярно-генетической диагностики соматических мутаций *GNAS* по ДНК, полученной из лейкоцитов периферической крови, представляется необходимым в сомнительных случаях, когда наличие или отсутствие заболевания неясно. Примененные методы диагностики (NGS и TaqMan CAST-PCR) способны выявлять соматические мутации *GNAS*, однако низкая чувствительность и низкая прогностическая значимость отрицательного результата, не позволяют рекомендовать эти методы как диагностически ценные при верификации синдрома МОБ. Результаты работы позволили разработать алгоритмы ведения пациентов с ПГП и синдромом МОБ.

## Глава 5. ВЫВОДЫ

1. Нарушения пострецепторного сигналинга вследствие инактивирующих мутаций и нарушений метилирования в гене *GNAS* выявлены у 75% пациентов с клинической картиной псевдогипопаратиреоза. Генные мутации в *GNAS* были выявлены в 41% и эпимутации в *GNAS* в 34% случаев.

2. Выделено четыре клинических варианта течения псевдогипопаратиреоза: мультигормональная резистентность в сочетании наследственной остеодистрофией Олбрайта (47%), изолированная ПТГ-резистентность (26%), мультигормональная резистентность без компонентов НОО (16%), ПТГ-резистентность в сочетании наследственной остеодистрофией Олбрайта (11%).

3. Компоненты наследственной остеодистрофии Олбрайта встречаются при всех вариантах молекулярно-генетических дефектов в *GNAS*: в 100% случаев при мутациях в гене *GNAS* и в 64% при эпимутациях в *GNAS*.

4. Автономная гиперфункция эндокринных желез при синдроме МакКьюна-Олбрайта-Брайцева чаще всего представлена нарушением функции гонад: периферическое преждевременное половое развитие у 98% девочек, тогда как у мальчиков в 64% отмечался макроорхидизм в отсутствии признаков прогрессии полового развития и в 36% периферическое преждевременное половое развитие. С меньшей частотой отмечались тиреопатии (35%), гиперсекреция СТГ (26%), синдром Кушинга (9%).

5. Среди неэндокринных компонентов синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева у 84% пациентов имелись пятна цвета «кофе-с-молоком» и в 78% отмечалась фиброзная дисплазия, реже встречались гипофосфатемия (33%) и автономная тахикардия (20%).

6. Мультисистемный характер синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева был представлен тремя вариантами течения: классическая триада признаков и

мультигэндокринная гиперфункция (36%), классическая триада с поражением одного органа эндокринной системы (36%), наличие двух признаков синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева (28%)

7. Методы высокопроизводительного параллельного секвенирования и детекции соматических мутаций с помощью полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с использованием технологии TaqMan™ по ДНК, полученной из периферической крови, позволяют выявить мутации в *GNAS* R201C и R201H в 88% при тяжелом течении синдрома МакКьюна-Олбрайта-Брайцева и только в 53% при средней тяжести течения заболевания.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам с псевдогипопаратиреозом и проявлениями наследственной остеодистрофии Олбрайта рекомендуется в первую очередь проводить детекцию мутаций в гене *GNAS*. Пациентам с псевдогипопаратиреозом при отсутствии проявлений наследственной остеодистрофии Олбрайта следует исследовать дефекты метилирования *GNAS* и детекцию микроделеций *STX 16* методом метил-специфической мультиплексной амплификации лигированных зондов с последующим медико-генетическим консультированием семьи при выявлении дефектов в *GNAS*.

2. Всем детям с судорожным синдромом рекомендуется проводить исследование показателей кальций-фосфорного обмена, в том числе паратгормона, с целью ранней диагностики псевдогипопаратиреоза.

3. Детям с ранними формами прогрессирующего ожирения, с неаутоиммунными первичным гипотиреозом рекомендуется исключение псевдогипопаратиреоза в рамках проводимой дифференциальной диагностики причины заболевания

4. Синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева устанавливается на основании клинических критериев, тогда как имеющиеся на сегодняшний день методы генетической диагностики не могут являться ключевыми. Критериями диагностики являются пятна цвета «кофе-с-молоком», фиброзная дисплазия, автономная эндокринная гиперфункция. Клинические компоненты могут манифестировать на протяжении всей жизни, поэтому рекомендуется регулярный скрининг на наличие возможных новых компонентов. При наличии фиброзной дисплазии или одной из возможных при синдроме МОБ автономной эндокринной гиперфункции рекомендуется скрининг на все возможные компоненты и наблюдение в динамике.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

G-белок - гуанин-нуклеотид связанный белок, guanine nucleotide-binding protein.

$G_{\alpha s}$  - стимулирующая  $\alpha$ -субъединица G-белка.

$G_{\alpha i}$  - ингибирующая альфа-субъединица G-белка.

$G_{\alpha q}$  - альфа-q-субъединица G-белка.

*GNAS* (guanine nucleotide binding protein, alpha stimulating) - комплексный локус, кодирующий  $G_{\alpha s}$  и другие продукты.

NESP55 - хромограниноподобный нейроэндокринный специфический белок массой 55 кДа.

*XL $\alpha s$* , extra large  $G_{\alpha s}$  – экстра-крупная изоформа стимулирующей альфа-субъединицы G белка.

*STX16* (syntaxin 16) – ген, кодирующий белок синтаксин 16.

*IDH1*(isocitrate dehydrogenase)- ген, кодирующий изоцитратдегидрогеназу 1.

*KRAS* (kirsten murine sarcoma virus 2) –онкоген, выделенный из вируса саркомы мышей Кирстен.

FGF23 - Fibroblast growth factor 23, фактор роста фибробластов 23.

PDGF – тромбоцитарный фактор роста.

ГДФ – гуаниндифосфат.

ГТФ – гуанинтрифосфат.

Стимулирующая альфа-субъединица G-белка ( $G_{\alpha s}$ ).



цАМФ – циклический аденозинмонофосфат.

ПТГ – паратгормон.

ПТГ-рецептор/ПТГ-ПТГпП-рецептор – рецептор к ПТГ и ПТГ-подобному пептиду.

ТТГ – тиреотропный гормон.

ГР-РГ- гормон-роста-рилизинг гормон.

ЛГ – лютеинизирующий гормон.

ФСГ – фолликулостимулирующий гормон.

АКТГ – адренкортикотропный гормон.

МСГ – меланоцитостимулирующий гормон.

ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста-1.

ФРФ – фактор роста фибробластов.

ЭРФ – эпидермальный фактор роста.

ССТ - сайт старта транскрипции промоторных областей альтернативных первых экзонов.

ДМР - дифференциально метилируемый регион.

NPT2a - the type IIa sodium-dependent phosphate co-transporter – 2a тип натрий-зависимого фосфатного ко-транспортера.

NPT2c - the type IIc sodium-dependent phosphate co-transporter – 2c тип натрий-зависимого фосфатного ко-транспортера.

V2R - вазопрессиновый рецептора 2 типа.

НОО - наследственная остеодистрофия Олбрайта.

ПГП – псевдогипопаратиреоз.

Синдром МОБ – синдром МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

ПОГ - прогрессирующая остеонидная гетероплазия.

НФ I типа - нейрофиброматоз I типа.

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография.

