

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ЭНДОКРИНОЛОГИЧЕСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

МАМЕДОВА Елизавета Октаевна

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ПЕРВИЧНОГО ГИПЕРПАРАТИРЕОЗА У ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА**

14.01.02 – эндокринология

Диссертация
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
Мокрышева Н.Г.

Москва – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	3
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	8
1.1 Определение, классификация, патогенез, клиническая картина первичного гиперпаратиреоза. Эпидемиология первичного гиперпаратиреоза в различных возрастных группах	8
1.2 Особенности первичного гиперпаратиреоза у пациентов молодого возраста	11
1.3. Наследственные синдромы, в рамках которых возникает ПГПТ	21
1.3.1 Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН-1)	22
1.3.2 Синдром множественных эндокринных неоплазий 2А типа (МЭН-2А).....	25
1.3.3 Синдром множественных эндокринных неоплазий 4 типа (МЭН-4)	25
1.3.4 Синдром гиперпаратиреоза с опухолью челюсти (hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome, НРТ-ЖТ).....	26
1.3.5 Семейная гипокальциурическая гиперкальциемия, неонатальный тяжелый гиперпаратиреоз, аутосомно-доминантный мягкий гиперпаратиреоз.....	28
1.3.6 Семейный изолированный гиперпаратиреоз (familial isolated hyperparathyroidism, FИНР).....	31
1.4 Целесообразность проведения молекулярно-генетических исследований пациентам молодого возраста с ПГПТ	34
1.4.1. Проведение прямого секвенирования гена <i>MEN1</i>	34
1.4.2 Возрастной порог для проведения обязательного молекулярно-генетического исследования гена <i>MEN1</i> при ПГПТ	36
1.4.3. Молекулярно-генетическое исследование других генов	37
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.....	39
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	50
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	95
ВЫВОДЫ	102
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	103
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	104
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) является эндокринным заболеванием, характеризующимся формированием очага автономной гиперсекреции паратиреоидного гормона (ПТГ). Классический фенотип заболевания характеризуется следующим: ПГПТ чаще выявляется у женщин в постменопаузе, в большинстве случаев в виде мягких форм, в подавляющем большинстве случаев заболевание обусловлено солитарной аденомой околощитовидной железы (ОЩЖ) и приблизительно в 90% случаев является спорадическим.

Тем не менее, необходимо помнить, что ПГПТ может встречаться во всех возрастных группах, в том числе у детей, подростков и молодых взрослых. По результатам различных исследований ПГПТ у лиц молодого возраста характеризуется более яркой клинической картиной и частым развитием манифестных форм заболевания. Кроме того, ранний возраст дебюта ПГПТ является подозрительным на наличие наследственных синдромов, в рамках которых он может возникать [47, 125]. Наследственные синдромы, одним из компонентов которых может быть ПГПТ, включают синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН-1), 2А типа (МЭН-2А), 4 типа (МЭН-4), синдром гиперпаратиреоза с опухолью челюсти (hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome, НРТ-ЖТ), семейную гипокальциурическую гиперкальцемию (familial hypocalciuric hypercalcemia, ФНН) и семейный изолированный гиперпаратиреоз (familial isolated hyperparathyroidism, ФИП) [59].

Каждый наследственный синдром, в рамках которых может возникать ПГПТ, имеет свои характерные клинические особенности. Дифференциальная диагностика, а именно, является ли ПГПТ проявлением наследственного синдрома или является спорадическим заболеванием у молодого пациента, часто бывает затруднена. Считается, что при наследственных синдромах часто имеется множественное поражение ОЩЖ, однако они могут вовлекаться в патологический процесс метакронно, и на момент манифестации ПГПТ может обнаруживаться образование только одной ОЩЖ [59].

Установление или исключение наследственной природы ПГПТ важно для пациента и его родственников первой линии родства. В случае подтверждения наследственной природы ПГПТ существует вероятность рецидива заболевания после оперативного лечения. При этом необходим регулярный пожизненный скрининг с целью раннего выявления и лечения других компонентов наследственных синдромов, а также молекулярно-генетическое обследование родственников первой линии родства для

выявления бессимптомных носителей мутаций. В случае исключения наследственной природы ПГПТ возможно прогнозировать отсутствие рецидива ПГПТ после оперативного лечения в дальнейшем. Также исключается риск развития соответствующих компонентов наследственных синдромов, необходимость обследования родственников первой линии родства и риск развития заболевания у потомков.

Необходимость проведения рутинного генетического исследования всем пациентам с дебютом ПГПТ в молодом возрасте не очевидна; не определен возрастной порог, при котором такое исследование будет целесообразно. На сегодняшний день существует лишь небольшое количество зарубежных исследований, посвященных необходимости рутинного генетического обследования у всех пациентов молодого возраста с ПГПТ, и их результаты неоднозначны. В России подобные исследования не проводились. Кроме того, исследований всех возможных генов-кандидатов наследственных форм ПГПТ у молодых пациентов с применением технологии высокопроизводительного параллельного секвенирования также не проводилось.

Степень разработанности темы исследования

Наследственные формы ПГПТ в целом активно изучаются в различных странах мира. Работы по изучению клинико-лабораторных особенностей ПГПТ у молодых пациентов немногочисленны. Дифференциальная диагностика спорадического ПГПТ и ПГПТ как первого проявления одного из наследственных синдромов у пациентов молодого возраста возможна с помощью проведения молекулярно-генетических исследований. Однако частота наследственных форм ПГПТ среди пациентов молодого возраста неизвестна, а также до конца не определены критерии необходимости рутинного молекулярно-генетического исследования в этой группе пациентов.

Цель исследования

Изучить молекулярно-генетические и клинические особенности первичного гиперпаратиреоза среди пациентов с дебютом заболевания в возрасте до 40 лет.

Задачи исследования

1. Оценить молекулярно-генетические характеристики ПГПТ у пациентов с дебютом заболевания в возрасте до 40 лет.
2. Выявить отличительные особенности ПГПТ как первого проявления некоторых наследственных синдромов.

3. Сравнить фенотипические характеристики спорадического ПГПТ и ПГПТ в рамках наследственных синдромов.
4. Выделить группы пациентов с ПГПТ с дебютом до 40 лет, которым целесообразно проведение молекулярно-генетического исследования.

Научная новизна

Впервые в России проведено исследование генов, ответственных за развитие наследственных форм ПГПТ, среди пациентов с ПГПТ молодого возраста.

Впервые в России выявлены мутации в гене *CDC73* среди пациентов с ПГПТ, в том числе крупные делеции гена. Описаны клинические, лабораторные и морфологические особенности ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ.

Проведено сравнение клинико-лабораторных характеристик между пациентами со спорадическим ПГПТ и ПГПТ в рамках наследственных синдромов, и выявлены некоторые характерные их особенности. Впервые в России описана группа лиц с ФИНР.

Для молекулярно-генетического исследования использован новый метод высокопроизводительного параллельного секвенирования (NGS). Продемонстрирована эффективность метода NGS в косвенной оценке крупных делеций, подтвержденных в последующем методом MLPA.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основании результатов работы выявлены наследственные формы ПГПТ как первое проявление некоторых наследственных синдромов у пациентов молодого возраста, определены их характерные особенности и особенности спорадического ПГПТ.

Впервые в России описаны клинические особенности ПГПТ в рамках синдрома НРТ-ЖТ. Выявлено, что рак ОЩЖ и атипичные аденомы ОЩЖ у пациентов молодого возраста в 2/3 случаев развиваются в рамках синдрома НРТ-ЖТ, что диктует необходимость проведения молекулярно-генетического исследования у этой группы пациентов.

На основании результатов работы разработан алгоритм проведения молекулярно-генетического исследования у пациентов с ПГПТ молодого возраста.

Положения, выносимые на защиту

1. ПГПТ у лиц с дебютом до 40 лет чаще является спорадическим. Среди наследственных форм ПГПТ преобладают синдромы МЭН-1 и НРТ-ЖТ.

2. При выявлении рака околощитовидных желез или атипичных аденом околощитовидных желез у пациентов с дебютом ПГПТ до 40 лет необходимо исключение синдрома НРТ-ЖТ.
3. При подозрении на синдром НРТ-ЖТ наиболее оправдано применение метода высокопроизводительного параллельного секвенирования, поскольку он позволяет косвенно заподозрить крупные делеции гена *CDC73*.

Внедрение в практику

Научные положения и практические рекомендации, изложенные в диссертации, внедрены в повседневную работу различных подразделений ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России: Центра патологии околощитовидных желез, отделения нейроэндокринологии и остеопатий, отдела терапевтической эндокринологии, отдела хирургии.

Апробация полученных результатов

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 6 апреля 2017 года на расширенной межотделенческой научной конференции ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России.

Результаты работы были представлены в виде устных докладов на VII Всероссийском конгрессе эндокринологов «Достижения персонализированной медицины сегодня – результаты практического здравоохранения завтра» (Москва, 2016) и 15-й Международной конференции по множественным эндокринным неоплазиям и другим редким эндокринным опухолям (WorldMEN, Утрехт, 2016), в виде тезисов докладов на 18 Европейском эндокринологическом конгрессе (ESE, Мюнхен, 2016).

Публикации

По теме диссертационной работы опубликовано 6 печатных работ, в том числе 3 статьи в отечественных журналах, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для публикации основных научных результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на русском языке в объеме 125 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и

методов исследования, результатов собственных исследований, главы обсуждения результатов и заключения, выводов и практических рекомендаций. Работа иллюстрирована 18 таблицами и 25 рисунками. Список использованной литературы включает 147 источника: 9 отечественных и 138 зарубежных.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Определение, классификация, патогенез, клиническая картина первичного гиперпаратиреоза. Эпидемиология первичного гиперпаратиреоза в различных возрастных группах

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) – эндокринное заболевание, обусловленное формированием очага хронической гиперпродукции паратиреоидного гормона (ПТГ). Автономная гиперпродукция ПТГ в подавляющем большинстве случаев обусловлена аденомой одной околощитовидной железы (ОЩЖ) (около 85% случаев), реже – аденомой/гиперплазией нескольких ОЩЖ (около 15% случаев) [5, 6, 9]. Рак ОЩЖ встречается крайне редко: менее 1% случаев по данным некоторых зарубежных исследований [5] или около 5% по данным отечественных исследований и исследований в Японии [6, 9, 116].

Следует отметить, что гистологический диагноз аденомы, гиперплазии, атипичной аденомы или рака ОЩЖ может представлять значительные трудности [4]. Аденомы ОЩЖ гистологически характеризуются наличием фиброзной капсулы, отделяющей их от нормальной ткани ОЩЖ, тогда как при гиперплазии ОЩЖ нормальная ткань ОЩЖ отсутствует. Диагноз рака ОЩЖ может быть верифицирован на основании наличия сосудистой инвазии в капсуле опухоли, инвазии периневральных пространств, пенетрации капсулы с проращением в соседние структуры и/или при наличии метастазов. Другие признаки, такие как спайки с окружающими тканями, митозы, разрывы капсулы, местный рецидив опухоли могут встречаться как при раке ОЩЖ, так и при аденоме. Специфические иммуногистохимические маркеры рака ОЩЖ в настоящее время не разработаны. Также крайне редко могут встречаться другие типы образований ОЩЖ: онкоцитарная аденома, липоаденома, атипичная аденома. Атипичные аденомы ОЩЖ не имеют явных признаков инвазии в капсулу или сосудистой инвазии, но имеют другие признаки, характерные для рака ОЩЖ, включая широкие фиброзные тяжи с или без отложений гемосидерина, митозы, а также группы опухолевых клеток, заключенных в толстую фиброзную капсулу. Эти опухоли, которые могут быть спаяны с окружающими мягкими тканями или щитовидной железой, считаются обладающими неопределенным злокачественным потенциалом и поэтому относятся к атипичным аденомам. Однако при наблюдении за большинством случаев выявляется их доброкачественное поведение, то есть отсутствие рецидива после хирургического вмешательства [4].

В зарубежной литературе выделяют манифестную и мягкую (асимптомную) формы ПГПТ [22, 23]. В отечественной классификации манифестная форма ПГПТ подразделяется далее в зависимости от конкретного поражения органов-мишеней и включает висцеральную форму (наличие нефролитиаза (НЛ), нефрокальциноза, поражение желудочно-кишечного тракта); костную форму (наличие фиброзно-кистозной остеодистрофии, низкоэнергетических переломов, остеопороза) и костно-висцеральную. Мягкая форма включает асимптомную (отсутствие патологических изменений в органах-мишенях) и малосимптомную (наличие неспецифических жалоб, незначительное снижение минеральной плотности костей (МПК)) [6].

Исследования, оценивавшие заболеваемость ПГПТ в различных регионах мира, в целом, показали, что она сильно зависит от частоты биохимического скрининга уровня кальция в крови. До 1970-х гг. ПГПТ считался редким заболеванием с яркой клинической картиной, характеризующейся рецидивирующим НЛ, развитием тяжелой фиброзно-кистозной остеодистрофии с патологическими переломами, развитием синдрома полиурии-полидипсии, резким истощением [1, 118]. После внедрения в практику автоматических биохимических анализаторов и с появлением возможности рутинного определения уровня кальция в сыворотке крови, диагностика ПГПТ резко увеличилась [67, 135]. По данным зарубежных исследований за последнее десятилетие в структуре ПГПТ преобладают мягкие (асимптомные) формы [136]. В то же время в эпидемиологическом исследовании, проведенном в России, было показано, что в российской популяции диагноз ПГПТ в 74% случаев ставится уже на этапе тяжелых системных нарушений [6, 10, 12].

Распространенность ПГПТ относительно высока и составляет 1-3:1000 человек в общей популяции [38]. ПГПТ встречается во всех возрастных группах, в том числе у детей и подростков [38]. В исследовании B.S. Miller и ее коллег проанализирована распространенность ПГПТ в зависимости от пола и возраста на основании данных двух крупных баз данных США (база Nationwide Inpatient Sample (NIS) и база University of Michigan (UM)) [96]. В NIS имелись данные о 7513 женщинах и 2677 мужчинах за период 2000-2004 гг., в базе UM – о 790 женщинах и 276 мужчинах за период 1999-2005 гг. В обеих выборках распространенность ПГПТ начинала медленно увеличиваться среди лиц обоего пола, начиная с 11-летнего возраста, и увеличивалась более значительно среди женщин по сравнению с мужчинами, начиная с возраста 21-25 лет (NIS) и 26-30 лет (UM). Пик частоты ПГПТ составил 56-60 лет (NIS) и 61-65 лет (UM) у женщин и 56-60 лет у мужчин (в обеих базах данных). В базе NIS соотношение женщин и мужчин начинает неуклонно увеличиваться до момента перименопаузального возраста, после чего остается

стабильным на протяжении последующих 20 лет, а затем вновь снижается. В базе УМ изменения соотношения женщин и мужчин со временем отмечено не было. Исследователи делают вывод, что ПГПТ чаще возникает у женщин по сравнению с мужчинами во всех возрастных группах и распространенность ПГПТ стабильно увеличивается после возраста 25 лет у лиц обоего пола (рис. 1А и 1Б) [96].

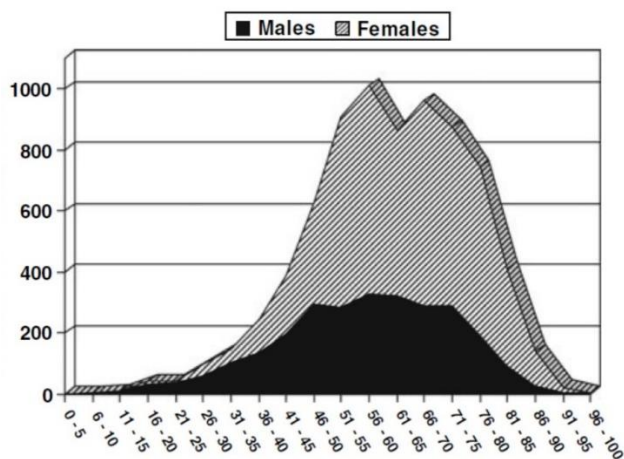


Рисунок 1А. Распределение пациентов, подвергшихся паратиреоидэктомии, по возрасту по данным базы NIS за период 2000-2004 гг. (с 5-летним интервалом). Адаптировано из [96]. По оси x – возраст (годы), по оси y – число случаев в возрастной группе. Males – мужчины, Females – женщины.

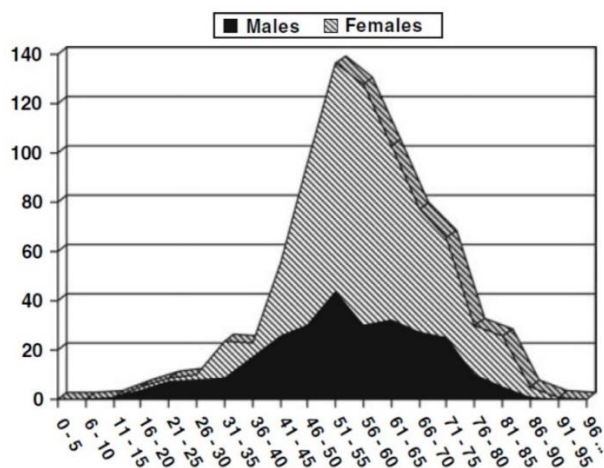


Рисунок 1Б. Распределение пациентов, подвергшихся паратиреоидэктомии, по возрасту по данным базы УМ за период 1999-2005 гг. (с 5-летним интервалом). Адаптировано из [96]. По оси x – возраст (годы), по оси y – число случаев в возрастной группе. Males – мужчины, Females – женщины.

В работе I. Pashtan и коллег также было продемонстрировано, что увеличение распространенности ПГПТ начинается в подростковом возрасте и быстро увеличивается в

возрасте от 20 до 30 лет [106]. При этом соотношение женщин и мужчин начинает увеличиваться между 20 и 30 годами, и составляет 3:1 к пятой декаде жизни [106].

В отечественной работе были продемонстрированы схожие результаты. Диагноз ПГПТ в российской популяции чаще устанавливают в возрасте 50-59 лет (33%) [12]. При распределении пациентов по возрастным группам (по возрасту установления диагноза ПГПТ) в зависимости от пола выявлено, что наиболее часто ПГПТ диагностируют среди женщин в возрасте 50-59 лет (23,8%) и 60-69 лет (28,8%), в то время как среди мужчин ПГПТ диагностируется одинаково вне зависимости от возраста [12].

Распространенность ПГПТ у детей составляет 2-5:100000 [15, 113]. Таким образом, по сравнению с распространенностью у взрослых (в среднем 1-4:1000 человек), ПГПТ у детей встречается в 100 раз реже. Единственное исследование, в котором оценивалась заболеваемость ПГПТ у детей, было проведено во Франции Е. Mallet и коллегами, в результате которого было установлено, что она составляет 1 случай на 300000 живых новорожденных [93]. Особенностью исследований, посвященных ПГПТ у детей и подростков, является небольшой объем выборок (максимально 52 человека в работе J. Kollars и коллег [75]), при этом набор материала в таких исследованиях проводился в течение 20-30 лет [21, 46, 56, 66, 70, 75, 81, 84, 87, 93].

1.2 Особенности первичного гиперпаратиреоза у пациентов молодого возраста

В настоящее время в научно-исследовательской практике существует обилие различных возрастных классификаций для формирования групп сравнения пациентов при изучении различных признаков, при этом единая классификация не разработана [11]. Например, согласно классификации ООН ранним взрослым периодом (young adulthood) считается возраст 15-24 лет, средним взрослым периодом 25-44 года (middle adulthood), старшим возрастным периодом 45-64 года (old adulthood) [147]. По международной классификации (Квинн В., 2000) молодость – от 18 до 40 лет, зрелый возраст от 40 до 65 лет. Большинство классификаций основаны на этапах психосоциального развития человека и не учитывают морфофункциональные преобразования в разных органах в разные периоды жизни [11]. В «Глобальных рекомендациях по физической активности для здоровья» ВОЗ выделяют 3 возрастные группы: от 5 до 17 лет, от 18 до 64 лет, 65 лет и старше [141]. Разработано множество других классификаций, однако общепринятого понятия молодого возраста не существует [11].

В исследованиях, посвященных особенностям ПГПТ у пациентов молодого возраста, отмечается его низкая распространенность в группе детей, подростков и

молодых взрослых, однако количество таких исследований немногочисленно и возрастной порог в них отличен [21, 46, 56, 66, 70, 75, 81, 84, 87, 93]. Данные о клинических особенностях ПГПТ, количестве пораженных ОЩЖ, развитии рецидивов в различных исследованиях противоречивы [21, 46, 56, 66, 70, 75, 81, 84, 87, 93]. Поскольку рутинное исследование уровня кальция среди лиц молодого возраста не проводится, данные о распространенности мягких форм ПГПТ в указанной категории неизвестны. В целом ПГПТ у детей имеет бимодальное распределение по возрасту, что отражает различную этиологию заболевания у младенцев и детей старшего возраста [15]. У новорожденных и детей младшего возраста ПГПТ обусловлен инактивирующими мутациями в гене кальций-чувствительного рецептора (*CASR*), тогда как у детей старшего возраста и подростков ПГПТ может быть либо спорадическим, либо наследственным, и развивается вследствие либо аденомы, либо гиперплазии ОЩЖ. Рак ОЩЖ у детей встречается чрезвычайно редко, в мировой литературе описано всего несколько случаев [15].

В России проблемой ПГПТ начали заниматься в Институте экспериментальной эндокринологии и химии гормонов АМН СССР, и к 1974 г., более чем за 30 лет работы хирургического отделения Института, были накоплены данные всего о 10 больных с ПГПТ, манифестировавшем до 20 лет (соотношение женщин и мужчин составило 1:1) [1]. У 8 была костная форма ПГПТ, у 2 – смешанная. У большинства (7 человек) при гистологическом исследовании была верифицирована солитарная аденома ОЩЖ, у 1 – три аденомы, у 1 – две аденомы, у 1 – гиперплазия трех ОЩЖ, при этом у двух последних пациентов ремиссия ПГПТ не была достигнута после хирургического лечения [1].

В Санкт-Петербургском Центре эндокринной хирургии и онкологии за 36-летний период (с 1973 по 2009 гг.) было прооперировано 9 больных с ПГПТ в возрасте от 7 до 18 лет, соотношение девочек и мальчиков составило 2:1 [138]. У 5 пациентов выявлена костная форма ПГПТ, у 2 – висцеральная, в 2 случаях – асимптомная. У двоих 14-летних пациентов с костной формой заболевания поздняя диагностика привела к развитию гиперкальциемического криза. В 2 случаях были удалены множественные аденомы ОЩЖ. Хирургическое удаление образований ОЩЖ во всех случаях позволило добиться полного выздоровления у детей. По данным гистологического исследования у всех больных верифицированы светлоклеточные аденомы. Авторы указывают, что ни у одного из пациентов не было выявлено синдромов множественных эндокринных неоплазий (МЭН), однако подробные клинико-лабораторные данные в работе не представлены, а молекулярно-генетическое исследование не проводилось. Авторы делают вывод, что

ПГПТ в детском и юношеском возрасте отличается более тяжелым поражением костной ткани и грубой деформацией конечностей [138].

Данные зарубежных исследований об особенностях ПГПТ у детей, подростков и пациентов до 25 лет суммированы в таблице 1. Все исследования демонстрируют, что характерной особенностью ПГПТ в указанных группах является значительное преобладание манифестных форм над асимптомными: НЛ встречается в 25-50% случаев, поражение скелета в 9-89% случаев, в среднем в 9-50% диагностируют гиперкальциемический криз, а также могут встречаться боли в животе, панкреатит, артериальная гипертензия и неспецифические проявления [14, 21, 27, 40, 46, 56, 75, 81, 66, 84, 85, 93, 106, 131]. В большинстве исследований соотношение пациентов женского и мужского пола было меньше, чем 3:1 [14, 21, 27, 40, 46, 75, 81, 66, 84, 85, 93, 106].

В ряде этих исследований также проводилось сравнение пациентов молодого возраста с пациентами старших возрастных групп [27, 40, 56, 66, 106]. В исследовании E.T. Durkin и коллег сравнивались группы 10-18 и 19-25 лет [46]. Было показано, что у пациентов молодого возраста чаще имелись более тяжелые симптомы заболевания (тошнота, рвота, потеря веса, боли в животе, выраженная мышечная слабость, жажда) [40, 66, 106], выше показатели кальция [27, 46, 66] и ПТГ [46, 66], чаще развивался гиперкальциемический криз [40, 66, 106], чаще имелись поражения органов-мишеней (НЛ [66, 106], поражение скелета [66]), среди пациентов старшего возраста чаще преобладали женщины [40, 66]. Также в исследовании Cronin отмечено, что спорадический ПГПТ чаще встречается среди детей и подростков по сравнению с наследственными формами [40]. Однако в исследовании J. George из Индии таких различий выявлено не было, поскольку в группе пациентов старшего возраста также часто встречались поражения органов-мишеней; при этом единственным отличием было отсутствие рака ОЩЖ и гиперплазии ОЩЖ в группе молодых пациентов [56]. В исследовании S.R. Harman примечательно описание двух пациентов, у которых развился рецидив заболевания с яркой клинической картиной спустя 17 и 9 лет после первой успешной операции, соответственно, в связи с чем авторы подчеркивают необходимость длительного наблюдения за пациентами с ПГПТ молодого возраста [66].

В исследовании S. Alagaratnam дополнительно проводилось сравнение группы детей со спорадическим ПГПТ (16 человек) и детей с наследственным ПГПТ (7 человек, из них 4 МЭН-1, 1 МЭН-2А, 1 НРТ-JT, 1 X-сцепленная гипофосфатемический рахит) [14]. При этом показатели возраста на момент манифестации, возраст на момент операции, соотношение по полу, а также показатели кальция и ПТГ статистически достоверно не отличались между группами. Только 1 пациент в группе спорадического ПГПТ имел

гиперплазию четырех ОЦЖ, тогда как в группе наследственного ПГПТ у пациентов с МЭН-1 наблюдались: 1 – гиперплазия четырех ОЦЖ, 1 – 2 аденомы и 2 гиперплазированные ОЦЖ, 1 – 3 гиперплазированные ОЦЖ, 1 – 1 гиперплазированную ОЦЖ, у пациентов с МЭН-2А и НРТ-ЈТ имелась солитарная аденома ОЦЖ, у пациента с Х-сцепленным гипофосфатемическим рахитом – гиперплазия четырех ОЦЖ [14].