УЗИ – ультразвуковое исследование.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Catt K.J., Dufau M.L. Basic concepts of the mechanism of action of peptide hormones // Biol. Reprod. 1976. Vol. 14, № 1. P. 1–15.
2. Simon M.I., Strathmann M.P., Gautam N. Diversity of G proteins in signal transduction // Science. 1991. Vol. 252, № 5007. P. 802–808.
3. Svoboda P. et al. Biochemistry of transmembrane signaling mediated by trimeric G proteins // Physiol. Res. 2004. Vol. 53 Suppl 1. P. S141–152.
4. Weinstein L.S., Chen M., Liu J. Gs(alpha) mutations and imprinting defects in human disease // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002. Vol. 968. P. 173–197.
5. Hayward B.E. et al. The human GNAS1 gene is imprinted and encodes distinct paternally and biallelically expressed G proteins // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 1998. Vol. 95, № 17. P. 10038–10043.
6. Eder S. et al. Secretion and Molecular Forms of NESP55, a Novel Genomically Imprinted Neuroendocrine-Specific Protein from AtT-20 Cells // Neurosignals. 2004. Vol. 13, № 6. P. 298–307.
7. Gupta M. et al. Immunohistochemical expression of neuroendocrine secretory protein-55 (NESP-55) in pituitary adenomas // Endocr. Pathol. 2011. Vol. 22, № 3. P. 150–154.
8. Klemke M. et al. Characterization of the extra-large G protein alpha-subunit XLalphas. II. Signal transduction properties // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275, № 43. P. 33633–33640.
9. Geneviève D. et al. Paternal deletion of the GNAS imprinted locus (including Gnasxl) in two girls presenting with severe pre- and post-natal growth retardation and intractable feeding difficulties // Eur. J. Hum. Genet. EJHG. 2005. Vol. 13, № 9. P. 1033–1039.
10. Richard N. et al. Paternal GNAS mutations lead to severe intrauterine growth retardation (IUGR) and provide evidence for a role of XLas in fetal development // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2013. Vol. 98, № 9. P. E1549–1556.
11. Fernández-Rebollo E. et al. Loss of XLas (extra-large  $\alpha$ s) imprinting results in early postnatal hypoglycemia and lethality in a mouse model of pseudohypoparathyroidism Ib // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2012. Vol. 109, № 17. P. 6638–6643.
12. He Q. et al. The G protein  $\alpha$ -subunit variant XLas promotes Gq/11-dependent signaling and mediates the renal actions of parathyroid hormone in vivo // Sci. Signal. 2015. Vol. 8, № 391. P. ra84.
13. Liu J. et al. A GNAS1 imprinting defect in pseudohypoparathyroidism type IB // J. Clin. Invest. 2000. Vol. 106, № 9. P. 1167–1174.
14. Mantovani G. et al. The gsalph gene: predominant maternal origin of transcription in human thyroid gland and gonads // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2002. Vol. 87, № 10. P. 4736–4740.
15. Hayward B.E. et al. Imprinting of the G(s)alpha gene GNAS1 in the pathogenesis of acromegaly // J. Clin. Invest. 2001. Vol. 107, № 6. P. R31–36.
16. Chen M. et al. Gs $\alpha$  deficiency in the paraventricular nucleus of the hypothalamus partially contributes to obesity associated with Gs $\alpha$  mutations // Endocrinology. 2012. Vol. 153, № 9. P. 4256–4265.

17. Chen M. et al. Gs $\alpha$  deficiency in the dorsomedial hypothalamus underlies obesity associated with Gs $\alpha$  mutations // *J. Clin. Invest.* 2017. Vol. 127, № 2. P. 500–510.
18. Klenke S., Siffert W., Frey U.H. A novel aspect of GNAS imprinting: higher maternal expression of Gs $\alpha$  in human lymphoblasts, peripheral blood mononuclear cells, mammary adipose tissue, and heart // *Mol. Cell. Endocrinol.* 2011. Vol. 341, № 1–2. P. 63–70.
19. Liu J. et al. Identification of the control region for tissue-specific imprinting of the stimulatory G protein alpha-subunit // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005. Vol. 102, № 15. P. 5513–5518.
20. Bastepe M. et al. Autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type Ib is associated with a heterozygous microdeletion that likely disrupts a putative imprinting control element of GNAS // *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 112, № 8. P. 1255–1263.
21. Bastepe M. et al. Deletion of the NESP55 differentially methylated region causes loss of maternal GNAS imprints and pseudohypoparathyroidism type Ib // *Nat. Genet.* 2005. Vol. 37, № 1. P. 25–27.
22. Habener J.F., Rosenblatt M., Potts J.T. Parathyroid hormone: biochemical aspects of biosynthesis, secretion, action, and metabolism // *Physiol. Rev.* 1984. Vol. 64, № 3. P. 985–1053.
23. Nakagawa N. et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. Vol. 253, № 2. P. 395–400.
24. Lee S.K., Lorenzo J.A. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation // *Endocrinology.* 1999. Vol. 140, № 8. P. 3552–3561.
25. Lavi-Moshayoff V. et al. PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop // *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2010. Vol. 299, № 4. P. F882–889.
26. Bellido T., Saini V., Pajevic P.D. Effects of PTH on osteocyte function // *Bone.* 2013. Vol. 54, № 2. P. 250–257.
27. Regard J.B. et al. Activation of Hedgehog signaling by loss of GNAS causes heterotopic ossification // *Nat. Med.* 2013. Vol. 19, № 11. P. 1505–1512.
28. Chen Q. et al. Fate decision of mesenchymal stem cells: adipocytes or osteoblasts? // *Cell Death Differ.* 2016. Vol. 23, № 7. P. 1128–1139.
29. Fan Y. et al. Parathyroid Hormone Directs Bone Marrow Mesenchymal Cell Fate // *Cell Metab.* 2017. Vol. 25, № 3. P. 661–672.
30. Lupp A. et al. Immunohistochemical identification of the PTHR1 parathyroid hormone receptor in normal and neoplastic human tissues // *Eur. J. Endocrinol.* 2010. Vol. 162, № 5. P. 979–986.
31. Keusch I. et al. Parathyroid hormone and dietary phosphate provoke a lysosomal routing of the proximal tubular Na/Pi-cotransporter type II // *Kidney Int.* 1998. Vol. 54, № 4. P. 1224–1232.

32. Zhao N., Tenenhouse H.S. Npt2 gene disruption confers resistance to the inhibitory action of parathyroid hormone on renal sodium-phosphate cotransport // *Endocrinology*. 2000. Vol. 141, № 6. P. 2159–2165.
33. Friedman P.A., Gesek F.A. Cellular calcium transport in renal epithelia: measurement, mechanisms, and regulation // *Physiol. Rev.* 1995. Vol. 75, № 3. P. 429–471.
34. Van Sande J. et al. Thyrotropin activates both the cyclic AMP and the PIP2 cascades in CHO cells expressing the human cDNA of TSH receptor // *Mol. Cell. Endocrinol.* 1990. Vol. 74, № 1. P. R1-6.
35. Goel R. et al. A Signaling Network of Thyroid-Stimulating Hormone // *J. Proteomics Bioinform.* 2011. Vol. 4.
36. Dattatreya Murthy B., Figgs L.W., Reichert L.E. Physical and functional association of follitropin receptors with cholera toxin-sensitive guanine nucleotide-binding protein // *J. Biol. Chem.* 1987. Vol. 262, № 24. P. 11737–11745.
37. Margioris A.N., Tsatsanis C. ACTH Action on the Adrenals // *Endotext* / ed. De Groot L.J. et al. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000.
38. Butler A.A., Cone R.D. The melanocortin receptors: lessons from knockout models // *Neuropeptides*. 2002. Vol. 36, № 2–3. P. 77–84.
39. Tao Y.-X. The Melanocortin-4 Receptor: Physiology, Pharmacology, and Pathophysiology // *Endocr. Rev.* 2010. Vol. 31, № 4. P. 506–543.
40. Mayo K.E. et al. Regulation of the pituitary somatotroph cell by GHRH and its receptor // *Recent Prog. Horm. Res.* 2000. Vol. 55. P. 237-266; discussion 266-267.
41. Nakamura S., Rodbell M. Glucagon induces disaggregation of polymer-like structures of the alpha subunit of the stimulatory G protein in liver membranes // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991. Vol. 88, № 16. P. 7150–7154.
42. Daaka Y., Luttrell L.M., Lefkowitz R.J. Switching of the coupling of the beta2-adrenergic receptor to different G proteins by protein kinase A // *Nature*. 1997. Vol. 390, № 6655. P. 88–91.
43. Albright F. et al. Pseudo-hypoparathyroidism--an example of "Seabright-Bantam syndrome": report of three cases. // *Endocrinology*. 1942. Vol. 30. P. 922–932.
44. Haynes R.C., Sutherland E.W., Rall T.W. The role of cyclic adenylic acid in hormone action // *Recent Prog. Horm. Res.* 1960. Vol. 16. P. 121–138.
45. Chase L.R., Melson G.L., Aurbach G.D. Pseudohypoparathyroidism: defective excretion of 3',5'-AMP in response to parathyroid hormone // *J. Clin. Invest.* 1969. Vol. 48, № 10. P. 1832–1844.
46. Chase L.R., Aurbach G.D. Parathyroid function and the renal excretion of 3'5'-adenylic acid // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1967. Vol. 58, № 2. P. 518–525.
47. Drezner M., Neelon F.A., Lebovitz H.E. Pseudohypoparathyroidism type II: a possible defect in the reception of the cyclic AMP signal // *N. Engl. J. Med.* 1973. Vol. 289, № 20. P. 1056–1060.
48. Peterman M.G., Garvey J.L. Pseudohypoparathyroidism; case report // *J. Lab. Clin. Med.* 1948. Vol. 33, № 12. P. 1620.
49. Farfel Z. et al. Defect of receptor-cyclase coupling protein in pseudohypoparathyroidism // *N. Engl. J. Med.* 1980. Vol. 303, № 5. P. 237–242.