Таблица 1. Клинические характеристики детей/подростков с ПГПТ по данным зарубежных исследований (начало).

Исследование, год, страна	Cronin, 1996, Австралия [40]	Lawson, 1996, Канада [81]	Harman, 1999, Клиника Мейо, США [66]	Kollars, 2005, Клиника Мейо, США* [75]	Venail, 2007, Франция [131]	Bhadada, 2008, Индия [21]	Libansky, 2008, Чехия [85]
Показатели							
Набор материала, годы	1980-1995	1973-1995	1976-1998	1970-2000	н/д	1993-2006	1996-2007
Общее количество	8 (1 МЭН-2А)	11 (все спорадические)	33 (все спорадические, 16 семейных исключены из исследования)	52 (36 спорадических, 16 семейных)	4 (спорадические)	14 (13 спорадических, 1 МЭН-1)	10 (все спорадические)
Тип исследования	Сравнение с группой взрослых пациентов	Описание серии случаев	Сравнение с группой взрослых пациентов	Описание серии случаев	Описание клинических случаев	Описание серии случаев	Описание серии случаев (хирургическое лечение)
Возраст, лет	9-18	12-18	9-19	4,9-19	7-14	5,6-20	10-18
М	5	5	17	21	1	6	5
Ж	3	6	16	31	3	8	5
Соотношение М/Ж	1,7:1	1:1	1:1	1:1,5	1:3	1:1,3	1:1
Гиперплазия	1/8 (2 ОЦЖ при МЭН-2А)	0/11	0/33	3/52	0/4	1/14 (гиперплазия 4 ОЦЖ)	0/10
Аденома	7/8 (в том числе у одного 2 аденомы)	11/11	31/33 (у 2 патологии не выявлено)	36/52	4/4	12/14 (МЭН-1 не оперирован)	10/10

Общий Са, (Ме, min-max или SD)	3,4 (2,39-4,58) ммоль/л	3,39 (2,64-4,2) ммоль/л	3,02 (2,55-4,55) ммоль/л	11,7 (10,1-16,0) мг/дл	3,79 (2,96-4,34) ммоль/л	2,78 (2,12-3,4) ммоль/л	3,21±0,09 ммоль/л
ПТГ (Ме, min- max или SD)	н/д	390 (79-930) пг/мл	221 (27-1700) пг/мл	60 (19-1700) пг/мл	82,9 (87-1580) пг/мл	58,1±586 пг/мл	230,8±57,7 пг/мл
Манифестная форма	7/8	10/11	27/33	41/52	4/4	13/14	8/10
Асимптомная форма	1/8 (МЭН-2А)	1/11	6/33	11/52	0/4	1/14 (МЭН-1)	2/10

Таблица 1. Клинические характеристики детей/подростков с ПГПТ по данным зарубежных исследований (окончание).

Исследование, год, страна	Mallet, 2008, Франция [93]	George, 2010, Индия [56]	Durkin, 2010, США [46]	Li, 2012, Китай [84]	Pashtan, 2013, США [106]	Burke, 2013, США [27]	Alagaratnam, 2014, Великобритания [14]
Показатели							
Набор материала, годы	1984-2004	1993-2006	2003-2009	2001-2011	1990-2004	2001-2012	1978-2012
Общее количество	42 (40 спорадических и 2 МЭН-1) (при исключении 11 новорожденных)	18 (все спорадические)	25 (19 спорадических, 6 семейных)	12	21 (20 спорадических, 1 МЭН-1)	19 (15 спорадических, 4 семейных)	23 (16 спорадических, 7 семейных)

Тип исследования	Описание серии случаев	Сравнение с группой взрослых пациентов	Описание серии случаев (хирургическое лечение)	Описание серии случаев	Сравнение с группой взрослых пациентов	Сравнение с группой взрослых пациентов	Сравнение наследственного и спорадического ПГПТ
Возраст, лет	6-18	13-20	10-25	9-16	10-20	10-19	7-16
М	18	4	10	5	9	7	12
Ж	26	14	15	7	12	12	11
Соотношение М/Ж	1:1,4	1:3,5	1:1,5	1:1,4	1:1,3	1:1,7	1:1
Гиперплазия	11/42	0/18	10/25 (все 4 ОЦЖ)	0/12	3/21	5/19 (4 – семейные случаи)	5 (все МЭН-1)/23
Аденома	31/42	18/18	15/25	12/12	18/21	14/19	16 спорадических + 1 МЭН-2А+1 НРТ-1Т/23
Общий Са, (Me, min-max или SD)	3,2 (2,8-4,3) ммоль/л	3,35±0,49 ммоль/л	12,0 (10,2-15,9) мг/дл	3,82 (3,3-5)	12,1±1,3 мг/дл	12,2±0,2 мг/дл	2,75–4,09 (медиана 3,07) (спорадический ПГПТ) 2,86–3,57 (медиана 2,95) (семейный ПГПТ)
ПТГ (Me, min-max или SD)	219 (24-1500) пг/мл	80,1±66 пг/мл	145 (37-800) пг/мл	1016 (105-2800) пг/мл	104.6 ± 36.57 пг/мл	147±43 пг/мл	9.4–62 (медиана 16.4) (спорадический ПГПТ)

							9.4–44.9 (медиана 16.7) (семейный ПГПТ)
Манифестная форма	36/44	18/18	16/25	12/12	16/21	н/д	21/23
Асимптомная форма	8/44	0/18	9/25	0/12	5/21	н/д	2/23

Примечания: М – мужской пол, Ж – женский пол; SD – стандартное отклонение; Me – медиана; min-max – минимальные и максимальные значения.

* В исследовании Kollars 10/52 имели МЭН-1 (гиперплазия ОЦЖ у 8/10), 3/52 – МЭН-2А (гиперплазия ОЦЖ у 3/3), семейный ПГПТ у 3/52 (гиперплазия ОЦЖ у 1/3), патологии ОЦЖ при операции не выявлено у 4/52. Асимптомная форма (n=11, 21%): из них 1 – МЭН-1 (10%), 3 – МЭН-2А, 2 – семейный ГПТ, у 5 – аденома ОЦЖ. Среди манифестных – МЭН-1 у 9, МЭН-2А – 0, семейный ГПТ – 1 (33%), аденома ОЦЖ – у 31 (86%).

Также проводились исследования, в которых верхний возрастной порог пациентов был смещен в сторону 30-45 лет. В исследовании, проведенном в США К-С. Loh и коллегами за период с 1990 по 1996 гг., было выявлено 22 пациента с ПГПТ в возрасте от 12 до 28 лет (соотношение женщин и мужчин 1,75:1), что составило 3% от всех прооперированных по поводу ПГПТ за этот период [87]. По данным гистологического заключения у 59% из них была выявлена солитарная аденома, у 27% – гиперплазия, у 9% – множественные аденомы, у 5% – рак ОЩЖ. Сравнение между подростками (12-18 лет) и взрослыми (19-28 лет) не выявило клинических, гистологических и лабораторных отличий, кроме преобладания лиц мужского пола среди группы подростков. При этом у трети пациентов ПГПТ был диагностирован при рутинном биохимическом исследовании, а у 2/3 имелись симптомы, ассоциированные с гиперкальциемией. Семейный анамнез ПГПТ был только у 2 пациентов. Авторы отмечают большую распространенность мультигландулярного поражения ОЩЖ и необходимость подозрения на ПГПТ у молодых пациентов с неспецифическими жалобами [87].

В работе исследователей из Германии К. Cupisti и коллег проанализированы отличия ПГПТ у пациентов моложе 30 лет по сравнению со старшей возрастной группой [41]. В группе из 1219 пациентов с ПГПТ, прооперированных в период с 1986 по 2002 гг., 64 пациента (5,3%) были моложе 30 лет (соотношение женщин и мужчин – 2:1). Авторы отмечают большую частоту мультигландулярного поражения среди пациентов молодого возраста. Исследование гена *MEN1* было проведено у 13 пациентов, из них у 9 была выявлена мутация (9/64, 14%). У 3 пациентов был клинически и генетически подтвержденный синдром МЭН-2А. Солитарная аденома ОЩЖ была выявлена у 32 (50%) ($p < 0,001$), мультигландулярное поражение у 25 (39% vs. 13% в старшей группе) ($p < 0,001$), у 2 предположительно рак ОЩЖ, у 5 пациентов не удалось выявить аденому. При динамическом наблюдении за 54 пациентами, у 42 сохранялась нормокальциемия, у 5 – гипокальциемия, у 7 – гиперкальциемия. В общей сложности 16 молодых пациентов (25%) подверглись повторной операции в сравнении со 105 пациентами старшего возраста (9%) ($p = 0,003$). При сравнении этой группы с пациентами более старшего возраста было выявлено, что у молодых пациентов были значительно менее выражены боли в костях, костная деминерализация и нейропсихиатрические симптомы, что отличается от данных других исследований. Различий по биохимическим показателям выявлено не было. Авторы делают вывод, что высокая частота мультигландулярного поражения требует проведения двусторонней ревизии шеи в качестве стандартной процедуры у пациентов с ПГПТ моложе 30 лет, поскольку несмотря на высокую чувствительность и специфичность УЗИ и сцинтиграфии можно пропустить мультигландулярное поражение [41].

Исследователи из США M.S. Sneider с коллегами также проводили сравнение клинических особенностей ПГПТ и исходы хирургического лечения у пациентов молодого возраста со спорадическим ПГПТ в сравнении с группой пациентов старшего возраста [123]. Пациенты со спорадическим ПГПТ (1101 человек), прооперированные за период с 1970 до 2007 гг., были разделены на 2 группы: ≤ 40 лет ($n=110$) и >40 лет ($n=991$). При этом из исследования были исключены пациенты со вторичным, третичным, литий-индуцированным гиперпаратиреозом, синдромами МЭН, наследственным ПГПТ, раком ОЩЖ, рахитом. В группе молодых пациентов соотношение женщин 65 (59%) и мужчин 45 (41%) статистически достоверно отличалось от такового в старшей группе (742 (75%) и 249 (25%) соответственно). Асимптомная форма встречалась в 27,3% у молодых пациентов и у 26,3% пациентов старшего возраста. У молодых пациентов чаще встречался НЛ (44,5% vs 28,8%), тогда как боли в костях достоверно чаще встречались у пациентов старшего возраста (32,1% vs 14,5%). По биохимическим и гормональным показателям как до, так и после операции, обе группы статистически достоверно не отличались. У 8 из 110 молодых пациентов (7,3%) было мультигландулярное поражение в сравнении с 70 из 991 (7,1%) у пациентов старшего возраста, что статистически достоверно не отличалось. В целом, частота ремиссии в обеих группах после проведенной паратиреоидэктомии (ПТЭ) была сопоставима: 96,4% у молодых пациентов и 96,3% в группе пациентов старшего возраста. В отличие от исследования К. Cupisti и коллег, процент мультигландулярного поражения не отличался в обеих группах, что авторы связывают с исключением из исследования пациентов с наследственными формами ПГПТ, и, таким образом, делают вывод, что двусторонняя ревизия шеи нецелесообразна у пациентов молодого возраста. Тем не менее в случаях семейного ПГПТ или при наличии МЭН-ассоциированных эндокринопатий необходима особая настороженность [123].

В исследовании К. J. Nicholson и коллег из США, опубликованном в 2016 г., сравнивались особенности ПГПТ у пациентов в возрасте до 19 лет ($n=39$) и 19-30 лет ($n=87$) [102]. Все пациенты подверглись ПТЭ в период с 1977-2015 гг., и составили 2,7% от общего числа прооперированных больных. Спорадический ПГПТ встречался в 74,4% и 86,2%, соответственно. Синдром МЭН-1 был самой частой причиной наследственного ПГПТ [102]. Рецидив ПГПТ был вследствие МЭН-1 во всех случаях. Также во второй группе пациентов было два пациента с раком ОЩЖ и четыре пациента с атипичными аденомами ОЩЖ, и авторы отмечают, что частота достаточна высока по сравнению с приводимыми ранее литературными данными [102].

В работе исследователей из Франции A. Skandarajah и коллег представлены клинические данные 21 пациента с клинически спорадическим ПГПТ моложе 40 лет (средний возраст 30,8

лет, в целом от 18 до 39 лет, 43% – моложе 30 лет), которым проводилось прямое секвенирование гена *MEN1* (см. ниже) [119]. Из 21 пациента у 15 (71,4%) была симптоматическая гиперкальциемия и у 6 (28,6%) гиперкальциемия была выявлена случайно. У 91% (19/21) было поражение одной ОЦЖ (16 аденом ОЦЖ, 1 аденолипома и 2 случая гиперплазии одной ОЦЖ). У одного пациента была двойная аденома, еще у 1 пациента – гиперплазия всех четырех ОЦЖ. Хирургическое лечение привело к ремиссии после операции у всех пациентов [122].

Цель работы шведских исследователей L.F. Starker и коллег заключалась в оценке герминальных мутаций у пациентов с ПГПТ молодого возраста (см. ниже), однако также проводилось сравнение клинических характеристик пациентов ≤ 44 лет и пациентов старше 45 лет [121]. Было выявлено, что среди пациентов молодого возраста с клинически спорадическим ПГПТ чаще встречался НЛ (28,5% vs 20,9%, $p < 0,05$), реже встречалось поражение костей (50,3% vs 75,3%, $p < 0,05$), была меньшая доля женщин (68,2% vs 80,5%). По остальным характеристикам (биохимические показатели, тип операции и данные гистологического исследования) обе группы не отличались [124].

1.3. Наследственные синдромы, в рамках которых возникает ПГПТ

ПГПТ в большинстве случаев (90-95%) является спорадическим и лишь в около 5-10% имеет наследственную природу [59, 71]. Наследственные синдромы, в рамках которых может возникать ПГПТ, представлены в таблице 2.

Таблица 2. Наследственные синдромы, в рамках которых возникает ПГПТ (адаптировано из [44]).

Заболевание	Ген (белок)	Хромосомная локализация
МЭН-1	<i>MEN1</i> (менин)	11q13
МЭН-2А	<i>RET</i>	10q11.2
МЭН-4	<i>CDKN1B</i> (p27)	12p13
НРТ-ЈТ	<i>CDC73</i> (парафибромин)	1q31.2
ФНР	<i>MEN1</i> , <i>CDC73</i> , <i>CASR</i> , <i>CDKN1A</i> (p21), <i>CDKN2B</i> (p15), <i>CDKN2C</i> (p18)	11q13, 1q31.2, 3q21.1, 6p21.2, 9p21, 1p32
NSHPT	<i>CASR</i>	3q21.1

FHH1	<i>CASR</i>	3q21.1
FHH2	<i>GNA11</i>	19p13
FHH3	<i>AP2S1</i>	19q13.2-q13.3
nsPHPT	<i>PTH</i>	11p15.3-p15.1

Особенности наследственных синдромов, а также отличительные характеристики ПГПТ как одного из их компонентов, представлены ниже.

1.3.1 Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН-1)

Синдром МЭН-1 (OMIM #131100), впервые описанный в 1954 году, характеризуется сочетанным развитием опухолей ОЩЖ, аденогипофиза и островков поджелудочной железы (ПЖ) [59, 125]. Также в рамках синдрома встречаются опухоли надпочечников, нейроэндокринные опухоли (НЭО) тимуса, легких и желудочно-кишечного тракта. Неэндокринные проявления МЭН-1 включают ангиофибромы, коллагеномы, липомы, лейомиомы, менингиомы и другие [125]. Недавно рак молочной железы был описан как одно из проявлений синдрома [45]. В соответствии с международными клиническими рекомендациями от 2012 г. клинический диагноз синдрома МЭН-1 основывается на сочетании минимум двух из трех основных МЭН-1-ассоциированных эндокринных опухолей [125]. Аденомы гипофиза развиваются в 15-55% случаев, при этом преобладают пролактиномы. Множественные гормональнонеактивные или гормональноактивные (гастриномы, инсулиномы и пр.) гастроэнтеропанкреатические опухоли развиваются у более 50% пациентов [125]. Распространенность МЭН-1 составляет 2-3 на 100 000 человек с одинаковым поражением и женщин, и мужчин [125]. МЭН-1 – это заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, обусловленное герминальными мутациями в гене *MEN1*. Ген *MEN1* был идентифицирован в 1997 г. и расположен на длинном плече хромосомы 11 (11q13) [33]. *MEN1* является геном-супрессором опухолевого роста и кодирует менин – белок, состоящий из 610 аминокислотных остатков и преимущественно локализующийся в ядре. Было показано, что менин взаимодействует с рядом белков, вовлеченных в процессы регуляции транскрипции, поддержания стабильности генома, клеточного деления и пролиферации. Однако следует отметить, что функции менина до конца малоизучены [128].

1.3.1.1 Особенности ПГПТ в рамках МЭН-1

Учитывая, что у 30% пациентов с генетически подтвержденным МЭН-1 отсутствует семейный анамнез, частота МЭН-1 у пациентов с ПГПТ может быть недооценена в связи с отсутствием других проявлений синдрома. Тем не менее, некоторые клинические особенности ПГПТ в рамках МЭН-1, отличающие его от спорадического ПГПТ, хорошо известны [50]. ПГПТ развивается у 75-95% пациентов с МЭН-1 и обычно является первым проявлением синдрома (около 75%) [50, 88, 89]. В целом, частота МЭН-1 при ПГПТ оценивается как 1-18% [50, 125]. Дебют ПГПТ в рамках МЭН-1 приходится обычно между 20 и 25 годами в отличие от спорадического ПГПТ, при котором типичный возраст дебюта – 50-55 лет [50, 90, 125]. Также отмечается одинаковое поражение женщин и мужчин (1:1 vs. 3:1 при спорадическом ПГПТ) [50, 125]. Клиническая картина варьирует: у пациентов может быть как асимптомная гиперкальциемия, так и НЛ, фиброзно-кистозная остеодистрофия, симптомы, ассоциированные с гиперкальциемией (полиурия, полидипсия), или пептические язвы. Обычно гиперкальциемия выражена умеренно, а тяжелая гиперкальциемия, приводящая к гиперкальциемическому кризу встречаются редко [125]. В отличие от спорадического ПГПТ, обусловленного в большинстве случаев солитарной аденомой ОЩЖ, ПГПТ при МЭН-1 вызван множественным поражением (гиперплазией, аденомами) ОЩЖ [50, 125]. Дооперационные визуализирующие методики (УЗИ и сцинтиграфия с технетрилом) имеют ограниченные возможности в связи с потенциальным вовлечением всех ОЩЖ в патологический процесс. Рекомендации по объему хирургического лечения противоречивы (следует ли выполнять субтотальную или тотальную ПТЭ) и когда следует выполнять оперативное вмешательство (на ранних или более поздних стадиях заболевания). Рекомендуется проводить двустороннюю ревизию шеи (в противоположность минимально инвазивной ПТЭ при спорадическом ПГПТ), поскольку в большинстве случаев обычно поражены все четыре ОЩЖ (множественные аденомы или гиперплазия), хотя в некоторых случаях дифференцировать их гистологически может быть сложно [50, 125]. Необходимо отметить, что злокачественное поражение ОЩЖ крайне редко, но может встречаться у пациентов с синдромом МЭН-1: в литературе описаны единичные случаи (около 12) рака ОЩЖ в рамках МЭН-1 [43, 103, 117]. При ПГПТ в рамках МЭН-1 чаще развивается рецидив после оперативного вмешательства по сравнению со спорадическим ПГПТ [50, 88, 89].

В единственной найденной нами работе, посвященной изучению особенностей течения синдрома МЭН-1 у пациентов в возрасте до 21 года, из 160 молодых пациентов с МЭН-1 ПГПТ был первым проявлением у 90 пациентов (56%), и в большинстве случаев был выявлен при биохимическом скрининге (71/90, 79%) [61]. В целом ПГПТ был выявлен у 122 (76,25%), из них у 110 (90%) – в возрасте после 10 лет. 21 пациент (17%) имел клинические симптомы (18 (86%)

НЛ, 7 (33%) утомляемость, 2 (1%) боли в костях), при этом самый ранний возраст манифестации был 8 лет (НЛ). Только у 3 пациентов ПГПТ возник в возрасте до 6 лет и имел асимптомное течение [61].

В исследовании С. Eller-Vainicher и коллег определялись клинические и биохимические признаки ПГПТ, по которым можно заподозрить синдром МЭН-1, а также сравнивалась тяжесть ПГПТ в рамках МЭН-1 и спорадического ПГПТ [50]. При сравнении 469 пациентов со спорадическим ПГПТ и 64 пациентов с ПГПТ в рамках МЭН-1 было показано, что у пациентов с МЭН-1 были более низкие показатели Z-критерия в позвонках и шейке бедра и более низкие показатели уровня фосфора и ПТГ. При исследовании только пробандов, МЭН-1 был ассоциирован с показателями уровня ПТГ в пределах референсных значений и более молодым возрастом. Сочетание показателей ПТГ в пределах нормальных значений с возрастом менее 50 лет имело сильную ассоциацию с наличием синдрома МЭН-1. В заключении авторы делают вывод, что пациенты с ПГПТ в рамках МЭН-1 имеют более тяжелое поражение костей, но одинаковое поражение почек, несмотря на более мягкие биохимические показатели в сравнении с пациентами со спорадическим ПГПТ [50].

В работе D.M. Lourenço Jr и коллег была обследована группа из 36 пациентов с ПГПТ из 8 неродственных семей с МЭН-1 [89]. При этом пациенты были разделены на 2 группы в соответствии с возрастом – моложе 50 лет (21 человек) и старше 50 лет (15 человек). Было показано, что поражения костей и почек (НЛ) при МЭН-1-ассоциированном ПГПТ возникают раньше, чаще, являются более выраженными и прогрессирующими, по сравнению со спорадическим ПГПТ. Уровни ПТГ и кальция при МЭН-1-ассоциированном ПГПТ были умеренно повышены, несмотря на, в целом, большой процент выявленной деминерализации костей (77,8%). В подгруппе молодых пациентов (<50 лет) чаще встречалась деминерализация в дистальной 1/3 лучевой кости, и она была более выраженной. В группе пациентов старше 50 лет была выше частота деминерализации костей во всех зонах. НЛ возникал раньше (<30 лет) и чаще (75%) и был ассоциирован с сопутствующими почечными осложнениями (50%) и почечной недостаточностью в группе пациентов старшего возраста (33%). Примечательно, что на момент диагностики ПГПТ 27/36 (75%) имели манифестную форму заболевания (НЛ). 9 из 36 (9%) не имели симптомов, однако у 2 развился НЛ спустя 6 и 36 месяцев после диагностики ПГПТ, соответственно. 8 из 9 асимптомных больных были моложе 30 лет, и все 9 были статистически значимо моложе симптомных пациентов. Авторы делают вывод, что асимптомная фаза при МЭН-1-ассоциированном ПГПТ длится относительно недолго, поскольку 60% пациентов моложе 30 лет имели симптомы ПГПТ (НЛ). Механизмы, лежащие в

основе большей предрасположенности к НЛ при МЭН-1-ассоциированном ПГПТ по сравнению со спорадическим ПГПТ остаются неясными [89].

В отечественном исследовании было показано, что распространенность синдрома МЭН-1 среди пациентов с ПГПТ по данным пилотного эпидемиологического исследования составила 6,6%, и была значительно больше среди пациентов с рецидивом ПГПТ (21,6%) [7]. Течение ПГПТ и нарушения фосфорно-кальциевого обмена при МЭН-1 не зависят от того, являлся ли ПГПТ первым компонентом МЭН-1 или был выявлен при скрининге среди пациентов с опухолями эндокринных желез. У пациентов с МЭН-1 в сравнении с пациентами со спорадическим ПГПТ значимо меньше возраст дебюта заболевания и уровень ПТГ, чаще свойственно множественное поражение ОЩЖ и малосимптомное течение ПГПТ, особенно в возрасте до 30 лет. Пациенты с возрастом дебюта ПГПТ до 40 лет в сочетании с умеренным повышением уровня ПТГ (не более 2,5 раз выше верхней границы референсных значений) имеют большую вероятность наличия у них ПГПТ в рамках МЭН 1 типа (в 12,5 раз) вне зависимости от пола и клинических проявлений ПГПТ (специфичность 97%, прогностическая ценность — 66,7%) [7].

1.3.2 Синдром множественных эндокринных неоплазий 2А типа (МЭН-2А)

Синдром МЭН-2А (ОМIM#171400) является клиническим вариантом синдрома МЭН-2, проявляется развитием медуллярного рака щитовидной железы (100%), феохромоцитомы (50%), ПГПТ (20-30%), и обусловлен герминальными мутациями в гене *RET* [59]. Примечательно, что при синдроме МЭН-2А в подавляющем большинстве случаев ПГПТ не бывает первым проявлением синдрома, а выявляется либо во время операции по поводу медуллярного рака щитовидной железы, либо спустя годы после операции по поводу медуллярного рака. Средний возраст на момент диагностики составляет 38 лет [16, 59]. Нами было найдено описание единичного клинического случая девочки 5 лет из семьи с МЭН-2А, у которой перед проведением профилактической тиреоидэктомии (в отсутствии патологии щитовидной железы) был диагностирован ПГПТ [91]. Обычно ПГПТ при МЭН-2А обусловлен солитарной аденомой ОЩЖ, хотя может встречаться и гиперплазия нескольких ОЩЖ [16].