50. Spiegel A.M. et al. Deficiency of hormone receptor-adenylate cyclase coupling protein: basis for hormone resistance in pseudohypoparathyroidism // *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 1982. Vol. 243, № 1. P. E37–E42.
51. Gilman A.G. G proteins and dual control of adenylate cyclase // *Cell*. 1984. Vol. 36, № 3. P. 577–579.
52. Levine M.A. et al. Activity of the stimulatory guanine nucleotide-binding protein is reduced in erythrocytes from patients with pseudohypoparathyroidism and pseudopseudohypoparathyroidism: biochemical, endocrine, and genetic analysis of Albright's hereditary osteodystrophy in six kindreds // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1986. Vol. 62, № 3. P. 497–502.
53. Patten J.L. et al. Mutation in the gene encoding the stimulatory G protein of adenylate cyclase in Albright's hereditary osteodystrophy // *N. Engl. J. Med.* 1990. Vol. 322, № 20. P. 1412–1419.
54. Davies S.J., Hughes H.E. Imprinting in Albright's hereditary osteodystrophy. // *J. Med. Genet.* 1993. Vol. 30, № 2. P. 101–103.
55. Hayward B.E. et al. Bidirectional imprinting of a single gene: GNAS1 encodes maternally, paternally, and biallelically derived proteins // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1998. Vol. 95, № 26. P. 15475–15480.
56. Jüppner H. et al. The gene responsible for pseudohypoparathyroidism type Ib is paternally imprinted and maps in four unrelated kindreds to chromosome 20q13.3 // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1998. Vol. 95, № 20. P. 11798–11803.
57. Mantovani G. Pseudohypoparathyroidism: Diagnosis and Treatment // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011. Vol. 96, № 10. P. 3020–3030.
58. Long D.N. et al. Body Mass Index Differences in Pseudohypoparathyroidism Type 1a Versus Pseudopseudohypoparathyroidism May Implicate Paternal Imprinting of Gαs in the Development of Human Obesity // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007. Vol. 92, № 3. P. 1073–1079.
59. Chen M. et al. Central nervous system imprinting of the G protein G(s)α and its role in metabolic regulation // *Cell Metab.* 2009. Vol. 9, № 6. P. 548–555.
60. Mouallem M. et al. Cognitive impairment is prevalent in pseudohypoparathyroidism type Ia, but not in pseudopseudohypoparathyroidism: possible cerebral imprinting of Gsα // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. 2008. Vol. 68, № 2. P. 233–239.
61. Schuster V., Kress W., Kruse K. Paternal and maternal transmission of pseudohypoparathyroidism type Ia in a family with Albright hereditary osteodystrophy: no evidence of genomic imprinting. // *J. Med. Genet.* 1994. Vol. 31, № 1. P. 84.
62. Lau K. et al. Linear skin atrophy preceding calcinosis cutis in pseudo-pseudohypoparathyroidism // *Clin. Exp. Dermatol.* 2012. Vol. 37, № 6. P. 646–648.
63. Ward S. et al. Three cases of osteoma cutis occurring in infancy. A brief overview of osteoma cutis and its association with pseudo-pseudohypoparathyroidism // *Australas. J. Dermatol.* 2011. Vol. 52, № 2. P. 127–131.
64. Turan S. et al. Evidence of hormone resistance in a pseudo-pseudohypoparathyroidism patient with a novel paternal mutation in GNAS // *Bone*. 2015. Vol. 71. P. 53–57.

65. Manfredi R. et al. Pseudopseudohypoparathyroidism associated with idiopathic growth hormone deficiency. Role of treatment with biosynthetic growth hormone // *J. Endocrinol. Invest.* 1993. Vol. 16, № 9. P. 709–713.
66. Germain-Lee E.L. et al. A mouse model of albright hereditary osteodystrophy generated by targeted disruption of exon 1 of the *Gnas* gene // *Endocrinology*. 2005. Vol. 146, № 11. P. 4697–4709.
67. Turan S. et al. Postnatal establishment of allelic *Gas* silencing as a plausible explanation for delayed onset of parathyroid hormone resistance owing to heterozygous *Gas* disruption // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2014. Vol. 29, № 3. P. 749–760.
68. Bastepe M. The *GNAS* Locus: Quintessential Complex Gene Encoding *Gsα*, *XLαs*, and other Imprinted Transcripts // *Curr. Genomics*. 2007. Vol. 8, № 6. P. 398–414.
69. Adegbite N.S. et al. Diagnostic and Mutational Spectrum of Progressive Osseous Heteroplasia (POH) and Other Forms of *GNAS*-based Heterotopic Ossification // *Am. J. Med. Genet. A*. 2008. Vol. 146A, № 14. P. 1788–1796.
70. Cairns D.M. et al. Somitic disruption of *GNAS* in chick embryos mimics progressive osseous heteroplasia // *J. Clin. Invest.* 2013. Vol. 123, № 8. P. 3624–3633.
71. Levine M.A. et al. Deficient activity of guanine nucleotide regulatory protein in erythrocytes from patients with pseudohypoparathyroidism // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1980. Vol. 94, № 4. P. 1319–1324.
72. Marguet C. et al. Clinical and biological heterogeneity in pseudohypoparathyroidism syndrome. Results of a multicenter study // *Horm. Res.* 1997. Vol. 48, № 3. P. 120–130.
73. Thiele S. et al. Functional characterization of *GNAS* mutations found in patients with pseudohypoparathyroidism type Ic defines a new subgroup of pseudohypoparathyroidism affecting selectively *Gsα*-receptor interaction // *Hum. Mutat.* 2011. Vol. 32, № 6. P. 653–660.
74. Elli F.M. et al. Quantitative analysis of methylation defects and correlation with clinical characteristics in patients with pseudohypoparathyroidism type I and *GNAS* epigenetic alterations // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014. Vol. 99, № 3. P. E508–517.
75. de Nanclares G.P. et al. Epigenetic defects of *GNAS* in patients with pseudohypoparathyroidism and mild features of Albright's hereditary osteodystrophy // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007. Vol. 92, № 6. P. 2370–2373.
76. Fernández-Rebollo E. et al. Endocrine profile and phenotype-(epi)genotype correlation in Spanish patients with pseudohypoparathyroidism // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013. Vol. 98, № 5. P. E996–1006.
77. Elli F.M. et al. The Prevalence of *GNAS* Deficiency-Related Diseases in a Large Cohort of Patients Characterized by the EuroPHP Network // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2016. Vol. 101, № 10. P. 3657–3668.
78. Elli F.M. et al. Autosomal dominant pseudohypoparathyroidism type Ib: a novel inherited deletion ablating *STX16* causes loss of imprinting at the A/B DMR // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014. Vol. 99, № 4. P. E724–728.

79. Chillambhi S. et al. Deletion of the noncoding GNAS antisense transcript causes pseudohypoparathyroidism type Ib and biparental defects of GNAS methylation in cis // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2010. Vol. 95, № 8. P. 3993–4002.
80. Fernández-Rebollo E. et al. New mechanisms involved in paternal 20q disomy associated with pseudohypoparathyroidism // Eur. J. Endocrinol. 2010. Vol. 163, № 6. P. 953–962.
81. Akın L. et al. Vitamin D deficiency rickets mimicking pseudohypoparathyroidism // J. Clin. Res. Pediatr. Endocrinol. 2010. Vol. 2, № 4. P. 173–175.
82. McCune D.J. Osteitis fibrosa cystica ; the case of a nine year old girl who also exhibits precocious puberty, multiple pigmentation of the skin and hyperthyroidism // Am. J. Dis. Child. 1936. Vol. 52. P. 743–747.
83. McCune D.J., Bruch H. Osteodystrophia fibrosa: Report of a case in which the condition was combined with precocious puberty, pathologic pigmentation of the skin and hyperthyroidism, with a review of the literature // Am. J. Dis. Child. 1937. Vol. 54, № 4. P. 806–848.
84. Albright F., Scoville B., Sulkowitch H.W. Syndrome characterized by osteitis fibrosa disseminata, areas of pigmentation, and a gonadal dysfunction further observations including the report of two more cases // Endocrinology. 1937. Vol. 216, № 17. P. 727–746.
85. Albright F. Polyostotic fibrous dysplasia; a defense of the entity // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1947. Vol. 7, № 5. P. 307–324.
86. Beas F. et al. Urinary C-19 steroids in a girl with the McCune-Albright syndrome // Helv. Paediatr. Acta. 1962. Vol. 17. P. 359–366.
87. Брайцев Б.Р. Osteodystrophia fibrosa localisata. Ленинград: Вестник хирургии и пограничных областей, 1928. P. 301–315.
88. Benjamin D.R., McRoberts J.W. Polyostotic fibrous dysplasia associated with Cushing syndrome // Arch. Pathol. 1973. Vol. 96, № 3. P. 175–178.
89. Harris R.I. Polyostotic fibrous dysplasia with acromegaly // Am. J. Med. 1985. Vol. 78, № 3. P. 539–542.
90. Dent C.E., Gertner J.M. Hypophosphataemic osteomalacia in fibrous dysplasia // Q. J. Med. 1976. Vol. 45, № 179. P. 411–420.
91. D'Armiento M. et al. McCune-Albright syndrome: evidence for autonomous multiendocrine hyperfunction // J. Pediatr. 1983. Vol. 102, № 4. P. 584–586.
92. ALBRIGHT F. et al. Syndrome Characterized by Osteitis Fibrosa Disseminata, Areas of Pigmentation and Endocrine Dysfunction, with Precocious Puberty in Females // N. Engl. J. Med. 1937. Vol. 216, № 17. P. 727–746.
93. Happle R. The McCune-Albright syndrome: a lethal gene surviving by mosaicism // Clin. Genet. 1986. Vol. 29, № 4. P. 321–324.
94. Spaulding S.W., Burrow G.N. TSH regulation of cAMP-dependent protein kinase activity in the thyroid // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1974. Vol. 59, № 1. P. 386–391.



95. Katayama K., Nakano R., Tojo S. [Proceedings: Experimental study on actions of gonadotropins: effect of FSH on ovarian cAMP] // *Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi*. 1974. Vol. 50, № 2. P. 481.
96. Partridge N.C. et al. Activation of adenosine 3',5'-monophosphate-dependent protein kinase in normal and malignant bone cells by parathyroid hormone, prostaglandin E<sub>2</sub>, and prostacyclin // *Endocrinology*. 1981. Vol. 108, № 1. P. 220–225.
97. Lee P.A., Van Dop C., Migeon C.J. McCune-Albright syndrome. Long-term follow-up // *JAMA*. 1986. Vol. 256, № 21. P. 2980–2984.
98. Landis C.A. et al. GTPase inhibiting mutations activate the alpha chain of Gs and stimulate adenylyl cyclase in human pituitary tumours // *Nature*. 1989. Vol. 340, № 6236. P. 692–696.
99. Suarez H.G. et al. gsp mutations in human thyroid tumours // *Oncogene*. 1991. Vol. 6, № 4. P. 677–679.
100. Weinstein L.S. et al. Activating mutations of the stimulatory G protein in the McCune-Albright syndrome // *N. Engl. J. Med.* 1991. Vol. 325, № 24. P. 1688–1695.
101. Schwindinger W.F., Francomano C.A., Levine M.A. Identification of a mutation in the gene encoding the alpha subunit of the stimulatory G protein of adenylyl cyclase in McCune-Albright syndrome // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1992. Vol. 89, № 11. P. 5152–5156.
102. Bianco P. et al. Mutations of the GNAS1 gene, stromal cell dysfunction, and osteomalacic changes in non-McCune-Albright fibrous dysplasia of bone // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2000. Vol. 15, № 1. P. 120–128.
103. Dumitrescu C.E., Collins M.T. McCune-Albright syndrome // *Orphanet J. Rare Dis.* 2008. Vol. 3. P. 12.
104. Bourne H.R., Sanders D.A., McCormick F. The GTPase superfamily: a conserved switch for diverse cell functions // *Nature*. 1990. Vol. 348, № 6297. P. 125–132.
105. Lumbroso S. et al. Activating G $\alpha$  mutations: analysis of 113 patients with signs of McCune-Albright syndrome--a European Collaborative Study // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004. Vol. 89, № 5. P. 2107–2113.
106. Idowu B.D. et al. A sensitive mutation-specific screening technique for GNAS1 mutations in cases of fibrous dysplasia: the first report of a codon 227 mutation in bone // *Histopathology*. 2007. Vol. 50, № 6. P. 691–704.
107. Happle R. The McCune-Albright syndrome: a lethal gene surviving by mosaicism // *Clin. Genet.* 1986. Vol. 29, № 4. P. 321–324.
108. Khan S.K. et al. Induced Gnas(R201H) expression from the endogenous Gnas locus causes fibrous dysplasia by up-regulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2017.
109. Mazabraud A., Semat P., Roze R. [Apropos of the association of fibromyxomas of the soft tissues with fibrous dysplasia of the bones] // *Presse Med.* 1967. Vol. 75, № 44. P. 2223–2228.
110. Bastepe M., Turan S., He Q. Heterotrimeric G proteins in the control of parathyroid hormone actions // *J. Mol. Endocrinol.* 2017. Vol. 58, № 4. P. R203–R224.

111. Collins M.T., Singer F.R., Eugster E. McCune-Albright syndrome and the extraskeletal manifestations of fibrous dysplasia // *Orphanet J. Rare Dis.* 2012. Vol. 7, № 1. P. 1–14.
112. Kim I.S. et al. Activating mutation of GS alpha in McCune-Albright syndrome causes skin pigmentation by tyrosinase gene activation on affected melanocytes // *Horm. Res.* 1999. Vol. 52, № 5. P. 235–240.
113. Schmidt H., Kiess W. Secondary central precocious puberty in a girl with McCune-Albright syndrome responds to treatment with GnRH analogue // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM.* 1998. Vol. 11, № 1. P. 77–81.
114. Coutant R. et al. Macroorchidism due to autonomous hyperfunction of Sertoli cells and G(s)alpha gene mutation: an unusual expression of McCune-Albright syndrome in a prepubertal boy // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001. Vol. 86, № 4. P. 1778–1781.
115. Feuillan P.P. et al. Thyroid abnormalities in the McCune-Albright syndrome: ultrasonography and hormonal studies // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990. Vol. 71, № 6. P. 1596–1601.
116. Riminucci M. et al. FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting // *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 112, № 5. P. 683–692.
117. Cutler C.M. et al. Long-term outcome of optic nerve encasement and optic nerve decompression in patients with fibrous dysplasia: risk factors for blindness and safety of observation // *Neurosurgery.* 2006. Vol. 59, № 5. P. 1011-1017; discussion 1017-1018.
118. Leet A.I. et al. Fracture incidence in polyostotic fibrous dysplasia and the McCune-Albright syndrome // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2004. Vol. 19, № 4. P. 571–577.
119. Brown R.J., Kelly M.H., Collins M.T. Cushing syndrome in the McCune-Albright syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010. Vol. 95, № 4. P. 1508–1515.
120. Wood L.D. et al. Patients with McCune-Albright syndrome have a broad spectrum of abnormalities in the gastrointestinal tract and pancreas // *Virchows Arch. Int. J. Pathol.* 2017. Vol. 470, № 4. P. 391–400.
121. Ruggieri P. et al. Malignancies in fibrous dysplasia // *Cancer.* 1994. Vol. 73, № 5. P. 1411–1424.
122. Collins M.T. et al. Thyroid carcinoma in the McCune-Albright syndrome: contributory role of activating Gs alpha mutations // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003. Vol. 88, № 9. P. 4413–4417.
123. Huston T.L., Simmons R.M. Ductal carcinoma in situ in a 27-year-old woman with McCune-Albright syndrome // *Breast J.* 2004. Vol. 10, № 5. P. 440–442.
124. Takano S. et al. Deep sequencing of cancer-related genes revealed GNAS mutations to be associated with intraductal papillary mucinous neoplasms and its main pancreatic duct dilation // *PloS One.* 2014. Vol. 9, № 6. P. e98718.
125. Boyce A.M. et al. Characterization and Management of Testicular Pathology in McCune-Albright Syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012. Vol. 97, № 9. P. E1782–E1790.
126. Liu S. et al. Rapid detection of genetic mutations in individual breast cancer patients by next-generation DNA sequencing // *Hum. Genomics.* 2015. Vol. 9. P. 2.
127. Wu J. et al. Recurrent GNAS mutations define an unexpected pathway for pancreatic cyst development // *Sci. Transl. Med.* 2011. Vol. 3, № 92. P. 92ra66.