1.3.3 Синдром множественных эндокринных неоплазий 4 типа (МЭН-4)

Синдром МЭН-4 (ОМIM #610755) был впервые описан в 2002 г. А. Fritz и коллегами как «МЭН-подобное» аутосомно-рецессивное заболевание у крыс [55]. В течение первого года

жизни у животных развивались двусторонние феохромоцитомы, множественные параганглиомы, медуллярный рак щитовидной железы, двусторонняя гиперплазия ОЩЖ, аденомы гипофиза, при отсутствии мутаций в генах *RET* и *MEN1* [55]. В 2006 г. N. Pellegata с коллегами выявили мутацию в гене *CDKN1B*, кодирующем ингибитор клеточного цикла p27, у крыс с «МЭН-подобным» фенотипом (развитие опухолей, характерных как для МЭН-1, так и для МЭН-2) [107]. Первым задокументированным случаем заболевания у человека, которое в последующем было названо МЭН-4, стала семья из Германии с семейными аденомами гипофиза, ПППТ, ангиомиолипомой почки и раком яичек среди различных членов семьи. Генетическое исследование показало наличие нонсенс-мутации в гене *CDKN1B* в отсутствие мутаций в гене *MEN1* [107]. Вскоре после этого, герминальная гетерозиготная мутация со сдвигом рамки считывания в гене *CDKN1B* была описана в другом «МЭН-1-подобном» случае, негативном по мутации в гене *MEN1*: женщина из Голландии с мелкоклеточной карциномой шейки матки, АКТП-продуцирующей аденомой гипофиза и гиперпаратиреозом [57]. Ген *CDKN1B* расположен на коротком плече 12 хромосомы (12p13) и кодирует повсеместно экспрессирующийся белок p27 (Kip1), состоящий из 198 аминокислотных остатков. Он принадлежит, совместно с p21 и p57, к семейству KIP/CIP циклин/циклин-зависимых ингибиторов киназ, регулирующих переход клеточного цикла из фазы G1 в S фазу. Менин и RET также являются компонентами p27-зависимого пути, который регулирует тканеспецифическую клеточную пролиферацию. К 2013 г было описано 12 случаев герминальных мутаций в гене *CDKN1B* [82], в дальнейшем было описано еще несколько случаев [51, 127]. С учетом небольшого количества выявленных пациентов, описать фенотип МЭН-4 сложно. Возраст манифестации клинических проявлений обычно на 20 лет позже, чем при МЭН-1 (36-79 лет), чаще около возраста менопаузы. ПППТ имеет высокую пенетрантность (81%) и часто бывает первым клиническим проявлением. В большинстве случаев поражаются несколько ОЩЖ. АГ является вторым по частоте клиническим проявлением (46%) [82]. Другие опухоли включают карциномы бронхов, энтеропанкреатические НЭО, рак яичек, опухоли надпочечников, ангиомиолипомы почек [71]. Диагноз МЭН-4 может быть заподозрен у пациентов с фенотипом МЭН-1 в отсутствие мутаций в гене *MEN1* (фенокопий МЭН-1).

1.3.4 Синдром гиперпаратиреоза с опухолью челюсти (hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome, HPT-JT)

Синдром HPT-JT (OMIM #145001) является редким заболеванием с аутосомно-доминантным типом наследования [73]. Синдром характеризуется развитием ПППТ,

оссифицирующих фибром нижней и/или верхней челюсти, опухолями матки и, реже, поражением почек [71, 145]. Истинная распространенность синдрома НРТ-ЖТ до сих пор неизвестна. К 2015 г было описано менее 300 случаев заболевания из приблизительно 100 семей [71].

Несмотря на название синдрома, опухоли челюсти встречаются лишь в 30-40% случаев [145]. Оссифицирующие фибромы являются доброкачественными, но могут нарушать нормальное расположение зубов и приводить к косметическим дефектам. Опухоли иногда могут быть двусторонними/мультифокальными и могут рецидивировать или продолжать расти при отсутствии хирургического лечения. Указанные опухоли следует дифференцировать от бурых опухолей при агрессивно протекающем ПГПТ, которые исчезают после наступления ремиссии ПГПТ [52, 105]. Опухоли матки (лейомиомы, гиперплазия эндометрия, аденосаркомы, аденофибромы, множественные аденоматозные полипы) встречаются у 57,3% пораженных женщин [71]. Поражение почек (гамартомы, поликистоз почек, опухоли Вильмса, аденокарциномы) встречается в 13,3% случаев НРТ-ЖТ [71]. Также сообщалось о выявлении аденокарциномы ПЖ, смешанных герминогенных опухолей яичка, рака щитовидной железы и толстой кишки, но данные о том, что их частота выше при НРТ-ЖТ по сравнению с общей популяцией, отсутствуют [145].

НРТ-ЖТ обусловлен герминальными мутациями в гене-супрессоре опухолевого роста *CDC73* (cell division cycle protein 73 homolog), расположенном на длинном плече 1 хромосомы (1q31.2), идентифицированном в 2002 г и ранее обозначавшимся как *HRPT2* [31]. Ген кодирует белок парафибромин, состоящий из 531 аминокислотного остатка [31]. До сих пор не было выявлено корреляций генотип-фенотип для мутаций в *CDC73*. Однако, высказывались предположения, что миссенс-мутации более вероятно ассоциированы с ГИНР, тогда как мутации, приводящие к грубым нарушениям структуры парафибромина более вероятно ассоциированы с классическим фенотипом синдрома НРТ-ЖТ. По данным литературы семьи с ГИНР имеют большее соотношение миссенс мутаций к нонсенс-мутаций/мутаций со сдвигом рамки считывания по сравнению с семьями с НРТ-ЖТ (4/7 vs. 3/38, соответственно) [33, 72, 77, 101, 104, 108, 111, 121, 124]. Парафибромин является одной из пяти субъединиц ассоциированного с полимеразой комплекса 1 (polymerase-associated complex 1, PAF1) – ключевого регулирующего транскрипцию комплекса, который взаимодействует непосредственно с РНК-полимеразой II [100]. Исследования комплекса PAF1 показали, что парафибромин является медиатором ключевых этапов транскрипции – модификации гистонов, ремоделирования хроматина, инициации и элонгации [100].

1.3.4.1 Особенности ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ

ПГПТ является основным проявлением НРТ-ЖТ и выявляется приблизительно в 95% случаев [145]. Частота ПГПТ увеличивается с возрастом, и хотя обычно ПГПТ манифестирует в раннем молодом возрасте (самый ранний описанный возраст дебюта ПГПТ – 7 лет [108], самый ранний описанный возраст при карциноме ОЩЖ – 20 лет [66]), дебют ПГПТ может быть и на шестом десятке жизни [24]. ПГПТ может протекать мягко, однако в случае карциномы ОЩЖ течение может быть тяжелым, с гиперкальциемическими кризами. ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ обычно вызван единичной доброкачественной аденомой ОЩЖ, обычно кистозной или с атипичными гистологическими характеристиками [71]. В отличие от других наследственных вариантов ПГПТ, карцинома ОЩЖ в рамках НРТ-ЖТ встречается в 10-21,6% случаев [71, 145]. Мультигландулярное поражение встречается редко при первичной операции (20% случаев), вторая аденома ОЩЖ может возникнуть метакронно спустя годы или десятилетия после возникновения первичной опухоли (23,9% случаев) [71].

Оптимальный хирургический подход при ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ пока не разработан. Ранее рядом авторов предлагалось проведение двусторонней ревизии шеи и субтотальной ПТЭ или тотальной ПТЭ с или без аутотрансплантации, в связи с риском мультигландулярного поражения и злокачественности [71]. Однако аутотрансплантация может быть потенциально ассоциирована с диссеминацией раковых клеток. В последнее время чаще предлагается селективная ПТЭ при поражении одной ОЩЖ и отсутствии подозрения на злокачественность. Такая стратегия обеспечивает меньший риск развития гипопаратиреоза [71, 72]. В случае подозрения на рак ОЩЖ (большие образования ОЩЖ с инфильтративным ростом, крайне высокие показатели кальция и ПТГ) предпочтительно выполнение резекции единым блоком с удалением ипсилатеральной половины щитовидной железы, прилежащих мягких тканей и омолатеральной ОЩЖ с целью предотвращения повреждения опухоли и риска диссеминации [71].

1.3.5 Семейная гипокальциурическая гиперкальциемия, неонатальный тяжелый гиперпаратиреоз, аутосомно-доминантный мягкий гиперпаратиреоз

1.3.5.1 Семейная гипокальциурическая гиперкальциемия 1, 2, 3 типов

Семейная гипокальциурическая гиперкальциемия (familial hypocalciuric hypercalcemia, ФНН), впервые описанная в 1972 году, является редким заболеванием с аутосомно-доминантным типом наследования [53]. Диагноз ФНН может быть заподозрен при сочетании

гиперкальциемии и нормального или несколько повышенного уровня ПТГ и относительной гипокальциурии. Концепция относительной гипокальциурии при ФНН заключается в нормальном содержании кальция в моче при сочетании с высоким уровнем кальция крови, что свидетельствует об отсутствии гиперкальциурического ответа на гиперкальциемию [2, 59]. Поскольку экскреция кальция с мочой за фиксированный интервал времени значительно зависит от СКФ и продолжительности времени сбора мочи, общая экскреция кальция не является ценным показателем для дифференциальной диагностики случаев ФНН от типичного ПГПТ. Поэтому с целью дифференциальной диагностики ПГПТ и ФНН используется расчет отношения почечного клиренса кальция к клиренсу креатинина (UCCR), который при ФНН составляет менее 0,01 (формула для расчета $Ca_{Cl}/Cr_{Cl} = [Ca_u \times Cr_s]/[Cr_u \times Ca_s]$, где Ca_{Cl} – клиренс кальция, Cr_{Cl} – клиренс креатинина, Ca_u – концентрация кальция в моче (ммоль/л), Cr_s – концентрация креатинина в сыворотке крови (мкмоль/л), Cr_u – концентрация креатинина в моче (мкмоль/л), Ca_s – концентрация кальция в сыворотке крови (ммоль/л)) [2, 59, 71]. Для ПГПТ индекс UCCR обычно составляет более 0,02, однако в исследовании S.E. Christensen и коллег было продемонстрировано, что отрезная точка UCCR менее 0,01 без исследования гена *CASR* выявит только 65% пациентов с ФНН и неверно классифицирует 4% пациентов с ПГПТ как имеющих ФНН. Показатель UCCR в пределах 0,01-0,02 имеют 33% пациентов с ПГПТ, и 35% с ФНН имеют $UCCR \geq 0,01$ [37].

У пациентов с ФНН симптоматика обычно слабо выражена или отсутствует, и гиперкальциемия чаще выявляется случайно. Гораздо реже, чем при классическом ПГПТ, могут встречаться быстрая утомляемость, слабость и полидипсия, НЛ. На рентгенограммах костей и DEXA патологии обычно не выявляют. При ФНН могут встречаться хондрокальциноз и преждевременная кальцификация сосудов, обычно не проявляющие себя клинически. Гиперкальциемия имеет 100% пенетрантность во всех возрастных группах [2, 59, 71]. Субтотальная ПТЭ при ФНН приводит лишь к транзиторному снижению уровня кальция сыворотки крови, с последующей персистенцией гиперкальциемии спустя несколько дней после операции, поскольку ПТЭ не позволяет скорректировать патологию кальций-зависимого порога секреции ПТГ. Из-за обычно доброкачественного течения заболевания и отсутствия ответа на субтотальную ПТЭ, только небольшое количество пациентов следует подвергать ПТЭ. В редких случаях, таких как рецидивирующий панкреатит, очень высокий уровень ПТГ, или очень высокий уровень кальция (постоянно выше 3,5 ммоль/л) может быть показана субтотальная ПТЭ или даже тотальная ПТЭ [2].

В настоящее время выделяют три типа ФНН, обусловленные, соответственно: инактивирующими мутациями в гене кальций-чувствительного рецептора (*CASR*) (3q21.1) –

ФНН 1 типа (ОМIM #145980), мутациями в гене *GNA11* (19p13.3), кодирующем $G\alpha_{11}$ – ФНН 2 типа (ОМIM #145981) [96], мутациями в гене *AP2S1* (19q13.2–q13.3), кодирующем σ -2 субъединицу адаптор-связанного белкового комплекса 2 (adaptor-related protein complex 2, σ -2 subunit) – ФНН 3 типа (ОМIM #600740) [98]. Большинство случаев ФНН обусловлено гетерозиготными инактивирующими мутациями в гене *CASR*. Кроме того, инактивирующие гомозиготные мутации в *CASR* приводят также к развитию неонатального тяжелого гиперпаратиреоза (п. 1.3.4.2) и аутосомно-доминантного мягкого гиперпаратиреоза (п. 1.3.4.3) [2]. Кальций-чувствительный рецептор (CaSR) представляет собой рецептор с семью трансмембранными доменами и расположен на клетках ОЩЖ, а также регулирует абсорбцию кальция в почках в толстом восходящем колоне петли Генле. Снижение активности CaSR стимулирует секрецию ПТГ, почечную абсорбцию кальция, и, соответственно, высокие концентрации кальция в крови [3]. Около 30% пробандов и семей с ФНН не имеют мутаций в гене *CASR*, при этом у части из них выявляются мутации в генах *AP2S1* и *GNA11*, но у некоторых мутации не обнаруживаются [130].

1.3.5.2 Неонатальный тяжелый гиперпаратиреоз (neonatal severe hyperparathyroidism, NSHPT)

NSHPT, описанный как единичный случай в 1947 г. и у 2 членов одной семьи в 1964 г., является чрезвычайно редким заболеванием новорожденных (ОМIM #239200) с жизнеугрожающей, тяжелой гиперкальциемией, очень высоким уровнем ПТГ, переломами ребер, гипотонией, респираторным дистресс-синдромом, и значительным увеличением всех ОЩЖ [56]. ПГПТ выявляется при рождении или в течение 6 первых месяцев жизни, обуславливая тяжелую симптомную гиперкальциемию, деминерализацию костей и задержку в развитии. Ранняя диагностика очень важна, поскольку при отсутствии лечения NSHPT может приводить к тяжелым расстройствам развития нервной системы. NSHPT обусловлен инактивирующими гомозиготными или компаунд-гетерозиготными мутациями в гене *CASR* [2, 8]. Диагноз основан на клинических проявлениях и /или наличии ФНН у родственников первой линии родства. Методом выбора в лечении является экстренная тотальная ПТЭ [2, 8, 71].

1.3.5.3 Аутосомно-доминантный мягкий гиперпаратиреоз (autosomal dominant moderate (mild) hyperparathyroidism, ADMH)

ADMH (ОМIM #601199) является редким синдромом, описанным Т. Carling с коллегами в 2000 году в большой семье из Швеции с 20 пораженными членами, у которых были фенотипы ФНН и ФНП, гиперкальциемией и гиперкальциурией, несоответственно высоким уровнем ПТГ

и НЛ у части пациентов. Генетическое исследование показало атипичную герминальную инактивирующую мутацию в интрацитоплазматическом домене кальций-чувствительного рецептора (F881L) у пораженных членов семьи [29]. Методом выбора в лечении является хирургический, поскольку было показано, что после субтотальной или тотальной ПТЭ наблюдалась регрессия гиперкальциемии [30].

1.3.6 Семейный изолированный гиперпаратиреоз (familial isolated hyperparathyroidism, FIHP)

FIHP (OMIM #145000) является редким заболеванием с аутосомно-доминантным типом наследования, характеризующимся развитием опухолей одной или нескольких ОЦЖ и отсутствием других опухолей эндокринных и неэндокринных органов. FIHP диагностируют в семьях с ПГПТ как единственной эндокринопатией, в отсутствии специфических проявлений других синдромов (МЭН-1, НРТ-ЖТ, ФНН) [59]. К 2013 г. было описано более 100 семей с FIHP, и у большинства из них генетическая причина остается неизвестной [59, 119]. Иногда FIHP может представлять собой неполный вариант других синдромов (МЭН-1, НРТ-ЖТ, ФНН). В некоторых семьях с FIHP были выявлены герминальные мутации в генах *MEN1* (20-23%) [64, 95, 134], *CASR* (14-18%) [29, 119, 134] и *CDC73* (0-33%) [24, 34, 35, 97, 120, 132, 134, 145]. Лечение FIHP хирургическое, однако оптимальная тактика не разработана. В случае солитарного поражения ОЦЖ возможно проведение ПТЭ. В случае мультигланулярного поражения рекомендовано проведение субтотальной ПТЭ. При выявлении мутация в генах *MEN1* или *CDC73* показано лечение как при соответствующих синдромах [71].

В литературе на сегодняшний день также описан единственный случай ПГПТ у 59-летней женщины с неопределяемым уровнем ПТГ вследствие герминальной нонсенс-мутации Arg83* в гене *PTH*, у которой после удаления аденомы ОЦЖ восстановилась нормокальциемия [17]. В последних международных клинических рекомендациях по диагностике и лечению асимптомного ПГПТ от 2014 г. [47] предложен алгоритм дифференциальной диагностики при подозрении на наследственную природу ПГПТ, независимо от возраста пациента (рис. 2 и 3).

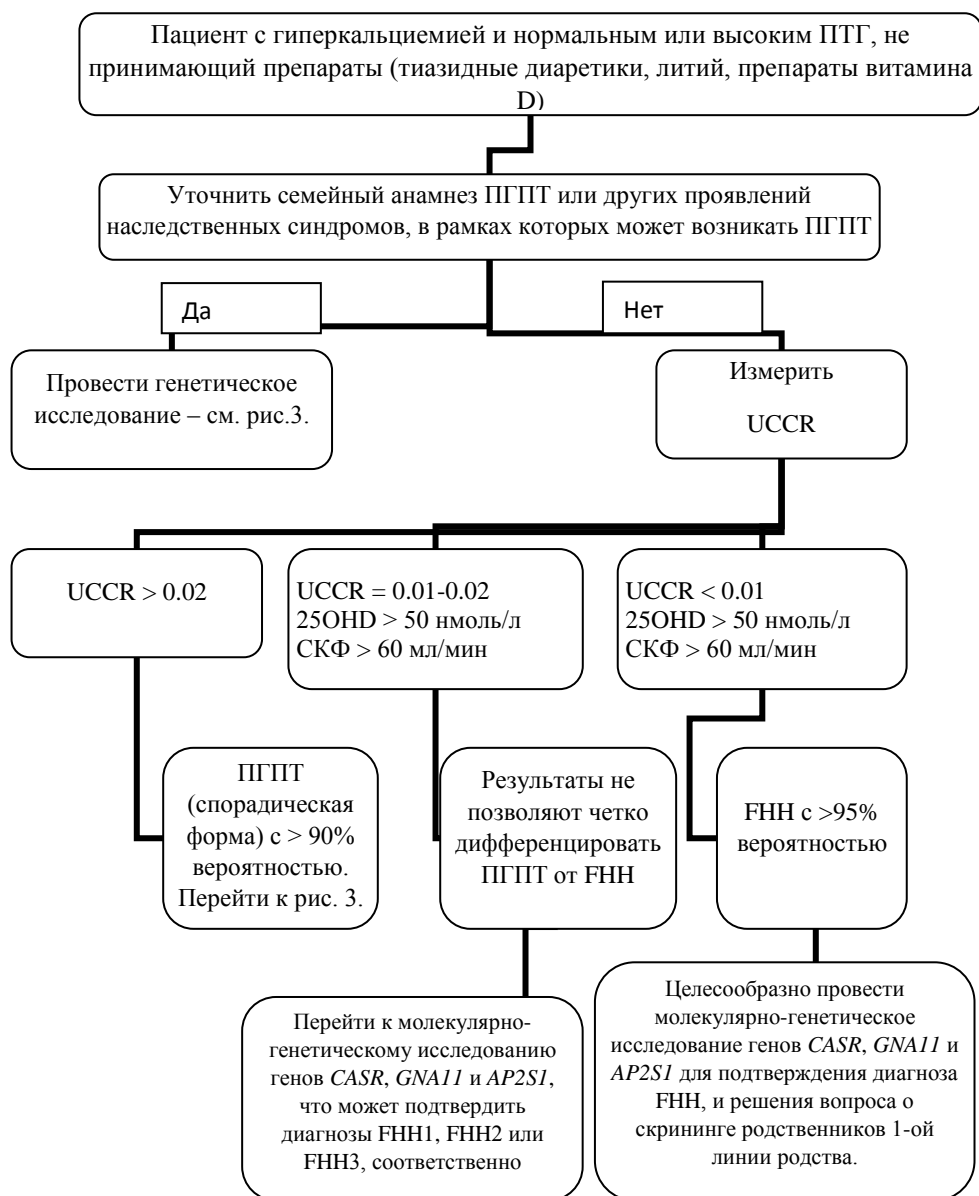


Рисунок 2. Дифференциальная диагностика ПГПТ и ФНН у пациента с гиперкальциемией. Адаптировано из [47].

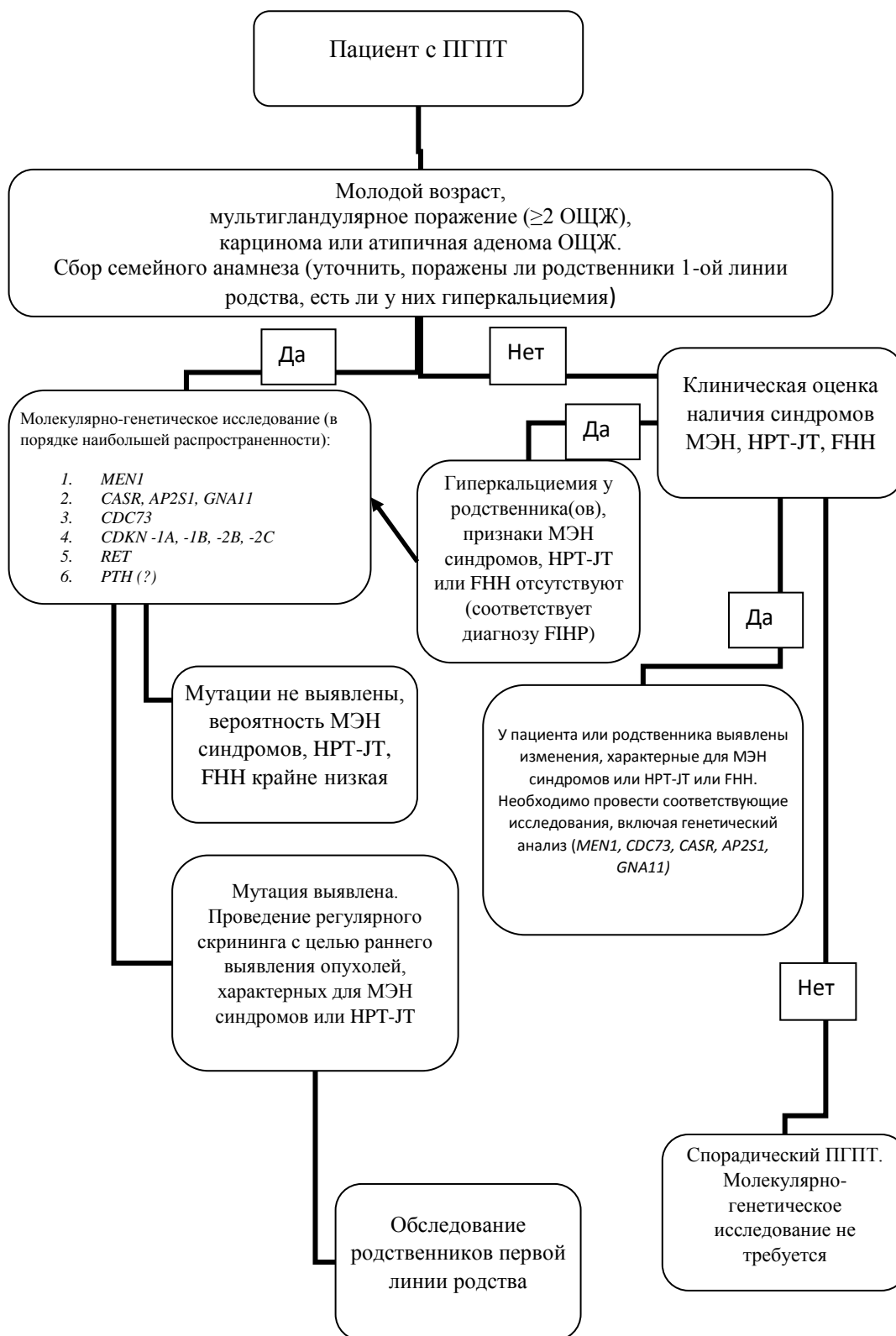


Рисунок 3. Клинический подход к проведению молекулярно-генетического исследования у пациента с ПГПТ. Адаптировано из [47].

1.4 Целесообразность проведения молекулярно-генетических исследований пациентам молодого возраста с ПГПТ

Как было указано выше, ПГПТ является наиболее частым компонентом всех вышеперечисленных наследственных синдромов, за исключением МЭН-2А. Несмотря на предложенный в международных рекомендациях 2014 г. алгоритм, вопрос о необходимости молекулярно-генетического скрининга среди всех молодых пациентов с ПГПТ на наличие наследственных форм ПГПТ до сих пор остается открытым. Также не определен пороговый возраст (30, 35, 40, 45 и т.д. лет), при котором, возможно, подобный скрининг будет целесообразен.

1.4.1. Проведение прямого секвенирования гена *MEN1*

В 2001 г. были приняты первые международные клинические рекомендации по диагностике и лечению синдромов МЭН-1 и МЭН-2А, в которых было указано, что проведение исследования гена *MEN1* целесообразно в случаях множественных образований ОЦЖ в возрасте до 30 лет, истинном рецидиве ПГПТ независимо от возраста, а также при ФИНР [25].

Данные, указанные в следующих международных клинических рекомендациях по синдрому МЭН-1 от 2012 г., несколько противоречивы. В тексте рекомендуется исследовать наличие герминальных мутаций в гене *MEN1* у всех пациентов с ПГПТ моложе 30 лет, а также при множественном поражении ОЦЖ независимо от возраста, однако в другом подразделе гайдлайна предлагается исследовать наличие герминальных мутаций в гене *MEN1* у всех пациентов с клинически спорадическим ПГПТ моложе 40 лет и множественным поражением ОЦЖ [125]. Эти рекомендации основываются на двух исследованиях Skandarajah A. и коллег и Langer P. и коллег, в которых мутации суммарно были найдены только у 3 из 36 пациентов (8,3%) в возрасте до 40 лет с клинически спорадическим ПГПТ. У всех 3 пациентов было мультигландулярное поражение ОЦЖ, тогда как у большинства пациентов без мутаций в гене *MEN1* были солитарные аденомы ОЦЖ [79, 122].

Для выявления потенциальных носителей мутаций в гене *MEN1* необходим тщательный сбор анамнеза жизни и семейного анамнеза, в том числе возможно применение специальных опросников [137]. В то же время солитарные опухоли без подозрительных анамнестических особенностей редко бывают вследствие мутаций в гене *MEN1* [49].

В работе A. Skandarajah и коллег изучалась необходимость проведения рутинного секвенирования гена *MEN1* у пациентов моложе 40 лет с клинически спорадическим ПГПТ

[122]. Из 1253 пациентов, подвергшихся хирургическому лечению по поводу ПГПТ за 11-летний период, 87 (6,2%) были в возрасте до 40 лет. Из них 12 пациентов были исключены из исследования, поскольку они были известными носителями герминальных мутаций (10 – МЭН-1 и 2 – МЭН-2А), и 21 из оставшихся 75 пациентам провели молекулярно-генетическое исследование. Только у одного из них (1/21, 4,7%) была выявлена герминальная мутация в гене *MEN1* (экзон 3, с.680_681delGCinsC). Это был 32-летний молодой человек с НЛ, во время операции у которого была обнаружена двойная аденома ОЩЖ. Через 9 лет наблюдения у него были выявлены образования надпочечников и ПЖ. Также у 39-летней женщины с НЛ был выявлен полиморфизм в гене *MEN1* p.Ala541Thr в экзоне 10, у которой после удаления аденолипомы ОЩЖ наступила ремиссия ПГПТ. Авторы делают вывод о том, что проводить молекулярно-генетическое исследование гена *MEN1* всем пациентам с ПГПТ моложе 40 лет нецелесообразно, и предлагают следующую стратегию для выявления потенциальных носителей мутаций: 1) на дооперационном этапе – тщательный сбор анамнеза для выявления наличия других эндокринных опухолей у пациента и у членов семьи; измерять уровень кальцитонина у всех пациентов для исключения потенциальных МЭН-2А носителей; необходимо проводить и сцинтиграфию ОЩЖ, и УЗИ, и при выявлении мультигланулярного поражения, при отрицательном результате или при расхождении результатов, необходимо проведение двусторонней ревизии, и не использовать минимально инвазивный подход в таком случае; 2) интраоперационно – если при применении минимально инвазивного подхода уровень интактного ПТГ не снижается менее 50% через 15 минут, необходимо проводить открытую цервикотомию и ревизию всех четырех ОЩЖ; при выявлении гиперплазии всех ОЩЖ, особенно асимметричных в размере, заподозрить МЭН-1; 3) на послеоперационном этапе – генетическое исследование показано всем пациентам с мультигланулярным поражением; пациентам, отказавшимся от проведения генетического исследования, или при отрицательном исследовании, но подозрении на семейный анамнез или клиническую картину, биохимическое исследование для выявления других ассоциированных эндокринопатий должно проводиться как у носителей мутаций в *MEN1*; длительное наблюдение за всеми пациентами с ПГПТ [122].

В исследовании P. Langer и коллег у 2 из 15 (13,3%) пациентов со спорадическим ПГПТ (без отягощенного семейного анамнеза) в возрасте менее 40 лет были выявлены мутации в гене *MEN1*. При этом у обоих пациентов было мультигланулярное поражение ОЩЖ, тогда как у 13 пациентов с солитарной аденомой ОЩЖ мутации выявлены не были [79]. Авторы делают вывод, что спорадический ПГПТ у пациентов моложе 40 лет с мультигланулярным поражением ОЩЖ может представлять собой первое проявление синдрома МЭН-1, несмотря на отсутствие отягощенного семейного анамнеза. Таким образом, в обоих исследованиях у всех

3 пациентов было мультигландулярное поражение ОЩЖ, тогда как у большинства пациентов без мутаций в гене *MEN1* были солитарные аденомы ОЩЖ [79, 122].

1.4.2 Возрастной порог для проведения обязательного молекулярно-генетического исследования гена *MEN1* при ПГПТ

В работе Т. Lassen и коллег обсуждается вопрос о том, когда необходимо проведение молекулярно-генетического исследования гена *MEN1* у молодых пациентов с ПГПТ [80]. Авторы утверждают, что *a priori* вероятность найти специфическую генетическую причину ПГПТ выше, чем меньше возраст дебюта заболевания, однако вопрос, нужно ли проводить генетический скрининг в возрасте до 30, 35 или 40 лет, остается спорным [80].

Известно, что пенетрантность ПГПТ при синдроме МЭН-1 высокая и с возрастом достигает 90-100% [125]. L. Schaaf с коллегами при обследовании 306 пациентов с МЭН-1 обнаружили, что возраст-зависимая пенетрантность ПГПТ в рамках МЭН-1 составляет 10%, 35%, 67%, 81% и 100% в возрасте 20, 30, 40, 50 и 65 лет, соответственно [114]. Помимо перечисленных выше международных рекомендаций по синдрому МЭН-1 от 2001 и 2012 гг. [25, 125], существует ряд локальных рекомендаций. Исследовательская группа из Германии в 2000 г. рекомендовала исследование гена *MEN1* у пациентов с любой эндокринной опухолью, характерной для МЭН-1, и наличием одного из следующих признаков: возраст до 40 лет илиотягощенный семейный анамнез или мультифокальная опухоль [74]. J.F. Roijers с коллегами посчитали в своем исследовании, что риск синдрома МЭН-1 в общей популяции составляет 60% при следующих критериях: наличие одной из трех МЭН-1-ассоциированных опухолей и возраст до 35 лет, и предлагают проводить молекулярно-генетическое исследование при таком сочетании [112]. J.W. Cardinal и коллеги предложили проводить молекулярно-генетическое исследование только у молодых пациентов в возрасте до 30 лет со спорадическим ПГПТ и гиперплазией нескольких ОЩЖ [28]. Как уже упоминалось выше, некоторые исследователи предлагают проводить молекулярно-генетическое исследование у молодых пациентов в возрасте до 40 лет, но только при наличии мультигландулярного поражения [79, 122].

Таким образом, показания к проведению рутинного молекулярно-генетического исследования у молодых пациентов с ПГПТ противоречивы, поскольку типичным возрастом манифестации ПГПТ в рамках МЭН-1 считается 20-25 лет, однако ПГПТ может манифестировать и в более позднем возрасте. Кроме того, при ретроспективном анализе данных носителей мутаций в *MEN1*, биохимические признаки неоплазий могут обнаруживаться за 5-10 лет до клинически проявляющегося заболевания [78]. Вопрос ранней постановки

диагноза актуален с целью дальнейшего наблюдения и раннего выявления потенциально злокачественных НЭО, которые обуславливают большую часть МЭН-1-ассоциированной заболеваемости и смертности [62, 78].

1.4.3. Молекулярно-генетическое исследование других генов

В работе L.F. Starker и коллег 86 пациентам с клинически спорадическим ПГПТ в возрасте ≤ 45 лет было проведено секвенирование по Сэнгеру генов *MEN1*, *CASR* и *CDC73* [124]. Пациенты были отобраны при анализе базы данных из 1161 пациента, которым была выполнена ПТЭ в период с 2001 по 2009 г. При этом 136 пациентов были в возрасте ≤ 45 лет, и из них у 16 имелись данные о наличии наследственного синдрома (11 МЭН-1, 4 МЭН-2А и 1 НРТ-ЖТ), и они были исключены из анализа. Из 86 согласившихся участвовать в исследовании пациентов у 8 (9,3%) были выявлены герминальные мутации (4 *MEN1*, 3 *CASR* и 1 *CDC73*). Суммируя эти данные с уже известными случаями, авторы выявили, что герминальные мутации были выявлены в 23,5% случаев (24/102, 15 *MEN1*, 4 *RET*, 3 *CASR*, 2 *CDC73*). Авторы делают вывод, что генетическое исследование может быть оправданно у молодых пациентов с клинически спорадическим ПГПТ [124].

Исследований, посвященных изучению генов ингибиторов циклин-зависимых киназ (*CDKIs*) у молодых пациентов с ПГПТ, нами найдены не были. Но было обнаружено описание единичного клинического случая ПГПТ у 15-летней девочки с клинически спорадической висцеральной формой заболевания, у которой была выявлена герминальная гетерозиготная миссенс-мутация в гене *CDKN1B* p.E126D (p.Glu126Asp) [51]. В работе S.K. Agarwal и коллег было показано, что герминальные мутации в генах *CDKIs* в небольшом проценте случаев могут быть причиной “МЭН-1-подобных” состояний (*CDKN2B* – 1%, *CDKN2C* – 0,5%, *CDKN1A* – 0,5%, *CDKN1B* – 1,5%), при этом гетерозиготная замена в *CDKN2C* была выявлена в семье с ФНР [13]. В исследовании Costa-Guda J. и коллег при исследовании 85 спорадических аденом ОЩЖ в 5 были определены гетерозиготные соматические замены в *CDKIs*, из них 3 также были и герминальные (1 – *CDKN1A*, 1 – *CDKN2B*, 1 – *CDKN2C*); при этом все вышеперечисленные изменения были выявлены у пациентов старше 50 лет [39].

В обзорной статье 2016 г. R.V. Thakker предлагает проведение молекулярно-генетического исследования в следующих случаях: 1) ПГПТ, возникший в возрасте до 45 лет; 2) мультигландулярное поражение; 3) рак ОЩЖ или атипичная аденома ОЩЖ (например, с фиброзными тяжами или кистозной структурой); 4) у родственника первой линии родства

носителя известной мутации; 5) у пациента с двумя и более МЭН-1-ассоциированными опухолями [126].

Таким образом, ПГПТ в большинстве случаев является спорадическим заболеванием и возникает у лиц старшей возрастной группы, однако может также возникать и у молодых пациентов. При выявлении ПГПТ у молодого пациента в отсутствие других клинических проявлений и отягощенного семейного анамнеза трудно провести дифференциальную диагностику между спорадической формой ПГПТ и ПГПТ как первого проявления одного из наследственных синдромов, в рамках которых может возникать ПГПТ. Точное установление диагноза спорадической или наследственной формы ПГПТ определяет объем хирургического вмешательства, тактику дальнейшего наблюдения и лечения, и необходимость обследования и лечения родственников первой линии родства. Необходимость молекулярно-генетического скрининга у всех молодых пациентов с ПГПТ перед проведением оперативного вмешательства в настоящее время не доказана.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

1. Материалы исследования

Пациенты, включенные в исследование, наблюдались и получали лечение в различных подразделениях ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (директор – академик РАН Дедов И.И.): отделении нейроэндокринологии и остеопатий (заведующая отделением – д.м.н. Белая Ж.Е.), отделе хирургии (заведующий отделом – д.м.н., профессор Кузнецов Н.С.), отделении терапии с группой патологии метаболизма и ожирения (заведующая отделением – член-корр. РАН Трошина Е.А.), Центре патологии околощитовидных желез (руководитель – д.м.н. Мокрышева Н.Г.) Института клинической эндокринологии (директор – академик РАН Мельниченко Г.А.); отделении опухолей эндокринной системы (заведующая отделением – к.м.н. Карева М.А.) и отделении наследственных эндокринопатий (заведующий отделением – д.м.н. Тюльпаков А.Н.) Института детской эндокринологии (директор – академик РАН Петеркова В.А.).

Проведено одномоментное сравнительное исследование. Критерием включения в исследование было наличие ПГПТ, дебютировавшем в возрасте до 40 лет. Нами была сформирована группа 1 для проведения молекулярно-генетического исследования методом высокопроизводительного параллельного секвенирования панели генов-кандидатов, у которых отсутствовали данные о наличии герминальных мутаций в генах, включенных в панель. В группу 1 вошли 55 пациентов с дебютом ПГПТ в возрасте до 40 лет, в том числе пациенты из 4 семей с семейным изолированным гиперпаратиреозом (familial isolated hyperparathyroidism, FИНР).

Также из группы пациентов с известным, генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 (n=51) были отобраны и проанализированы пациенты, у которых ПГПТ был первым проявлением синдрома и дебютировал в возрасте до 40 лет (n=10, группа 2). Пациентам группы 2 высокопроизводительное параллельное секвенирование не проводилось. Дизайн исследования представлен на рисунке 4.

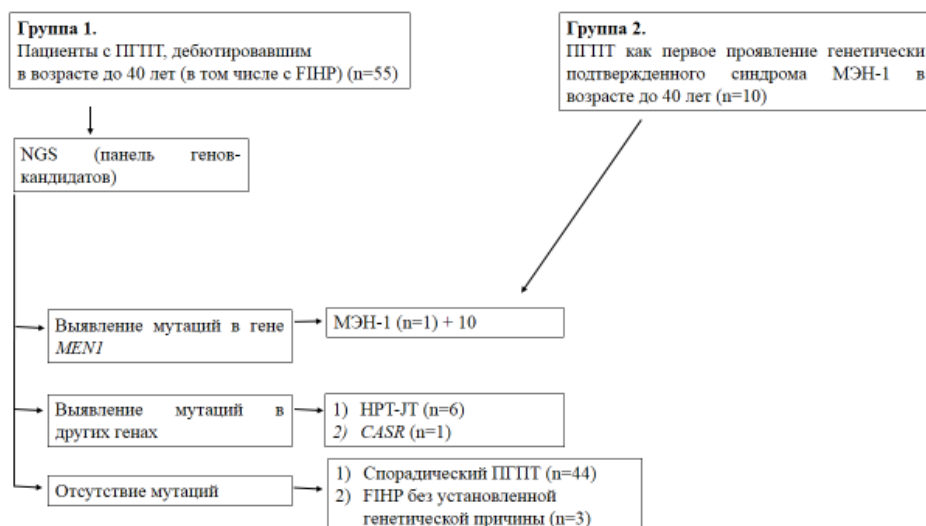


Рисунок 4. Материалы исследования

Критериями исключения из исследования в целом являлось: наличие вторичного гиперпаратиреоза, третичного гиперпаратиреоза, синдрома МЭН-2А, дебют ПГПТ в возрасте от 40 лет и старше, наличие эндокринных опухолей (аденом гипофиза, НЭО поджелудочной железы, опухолей надпочечников), диагностированных до ПГПТ.

1.1 Пациенты с ПГПТ

Пациенты группы 1 были набраны в период 2013-2016 гг. в различных подразделениях ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (n=26), а также отобраны при анализе регистра больных ПГПТ ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России на основании возраста дебюта ПГПТ (пациенты, прооперированные по поводу ПГПТ до начала исследования) (n=29)). Последние были вызваны для проведения молекулярно-генетического исследования.

Среди пациентов группы 1 изначально были выделены подгруппы: 1) пациенты с клинически спорадическим ПГПТ (n=44) (при отсутствии отягощенного семейного анамнеза и данных о наличии других эндокринных опухолей), 2) пациенты с семейным изолированным гиперпаратиреозом (ФИНР) (n=4) (при наличии данных о диагностике ПГПТ у одного и более родственников первой линии родства в отсутствие других эндокринных опухолей), 3) пациенты с подозрением на отягощенный семейный анамнез (n=7) (при наличии признаков, позволяющих предположить наличие одного из наследственных синдромов, в рамках которых возникает ПГПТ – данных о НЛ, рецидивирующем гастрите/язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, опухолях поджелудочной железы или головного мозга,

поликистозе/опухолях почек, заболеваниях скелета без подтверждающей медицинской документации у родственников). В последующем, как будет указано ниже, деление на подгруппы проводилось по результатам молекулярно-генетического исследования.

1.2 Пациенты с ПГПТ как первым проявлением генетически подтвержденного синдрома МЭН-1

Нами была проанализирована группа пациентов (n=51) с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1. В группу вошли пациенты, наблюдавшиеся в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России до начала проведения исследования (n=21), а также пациенты, впервые обратившиеся в период 2013-2016 гг. (n=30). Диагноз синдрома МЭН-1 был верифицирован при выявлении герминальных гетерозиготных мутаций в гене *MEN1* методом прямого секвенирования по Сэнгеру в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующий лабораторией – д.м.н. Тюльпаков А.Н.). Молекулярно-генетический анализ в этой группе проводился на основании клинического диагноза синдрома МЭН-1 (сочетание минимум двух из трех основных МЭН-1-ассоциированных опухолей); у родственников первой линии родства носителей мутации в гене *MEN1*; у двух пациентов из одной семьи с FИНР; у одной пациентки с ПГПТ, дебютировавшем в молодом возрасте и подозрением на отягощенный семейный анамнез. В этой группе были отобраны пациенты, у которых первым проявлением генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 был ПГПТ, дебютировавшей в возрасте до 40 лет (n=10) (группа 2). Соответственно, пациенты, у которых ПГПТ был первым проявлением МЭН-1, но дебютировал в возрасте от 40 лет и более (n=3), а также пациенты, у которых ПГПТ был не первым проявлением синдрома, в анализ включены не были.

2. Методы исследования

2.1 Клинические методы обследования

План обследования пациентов обеих групп включал сбор жалоб, анамнеза жизни, заболевания и семейного анамнеза, физикальное обследование. Для получения вышеперечисленных сведений о ретроспективно набранных пациентах был проведен анализ историй болезни.

У пациентов группы 1 диагноз ПГПТ устанавливался в соответствии со стандартными алгоритмами [47]. Формы ПГПТ подразделялись на манифестные и мягкие. Манифестные формы включали: висцеральную (при наличии НЛ, нефрокальциноза, снижении скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин/1,73 м² по формуле MDRD), костную (при наличии гиперпаратиреоидной остеодистрофии, патологических переломов), костно-висцеральную (при сочетании поражения и почек, и костей). Мягкие формы включали: асимптомную (отсутствие поражения органов-мишеней) и малосимптомную (наличие клинически не проявляющих себя, выявленных прицельно при инструментальном обследовании, изменений, например, снижение МПК по данным DEXA ниже -2 SD по Z-критерию в отсутствие переломов).

Пациентам группы 2 диагноз ПГПТ устанавливался в соответствии с теми же критериями, что и у пациентов группы 1. Диагностика МЭН-1-ассоциированных эндокринных опухолей проводилась в соответствии со стандартными алгоритмами [125].

2.2. Лабораторные методы обследования

Всем пациентам группы 1 проводилось исследование биохимических показателей крови (общий кальций, ионизированный кальций, креатинин) на биохимическом анализаторе Architect с 4000 (Abbott, США), при этом гиперкальциемия была подтверждена минимум двукратным измерением. Фильтрационная функция почек оценивалась на основании расчета СКФ по формуле MDRD (www.mdrd.com). Также всем пациентам для подтверждения диагноза ПГПТ проводилось исследование уровня интактной молекулы ПТГ на анализаторе Cobas 6000 (Roche/Hitachi, Швейцария). Части пациентам были исследованы показатели фосфора, щелочной фосфатазы на биохимическом анализаторе Architect с 4000 (Abbott, США), 25(OH)D (Liason (Diasorin, Италия)), β -cross laps, остеокальцина в крови (Cobas 6000 (Roche/Hitachi, Швейцария)), кальция в суточной моче (Architect с 4000 (Abbott, США)). Биохимические и гормональные исследования проводились на базе клинико-диагностической лаборатории ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующий лабораторией – Ильин А.В.). Референсные значения показателей: общий кальций– 2,15-2,55 ммоль/л, ионизированный кальций – 1,03-1,29 ммоль/л, фосфор 0,74-1,52 ммоль/л, ПТГ – 15-65 пг/мл, для креатинина и щелочной фосфатазы – возраст-специфические референсные интервалы. Расчет отношения почечного клиренса кальция к клиренсу креатинина (UCCR) проводился по формуле: $Ca_{cl}/Cr_{cl} = [Ca_u \times Cr_s]/[Cr_u \times Ca_s]$, где Ca_{cl} – клиренс кальция, Cr_{cl} – клиренс креатинина, Ca_u – концентрация кальция в моче (ммоль/л), Cr_s – концентрация креатинина в

сыворотке крови (мкмоль/л), Cr_u – концентрация креатинина в моче (мкмоль/л), Ca_s – концентрация кальция в сыворотке крови (ммоль/л).

Пациентам группы 2 в зависимости от клинических проявлений (АГ, НЭО поджелудочной железы (ПЖ), другое) проводилось исследование гормонов аденогипофиза, маркеров НЭО, и других показателей в зависимости от конкретной клинической ситуации.

2.3. Инструментальные методы обследования

Инструментальные методы обследования проводились пациентам группы 1 на дооперационном этапе как в условиях ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, так и в других лечебных учреждениях. Пациентам, которым первичное хирургическое вмешательство было проведено в других лечебных учреждениях, инструментальные методы обследования проводились по месту госпитализации.

С целью топической диагностики образований ОЩЖ проводилось ультразвуковое исследование ОЩЖ в отделении ультразвуковой диагностики ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующая отделением – к.м.н. Солдатова Т.В.). В ряде случаев дополнительно проводилась скintiграфия ОЩЖ с технетрилом ^{99m}Tc сестамиби (в различных лечебных учреждениях) и/или мультиспиральная компьютерная томография (МСКТ) ОЩЖ с внутривенным контрастированием как в отделении рентгенодиагностики и рентгеновской компьютерной томографии (заведующий отделением – д.м.н., профессор Воронцов А.В.), так и в других лечебных учреждениях. С целью исключения патологии почек проводилось ультразвуковое исследование почек как на базе отделения ультразвуковой диагностики ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, так и в других лечебных учреждениях по стандартной методике. С целью исключения патологии костей проводилась двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DEXA) трех отделов скелета (поясничный отдел позвоночника, бедренная кость, лучевая кость) на аппаратах Prodigy Lunar (GE, США) и Hologic (Hologic, США) как на базе отделения рентгенодиагностики и рентгеновской компьютерной томографии, так и в других лечебных учреждениях. Оценка снижения минеральной плотности проводилась по Z-критерию. С целью исключения патологии желудочно-кишечного тракта всем пациентам перед проведением оперативного вмешательства проводилась эзофагогастродуоденоскопия по стандартной методике в различных лечебных учреждениях.

У пациентов группы 2 при наличии подтвержденного диагноза ПППТ с целью топической диагностики образований ОЩЖ и диагностики поражения органов-мишеней

применялись методы, описанные выше. С целью выявления/определения динамики размеров АГ проводилась магнитно-резонансная томография головного мозга (Magnetom Harmony, Siemens, Германия) в отделении магнитно-резонансной томографии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующий отделением – д.м.н., профессор Воронцов А.В.). С целью выявления/определения динамики размеров НЭО ПЖ проводилась МСКТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства (Aquilon One 320, Toshiba, Япония) в отделении рентгенодиагностики и рентгеновской компьютерной томографии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России. Дополнительные инструментальные методы обследования проводились в зависимости от конкретной клинической ситуации.

2.4 Хирургическое лечение

В соответствии с международными рекомендациями по диагностике и лечению ПГПТ [126], с учетом молодого возраста на момент дебюта ПГПТ, большинству пациентов группы 1 было проведено оперативное лечение ПГПТ (n=54, кроме одной женщины, находившейся во II триместре беременности на момент включения в исследование). Большинство были прооперированы в отделе хирургии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России (заведующий отделом – д.м.н., профессор Кузнецов Н.С.) (n=49). Пятеро подверглись хирургическому вмешательству в других лечебных учреждениях.

У четырех лиц группы 1 на момент включения в исследование было известно о персистенции ПГПТ после первой операции. При этом у двоих из них, наиболее вероятно, имело место нерадикальное удаление образований ОЩЖ во время первой операции, у одной ПГПТ был диагностирован на стадии метастазов рака ОЩЖ в легкие, и у одного развился истинный рецидив ПГПТ спустя 5 лет после успешно проведенной первой операции. В целом, в исследование были включены больные, прооперированные в период с 1993 по 2016 гг.

Хирургическое лечение ПГПТ было проведено всем 10 пациентам группы 2, при этом пяти хирургическое лечение проводилось неоднократно в связи с рецидивами ПГПТ.

2.5 Морфологическое исследование

Морфологическое исследование удаленных образований ОЩЖ лиц, прооперированных в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, проводилось в отделе фундаментальной патоморфологии (заведующий отделом – д.м.н. Абросимов А.Ю.), по

результатам которого верифицировался диагноз аденомы, гиперплазии, атипичной аденомы или рака ОЩЖ. Результаты морфологического исследования пациентов, прооперированных в других учреждениях, были получены по данным из выписных эпикризов.

При морфологической диагностике рака ОЩЖ на основании инвазии опухолевых клеток в сосуды капсулы проводилось дополнительное иммуногистохимическое исследование с антителами к следующим антигенам: Ki-67 (клон MIB-1, RTU, Leica Biosystems, Германия), ПТГ (PTH-488, 1:20, Leica Biosystems, Германия), TTF-1 (клон SPT24, RTU, Leica Biosystems, Германия), CD31 (клон 1A10, RTU, Leica Biosystems, Германия) с использованием безбиотиновой полимерной системы Bond Polymer Refine Detection System (Leica Biosystems, Германия) в соответствии со стандартными протоколами.

2.6 Молекулярно-генетические методы исследования

Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России.

Забор крови проводился из локтевой вены вне зависимости от приема пищи в пробирки типа «вакутайнер». В качестве консерванта использовался 0,5 М раствор ЭДТА. Геномная ДНК была выделена из цельной крови с использованием набора PureLink® Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, США) по методике, рекомендованной производителем.