128. Taki K. et al. GNAS(R201H) and Kras(G12D) cooperate to promote murine pancreatic tumorigenesis recapitulating human intraductal papillary mucinous neoplasm // *Oncogene*. 2016. Vol. 35, № 18. P. 2407–2412.
129. Sethi V. et al. Insights into the Pathogenesis of Pancreatic Cystic Neoplasms // *Dig. Dis. Sci*. 2017. Vol. 62, № 7. P. 1778–1786.
130. Nakamura Y. et al. Prevalence of idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism in Japan // *J. Epidemiol*. 2000. Vol. 10, № 1. P. 29–33.
131. Underbjerg L. et al. Pseudohypoparathyroidism - epidemiology, mortality and risk of complications // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. 2016. Vol. 84, № 6. P. 904–911.
132. Astor M.C. et al. Epidemiology and Health-Related Quality of Life in Hypoparathyroidism in Norway // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2016. Vol. 101, № 8. P. 3045–3053.
133. Sanchez J. et al. Madelung-Like Deformity in Pseudohypoparathyroidism Type 1b // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2011. Vol. 96, № 9. P. E1507–E1511.
134. Narumi S. et al. Quantitative and sensitive detection of GNAS mutations causing mccune-albright syndrome with next generation sequencing // *PloS One*. 2013. Vol. 8, № 3. P. e60525.
135. Bijvoet O.L. Relation of plasma phosphate concentration to renal tubular reabsorption of phosphate // *Clin. Sci*. 1969. Vol. 37, № 1. P. 23–36.
136. Payne R.B. Renal tubular reabsorption of phosphate (TmP/GFR): indications and interpretation // *Ann. Clin. Biochem*. 1998. Vol. 35 ( Pt 2). P. 201–206.
137. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA - Скачать электронные книги. Медиа Сфера. 2003. 312 p.
138. Roizen J.D. et al. Resting Energy Expenditure Is Decreased in Pseudohypoparathyroidism Type 1A // *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 2016. Vol. 101, № 3. P. 880–888.
139. de Lange I.M. et al. Macrosomia, obesity, and macrocephaly as first clinical presentation of PHP1b caused by STX16 deletion // *Am. J. Med. Genet. A*. 2016. Vol. 170, № 9. P. 2431–2435.
140. Li Y.-Q. et al. G(q/11) $\alpha$  and G(s) $\alpha$  mediate distinct physiological responses to central melanocortins // *J. Clin. Invest*. 2016. Vol. 126, № 1. P. 40–49.
141. Maeda K. et al. Case of pseudo-pseudohypoparathyroidism associated with juvenile dementia // *Psychiatry Clin. Neurosci*. 2005. Vol. 59, № 1. P. 111.
142. Chagin A.S., Kronenberg H.M. Role of G-proteins in the differentiation of epiphyseal chondrocytes // *J. Mol. Endocrinol*. 2014. Vol. 53, № 2. P. R39-45.
143. Sakamoto A. et al. Chondrocyte-specific knockout of the G protein G(s) $\alpha$  leads to epiphyseal and growth plate abnormalities and ectopic chondrocyte formation // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res*. 2005. Vol. 20, № 4. P. 663–671.
144. Sinha P. et al. Loss of Gs $\alpha$  Early in the Osteoblast Lineage Favors Adipogenic Differentiation of Mesenchymal Progenitors and Committed Osteoblast Precursors // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res*. 2014. Vol. 29, № 11. P. 2414–2426.

145. Mantovani G. et al. Recombinant human GH replacement therapy in children with pseudohypoparathyroidism type Ia: first study on the effect on growth // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010. Vol. 95, № 11. P. 5011–5017.
146. Wu W.I. et al. Selective resistance to parathyroid hormone caused by a novel uncoupling mutation in the carboxyl terminus of G alpha(s). A cause of pseudohypoparathyroidism type Ib // *J. Biol. Chem.* 2001. Vol. 276, № 1. P. 165–171.
147. Bréhin A.-C. et al. Loss of methylation at GNAS exon A/B is associated with increased intrauterine growth // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015. Vol. 100, № 4. P. E623-631.
148. Thiele S. et al. From Pseudohypoparathyroidism to inactivating PTH/PTHrP Signalling Disorder (iPPSD), a novel classification proposed by the European EuroPHP network // *Eur. J. Endocrinol.* 2016.
149. Yuno A. et al. Usefulness of MS-MLPA for detection of genetic and epigenetic states of GNAS complex in Pseudohypoparathyroidism type 1b. 2012.
150. Liu B.Y. et al. Conditionally immortalized murine bone marrow stromal cells mediate parathyroid hormone-dependent osteoclastogenesis in vitro // *Endocrinology.* 1998. Vol. 139, № 4. P. 1952–1964.
151. Bellido T. et al. Chronic elevation of parathyroid hormone in mice reduces expression of sclerostin by osteocytes: a novel mechanism for hormonal control of osteoblastogenesis // *Endocrinology.* 2005. Vol. 146, № 11. P. 4577–4583.
152. Jilka R.L. Molecular and cellular mechanisms of the anabolic effect of intermittent PTH // *Bone.* 2007. Vol. 40, № 6. P. 1434–1446.
153. Zhibin Y. et al. The role of radionuclide bone scintigraphy in fibrous dysplasia of bone // *Clin. Nucl. Med.* 2004. Vol. 29, № 3. P. 177–180.
154. Boyce A.M. et al. A randomized, double blind, placebo-controlled trial of alendronate treatment for fibrous dysplasia of bone // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014. Vol. 99, № 11. P. 4133–4140.
155. Boyce A.M. et al. Denosumab treatment for fibrous dysplasia // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2012. Vol. 27, № 7. P. 1462–1470.
156. Di Pede C. et al. Use of Zoledronic Acid in Paediatric Craniofacial Fibrous Dysplasia // *Case Rep. Pediatr.* 2016. Vol. 2016. P. 2329483.
157. Robinson C., Collins M.T., Boyce A.M. Fibrous Dysplasia/McCune-Albright Syndrome: Clinical and Translational Perspectives // *Curr. Osteoporos. Rep.* 2016. Vol. 14, № 5. P. 178–186.
158. Leet A.I., Collins M.T. Current approach to fibrous dysplasia of bone and McCune–Albright syndrome // *J. Child. Orthop.* 2007. Vol. 1, № 1. P. 3–17.
159. Leet A.I. et al. Bone-Grafting in Polyostotic Fibrous Dysplasia // *J. Bone Joint Surg. Am.* 2016. Vol. 98, № 3. P. 211–219.
160. Amit M. et al. Surgery versus watchful waiting in patients with craniofacial fibrous dysplasia--a meta-analysis // *PloS One.* 2011. Vol. 6, № 9. P. e25179.
161. Kuznetsov S.A. et al. Age-dependent demise of GNAS-mutated skeletal stem cells and “normalization” of fibrous dysplasia of bone // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2008. Vol. 23, № 11. P. 1731–1740.