2.6.1 Высокопроизводительное параллельное секвенирование

В группе 1 было проведено высокопроизводительное параллельное секвенирование (next-generation sequencing, NGS) панели генов-кандидатов. Панель включала 9 генов, герминальные мутации в которых приводят или предположительно могут приводить к развитию ПГПТ (*MEN1*, *CASR*, *CDC73*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*). С помощью программы Ion AmpliSeq™ Designer (<https://www.ampliseq.com>) были созданы праймеры для мультиплексной амплификации вышеперечисленных генов. С учетом технических особенностей проведения исследования, вышеперечисленная панель генов совмещалась с панелью генов «Семейные аденомы гипофиза», изучение которых не входило в задачи нашего исследования, в связи с чем дополнительно были исследованы гены, мутации в которых могут быть ассоциированы с развитием аденом гипофиза (*PRKARIA*, *AIP*, *DICER1*,

SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, GNAS, PRKCA, POU1F1, PTTG2) (всего суммарно 20 генов, 262 ампликона).

Перед проведением NGS были проведены этапы подготовки проб в соответствии со стандартными протоколами (доступны на сайте <https://ioncommunity.thermofisher.com/community/protocols-home> или по запросу):

- 1 этап – контроль концентрации ДНК (с использованием прибора Qubit® 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США) и набора Qubit® 3.0 dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США), с последующим разведением всех образцов до одинаковой концентрации ДНК.
- 2 этап – создание библиотеки ДНК-фрагментов с использованием наборов Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0 (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США) и термоциклера Verity® Thermal Cycler (Applied Biosystems, США), включавшее:
 - проведение мультиплексной ПЦР с использованием 2 пулов праймеров Ion AmpliSeq™;
 - отщепление праймеров и фосфорилирование;
 - лигирование адаптеров с баркодами, очистка;
 - измерение концентрации библиотеки (с использованием прибора Qubit® 3.0 Fluorometer (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США) и набора Qubit® 3.0 dsDNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США));
- 3 этап – подготовка матрицы для секвенирования, включавшая:
 - проведение эмульсионной ПЦР с использованием набора Ion PGM™ Template OT2 200 Kit (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США) и прибора Ion OneTouch™ 2 (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США);
 - обогащение микросфер с использованием набора магнитных частиц Ion PGM Enrichment beads (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США) и прибора Ion OneTouch™ ES (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США).

После инициализации прибора и подготовительных этапов, пробы загружались на микрочип (Ion 316 Chip Kit v2 (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США)) для проведения NGS. NGS проводилось на полупроводниковом секвенаторе Ion Torrent™ PGM™ (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США) с использованием набора Ion PGM™ Sequencing 200 Kit v2 (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США).

Обработка первичных данных NGS проводилась автоматически с помощью программного обеспечения Torrent Suite™ (Thermo Fisher Scientific – Life Technologies, США).

Выравнивание прочтений проводилось на референсную последовательность генома человека GRCh37/hg19 (<http://genome-euro.ucsc.edu/cgi-bin/hgGateway>). Далее проводились выявление вариантов и фильтрация вариантов по качеству.

Аннотирование выявленных вариантов проводилось с помощью программы ANNOVAR (версии 2015-2016 гг.) (<http://annovar.openbioinformatics.org>) [133]. В указанной программе среди методов предсказания патогенности замен *in silico* применялись, в том числе, PolyPhen2-HDIV и PolyPhen2-HVAR (<http://genetics.bwh.harvard.edu>), SIFT+PROVEAN (http://provean.jcvi.org/genome_submit_2.php), MutationTaster (<http://www.mutationtaster.org/>) и другие. В качестве референсной последовательности вышеперечисленных генов использовались ссылки Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) под номерами NM_130799.2 (*MEN1*), NM_000388.3 (*CASR*), NM_024529.4 (*CDC73*), NM_078467.2 (*CDKN1A*), NM_004064.4 (*CDKN1B*), NM_000076.2 (*CDKN1C*), NM_000077.4 (*CDKN2A*), NM_001262.2 (*CDKN2C*), NM_003977.3 (*AIP*), NM_177438.2 (*DICER1*), NM_004168.3 (*SDHA*). Для названия выявленных вариантов использовалась номенклатура, представленная на сайте <http://varnomen.hgvs.org/>. Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использована выборка проектов Exome Aggregation Consortium (ExAC) (<http://exac.broadinstitute.org>). Для оценки клинической значимости выявленных вариантов были использованы база данных OMIM (<http://www.omim.org/>), база данных Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/index.php>) [144], специализированная база данных мутаций в кальций-чувствительном рецепторе (<http://www.casrdb.mcgill.ca/>) [142] и данные литературы. Изменения нуклеотидной последовательности считались патогенными при частоте в популяции менее 0,01%. Для интерпретации полученных данных мы использовали протоколы по интерпретации результатов секвенирования нового поколения ACMG [110] и CAP [18].

С учетом известных ограничений метода NGS (метод не позволяет выявить инсерции и делеции длиной более 10 п.о.), для выявления косвенных признаков крупных делеций генов (снижение глубины прочтения при проведении NGS по сравнению с остальными образцами) проводился анализ BAM-файлов с помощью программы ExomeDepth [109].

2.6.2 Мультиплексная амплификация лигазно-связанных проб (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)

Двум пациентам (одна пациентка с раком ОЩЖ и один пациент с атипичной аденомой ОЩЖ) с подозрением на крупные делеции в гене *CDC73* по данным анализа глубины прочтений NGS, одному пациенту с гиперплазией одной ОЩЖ с подозрением на делецию

одного экзона гена *CDC73*, а также двум пациентам с раком ОЩЖ и одной пациентке с атипичной аденомой ОЩЖ в отсутствие косвенных признаков крупных делеций при анализе глубины прочтения NGS, была проведена мультиплексная амплификация лигазно-связанных проб (multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA) с использованием набора зондов SALSA MLPA probemix P466-A1 *CDC73* (Lot A1-0415) (MRC-Holland, Нидерланды) и набора реагентов SALSA MLPA EK1-FAM (MRC-Holland, Нидерланды). Капиллярный электрофорез проводился на анализаторе ABI 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) с использованием капилляра длиной 50 см и полимера POP-7 согласно рекомендациям производителя (протокол проведения MLPA доступен на сайте производителя <https://mlpa.com> или по запросу). В качестве маркера был использован размерный стандарт GeneScan™ – 600 LIZ® Size Standard (Applied Biosystems, США). Первичную обработку полученных данных, а также фрагментный анализ проводили с использованием программного обеспечения Coffalyser.Net (MRC-Holland, Нидерланды).

2.6.3 Прямое секвенирование гена *MEN1* по Сэнгеру

Прямое секвенирование гена *MEN1* по Сэнгеру было проведено всем пациентам группы 2. Следует отметить, что большинству пациентов (n=8) секвенирование было проведено до начала нашего исследования. Была выполнена амплификация с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим прямым секвенированием по Сэнгеру 2-10 экзонов и прилежащих участков интронов гена *MEN1*. Некоторым пациентам группы 1 до проведения NGS выполнялось прямое секвенирование по Сэнгеру гена *MEN1* и мутации в нем выявлены не были (n= 11). У остальных пациентов группы 1 перед проведением NGS данные о наличии мутаций в гене *MEN1* отсутствовали.

Все протоколы проведения ПЦР доступны по запросу. Очистка ПЦР-продукта производилась при помощи наборов Wizard PCR Preps DNA Purification System (Promega, США) согласно инструкции производителя. Реакцию секвенирования выполняли с использованием реагентов BigDye Terminator v.3.1. Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США). При проведении ПЦР и последующего секвенирования использовались следующие праймеры: 1F, 5'-GGG GCG GGT GGA ACC TTA G-3'; 2F, 5'-TTG GGT CAC AGG CTT GGA AAG-3'; 3R, ACA GGG ACC ACC CAC CAT GTG-3'; 8F, 5'-AAG AAT GTT CCC AAC CTA TGC-3'; 9R, 5'-GCA GAA CAT GGG CTC AGA GTT G-3'.

Разделение синтезированных фрагментов проводили методом автоматического капиллярного электрофореза на анализаторе ABI 3130 Genetic Analyser (Applied Biosystems,

США). Полученные результаты обрабатывали с помощью программного обеспечения Sequencing Analysis 5.1. В качестве референсной последовательности использовалась ссылка Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) под номером NM_130799.2.

2.7 Статистический анализ данных

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ StatSoft© STATISTICA 8.0 для Microsoft® Windows XP и Excel Microsoft Office 2013. При анализе данных использовались следующие параметры изучаемых признаков: для описания количественных признаков – медиана [Me], 1-й и 3-й квартили [Q₁; Q₃], в ряде случаев – минимальные и максимальные значения (min; max); для описания качественных признаков – доли.

Изучаемые признаки сравнивались в сформированных на основании молекулярно-генетического исследования группах с помощью критерия Манна-Уитни для количественных признаков, и с помощью точного двустороннего критерия Фишера для качественных признаков. Также оценивались связи между количественными признаками с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена. Для качественных признаков проводилось сравнение доверительных интервалов (ДИ) относительных частот. Различия показателей считались статистически значимыми при уровне значимости меньше 0,050. Для нивелирования проблем множественных сравнений в некоторых случаях применялась поправка Бонферрони.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Особенности ПГПТ у пациентов молодого возраста

3.1.1 Клинико-лабораторные показатели

В группу 1 вошло 55 пациентов, ПГПТ у которых манифестировал в возрасте до 40 лет. Общая характеристика пациентов группы 1 представлена в таблице 3.

Таблица 3. Основные клинико-лабораторные характеристики пациентов группы 1.

Показатель	Значение, Ме [Q ₁ ; Q ₃] (min; max)
Пол, женщины/мужчины (соотношение) (n=55)	38/17 (2,2:1)
Возраст на момент дебюта ПГПТ, лет (n=55)	24 [20; 30] (10; 39)
Возраст на момент хирургического лечения ПГПТ, лет (n=55)	28 [22; 33] (14; 40)
ПТГ, пг/мл (n=55)	181,3 [109,2; 815,4] (41,8; 3148,0)
Кальций общий, ммоль/л (n=54)	2,91 [2,74; 3,3] (2,48; 4,49)
Кальций ионизированный, ммоль/л (n=51)	1,37 [1,29; 1,57] (1,16; 2,16)
Фосфор, ммоль/л (n=42)	0,80 [0,70; 0,92] (0,37; 1,20)

Распределение пациентов по возрасту дебюта ПГПТ представлено на рис. 5. Как видно из рисунка, в нашем исследовании около половины составили пациенты с дебютом заболевания в возрасте от 20 до 30 лет – 29 человек (53%). Один пациент был в возрасте 10 лет, 15 – в возрасте от 11 до 20 лет, 29 – в возрасте от 21 до 30 лет, 10 – в возрасте от 31 до 40 лет. В целом только 16 пациентов (28%) были в возрасте ≤ 20 лет на момент дебюта ПГПТ.

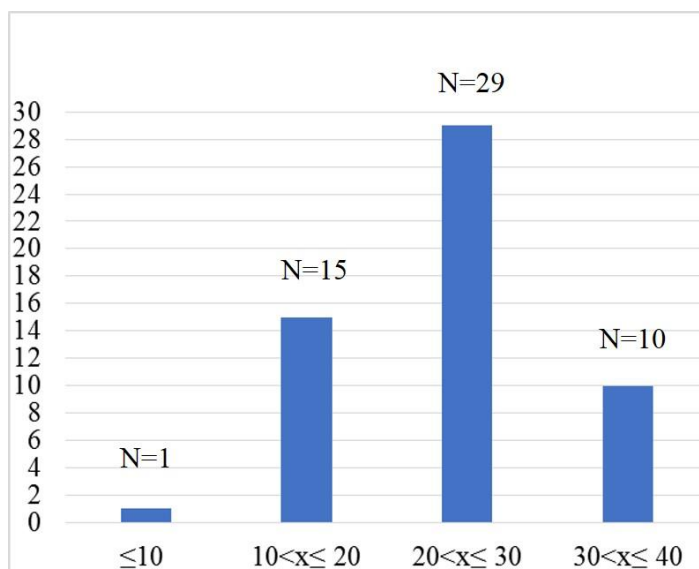


Рисунок 5. Распределение по возрастным группам (на момент дебюта ПГПТ) пациентов группы 1 (X – возрастные группы, Y – количество человек).

Показатели кальция и ПТГ на момент дебюта заболевания значительно варьировали, при этом у одной пациентки с манифестной формой ПГПТ уровень ПТГ находился в пределах референсного диапазона, у двоих пациентов – на верхней границе референсного диапазона; максимальный уровень ПТГ составил 3148 пг/мл. У троих пациентов имелось снижение функции почек на момент диагностики ПГПТ (снижение СКФ в пределах 30-60 мл/мин/1,73 м² по формуле MDRD), у четырех пациентов отмечались показатели СКФ на нижней границе референсного диапазона (от 61 до 64 мл/мин/1,73 м²). У остальных пациентов фильтрационная функция почек была сохранной.

Определение суточной экскреции кальция и креатинина с мочой с возможностью расчета соотношения клиренса кальция к клиренсу креатинина было проведено только у 12 пациентов. При этом у 3 был зафиксирован показатель менее 0,01 (таблица 4). Молекулярно-генетическое исследование этим трем пациентам перед оперативным вмешательством не проводилось, и у них в послеоперационном периоде была достигнута ремиссия ПГПТ (нормализация уровня ПТГ и нормокальциемия). Также у этих пациентов семейный анамнез не был отягощен. Как будет показано далее, ни у одного из трех пациентов при молекулярно-генетическом исследовании не было выявлено мутаций в гене *CASR*.

Таблица 4. Данные пациентов с показателем УССР менее 0,01.

Пациент	Пол*	Са общий, ммоль/л	Са ²⁺ , ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л	ПТГ, пг/мл	Кальций в суточной моче, ммоль/сут	Креатинин в суточной моче, мкмоль/сут	УССР	Форма ПГПТ
Ш.К.	ж	2,83	1,22	67	142	0,09	6912	0,0003	Манифестная (висцеральная)
С.Ю.	ж	2,65	1,23	61	98,7	3,44	18856	0,0042	Манифестная (висцеральная)
А.А.	м	2,76	1,3	73,7	112,2	4,2	13472	0,0083	Мягкая

* ж – женский, м – мужской

У 33 пациентов были диагностированы манифестные формы ПГПТ (33/55, 60%), мягкие формы у 22 (22/55, 40%). Среди манифестных форм было выявлено: висцеральная – у 13 (13/55, 24%), костная – у 4 (4/55, 7%), смешанная – у 16 (16/55, 29%). Среди мягких форм были выявлены: асимптомная – 12 (12/55, 22%), малосимптомные – 10 (10/55, 18%) (рис. 6).



Рисунок 6. Распределение форм ПГПТ среди пациентов группы 1.

При этом у 16 пациентов (16/55, 28%) имелась тяжелая фиброзно-кистозная остеодистрофия (ФКД). Примечательно, что ФКД была выявлена у всех пациентов с раком ОЩЖ (n=6), у пациентов с атипичной аденомой ОЩЖ (n=2), а также у некоторых пациентов с солитарной аденомой ОЩЖ (n=8).

Как видно на рисунке 7, среди различных возрастных групп умеренно преобладали манифестные формы: ≤10 лет – 1 манифестная /0 мягких; 11-20 лет – 9/6; 21-30 лет – 15/14; 31-40 – 8/2.

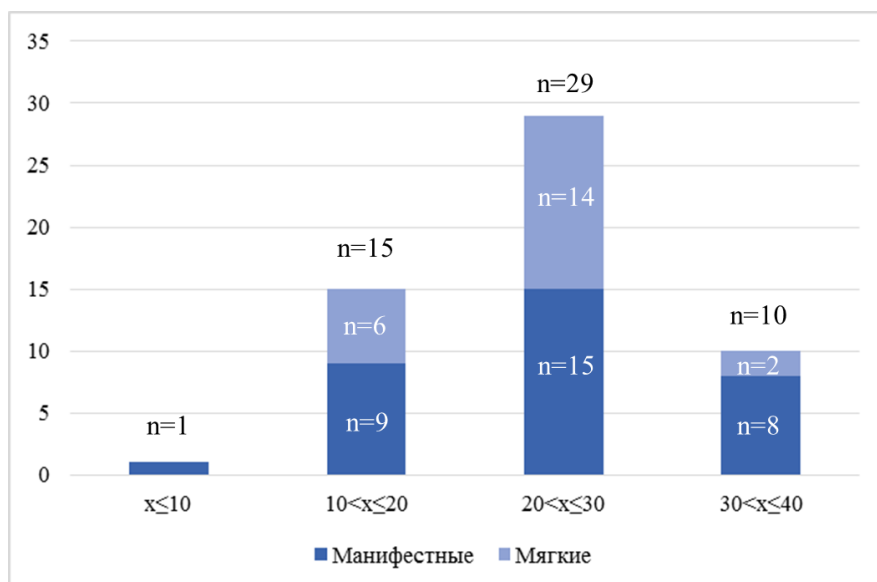


Рисунок 7. Распределение форм ПГПТ в различных возрастных группах.

Данные о сопутствующих заболеваниях имелись у 23 пациентов (23/55, 42%). У 1 пациента (с раком ОЩЖ) – полип уретры; у 1 пациента – неспецифический язвенный колит; у 1 пациентки – сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит и целиакия; у 1 пациентки – неклассическая форма врожденной дисфункции коры надпочечников; у 1 пациентки – Т3-тиреотоксикоз и артериальная гипертензия; у 1 пациентки – тиреотоксическая аденома в анамнезе; у 1 пациента – ожирение III степени, олигофрения, бронхиальная астма, артериальная гипертензия; у 1 пациентки – тератома яичника в анамнезе; у 1 пациентки (с ФИНР, семья П., раздел 3.3.5) – генуинная эпилепсия (синдром Леннокса-Гасто); у 1 пациента (с раком ОЩЖ) – идиопатическая мономорфная желудочковая экстрасистолия (градация 2b по Лауну); у 1 пациентки – образование верхней челюсти в анамнезе (без данных гистологии); у 1 пациентки – множественные рецидивирующие гигантоклеточные остеобластокластомы верхней и нижней челюстей (отсутствие прогрессирования после ремиссии ПГПТ) и папиллярный рак щитовидной железы в анамнезе; у 2 пациенток – (много)узловой коллоидный зуб; у 3 – полип эндометрия; у 6 пациентов – артериальная гипертензия (из них у 2 пациентов со сниженной функцией почек).

У четырех пациентов на момент включения в исследование было известно о случае персистенции ПГПТ после первой операции. Клиническая характеристика этих пациентов представлена в таблице 5. При этом пациентке Т.А. первая операция – удаление солитарной аденомы ОЩЖ – была выполнена в другом учреждении, с отсутствием нормализации показателей кальция и ПТГ в раннем послеоперационном периоде, что могло свидетельствовать о нерадикальности первой операции. Пациент П.Д. был оперирован первично по поводу рака ОЩЖ в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России в 1993 году, при

этом улучшение состояния отмечалось лишь на несколько месяцев. Повторная операция с достижением многолетней ремиссии заболевания была выполнена в 1996 г. Пациент Ч.С. был оперирован в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России первично с достижением ремиссии, и развитием рецидива через 5 лет к моменту включения в исследование. Пациентка П.М. обратилась в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, где был выявлен ПГПТ вследствие метастазов рака ОЩЖ в легкие (подробное описание случая представлено далее).

Таблица 5. Клиническая характеристика пациентов с имевшимся рецидивом (отсутствием ремиссии) ПГПТ.

Пациент	Пол	Возраст на момент дебюта ПГПТ, лет	Возраст на момент первой операции, лет	Возраст на момент рецидива, лет	ПТГ, пг/мл, исходно/на момент рецидива	Са общий, ммоль/л, исходно/на момент рецидива	Са2+, ммоль/л, исходно/на момент рецидива	Форма ПГПТ	Топическая диагностика перед первой операцией/на момент рецидива	Объем первой операции/повторной операции	Ремиссия после первой операции/повторной операции	Гистологическое заключение после первой операции/повторной операции
Т.А.	ж	33	37	37	104,2/74	2,85/2,94	1,6/1,34	Манифестная (висцеральная)	Образование правой нижней ОЩЖ/ образование правой нижней ОЩЖ	ПТЭ/ПТЭ	Нет/Да	Аденома ОЩЖ/Аденома ОЩЖ
Ч.С.	м	20	20	25	91,8/78,85	2,78/2,65	1,32/1,24	Мягкая (асимптомная)	Образование правой нижней ОЩЖ/Правая ОЩЖ с кистозной перестройкой (верхняя?нижняя?)	ПТЭ/не проводилась	Да/ –	Аденома ОЩЖ/ –
П.Д.	м	26	30	33	136/110	Н/д/Н/д	2,11/1,46	Манифестная (смешанная)	Образование правой нижней ОЩЖ/ образование правой нижней ОЩЖ	ПТЭ/ПТЭ + гемитиреоидэктомия и лимфодиссекция	Нет/Да	Рак ОЩЖ/Рак ОЩЖ, метастаз в регионарный лимфоузел
П.М.	ж	18	20	26	Н/д/2440	Н/д/4,19	Н/д/Н/д	Манифестная	Неизвестно/метастазы рака	Неизвестно /резекция	Неизвестно/Нет	Рак ОЩЖ/Метастазы рака ОЩЖ в легкие

								(смешанная)	ОЦЖ в легкие	нижней доли правого легкого		
--	--	--	--	--	--	--	--	-------------	--------------	-----------------------------	--	--

Н/д – нет данных

При сборе семейного анамнеза у четырех пациентов (4/55, 7,3%) были выявлены данные о наличии ПГПТ как единственной эндокринопатии у одного или нескольких родственников первой линии родства, что позволило отнести их к семьям с FHP (семьи М., П., Ш., Ж.). Подробное описание семей с FHP представлено далее в разделе 3.3.5.

Также у некоторых пациентов (n=8) имелось подозрение наотягощенный семейный анамнез: у 3 – НЛ у родственников первой линии родства; у 2 – НЛ у родственников второй линии родства; у 1 – поликистоз почек с исходом в терминальную почечную недостаточность у родственника первой линии родства; у 1 – болезнь Кальве у родственника первой линии родства, хрупкость эмали по отцовской линии, онкологические заболевания по отцовской и материнской линии; у 1 – язвенная болезнь желудка у родственника первой линии родства.

3.1.2 Данные визуализирующих исследований до операции.

Объем и результаты хирургического вмешательства

По данным визуализирующих методов исследования на дооперационном этапе у всех пациентов были подтверждены объемные образования ОЩЖ. У 53 пациентов (53/55, 96,4%) визуализировалось объемное образование одной ОЩЖ; у одной пациентки визуализировалось 2 образования ОЩЖ (левая нижняя и правая верхняя), у одной пациентки (П.М.), с диагностированным ПГПТ на стадии метастазов рака ОЩЖ в легкие, данные о первичном поражении отсутствовали.

У двоих пациентов с отсутствием ремиссии ПГПТ после первой операции (пациенты Т.А. и П.Д.), объемные образования визуализировались в той же локализации. У пациента Ч.С. с истинным рецидивом ПГПТ, объемное образование ОЩЖ на момент рецидива визуализировалось в другой проекции (таблица 5, п. 3.1.1). У двоих пациенток образования ОЩЖ располагались интратиреоидно, у троих пациенток – были эктопированы в переднее средостение. Также приводим описание клинического случая пациентки П.М. с ПГПТ, диагностированным на стадии метастазов рака ОЩЖ а легкие.

Пациентка П.М. В возрасте 20 лет была прооперирована по месту жительства по поводу узлового зоба, однако при гистологическом исследовании ткани щитовидной железы в материале обнаружено не было. В возрасте 26 лет выявлен полип эндометрия, и при подготовке к оперативному лечению на рентгенограмме легких было обнаружено объемное образование в нижней доле правого легкого. Пациентка обследована в ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина, где при МСКТ органов грудной клетки в нижней доле правого легкого в S9 и S10 выявлены 2 округлых образования с ровными четкими контурами размером до 2,9x2,8 см и

2,2x2,0 см, а также мелкие аналогичные узлы: справа в S2 до 0,6 см, слева в S8 до 0,8 см в диаметре. Обращали на себя внимание множественные литические изменения в шейных и грудных позвонках, ребрах, грудины, лопатках, которые после радионуклидного исследования костной системы были расценены как гиперпаратиреоидная остеодистрофия. Выполнена трансторакальная пункция опухолевого узла в правом легком с иммуноцитохимическим исследованием материала, выявившем гиперплазию эпителия. Диагностика гиперпаратиреоидной остеодистрофии по сцинтиграфии скелета послужила основанием для дообследования с целью подтверждения ПГПТ, по результатам которого было обнаружено выраженное повышение уровня ПТГ – 2440 пг/мл (15-65), общего кальция – 4,19 ммоль/л (2,15-2,55), ЩФ – 1721 (10-150), креатинина – 100 мкмоль/л (СКФ по MDRD 62 мл/мин/1,73 м²). Для топической диагностики гиперфункционирующей ткани ОЦЖ было проведено УЗИ шеи и сцинтиграфия с технецием [^{99m}Tc] сестамиби, однако данных за наличие объемного образования получено не было. По денситометрии выявлено снижение минеральной плотности кости в области средней трети лучевой кости -5,1 SD по Z-критерию, в шейке бедренной кости -2,9 SD, поясничном отделе позвоночника L1-L4 -2,1 SD. В возрасте 27 лет при падении на лед произошел перелом мыщелка плечевой кости справа. При УЗИ почек – признаки микролитов обеих почек. С целью предупреждения развития гиперкальциемического криза была выполнена инфузия золедроновой кислоты 4 мг, на фоне чего отмечалось снижение уровня общего кальция до 2,8 ммоль/л.

Пациентка была консультирована амбулаторно в отделении нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России. Принимая во внимание наличие клинически выраженного ПГПТ с высокой гиперкальциемией, признаками фиброзного остеита в костях, миопатией, инсипидарным синдромом без визуализации источника продукции ПТГ, а также в связи с наличием опухоли легкого и подозрением на эктопическую продукцию ПТГ, было рекомендовано хирургическое лечение, с последующим ИГХ подтверждением секреции ПТГ опухолью легкого. В ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина была выполнена торакоскопическая резекция нижней доли правого легкого. В послеоперационном периоде отмечалась выраженная гипокальциемия (общий кальций – 1,9 ммоль/л), потребовавшая инфузии раствора глюконата кальция.