162. Lee J. et al. Clinical guidelines for the management of craniofacial fibrous dysplasia // *Orphanet J. Rare Dis.* 2012. Vol. 7, № Suppl 1. P. S2.
163. Mieszczyk J., Eugster E.A. Treatment of Precocious Puberty in McCune-Albright Syndrome // *Pediatr. Endocrinol. Rev. PER.* 2007. Vol. 4, № 0 4. P. 419–422.
164. Feuillan P. et al. Letrozole treatment of precocious puberty in girls with the McCune-Albright syndrome: a pilot study // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2007. Vol. 92, № 6. P. 2100–2106.
165. Michael H. et al. Differential effects of selective oestrogen receptor modulators (SERMs) tamoxifen, ospemifene and raloxifene on human osteoclasts in vitro // *Br. J. Pharmacol.* 2007. Vol. 151, № 3. P. 384–395.
166. Michael H. et al. Estrogen and testosterone use different cellular pathways to inhibit osteoclastogenesis and bone resorption // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2005. Vol. 20, № 12. P. 2224–2232.
167. Schwartz Z. et al. Tamoxifen elicits its anti-estrogen effects in growth plate chondrocytes by inhibiting protein kinase C // *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2002. Vol. 80, № 4–5. P. 401–410.
168. Eugster E.A. et al. Tamoxifen treatment for precocious puberty in McCune-Albright syndrome: a multicenter trial // *J. Pediatr.* 2003. Vol. 143, № 1. P. 60–66.
169. Howell A. et al. ICI 182,780 (Faslodex): development of a novel, “pure” antiestrogen // *Cancer.* 2000. Vol. 89, № 4. P. 817–825.
170. Celi F.S. et al. The Role of Type 1 and Type 2 5'-Deiodinase in the Pathophysiology of the 3,5,3'-Triiodothyronine Toxicosis of McCune-Albright Syndrome // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008. Vol. 93, № 6. P. 2383–2389.
171. Terpstra L. et al. Bone mineralization in polyostotic fibrous dysplasia: histomorphometric analysis // *J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res.* 2002. Vol. 17, № 11. P. 1949–1953.
172. Boyce A.M. et al. Optic neuropathy in McCune-Albright syndrome: effects of early diagnosis and treatment of growth hormone excess // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013. Vol. 98, № 1. P. E126-134.
173. Liu F. et al. A case of McCune-Albright syndrome associated with pituitary GH adenoma: therapeutic process and autopsy // *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM.* 2011. Vol. 24, № 5–6. P. 283–287.
174. Carney J.A., Young W.F., Stratakis C.A. Primary bimorphic adrenocortical disease: cause of hypercortisolism in McCune-Albright syndrome // *Am. J. Surg. Pathol.* 2011. Vol. 35, № 9. P. 1311–1326.
175. Hamajima T. et al. Unilateral adrenalectomy can be an alternative therapy for infantile onset Cushing's syndrome caused by ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia with McCune-Albright syndrome // *Endocr. J.* 2010. Vol. 57, № 9. P. 819–824.
176. Mittal R., Martin R.P. Cardiac failure associated with McCune-Albright syndrome // *Br. J. Hosp. Med. Lond. Engl.* 2005. 2015. Vol. 76, № 10. P. 604–605.

177. Halioui-Louhaichi S. et al. [Recovery of Cushing syndrome revealing McCune-Albright syndrome] // Arch. Pediatr. Organe Off. Soc. Francaise Pediatr. 2016. Vol. 23, № 1. P. 61–65.
178. Candelieri G.A., Roughley P.J., Glorieux F.H. Polymerase chain reaction-based technique for the selective enrichment and analysis of mosaic arg201 mutations in G alpha s from patients with fibrous dysplasia of bone // Bone. 1997. Vol. 21, № 2. P. 201–206.
179. Barbano R. et al. Competitive allele-specific TaqMan PCR (Cast-PCR) is a sensitive, specific and fast method for BRAF V600 mutation detection in Melanoma patients // Sci. Rep. 2015. Vol. 5. P. 18592.

## ПРИЛОЖЕНИЕ 1.

### Протокол диагностики и наблюдения пациентов с псевдогипопаратиреозом.

#### Шаг 1. Критерии диагностики

1. **ПТГ-резистентность:** повышенный ПТГ, гипокальцемия, гиперфосфатемия

#### 2. Признаки НОО:

- Подкожные кальцинаты
- Брахидактилия
- Ожирение
- Лунообразное лицо
- Низкорослость
- задержка психо-моторного развития, умственная отсталость
- Первичный гипотиреоз при отсутствии других проявлений АИТ и врожденного гипотиреоза
- Первичный гипогонадизм при отсутствии нарушений формирования пола
- Резистентность к ГР-РГ (лабораторные критерии СТГ-дефицита)

#### Шаг 2. Скрининг компонентов ПГП.

Скрининг компонентов	ПТГ-резистентность	Повышенный ПТГ, гипокальцемия, гиперфосфатемия
	Брахидактилия	Укорочение пальцев рук и/или ног за счет пястных/ плюсовых костей при рентгенографии
	Подкожные кальцинаты	Костной плотности подкожные образования различной ормы и локализации, определяемые как кальцинаты при рентгенографии плюсовых костей при рентгенографии
	Ожирение	Масса тела, SDS ИМТ. При наличии ожирения: глюкоза, ОГТТ, АСТ, АЛТ, липидный профиль
	Задержка умственного развития	Оценка развития психо-моторного и когнитивных навыков, Консультация психолога
	Резистентность к ГР-РГ	Рост, скорость роста. При SDS роста <2 и SDS ИФР <2: проведение СТГ-стимуляционных тестов.
	Резистентность к ЛГ и ФСГ	Отсутствие инициации пубертата у девочек после 13 лет, мальчиков после 14 лет; повышение ЛГ и ФСГ в сочетании с низким уровнем эстрадиола у девочек, тестостерона у мальчиков
	Резистентность к ТТГ	Повышение ТТГ при нормальном/сниженном Т4св при нормальном уровне а/т к ТПО и отсутствии признаков АИТ по УЗИ

### Шаг 3. Наблюдение и лечение компонентов ПГП.

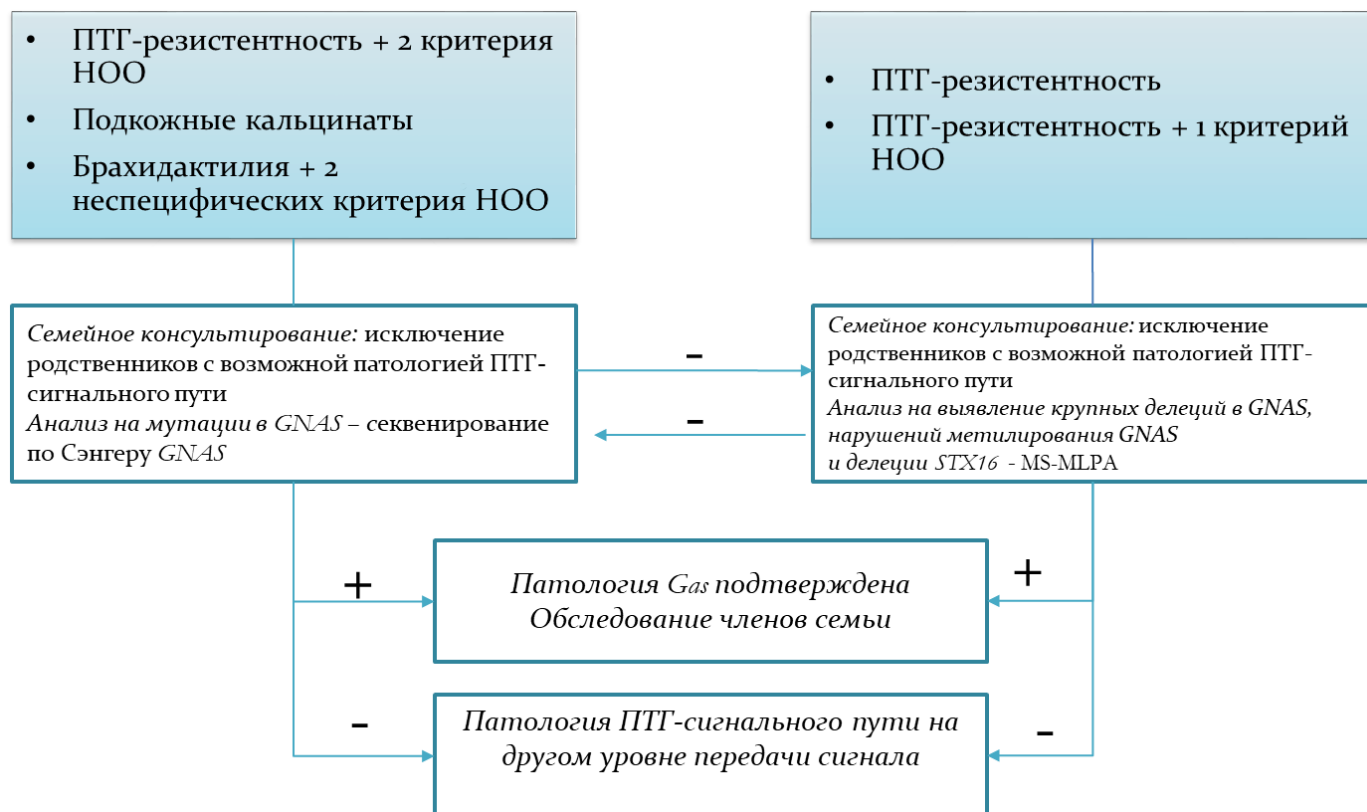
ПТГ-резистентность	Препараты гидроксилированных форм витамина D: альфакальцитриол в начальной дозе 0,25 мкг в сутки, контроль Са ион каждые три дня при подборе дозы и далее контроль Са ион каждый месяц с коррекцией дозы по показаниям.
Резистентность к ТТГ	Заместительная гормональная терапия гипотиреоза (препараты левотироксина)
Резистентность к ГР-РГ	Ростостимулирующая терапия препаратами рГР до достижения социально-приемлемого роста
Резистентность к ЛГ/ФСГ	Заместительная гормональная терапия гипогонадизма (препараты андрогенов, эстроген-прогестагенные препараты)
Ожирение	Физические нагрузки, соблюдение правильного питания
Задержка умственного развития	Занятия в коррекционной школе, психо-социальная адаптация

### Шаг 4. Наблюдение в динамике и скрининг осложнений.

ПТГ-резистентность	Контроль Са ион 1 раз в мес., ПТГ 1 раз в 6 мес. Экскреция кальция с мочой 1 раз в 6 мес. УЗИ почек 1 раз в 6 мес.
Резистентность к ТТГ	ТТГ, Т <sub>4</sub> св. 1 раз в 3 мес. УЗИ щитовидной железы – однократно либо ежегодно при выявлении изменений
Резистентность к ГР-РГ	Скорость роста, SDS роста, ИФР-1, костный возраст
Резистентность к ЛГ/ФСГ	ЛГ, ФСГ, эстрадиол, тестостерон, УЗИ органов малого таза
Ожирение	ОГТТ, АЛТ, АСТ, липидный профиль, АД.
Синдром Фара	МСКТ головы, консультация невролога
Катаракта	Осмотр офтальмолога



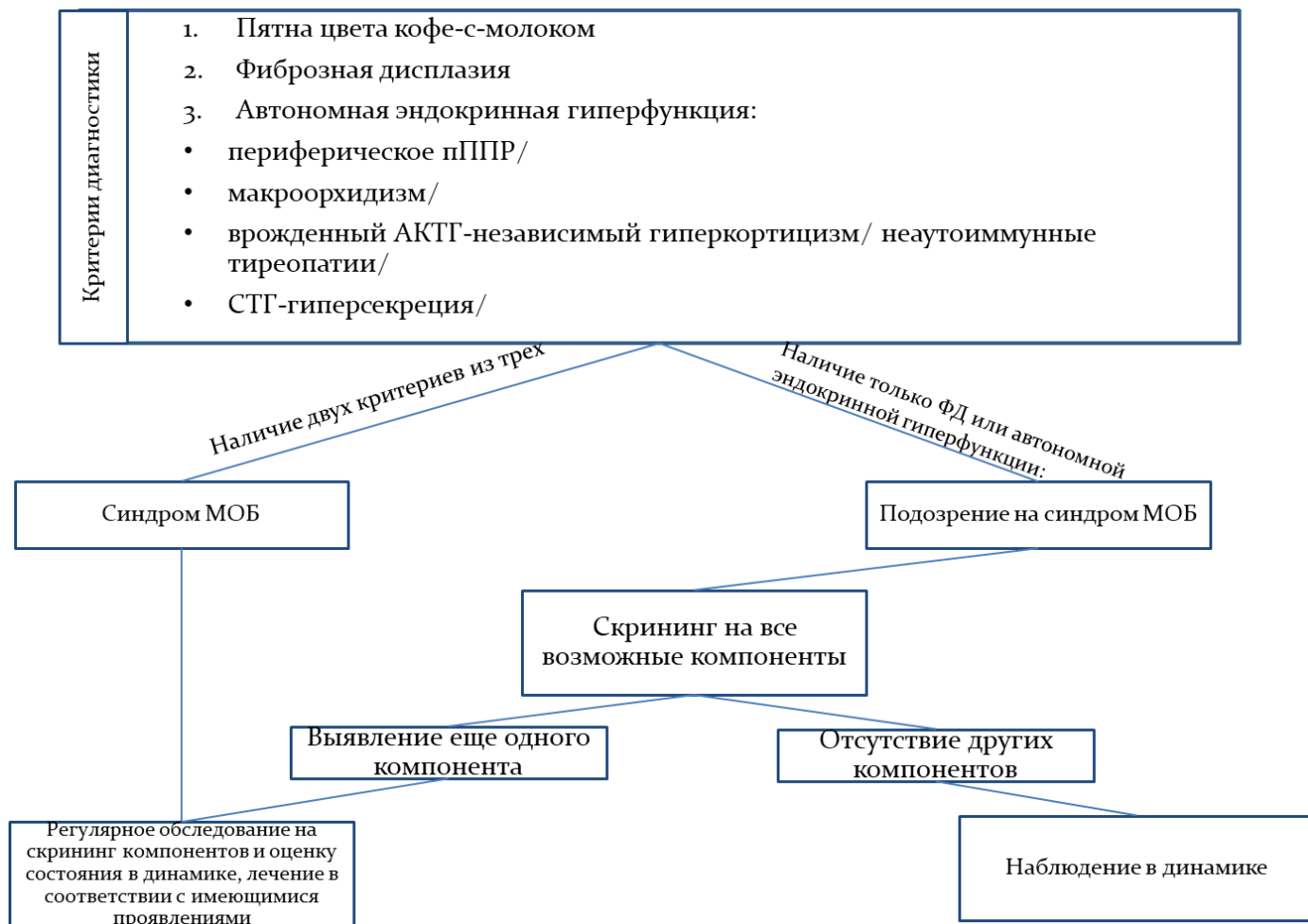
## Шаг 4. Молекулярно-генетическое исследование и медико-генетическое консультирование семьи.



## ПРИЛОЖЕНИЕ 2.

### Протокол диагностики и наблюдения пациентов с синдромом МакКьюна-Олбрайта-Брайцева.

#### Шаг 1. Критерии диагностики синдрома МОБ.



## Шаг 2. Скрининг компонентов синдрома МОБ.

Скрининг компонентов	Синдром Кушинга ( у детей до 1 года)	Оценка весо-ростовых показателей при рождении и в динамике, АКТГ, кортизол, суточный ритм секреции кортизола
	Фиброзная дисплазия	Остеогаммасцинтиграфия костей скелета, Rg конечностей, МСКТ головы
	пППР	ЛГ, ФСГ , Э2, тестостерон, проба с аналогом Гн-РГ. УЗИ органов малого таза/мошонки. Rg кистей рук.
	СТГ-гиперсекреция	СТГ, ИФР-1, SDS ИФР-1, тест на подавление СТГ, МРТ головы.
	Тиреопатии	ТТГ, т4св, Т3св, УЗИ щитовидной железы, ТАБ
	Гипофосфатемический рахит	Фосфор и креатинин крови, фосфор и креатинин разовой порции мочи, оценка экскреции фосфора с мочой
	Автономная тахикардия	ЧСС, Холтер-мониторирование ЭКГ, ЭХО-КГ
	Патология гепато-билиарного тракта	АСТ, АЛТ, УЗИ органов брюшной полости