После операции пациентка находилась на стационарном обследовании в отделении нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, где проводился подбор лекарственной терапии по поводу выраженной гипокальциемии (общий кальций – 1,92 ммоль/л, ионизированный кальций – 1,0 ммоль/л, снижение экскреции кальция в суточной моче – 0,8 ммоль/стуки (2,5-8)). Отмечалось повышение ПТГ – 156 пг/мл

(15-65), что было расценено как возможная ремиссия ПГПТ и развитие вторичного гиперпаратиреоза на фоне гипокальциемии вследствие синдрома «голодных костей». В ходе госпитализации была подобрана доза препаратов кальция и колекальциферола (3500 мг/сутки по элементарному кальцию + 2800 МЕ колекальциферола/сутки) и активных метаболитов витамина D (альфакальцидол 3,5 мкг/сутки), на фоне чего отмечалась нормализация уровня кальция крови. Гистологические препараты, полученные после проведения операции по поводу «узлового зоба» по месту жительства были повторно исследованы в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России с проведением иммуногистохимического (ИГХ) исследования: определялись фрагменты, представленные преимущественно фиброзной тканью и комплексами клеток, не экспрессировавшими при проведении ИГХ исследования тиреоглобулин, TTF-1 (thyroid transcription factor-1) и кальцитонин, но обладавшие интенсивной экспрессией ПТГ, расцененные как небольшие фокусы новообразования ОЩЖ из главных базофильных и хромофобных клеток, заключенные в массивную фиброзную строму с наличием опухолевого эмбола в просвете единичного сосуда, что позволило классифицировать данное новообразование как рак ОЩЖ (рис. 8); в препаратах ткани легкого – метастаз рака ОЩЖ (при проведении ИГХ исследования отмечалась интенсивная диффузная экспрессия ПТГ, при отсутствии реакции с антителами к TTF-1, индекс пролиферации Ki-67 был variabelен с максимальным значением 19%) (рис. 9). Таким образом, было подтверждено, что рецидив ПГПТ развился вследствие метастазирования рака ОЩЖ в легкие.

Через 5 месяцев после удаления нижней доли правого легкого пациентка была повторно госпитализирована в отделение нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России для динамического наблюдения. При этом отмечалось повышение уровня общего кальция крови до 2,74 ммоль/л и ПТГ до 67,5 пг/мл при снижении уровня кальция в суточной моче 0,85 ммоль/сутки, что потребовало снижения дозы альфакальцидола до 1,5 мкг/сутки и дозы препаратов кальция до 2000 мг/сутки (по элементарному кальцию). В условиях РОНЦ им. Н.Н. Блохина была проведена диффузионная МРТ органов грудной клетки, показавшая картину мелкоочагового метастатического поражения паренхимы легких (множество мелких очаговых образований диаметром от 0,2 до 0,5 см), расцененную как метастазы в легкие рака ОЩЖ. Совместно с онкологами ФГБНУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина по жизненным показаниям была инициирована таргетная терапия мультикиназным ингибитором сорафенибом в дозе 400 мг 2 раза/сутки (off-label на основании описания успешного применения этого препарата при раке ОЩЖ [139]). Спустя 3 месяца, а затем год приема сорафениба по данным МРТ отмечено значительное уменьшение размеров

очаговых образований в легких, что может свидетельствовать об эффективности сорафениба.

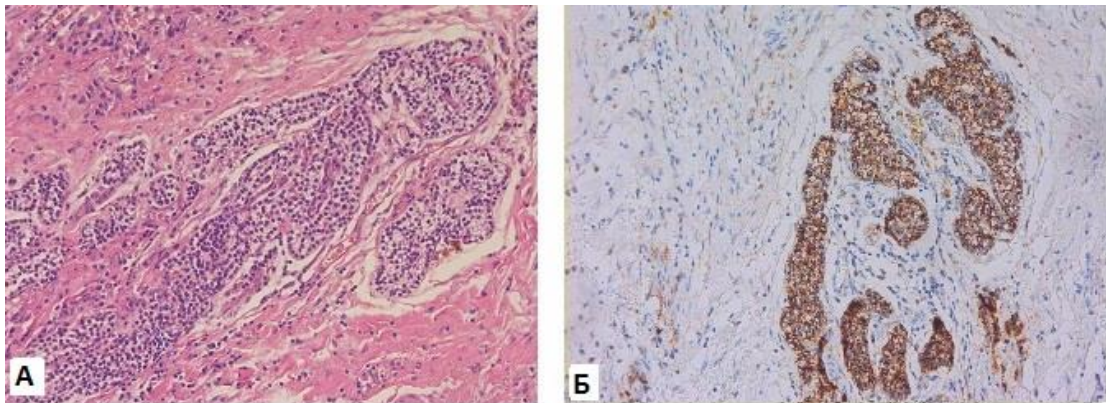


Рисунок 8. Первичная опухоль (рак ОЩЖ) пациентки П.М. А. Фрагмент опухолевой ткани из главных хромофобных и базофильных клеток, заключенных в мощную фиброзную строму (гематоксилин-эозин (Г-Э), x 200); Б. Интенсивная диффузная экспрессия ПТГ клетками опухоли ОЩЖ (ИГХ x 200).

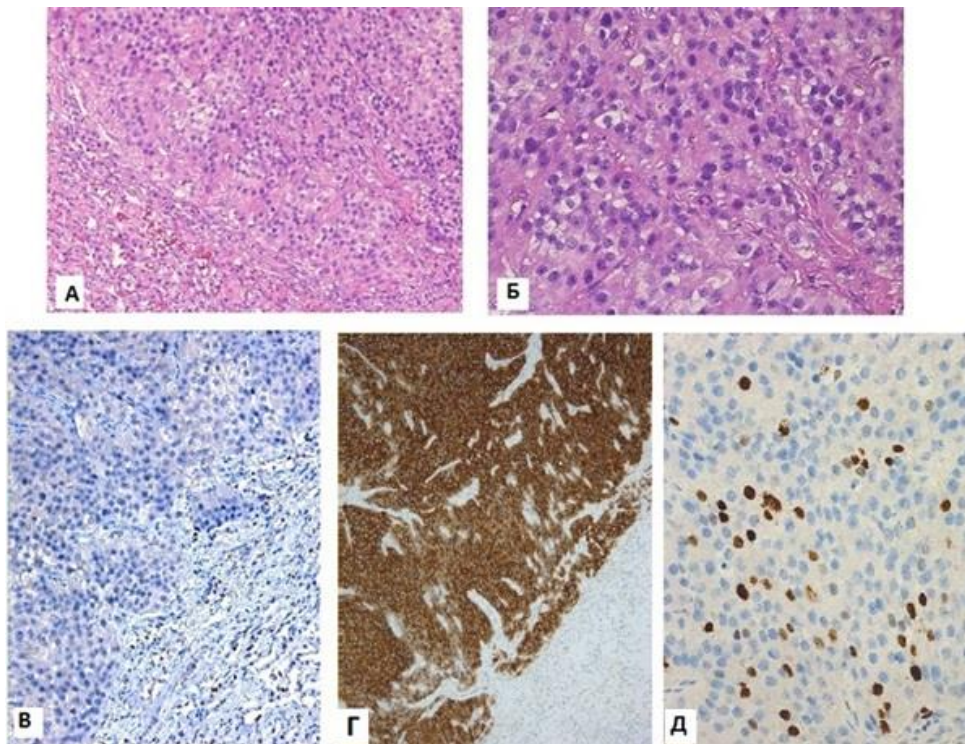


Рисунок 9. Метастаз рака ОЩЖ в легкое пациентки П.М. А. Ткань метастаза солидно-трабекулярного строения из главных клеток, с преобладанием базофильных (Г-Э x 100); Б. Высокая митотическая активность, в том числе и атипические митозы (стрелка), в метастазе рака ОЩЖ (Г-Э x 400); В. Отсутствие экспрессии клетками метастаза рака ОЩЖ ТТФ-1, при положительном внутреннем контроле (ИГХ x 200); Г. Диффузная интенсивная экспрессия ПТГ тканью рака ОЩЖ (ИГХ x 200); Д. Индекс пролиферации Ki-67 – 19 % (ИГХ x 200).

С учетом молодого возраста подавляющему большинству пациентов было проведено первичное оперативное вмешательство, кроме одной пациентки с мягкой формой ПГПТ, включенной в исследование во II триместре беременности. Особенности оперативного вмешательства у пациентки П.М. приведены выше. Пациенту Ч.С. с истинным рецидивом ПГПТ повторное оперативное вмешательство на момент окончания исследования проведено не было. Как было указано выше, у двоих пациентов с отсутствием ремиссии после первичной операции (пациентка Т.А. и пациент П.Д.) после повторной операции по удалению образований ОЩЖ в той же локализации, что и при первичной операции, была достигнута ремиссия заболевания. У пациентки с визуализировавшимися до операции двумя образованиями ОЩЖ в ходе хирургического вмешательства были удалены оба образования. У 1 пациента с визуализировавшимися до операции одним образованием ОЩЖ в ходе операции были удалены образования двух ОЩЖ. Обеим пациенткам с интратиреоидно расположенными аденомами ОЩЖ, а также пациентке с узловым коллоидным зобом была проведена гемитиреоидэктомия. Особенности оперативного вмешательства пациенток М.Е.(1) и Д.Е. приведены далее в разделе 3.3.2.

3.1.3 Результаты морфологического исследования

По результатам гистологического исследования образования ОЩЖ были представлены аденомами, гиперплазией, атипичными аденомами или раком ОЩЖ. У 40 пациентов (40/54, 74,1%) была выявлена солитарная аденома ОЩЖ, у 1 пациентки – 2 аденомы ОЩЖ (1/54, 1,9%), у 1 пациента – 1 аденома и 1 гиперплазированная ОЩЖ (1/54, 1,9%), у 2 пациентов (2/56, 3,6%) – атипичная аденома ОЩЖ, у 1 пациентки (1/54, 1,9%) – рак ОЩЖ и 1 гиперплазированная ОЩЖ; у 5 пациентов – рак ОЩЖ (5/54, 9,2%) (суммарно рак ОЩЖ у 6 пациентов (6/54, 11,1%), у 4 пациентов – солитарная гиперплазия ОЩЖ (4/54, 7,4%) (рис. 10).

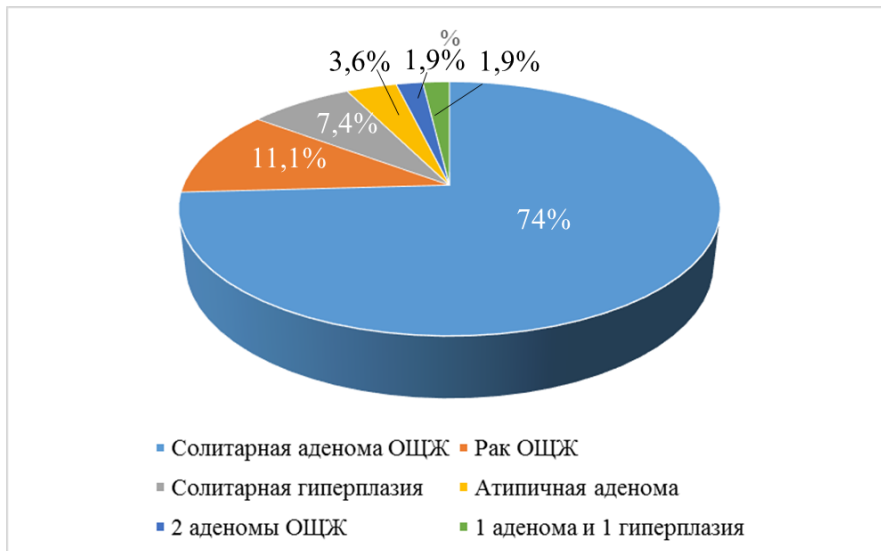


Рисунок 10. Распределение по типу морфологического строения удаленных образований ОЦЖ.

Пациентам, у которых по результатам гистологического исследования была необходима дифференциальная диагностика между атипичной аденомой и раком ОЦЖ, проводилось дополнительное ИГХ исследование препаратов (рис. 11, 12).

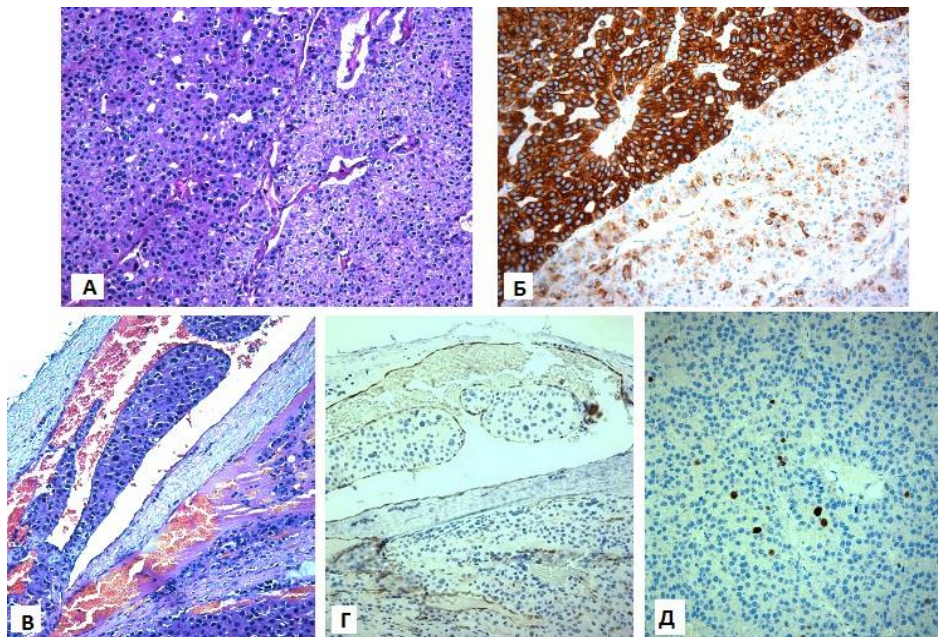
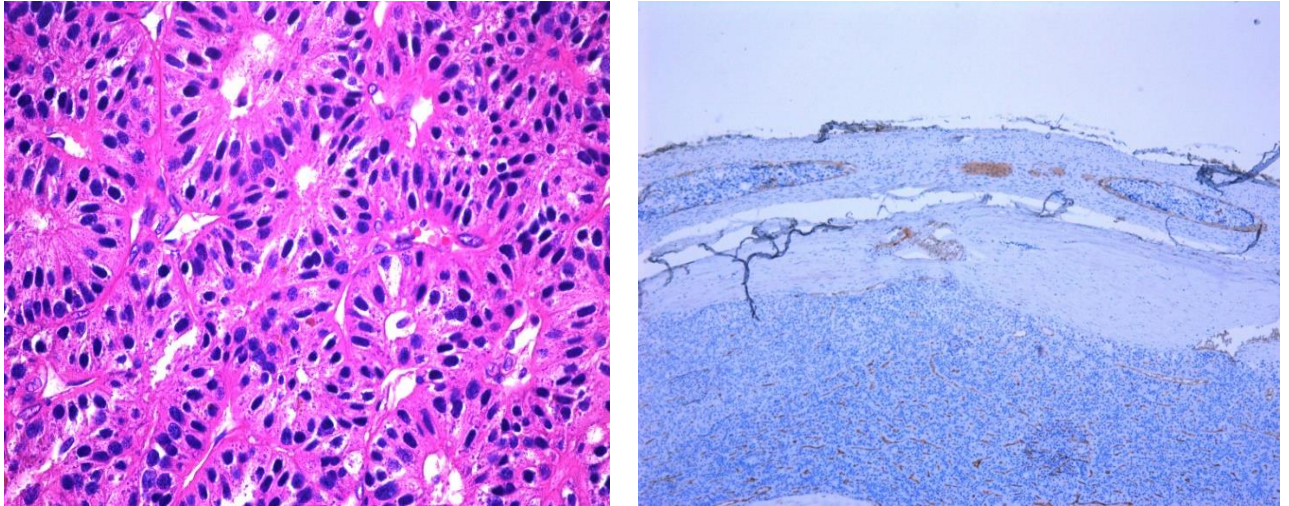


Рисунок 11. Морфологическое строение и иммунофенотип рака ОЦЖ пациентки А.Ю. А. Два типа главных клеток новообразования ОЦЖ (Г-Э x 200); Б. Экспрессия ПТГ 2 типами клеток (ИГХ x 400); В. Сосудистая инвазия (Г-Э x 400); Г. Сосудистая инвазия - экспрессия CD31 клетками эндотелия (ИГХ x 400); Д. Экспрессия маркера пролиферации Ki-67, максимальное значение 5% (ИГХ x 400).



А

Б

Рисунок 12. Морфологическое строение рака ОЩЖ пациента К.Д.(1). А. Строение рака ОЩЖ из главных (базофильных) клеток с формированием розеткоподобных структур (Г-Э, х400). Б. Инвазия в сосуды капсулы рака ОЩЖ, подтвержденная с помощью антител к CD31 (эндотелиальный сосудистый маркер) (ИГХ исследование, х50).

3.2 Результаты молекулярно-генетических исследований

3.2.1 Результаты высокопроизводительного параллельного секвенирования (*next-generation sequencing, NGS*)

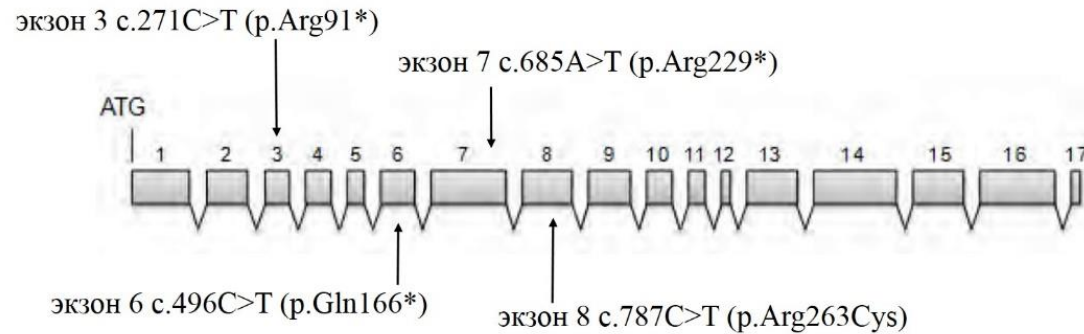
3.2.1.1 Мутации в гене *CDC73*

В группе 1 у четырех пациентов были выявлены герминальные гетерозиготные мутации в гене *CDC73* (таблица 6, рис. 13).

Таблица 6. Мутации в гене *CDC73*, выявленные при проведении NGS.

Пациент	Пол	Положение (GRCh37/hg19)	Экзон	Положение в кДНК	Замена аминокислоты	Тип мутации	Описание в литературе	Частота аллеля*	Глубина прочтения
А.Ю.	ж	chr1:193099337C>T	3	c.271C>T	p.Arg91*	Нонсенс	[26, 124]	Н/д	267х
П.М.	ж	chr1:193107287C>T	6	c.496C>T	p.Gln166*	Нонсенс	Не описана	Н/д	246х
К.Д.	м	chr1:193111152A>T	7	c.685A>T	p.Arg229*	Нонсенс	Не описана	Н/д	267х
Д.Е.	ж	chr1:193117054C>T	8	c.787C>T	p.Arg263Cys	Миссенс	Не описана	Н/д	313х

*Частоты аллелей приведены по базе Exome Aggregation Consortium (выборка до 60702 человек). Н/д – нет данных; ж – женский; м – мужской.

Рисунок 13. Мутации в гене *CDC73*.

Три нонсенс-мутации были выявлены у пациентов с раком ОЩЖ (в том числе у пациентки П.М. с метастазами рака ОЩЖ в легкие); миссенс-мутация – у пациентки с солитарной гиперплазией ОЩЖ. Данные о частоте указанных вариантов в популяции отсутствуют. Все три нонсенс-мутации были предсказаны патогенными по всем использовавшимся *in silico* алгоритмам (Mutation Taster, PolyPhen-2 HumDiv и HumVar, SIFT-PROVEAN и др.). Выявленная мутация p.Arg91* была описана ранее у 16-летнего юноши с НЛ, уровнем ПТГ 859 пг/мл, гиперкальциемическим кризом и солитарной аденомой ОЩЖ [124], а также у 21-летней пациентки с атипичной аденомой ОЩЖ и уровнем общего кальция крови 2,94 ммоль/л [26]. Остальные мутации на момент проведения исследования в литературе описаны не были.

Данные о частоте миссенс-мутации p.Arg263Cys в популяции отсутствуют. Кроме того, она была предсказана патогенной по всем использовавшимся *in silico* алгоритмам (Mutation Taster, PolyPhen-2 HumDiv и HumVar, SIFT-PROVEAN и др.) и поэтому также была расценена как патогенный вариант нуклеотидной последовательности. Подробное описание всех клинических случаев приведено далее.

3.2.1.2 Мутации в гене CASR

У одной пациентки М.Е.(2) была выявлена герминальная гетерозиготная нонсенс-мутация в экзоне 7 гена CASR с.3145G>T (p.Glu1049*) (рис. 14, таблица 7). Мутация приводит к образованию стоп-кодона, затрагивает концевой цитоплазматический домен кальций-чувствительного рецептора, и не была описана на момент проведения исследования в базе данных HGMD [144] и специфической базе данных Calcium Sensing Receptor Database [142]. Учитывая расположение мутации в последнем экзоне гена, можно было бы предположить ее непатогенный характер. Однако данные о ее распространенности в популяции отсутствуют, а также она была предсказана патогенной по нескольким *in silico* алгоритмам (Mutation Taster, SIFT-PROVEAN). Подробное описание клинического случая приведено далее.

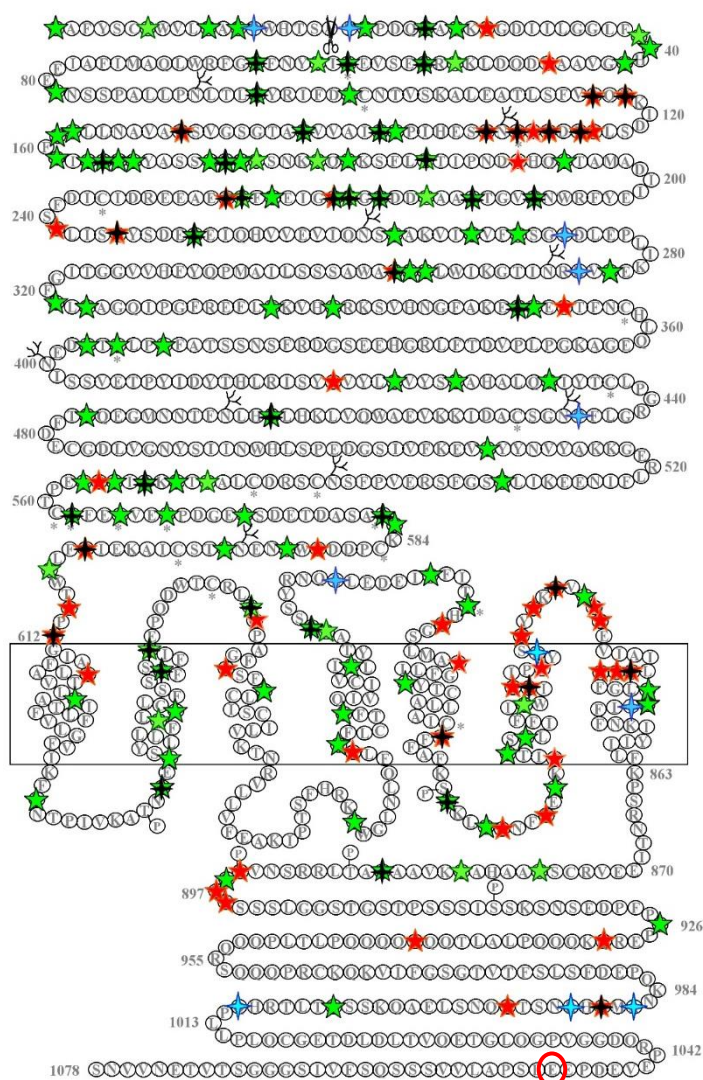


Рисунок 14. Кальций-чувствительный рецептор: распределение мутаций по данным Calcium Sensing Receptor Database [142] и положение выявленной нами мутации (красный кружок).

3.2.1.3 Мутации в гене *MEN1*

По результатам NGS нами не было выявлено нонсенс-мутаций или мутаций со сдвигом рамки считывания в гене *MEN1*. У пациента С.Д.(1) (табл. 12. в разделе 3.3.2) была выявлена гетерозиготная замена в экзоне 3 гена *MEN1* с.512G>A (p.Arg171Gln) (табл. 8). По данным ExAC выявленная гетерозиготная замена встречается с частотой 1,2% в популяции. Указанная замена была предсказана патогенной по *in silico* алгоритмам PolyPhen2-HDIV и SIFT, и непатогенной по алгоритмам Mutation Taster, PolyPhen2-HVAR и другим, включенным в программу ANNOVAR. В статье E. De Carlo и коллег отмечено, что, наиболее вероятно, замена

является миссенс-мутацией, а не полиморфизмом [42]. Авторы обосновывают это рядом клинических случаев семейного и спорадического синдрома МЭН-1, при которых выявлялась указанная замена как в сочетании с другими мутациями в *MEN1*, так и как единственная замена [42]. Однако, учитывая данные о частоте в популяции и результаты предсказательных алгоритмов, мы рассматривали эту замену как полиморфизм. У пациента С.Д.(1) было подозрение наотягощенный семейный анамнез (болезнь Кальве у сестры, патология зубной эмали по отцовской линии, онкологические заболевания (рак желудочно-кишечного тракта у бабушки по отцовской линии, рак молочной железы у бабушки по материнской линии, рак легких у деда по материнской линии). Как будет указано далее, у этого же пациента впоследствии была выявлена крупная делеция в гене *CDC73*.