### Шаг 3. Тактика ведения синдрома МОБ по компонентам.

#### 3.1. Фиброзная дисплазия.

Скрининг	У детей до 3 лет: рентгенография костей конечностей. У детей после 3 лет: остеогаммасцинтиграфия костей скелета МСКТ головы при асимметрии костей головы
Отсутствие очагов ФД при скрининге	Исключение формирования ФД в динамике: остеогаммасцинтиграфия через 24 мес при отсутствии жалоб у детей младше 6 лет Rg при появлении остеопалгии
ФД выявлена при остеогаммасцинтиграфии	Rg конечностей (исключение очагов, угрожаемых по переломам), позвоночника (исключение очагов, угрожаемых по переломам, деформациям), МСКТ черепа определения в них очагов ФД по данным остеогаммасцинтиграфии
Наличие выраженных очагов ФД, угрожаемых по перелому, деформации конечностей	Консультация травматолога-ортопеда для решения вопроса об оперативном лечении
Патологический перелом в месте наличия очагов ФД	Тактика ведения в зависимости от локализации и характера перелома по решению травматолога-ортопеда
Болевой синдром	Терапия НПВС в течение 1 мес. Бисфосфонаты при отсутствии эффекта от НПВС

#### 3.2. Фиброзная дисплазия черепа.

Скрининг	МСКТ головы с оценкой диаметра каналов зрительных нервов, слуховых проходов, топологии очагов
Отсутствие очагов ФД при скрининге	Оценка внешних признаков асимметрии черепа в динамике, МСКТ головы при выявлении признаков асимметрии или СТГ-гиперсекреции.
ФД костей черепа	Консультация офтальмолога (исключение атрофии диска ЗН, оценка остроты зрения) Консультация оториноларинголога (исключение нарушений носового дыхания, сужения носоглотки аденоидами и ФД, оценка слуха) Ежегодное аудиометрия при наличии очагов ФД в височных костях
Очаги ФД костей лицевого черепа	<i>Неагрессивная ФД:</i> • Хирургическое лечение после закрытия зон роста либо ранее при выраженном нарушении психо-социальной адаптации за счет эстетического дефекта. <i>Агрессивное течение (появление боли, парестезии, анестезии):</i> • исключение аневризмы кисты, озлокачествления, остеомиелита. • оперативное лечение: контурная либо блок-резекция в зависимости от причины, по решению специалистов челюстно-лицевой хирургии.
Показания к аденоидэктомии	Аденоиды 3 ст Аденоиды менее 3 ст при выраженном сужении носоглотки за счет масс ФД
Очаги ФД придаточных пазух носа	Наблюдение оториноларинголога При облитерации пазух и нарушении функций дыхания: хирургическое лечение, по возможности - после закрытия зон роста при неагрессивном течении, либо ранее при высоких темпах прогрессии ФД и значимых нарушениях функции/эстетическом дефекте.
ФД челюсти	Регулярный осмотр стоматолога-ортодонта, лечение по показаниям

### 3.3. Периферическое преждевременное половое развитие.

Скрининг	<ul style="list-style-type: none"> <li>Исключение эпизодов кровотечения/набухания молочных желез в анамнезе</li> <li>Оценка полового развития по Tanner</li> <li>ЛГ, ФСГ, Эстрадиол, тестостерон</li> </ul>	УЗИ органов малого таза (размеры матки и яичников, исключение наличия кист яичников), УЗИ органов мошонки (исключение микролитиаза, нарушений эхоструктуры и эхогенности)
Подтверждение периферического генеза ППР, исключение вторичного центрального ППР на фоне длительного пППР		<ul style="list-style-type: none"> <li>Проба с аналогом Гн-РГ</li> </ul>
Наличие макроорхидизма и нарушений структуры тестикул		УЗИ в динамике Биопсия при выявлении аденом Решение вопроса об орхидэктомии при подозрении на малигнизацию
Выявление кисты яичников	Повторное УЗИ ОМТ и определение эстрадиола через 1 мес: 1) Нарастание в объеме, сохранение гиперэстрогемии – консультация гинеколога для решения вопроса о цистэктомии (при риске длительного сдавления здоровой ткани яичника) 2) Отсутствие динамики в размерах: УЗИ через 3 мес.	
Показания к терапии блокатором эстрогеновых рецепторов		Прогрессия костного возраста в динамике на фоне частых эпизодов гиперэстрогемии
Показания к оперативному лечению		Цистэктомия: персистирующая киста яичника, угрожающая сдавлением здоровой ткани Овариэктомия: частые эпизоды эстрогенпродуцирующих кист всегда в одном и том же яичнике при отсутствии эффекта от терапии агонистами эстрогеновых рецепторов

### 3.4. СТГ-гиперсекреция

Скрининг		СТГ, ИФР-1, SDS ИФР-1
Подтверждение		При SDS ИФР >1,5: тест на подавление СТГ с глюкозой: СТГ более 1 нг/мл на 120': СТГ-гиперсекреция
Исключение аденомы гипофиза на фоне СТГ-гиперсекреции		МРТ головного мозга
Показания к терапии		Выраженная СТГ-гиперсекреция (SDS ИФР >1,5) в сочетании с очагами ФД черепа
Лечебная тактика		Аналоги соматостатина пролонгированного действия (СА) в начальной дозе 10 мг/мес. Контроль СТГ, ИФР-1 через 3 месяца на фоне терапии. При сохранении SDS ИФР >1 – постепенное (1 раз в 3 мес) увеличение дозы до max 20 мг/мес. При сохранении SDS ИФР >1 на фоне max дозы СА – пегвисомант.

### 3.5. Синдром Кушинга (у детей первого года жизни).

Скрининг	Оценка весо-ростовых показателей при рождении и в динамике, АКТГ, кортизол, УЗИ надпочечников
Подтверждение гиперкортицизма	Суточный ритм секреции кортизола, суточная экскреция кортизола с мочой, малая проба с дексаметазоном
Дифференциальная диагностика	Большая проба с дексаметазоном, МСКТ/МРТ надпочечников
Диагностика осложнений	<ul style="list-style-type: none"> <li>Артериальная гипертензия (АД, ЧСС, суточное мониторирование АД, ЭХО-КГ) <ul style="list-style-type: none"> <li>Гиперандрогения (17-ОН прогестерон, ДГЭА-С, тестостерон)</li> <li>Сахарный диабет (глюкоза, инсулин, ОГТТ)</li> </ul> </li> <li>Коагулопатии (тромбоциты, АЧТВ, время свертываемости крови)</li> <li>Иммунодефицит (ОАК, наличие/отсутствие оппортунистических, бактериальных инфекций)</li> </ul>
Лечебная тактика	В зависимости от тяжести общего состояния и наличия жизнеугрожающих осложнений: Пробная терапия ингибиторами стероидогенеза или Двусторонняя адреналэктомия

### 3.6. Тиреопатии

Скрининг	ТТГ, Т <sub>4</sub> св, Т <sub>3</sub> св, УЗИ щитовидной железы
Выявление тиреотоксикоза	Исключение аутоиммунного генеза Назначение тиреостатической терапии Коррекция дозы под контролем ТТГ, Т <sub>4</sub> св, Т <sub>3</sub> св в динамике
Выявление морфологических изменений щитовидной железы	УЗИ щитовидной железы 1 раз в 6 месяцев при наличии изменений или 1 раз в 12 месяцев при отсутствии патологии ТАБ при TIRADS $\geq 3$ и/или при наличии одного узлового образования с прогрессирующим увеличением в динамике
Лечебная тактика	Тиреостатическая терапия при тиреотоксикозе Тиреоидэктомия при прогрессирующем увеличении щитовидной железы со сдавлением окружающей ткани и эстетическим дефектом; неэффективном медикаментозном лечении тиреотоксикоза; подозрении на малигнизацию

### 3.7. Гипофосфатемический рахит.

Скрининг	Фосфор сыворотки крови, определение коэффициентов тубулярной реабсорбции фосфатов (TRP, Tubular reabsorption of phosphate - доля реабсорбции фосфатов из почечного фильтрата, TmP/GFR, Tubular maximal reabsorption rate of phosphate to GFR- максимальный уровень тубулярной реабсорбции фосфатов)
Подтверждение	При выявлении гиперфосфатурической гипофосфатемии: оценка степени тяжести рахита по шкале Rickets Severity Scale, Thacher T., 2000
Лечение	Препараты фосфора (фосфорный буфер) + альфакальцидол