У пациента Ч.С. (табл. 5, раздел 3.1.1) была выявлена гетерозиготная замена с.784-9G>A (rs794728625) в интроне 4 гена *MEN1*. Указанная замена была описана ранее В. Gortz как герминальная и соматическая мутация в ткани опухоли надпочечника и карциноида бронхов у пациента без других МЭН-1-ассоциированных опухолей [60]. Авторы указывают, что мутация индуцирует образование акцепторного сайта сплайсинга на расстоянии 7 пар нуклеотидов до сайта сплайсинга дикого типа, что приводит к сдвигу рамки считывания в экзоне 5 и вызывает укорочение белка. Эта же мутация упоминается в статье К. Nogiuchi у пациента с ПГПТ без других МЭН-1-ассоциированных опухолей [68]. Частота замены в популяции по данным ExAC неизвестна. С учетом развития истинного рецидива ПГПТ у пациента спустя 5 лет после первой успешной ПТЭ, отсутствия данных о частоте в популяции и данных литературы указанная замена была рассмотрена нами как сплайсинговая мутация.

3.2.1.4 Варианты нуклеотидной последовательности в других генах

В нашем исследовании были выявлены герминальные гетерозиготные изменения нуклеотидной последовательности в других генах, включенных в панель. Нами рассматривались только несинонимичные замены, и не рассматривались синонимичные замены и замены в интронах (табл. 9). Из них 3 замены были в генах ингибиторов циклин-зависимых киназ (*CDKIs*) – *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN2A*. Однако, учитывая в совокупности их частоту в общей популяции, результаты предсказательных *in silico* алгоритмов, отсутствие отягощенного семейного анамнеза у пациентов, достижение ремиссии ПГПТ после оперативного лечения все они были рассмотрены нами как доброкачественные варианты – полиморфизмы.

У 4 пациентов были выявлены изменения нуклеотидной последовательности генов, изучение которых не входило в цели нашего исследования, поскольку мутации в этих генах

ассоциированы с наследственными синдромами, компонентом которых являются аденомы гипофиза. Так, мутации в гене *AIP* ассоциированы с развитием семейных изолированных аденом гипофиза (FIPA), мутации в гене *DICER1* – с развитием болезни Иценко-Кушинга вследствие бластом гипофиза в детском возрасте, плевропульмональных бластом, опухолей щитовидной железы, мутации в гене *SDHA* – с развитием наследственных феохромоцитом/параганглиом и аденом гипофиза. Ни у кого из пациентов не было данных о наличии вышеперечисленных компонентов синдромов, отягощенном семейном анамнезе, что, в совокупности с данными о частоте в популяции выявленных изменений нуклеотидной последовательности и результатами предсказательных *in silico* алгоритмов позволило рассмотреть их как полиморфизмы.

Таблица 7. Мутация в гене *CASR*, выявленная при проведении NGS.

Пациент	Пол	Положение (GRCh37/hg19)	Экзон	Положение в кДНК	Замена аминокислоты	Тип мутации	Описание в литературе	Частота аллеля	Глубина прочтения
М.Е.(2)	ж	chr3:122003946G>T	7	с.3145G>T	p.Glu1049*	Нонсенс	Не описана	Н/д	383x

Таблица 8. Варианты нуклеотидной последовательности в гене *MEN1*, выявленные при проведении NGS.

Пациент	Пол	Положение (GRCh37/hg19)	Экзон	Положение в кДНК	Замена аминокислоты	Тип мутации	Описание в литературе	Частота аллеля	Глубина прочтения
С.Д.	м	chr11:64575505C>T	3	с.512G>A	Arg171Gln	Миссенс	[42]	1,2	978x
Ч.С.	м	chr11:64577619C>T	Интрон 4	с.784-9G>A	–	Сплайсинговая	[60, 68]	Н/д	297x

Н/д – нет данных

Таблица 9. Варианты нуклеотидной последовательности других генов, выявленные при проведении NGS.

№	Пациент	Пол	Ген	Положение (GRCh37/hg19)	Экзон	Положение в кДНК	Замена аминокислоты	Частота аллеля (%)	rs	Глубина прочтения
1	Т.М.	м	<i>CDKN2A</i>	chr9:21968732G>A	3	с.496C>T	p.His166Tyr	0,03	rs181044510	415x
2	В.М.	ж	<i>AIP</i>	chr11:67250676G>A	1	с.47G>A	p.Arg16His	0,2	rs145047094	91x
3	З.О.	ж	<i>DICER1</i>	chr14:95574244C>A	16	с.2623G>T	p.Ala875Ser	0,2		229x
4	И.П.	ж	<i>CDKN1A</i>	chr6:36652117C>T	3	с.239C>T	p.Thr80Met	0,03	rs114149607	319x
5	Г.Ю.	ж	<i>CDKN1B</i>	chr12:12871129T>C	1	с.356T>C	p.Ile119Thr	0,05	rs142833529	325x
6	С.Г.	ж	<i>SDHA</i>	chr5:231050C>T	7	с.830C>T	p.T277M	0,01	rs367721665	526x
7	Ш.К.	ж	<i>DICER1</i>	chr14:95599776T>C	2	с.20A>G	p.Q7R	0,18	rs117358479	374x

3.2.1.5 Косвенная оценка крупных делеций

С помощью программы Exome Depth в одном образце (пациент С.Д.(1)) было показано достоверное ($BF=34,1$) снижение наблюдаемой глубины прочтений относительно ожидаемой до 0,602 для 14 следующих подряд ампликонов (экзоны 1-10), что может указывать на гетерозиготную делецию соответствующего локуса. Во втором образце (пациентка М.Е.(1)) было показано достоверное ($BF=33,4$) снижение наблюдаемой глубины прочтений относительно ожидаемой до 0,572 для 22 следующих подряд ампликонов (экзоны 1-17), что может указывать на гетерозиготную делецию всего гена. Также в одном образце (пациент С.А.) было выявлено снижение ($BF=4,24$) наблюдаемой глубины прочтений относительно ожидаемой до 0,525 для 2 следующих подряд ампликонов (экзон 13). В связи с этим для подтверждения крупных делеций в гене *CDC73* было принято решение о дополнительном проведении MLPA. Также, несмотря на отсутствие косвенных данных о наличии крупных делеций в гене *CDC73*, MLPA была проведена двум оставшимся пациентам без выявленных мутаций с раком ОЩЖ (П.Д., С.Д.(2)) и пациентке с атипичной аденомой ОЩЖ (Д.Т.).

3.2.2 Результаты MLPA

Результаты MLPA подтвердили наличие двух крупных делеций в гене *CDC73*, заподозренных при анализе глубины прочтения при проведении NGS.

У одной пациентки (М.Е.(1) из семьи с FHP, см. ниже) был морфологически подтвержден рак ОЩЖ. По результатам MLPA у нее была выявлена делеция всего гена *CDC73* с 1 по 17 экзоны с вовлечением фланкирующих участков с 5' и 3' сторон, затрагивающих гены *TROVE2*, *GLRX2*, *B3ALT2*, *LINK0103* (рис. 15). Крупные делеции всего гена *CDC73* были описаны ранее [20, 32, 44].

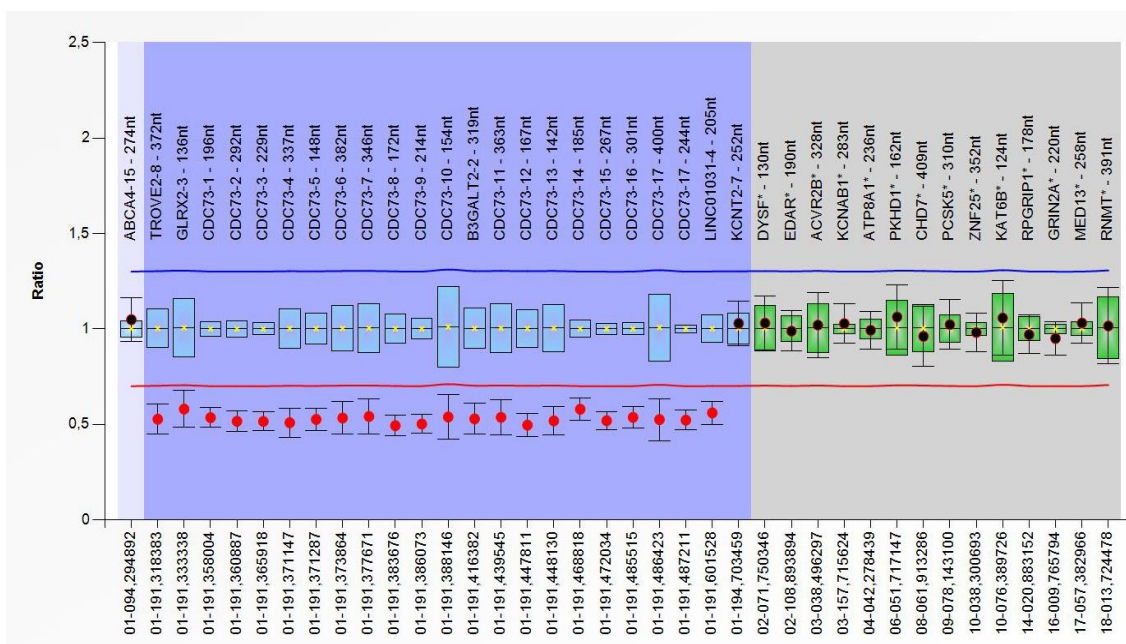


Рисунок 15. Результаты MLPA у пациентки М.Е.(1).

У другого пациента (С.Д.(1)) была морфологически верифицирована атипичная аденома ОЩЖ (исследование проводилось в стороннем учреждении). По результатам MLPA была выявлена делеция с 1 по 10 экзоны гена *CDC73* (рис. 16). Делеция 1-10 экзонов гена *CDC73* также была описана ранее [76].

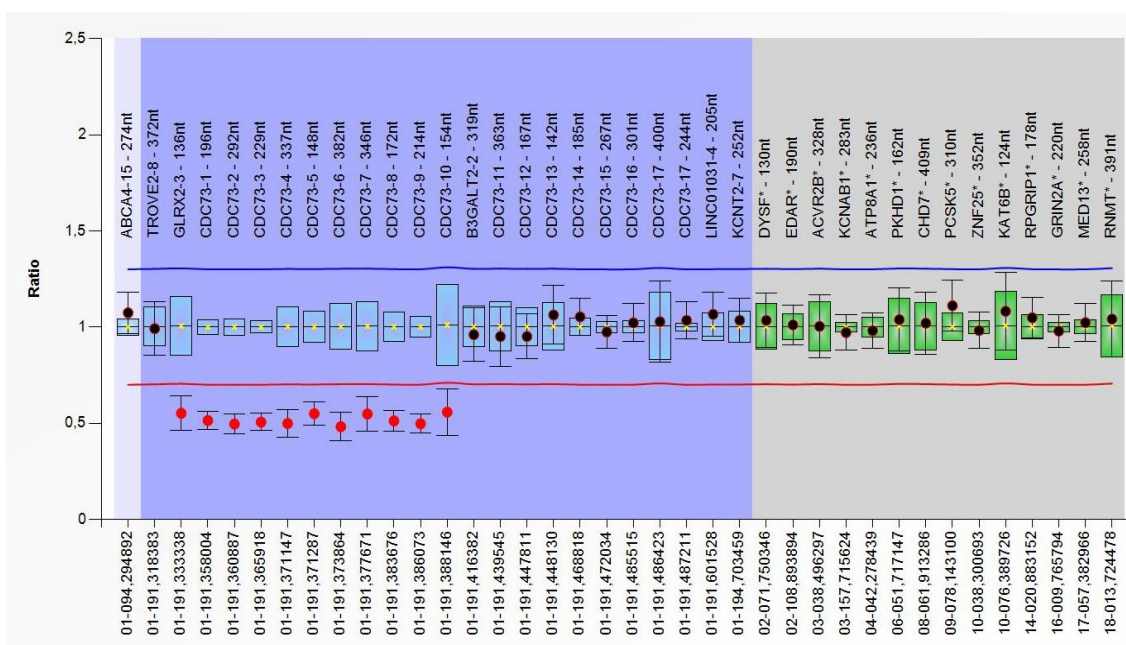


Рисунок 16. Результаты MLPA у пациента С.Д.(1).

У троих пациентов (2 с раком ОЩЖ и 1 с атипичной аденомой ОЩЖ), которым также была проведена MLPA, несмотря на отсутствие косвенных признаков крупных делеций при

анализе глубины прочтения данных NGS, крупные делеции выявлены не были. Также не была подтверждена делеция экзона 13, заподозренная при анализе глубины прочтения.

3.3 Особенности спорадического ПГПТ и ПГПТ в рамках наследственных синдромов

В группе 1 был выявлен только один пациент с мутацией в гене *MEN1* (пациент Ч.С. с вероятно патогенной сплайсинговой мутацией). Полученный результат не согласуется с данными некоторых зарубежных и отечественных исследований о том, что ПГПТ является наиболее частым компонентом МЭН-1, часто бывает первым проявлением синдрома и дебютирует чаще в возрасте 20-25 лет. Поскольку это могло быть связано с тем, что в группу 1 не включались пациенты с выявленными ранее секвенированием по Сэнгеру мутациями в гене *MEN1*, нами были дополнительно отобраны пациенты с известным, генетически подтвержденным ранее диагнозом синдрома МЭН-1, первым компонентом которого был ПГПТ, дебютировавший в возрасте до 40 лет (n=10, группа 2) (см. раздел «Материалы и методы»).

Таким образом, в результате проведенных молекулярно-генетических исследований на основании выявления или отсутствия выявления герминальных мутаций в генах, ответственных за развитие наследственных форм ПГПТ, все пациенты исходных двух групп (n=65) были разделены далее на пять подгрупп:

- 1) пациенты со спорадическим ПГПТ (n=44);
- 2) пациенты с ПГПТ как первым проявлением генетически подтвержденного МЭН-1 (n=11);
- 3) пациенты с генетически подтвержденным синдромом НРТ-ЖТ (n=6);
- 4) пациентка с мутацией в гене *CASR* (n=1);
- 5) пациенты с ФИНР без установленной генетической причины (n=3).

В целом, наследственная природа ПГПТ была выявлена у 21/65 (32,3%) (ДИ [21,2%; 45,1%]), в 67,7% случаев ПГПТ был спорадическим. Среди наследственных синдромов синдром МЭН-1 был выявлен в 52,4% (11/21), синдром НРТ-ЖТ в 28,6% (6/21) случаев, в одном случае (1/21, 4,7%) была выявлена гетерозиготная мутация в гене *CASR*, а также были выявлены три случая ФИНР (3/21, 14,3%) без установленной генетической причины. Среди всех семей с ФИНР мутации были выявлены в 40% (2/5) случаев – 1 *MEN1* и 1 *CDC73*.

При снижении порогового возраста до 35, 30, 25 и 20 лет отмечалась тенденция к увеличению частоты наследственных форм, однако ввиду небольшой выборки пациентов различия не достигали статистической значимости. Так, в группе до 35 лет (n=59) наследственные формы были выявлены в 33,9% (20/59) случаев (ДИ [22,1%; 47,4%]; в группе до 30 лет (n=48) – в 35,4% (17/48) случаев (ДИ [22,2%; 50,6%]); в группе до 25 лет (n=34) – в 38,2% (13/34) случаев (ДИ [22,2%; 36,4%]); в группе до 20 лет – в 46,7% (7/15) случаев (ДИ [21,3%; 73,4%]).

С целью выявления характерных клинических черт, позволяющих заподозрить наличие одного из наследственных синдромов, в рамках которых возникает ПГПТ, у пациентов с дебютом заболевания до 40 лет нами был проведен анализ вышеперечисленных подгрупп и сравнительный анализ между ними.

3.3.1 Особенности спорадического ПГПТ

По результатам молекулярно-генетического исследования наследственная природа ПГПТ не была подтверждена у 47 пациентов группы 1. При этом в это число вошли три семьи с ГНР (семья П., семья Ш. и семья Ж., таблица 16 в разделе 3.3.5), которые были исключены из этой подгруппы и рассматривались отдельно. Таким образом, мы рассматривали клинически спорадический ПГПТ у 44 пациентов.

Клинико-лабораторные характеристики пациентов со спорадическим ПГПТ представлены в таблице 10.

Таблица 10. Клинико-лабораторные характеристики пациентов со спорадическим ПГПТ.

Показатель	Значение, Ме [Q ₁ ; Q ₃] (min; max)
Пол, ж/м (соотношение) (n=44)	30/14 (2,1:1)
Возраст на момент дебюта ПГПТ, лет (n=44)	25 [21; 30] (10; 39)
Возраст на момент хирургического лечения ПГПТ, лет (n=44)	29 [24; 33] (16; 40)
ПТГ, пг/мл (n=44)	179,5 [105,2; 457,3] (41,8; 3148,0)
Кальций общий, ммоль/л (n=43)	2,88 [2,67; 3,15] (2,48; 4,05)
Кальций ионизированный, ммоль/л (n=41)	1,37 [1,29; 1,57] (1,16; 2,16)
Фосфор, ммоль/л (n=34)	0,81 [0,70; 0,93] (0,37; 1,20)

Манифестные формы заболевания имелись у 28 пациентов (28/44, 63,6%, ДИ [47,7%; 77,6%]), из них 11 – с тяжелой фиброзно-кистозной остеодистрофией, мягкие формы – у 16 пациентов (16/44, 36,4%, ДИ [22,4%; 52,2%]).

Нами была выявлена умеренная положительная корреляция между уровнем ПТГ и уровнем общего кальция ($n=43$; $R=0,684$; $p<0,001$, S-тест), ПТГ и уровнем ионизированного кальция ($n=41$; $R=0,7$, $p<0,001$, S-тест), умеренная отрицательная корреляция между уровнем фосфора и возрастом манифестации ПГПТ ($n=34$; $R=-0,37$; $p=0,032$, S-тест).

При сравнении по полу (анализировались пять признаков – возраст манифестации, показатели общего и ионизированного кальция, ПТГ и фосфора) у мужчин был более высокий уровень общего кальция ($p=0,016$) и меньше возраст манифестации ($p=0,035$), по остальным показателям мужчины и женщины не отличались (рис. 17).

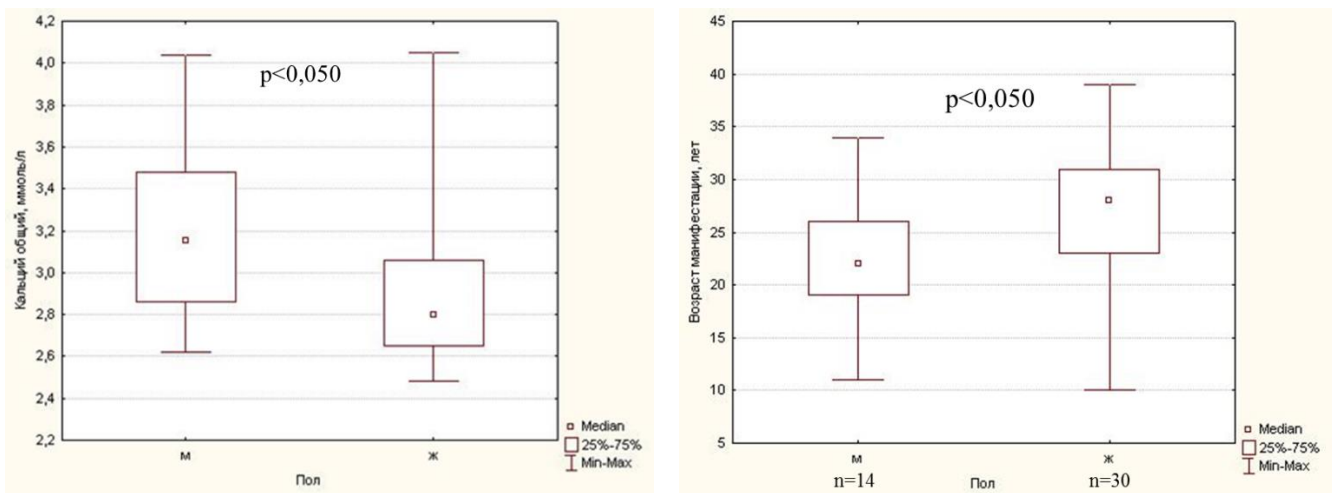


Рисунок 17. Значения общего кальция и возраста манифестации у пациентов мужского (м) и женского (ж) пола.

При сравнении показателей между мягкими и манифестными формами была выявлена разница в уровне ПТГ ($p=0,015$) (рис. 18), но не в уровне кальция общего, ионизированного, фосфора и возраста манифестации. Также частота мягких и манифестных форм не отличалась при сравнении мужчин и женщин.

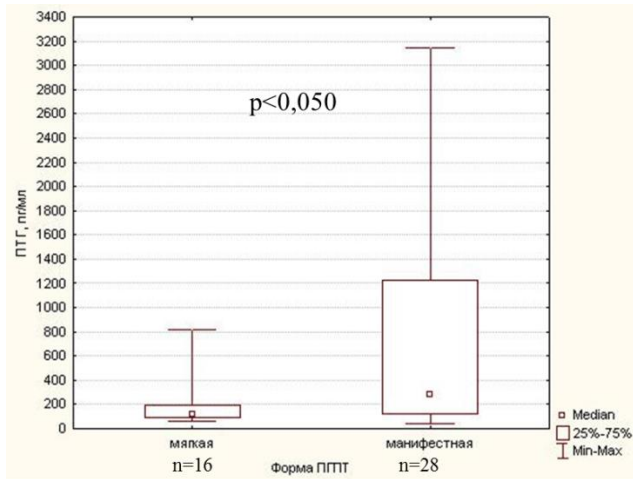


Рисунок 18. Уровень ПТГ при мягких и манифестных формах.

Однако, при принятии порогового уровня значимости с поправкой Бонферрони равным 0,01, указанные выявленные различия теряют статистическую значимость.

У 5 пациентов (11,3%, ДИ [3,8%;24,6%]) имелись данные, подозрительные на отягощенный семейный анамнез: у 2 пациентов имелись данные о наличии НЛ у родственника первой линии родства, у 2 пациентов – наличие НЛ у родственника второй линии родства, у 1 пациентки – наличие язвенной болезни желудка у родственника первой линии родства, однако их прицельное обследование на наличие ПГПТ не проводилось. Таким образом, подозрение на отягощенный семейный анамнез не всегда является показателем наследственной природы ПГПТ. У остальных 39 пациентов (39/44, 88,7%, ДИ [72,6%;94,8%]) указаний на отягощенный семейный анамнез не было.

Было прооперировано 43 пациента. По результатам гистологического заключения у пациентов со sporadическим ПГПТ в большинстве случаев были выявлены: солитарная аденома ОЩЖ (35/43, 81,4%, ДИ [66,6%;91,6%]), в остальных случаях (8/43, 18,6%, ДИ [8,4%;33,4%]) были верифицированы следующие гистологические диагнозы: гиперплазия одной ОЩЖ (3/43, 7%), в одном случае – две аденомы ОЩЖ (1/43, 2,3%), в одном случае одна аденома и одна гиперплазированная ОЩЖ (1/43, 2,3%). Также в группу sporadического ПГПТ вошли два пациента с раком ОЩЖ (2/43, 4,7%) и одна пациентка с атипичной аденомой ОЩЖ (1/43, 2,3%) – суммарно 6,9% (3/43) случаев (ДИ [1,5%; 19,1%]) (рис. 19).

В группе sporadического ПГПТ у всех пациентов после оперативного лечения была достигнута ремиссия ПГПТ (43/43, 100%, ДИ [91,8%;100%]). В группу вошли два пациента (Т.А. и П.Д.) с отсутствием ремиссии ПГПТ после первой (вероятно, нерадикальной) операции, с достижением ремиссии после повторной операции (подробно описаны в разделе 3.1.1). Таким образом, ни у кого из включенных в исследование пациентов не было персистенции ПГПТ сразу после оперативного лечения (0/43, 0%, ДИ [0%;8,2%]).



Рисунок 19. Распределение по типу морфологического строения удаленных образований ОЦЖ в группе спорадического ПГПТ.

3.3.2 Особенности ПГПТ в рамках генетически подтвержденного синдрома НРТ-ЖТ

Нами было выявлено шесть пациентов (4 женщины и 2 мужчин), у которых по данным молекулярно-генетического исследования был верифицирован диагноз НРТ-ЖТ (4 пациента с точковыми мутациями и 2 с крупными делециями в гене *CDC73*) (таблицы 11 и 12).

Таблица 11. Характеристика пациентов с точковыми мутациями в гене *CDC73*.

	Пациентка П.М.	Пациентка А.Ю.	Пациент К.Д.(1)	Пациентка Д.Е.
Мутация в <i>CDC73</i>	p.Gln166*	p.Arg91*	p.Arg229*	p.Arg263Cys
Возраст на момент дебюта ПГПТ, лет	18	24	22	30
Возраст на момент операции, лет	20	26	22	33
ПТГ, пг/мл	2440	558,8	1441	125,1
Кальций общий, ммоль/л	4,19	3,36	3,9	2,94

Кальций ионизированный, ммоль/л	Н/д	1,56	1,84	1,24
Форма ПГПТ	манифестная	манифестная	манифестная	мягкая
Топическая диагностика, размеры при УЗИ, см.	Н/д	Правая нижняя 3,2x2,3x1,8	Правая нижняя 2,3x1,8x1,4	Правая нижняя 1,2x0,6x0,6
Объем операции	См. в тексте	ПТЭ	ПТЭ	См. в тексте
Гистологическое заключение	Рак ОЩЖ с метастазами в легкие	Рак ОЩЖ	Рак ОЩЖ	Гиперплазия ОЩЖ

Н/д – нет данных

Таблица 12. Характеристика пациентов с крупными делециями в гене *CDC73*.

	Пациентка М.Е.(1)	Пациент С.Д.(1)
Мутация в <i>CDC73</i>	Ех. 1-17	Ех. 1-10
Возраст на момент дебюта ПГПТ, лет	13	18
Возраст на момент операции	14	22
ПТГ, пг/мл	1550	1833
Кальций общий, ммоль/л	3,57	4,49
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,58	2,03
Форма ПГПТ	манифестная	манифестная
Топическая диагностика, размеры при УЗИ, см.	Правая нижняя ОЩЖ 2,7x2,6x1,9	Правая нижняя ОЩЖ 3,2x3,0x1,7
Объем операции	См. в тексте	ПТЭ
Гистологическое заключение	Рак ОЩЖ	Атипичная аденома ОЩЖ

В 83,3% случаев (5/6, ДИ [35,9%; 99,6%]) с выявленными мутациями в *CDC73* было характерно агрессивное течение ПГПТ, в одном случае (1/6, 16,7%, ДИ [0,4%;64,1%]) была выявлена мягкая форма ПГПТ (пациентка Д.Е. с миссенс-мутацией в гене, клиническая картина которой отличалась от остальных пациентов, и поэтому была рассмотрена отдельно). Указанное различие не достигает статистической значимости ввиду небольшого количества пациентов в

группе НРТ-ЈТ, однако представляется нам клинически значимым (статистической тенденцией). Только у троих из шести пациентов (50%) имелись данные об отягощенном семейном анамнезе или подозрении на отягощенный семейный анамнез: пациентка М.Е.(1) из семьи М. с FHP; пациентка А.Ю. – наличие поликистоза почек с исходом в терминальную стадию почечной недостаточности, требующую проведения программного гемодиализа у матери; пациент С.Д.(1) – болезнь Кальве у сестры, хрупкость эмали по отцовской линии, онкологические заболевания по отцовской и материнской линии.

У пациентов с нонсенс-мутациями и крупными делециями в гене гистологически был верифицирован либо рак ОЩЖ, либо атипичная аденома ОЩЖ. Следует отметить, что, как уже упоминалось выше, дифференциальная диагностика между раком и атипичной аденомой ОЩЖ часто бывает затруднена в связи с отсутствием разработанных общепринятых гистологических и иммуногистохимических критериев. Учитывая, что нонсенс-мутации и крупные делеции приводят к грубым нарушениям структуры и, наиболее вероятно, функции белка, можно предположить, что развитие атипичных аденом и рака ОЩЖ связано с грубым нарушением структуры парафибромина. У всех пятерых пациентов отмечалось значительное повышение уровня ПТГ и выраженная гиперкальциемия, а также тяжелое поражение скелета – проявления фиброзно-кистозной остеодистрофии. У всех пятерых пациентов дебют ПГПТ возник в возрасте до 30 лет.

Однако, как было указано выше, в группе пациентов со спорадическим ПГПТ также были 2 пациента с раком ОЩЖ и 1 пациентка с атипичной аденомой ОЩЖ, а также пациенты с солитарной аденомой ОЩЖ и тяжелой фиброзно-кистозной остеодистрофией. В целом, из 8 включенных в исследование пациентов с раком ОЩЖ или атипичной аденомой ОЩЖ, мутации в гене *CDC73* были выявлены в 62,5% (5/8, ДИ [24,5%;91,5%]), у трех пациентов мутации выявлены не были (3/8, 37,5%, ДИ [8,5%;75,5%]). При сравнении ДИ относительных частот рака или атипичной аденомы ОЩЖ между спорадическим ПГПТ (6,9%, ДИ [1,5%;19,1%]) и НРТ-ЈТ (83,3%, ДИ [35,9%;99,6%]) выявлено, что рак ОЩЖ или атипичные аденомы ОЩЖ встречаются статистически значимо чаще при НРТ-ЈТ.

Пациентка М.Е.(1) была самой молодой пациенткой с раком ОЩЖ в нашем исследовании, а также единственной пациенткой с мутацией в *CDC73* из семьи с FHP (Семья М, раздел 3.3.5). Кроме того, в литературе описаний клинических случаев детей с раком ОЩЖ крайне мало [60, 91], в связи с чем приводим описание клинического случая.

У пациентки М.Е.(1) с 12 лет отмечалась прогрессирующая вальгусная деформация коленных суставов. В возрасте 14 лет впервые обследована в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, где выявлено повышение уровня ПТГ – 1550 пг/мл, кальция

общего – 3,57 ммоль/л, кальция ионизированного – 1,58 ммоль/л. При УЗИ ОЩЖ – образование правой нижней ОЩЖ 2,7x2,6x1,9 см. Интраоперационно заподозрен рак ОЩЖ, подтвержденный по данным интраоперационной биопсии, выполнено удаление образования правой нижней ОЩЖ, экстрафасциальная тиреоидэктомия, центральная лимфаденэктомия. При плановом гистологическом заключении – опухолевый узел имеет строение рака ОЩЖ с инфильтрирующим ростом в капсулу опухоли и прилежащую к ней жировую ткань, прорастанием в просветы синусоидов, наличием опухолевых комплексов в просветах отдельных вен. В течение 5 лет после операции у пациентки сохраняется ремиссия ПГПТ. При пересмотре архивного материала при проведении ИГХ индекс Ki-67 составил 9% (рис. 20). В связи с выявлением рака ОЩЖ у пациентки молодого возраста была обследована ее мать, у которой также был выявлен ПГПТ (табл. 16, раздел 3.3.5), что подтверждало диагноз F1NP.

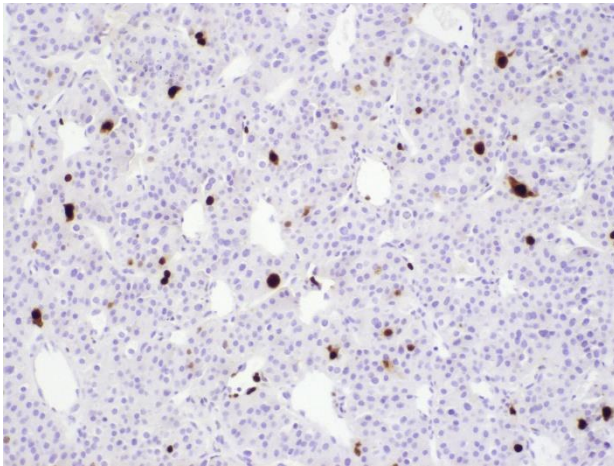


Рисунок 20. ИГХ исследование рака ОЩЖ пациентки М.Е.(1): индекс Ki-67 – 9% (x400).

Клинический случай пациентки Д.Е. как единственной пациентки с миссенс-мутацией в гене *CDC73* и гистологическим заключением о наличии солитарной гиперплазии ОЩЖ рассмотрен отдельно.

У пациентки Д.Е. гиперкальциемия была выявлена в 30 лет при обследовании по поводу артериальной гипертензии: кальций общий 2,94 ммоль/л, кальций ионизированный 1,24 ммоль/л, ПТГ 125,1 пг/мл. При УЗИ выявлена аденома правой нижней ОЩЖ 1,2x0,6x0,6 см, диагностирована мягкая форма ПГПТ. Одновременно с ПГПТ был диагностирован Т3-тиреотоксикоз (тиреотропный гормон (ТТГ) 0,018 мМЕ/л (0,25-3,5), св. Т4 19,1 пмоль/л (9-20), св. Т3 6,3 пмоль/л (2,5-5,5), щитовидная железа при УЗИ неоднородной структуры, умеренно пониженной эхогенности, васкуляризация умеренно усилена, объем 10,1 мл), по поводу чего перед операцией назначались тиреостатики. Интраоперационно было заподозрено

множественное поражение ОЩЖ: у нижнего полюса правой доли – образование размером около 1,0 см – правая нижняя ОЩЖ, за средней третью правой доли – образование аденоматозного вида размером 1,0x0,5 см – правая верхняя ОЩЖ, за гортанью слева образование размером около 1,0x0,6 см – аденома левой верхней ОЩЖ, в проекции нижнего полюса левой доли – образование размером 1,0x0,5 см – аденома левой нижней ОЩЖ. Таким образом, больной выполнена тиреоидэктомия, тотальная ПТЭ, аутотрансплантация двух фрагментов левой верхней ОЩЖ в мышцу правого предплечья. Однако по данным гистологического заключения в ходе операции была удалена только 1 гиперплазированная ОЩЖ: среди присланных фрагментов – ОЩЖ с признаками гиперплазии за счет главных светлых клеток (рис. 21); среди жировой клетчатки лимфоузлы с признаками реактивной гиперплазии; 2 лимфоузла с признаками реактивной гиперплазии; зрелая жировая ткань; диффузный пролиферирующий коллоидный зоб. Спустя 4 года после операции сохраняются нормальные показатели фосфорно-кальциевого обмена. Семейный анамнез у пациентки не отягощен.

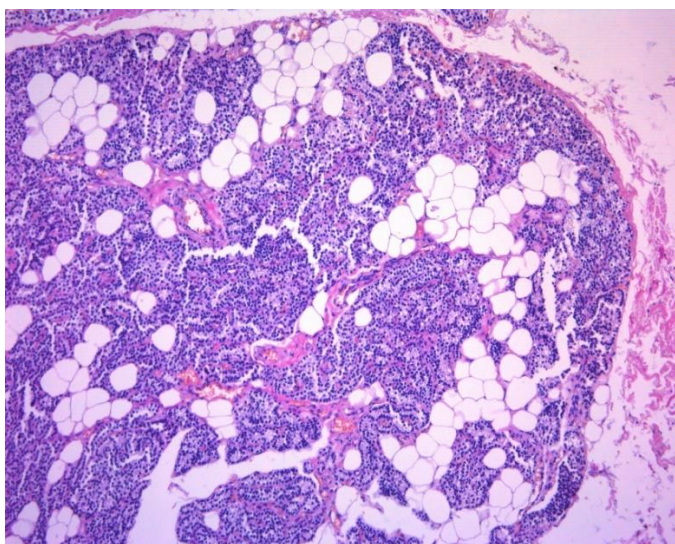


Рисунок 21. Гиперплазия ОЩЖ пациентки Д.Е. (Г-Э, x100).

3.3.3 Пациентка с мутацией в CASR

В нашем исследовании только у одной пациентки была выявлена гетерозиготная нонсенс-мутация в гене *CASR*, в связи с чем мы приводим описание единичного клинического случая.

У пациентки М.Е.(2) в 14 лет был выявлен сахарный диабет 1 типа на фоне типичной клинической картины, назначена инсулинотерапия. В этом же возрасте был выявлен первичный гипотиреоз в исходе аутоиммунного тиреоидита, назначена заместительная

терапия левотироксином натрия. Во время очередной госпитализации по поводу сахарного диабета в возрасте 23 лет при случайном определении уровня кальция крови была выявлена гиперкальциемия (кальций общий 3,01 ммоль/л, кальций ионизированный 1,33 ммоль/л), гипофосфатемия 0,81 ммоль/л, при повторном измерении вышеперечисленных показателей – 2,96 ммоль/л, 1,36 ммоль/л, 0,7 ммоль/л, соответственно. Также выявлено повышение уровня ПТГ – 147,6 пг/мл, что подтверждало диагноз ПГПТ. В суточной моче уровень кальция составил 5,51 ммоль/сут (2,5-8), креатинина – 9600 мкмоль/сут (5300-15900), UCCR – 0,0116. При УЗИ ОЩЖ было выявлено образование левой нижней ОЩЖ размерами 1,1x0,4x0,6 см, подтвержденное в дальнейшем данными сцинтиграфии. При УЗИ почек, гастроскопии патологии не выявлено. По денситометрии отмечена остеопения в лучевой кости. Семейный анамнез не отягощен. Учитывая молодой возраст пациентки и выраженную гиперкальциемию было проведено удаление образования левой нижней ОЩЖ, при этом отмечалось интраоперационное снижение уровня ПТГ со 104,6 пг/мл до 16,2 пг/мл через 15 минут. В послеоперационном периоде развилась гипокальциемия, потребовавшая назначения 2 мкг альфакальцидола и 1500 мг карбоната кальция в сутки, которую пациентка принимала в течение последующих 4 лет. После отмены терапии препаратами кальция и активными метаболитами витамина D в течение 2 лет сохраняется нормокальциемия и нормальный уровень ПТГ. В последующем в возрасте 29 лет у пациентки была диагностирована целиакия на основании соответствующей клинической картины, повышения уровня антител к эндомизию (IgA, IgG), тканевой трансглутаминазе (IgA), деамидированным пептидам глиадина (IgA, IgG). Таким образом, клинический случай интересен сочетанием аутоиммунной патологии (сахарный диабет 1 типа, аутоиммунный тиреоидит, целиакия) и ПГПТ при наличии гетерозиготной мутации в CASR.

3.3.4 Особенности ПГПТ как первого проявления генетически подтвержденного синдрома МЭН-1

Результаты секвенирования гена *MEN1* по Сэнгеру в группе 2 представлены в таблице 13.

В итоге общее количество пациентов с ПГПТ как первым проявлением синдрома МЭН-1, с учетом пациента Ч.С. из группы 1, в нашем исследовании составило 11 человек (11/65, 16,9%). Из 11 мутаций 2 были нонсенс-мутации, 2 – мутации со сдвигом рамки считывания, 3 – сплайсинговые мутации (2 – одинаковые у неродственных пациентов), 4 – миссенс-мутации.

Из них 7 мутаций были ранее описаны в литературе, 4 – не были найдены нами в литературе и в базе данных HGMD на момент окончания исследования.

Гетерозиготная замена в экзоне 9 с.1252G>A (p.Asp418Asn) (rs104894264) была выявлена у пробанда из семьи с ГИР (пациент О.Р., семья О., табл. 16, раздел 3.3.5). Указанная замена была ранее описана в литературе у пациентов с классическим синдромом МЭН-1 [19], а также у пациентов с МЭН-1 и раком ОЦЖ [140], предсказана патогенной по *in silico* алгоритмам, не встречается в выборке ExAC, и поэтому нами она была рассмотрена как патогенный вариант.

Таблица 13. Результаты секвенирования гена *MEN1* по Сэнгеру в группе 2.

№	Пациент	Пол	Положение в кДНК	Замена аминокислоты	Экзон	Тип мутации	Описание в литературе	Частота аллеля, %
1	Г.О.	ж	c.247_250delCTGT	p.Thr85SerfsTer33	2	Со сдвигом рамки считывания	Не описана	Н/д
2	К.А.	ж	c.628_631delACAG	p.Ser210fsTer222	3	Со сдвигом рамки считывания	[36]	Н/д
3	А.В.	ж	c.654+1G>A	–	Инtron 3	Сплайсинговая	[58]	Н/д
4	К.Г.	ж	c.654+1G>A	–	Инtron 3	Сплайсинговая	[58]	Н/д
5	Г.С.	ж	c.658T>C	p.Trp220Arg	4	Миссенс	Не описана	Н/д
6	Ч.Е.	ж	c.719_720TG>AA	p.Val240Glu	4	Миссенс	Не описана	Н/д
7	Т.Ю.	ж	c.728T>A	p.Ile243Asn	4	Миссенс	Не описана	Н/д
8	З.С.	ж	c.923C>G	p.Ser308*	7	Нонсенс	[86]	Н/д
9	М.И.	ж	c.1243C>T	p.Arg415*	9	Нонсенс	[83]	Н/д
10	О.Р.	м	c.1252G>A	p.Asp418Asn	9	Миссенс	[19]	Н/д

Примечания: м – мужской пол, ж – женский пол, н/д – нет данных.

Среди 11 пациентов было 9 женщин и 2 мужчин (соотношение 4,5:1). Средний возраст на момент дебюта ПГПТ составил 26 лет [18; 31] (14; 38). Клинико-лабораторные особенности ПГПТ как первого проявления генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 представлены в таблице 14.

У 4 пациентов (О.Р., М.И., К.А., Г.О.) (4/11, 36,4%) ПГПТ был диагностирован при обследовании по поводу рецидивирующей мочекаменной болезни, у 1 (Ч.Е.) (1/11, 9,1%) – по поводу злокачественной опухоли альвеолярного отростка нижней челюсти, у 4 (А.В., Т.Ю., Г.С., Ч.С.) (4/11, 36,3%) – случайно при обследовании по поводу других состояний (у 2 по поводу выявления «узлов» в щитовидной железе, у 1 при обследовании по поводу тахикардии, у 1 – по поводу болей в суставах). Два пациента (З.С. и К.Г.) (2/11, 18,2%) с мягкой формой ПГПТ были обследованы прицельно в связи либо с наличием генетически подтвержденного МЭН-1 у одного из родителей, либо наличием гиперкальциемии у родственников первой линии родства, соответственно.

ПГПТ как первый компонент МЭН-1 в 6/11 (54,5%) случаев был представлен мягкими формами и в 5/11 (45,5%) – манифестными формами, при этом рецидивирующий НЛ встречался в 4/11 (36,4%) случаев. Только у одной пациентки (Г.О.) (1/11, 9,1%) было отмечено тяжелое поражение скелета в виде фиброзно-кистозной остеодистрофии. Как видно из таблицы 14 пациентов с МЭН-1 отличала исходная гетерогенность, связанная с отличием в количестве проведенных оперативных вмешательств, а также у некоторых пациентов отсутствовали данные первоначальных показателей фосфорно-кальциевого обмена в связи с проведением первичного вмешательства в другом учреждении (К.А.), либо до 1990 г. (Г.О.). При сборе семейного анамнеза только у одного пациента (Ч.С.) анамнез отягощен не был (1/11, 9,1%, ДИ [0,2%;41,3%]). У всех остальных пациентов (10/11, 90,9%, ДИ [58,7%;99,8%]) наблюдался отягощенный семейный анамнез: один пациент (О.Р.) был из семьи с ФНП, у 2 (Г.С. и Г.О.) – наличие клинического синдрома МЭН-1 у родственника первой линии родства, у 1 (З.С.) – наличие генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 у родственника первой линии родства, у 1 (К.Г.) – данные о гиперкальциемии у родственников первой линии родства, у четырех пациентов семейный анамнез был отягощен по онкологическим заболеваниям (Т.Ю., М.И., А.В., К.А.). Ни у кого из пациентов с МЭН-1 в целом по результатам гистологического исследования не было выявлено рака ОЩЖ или атипичных аденом ОЩЖ.

Данные об объеме хирургического лечения и результатах морфологического исследования представлены в таблице 14.

Таблица 14. Клинические особенности ПГПТ как первого проявления генетически подтвержденного МЭН-1.

№	Пациент	Пол	Возраст дебюта ПГПТ, лет	ПТГ, пг/мл	Са общий, ммоль/л	Са ²⁺ , ммоль/л	Форма ПГПТ	Оперативное лечение	Гистологическое заключение	Наличие персистенции ПГПТ
1	Г.О.	ж	20	Исходно н/д	Исходно н/д	Исходно н/д	Манифестная (смешанная)	Трижды ПТЭ	Гиперплазия ОЩЖ	Да
2	К.А.	ж	18	177,1	Исходно н/д	Исходно н/д	Манифестная (висцеральная)	Дважды ПТЭ	Гиперплазия ОЩЖ	Да
3	А.В.	ж	14	114,2	2,97	1,31	Мягкая	ПТЭ	Аденома ОЩЖ	Да
4	К.Г.	ж	26	187,6	2,64	1,61	Мягкая	Субтотальная ПТЭ	Гиперплазия 3-х ОЩЖ	Нет (п/о)
5	Г.С.	ж	38	136,9	3,04	1,58	Мягкая	Трижды ПТЭ	Гиперплазия ОЩЖ	Нет
6	Ч.Е.	ж	26	674,6	3,32	1,54	Манифестная (костная)	Дважды ПТЭ	Аденомы ОЩЖ, гиперплазия ОЩЖ	Нет
7	Т.Ю.	ж	31	285,8	2,9	1,37	Мягкая	ПТЭ	Аденома ОЩЖ	Да
8	З.С.	ж	14	153,3	2,61	1,22	Мягкая	ПТЭ	Аденома ОЩЖ	Нет (п/о)
9	М.И.	ж	31	250,1	2,65	1,24	Манифестная (висцеральная)	Дважды ПТЭ	Аденомы ОЩЖ	Да
10	О.Р.	м	27	126,3	2,86	1,27	Манифестная (висцеральная)	ПТЭ	Аденома ОЩЖ	Да
11	Ч.С.	м	20	91,8	2,78	1,32	Мягкая	ПТЭ	Аденома ОЩЖ	Да

п/о – ранний послеоперационный период

Судить о развитии послеоперационной ремиссии сложно ввиду различного объема и количества проведенных операций у пациентов, однако у большинства имелись данные о персистенции заболевания на момент проведения исследования (7/11, 63,6%, ДИ [30,8%; 89,1%]), тогда как у 4 пациентов имелись данные о нормализации показателей фосфорно-кальциевого обмена в раннем послеоперационном периоде (4/11, 36,4%, ДИ [10,9%; 69,21%]).

Помимо ПППТ на момент включения в исследование у 7 пациентов были подтверждены АГ, НЭО ПЖ и другие опухоли, диагностированных после выявления ПППТ. Клиническая характеристика пациентов представлена в таблице 15. У 5 (5/11, 45,5%) имелись данные о наличии АГ: 3 пролактин (ПРЛ)-секретирующие, 1 АКТГ/ПРЛ-секретирующая, 1 гормонально неактивная микроаденома гипофиза. У 4 (4/11, 36,4%) имелись данные о наличии гастроэнтеропанкреатических НЭО: в 1 случае множественные гастриномы, в 3 случаях – множественные гормонально неактивные НЭО ПЖ. У 4 пациентов имелись гормонально-неактивные образования надпочечников, у 1 пациентки – папиллярный рак щитовидной железы в анамнезе.

Таблица 15. Клиническая характеристика пациентов с генетически подтвержденным МЭН-1.

№	Пациент	Пол	Мутация		Другие проявления МЭН-1		
			Название	Экзон	АГ**	НЭО ПЖ**	Другое
1	Г.О.	ж	p.Thr85SerfsTer33	2	ПРЛ; макро	Нет	ГН образование НП
2	К.А.	ж	p.Ser210fsTer222	3	ПРЛ; микро	ГН; множ	Нет
3	А.В.	ж	c.654+1G>A	Интрон 3	Нет	ГН?; множ	Нет
4	К.Г.	ж	c.654+1G>A	Интрон 3	Нет	Н/д	Нет
5	Г.С.	ж	p.Trp220Arg	4	Нет	ГН; множ	ГН образование НП, папиллярный рак ЩЖ
6	Ч.Е.	ж	p.Val240Glu	4	АКТ/ПРЛ; микро	Гастрономы; множ	ГН образование НП, гемангиома печени
7	Т.Ю.	ж	p.Phe243Asn	4	ГНАГ; микро	Нет	Нет
11	Ч.С.	м	c.784-9G>A	Интрон 4	Нет	Нет	Нет
8	З.С.	ж	p.Ser308*	7	Нет	Нет	Нет
9	М.И.	ж	p.Arg415*	9	ПРЛ; микро	Нет	ГН образование НП
10	О.Р.	м	p.Asp418Asn	9	Нет	Нет	Нет

** – указаны тип секреции, характер роста, возраст дебюта; микро – микроаденома, макро – макроаденома, множ – множественные; АКТГ – аденокортикотропный гормон; ГН – гормонально неактивные; ГНАГ – гормонально неактивная аденома гипофиза, ПРЛ – пролактин, СТГ – гормон роста, ЩЖ – щитовидная железа. Н/д – нет данных.

3.3.5 Семьи с FHP

В целом в нашем исследовании было выявлено 5 семей с FHP (4 из группы 1 и 1 из группы 2). Примечательно, что молодые пациенты являлись пробандами только в трех семьях (семьи М., Ж. и О.), в двух семьях (П. и Ш.) ПГПТ первоначально был выявлен у родителей включенных в исследование пациентов. Следует отметить, что диагноз FHP выставлялся на основании отсутствия других эндокринных и неэндокринных опухолей, помимо ПГПТ, однако такой диагноз теоретически может быть пересмотрен при появлении других компонентов известных наследственных синдромов у кого-либо из носителей мутации в семье.

Клинические особенности семей с FHP представлены в таблице 16. Семья Ж. – единственная семья в нашем исследовании, в которой, со слов пробанда, ПГПТ был также диагностирован у матери, тети, старшей сестры, однако данные о клинических характеристиках ПГПТ у этих членов семьи отсутствуют. У первого ребенка пациентки Ж.О. была диагностирована двусторонняя ретинобластома, у второго – врожденная аномалия почек.

По результатам молекулярно-генетического исследования в двух семьях (2/5, 40%) была установлена генетическая причина заболевания: в одном случае (семья О.) – мутация в гене *MEN1*, в другом случае (семья М.) – крупная делеция в гене *CDC73*. В трех семьях (семьи П., Ш. и Ж.) патологически значимых изменений нуклеотидной последовательности во всех рассмотренных генах выявлено не было, что, вероятнее всего, свидетельствует о существовании других, еще не установленных, генов, ответственных за развитие этого состояния. Примечательно, что у трех включенных в исследование пациентов (Ж.О., Ш.М., П.Н.), у которых мутации не были выявлены, в течение 3, 6 и 7 лет после оперативного лечения, соответственно, сохраняется ремиссия ПГПТ.

Обращает внимание гетерогенность семей с FHP. У разных членов семьи могут быть и мягкие, и манифестные формы заболевания, и также варьируют показатели фосфорно-кальциевого обмена. Однако следует отметить, что в обоих генетически верифицированных случаях имелись манифестные формы заболевания у обоих членов семей. Поскольку обследование родственников первой линии родства у пациентов без выявленной генетической причины обычно не проводится, возможно, количество семей с FHP без выявленной генетической причины гораздо больше.

Таблица 16. Клиническая характеристика семей с ГИР.

	Семья М.		Семья П.		Семья Ш.		Семья Ж. ^		Семья О.	
	М.Е1.*	М.Е2.	П.Н.*	П.В.	Ш.М.*	Ш.Е.	Ж.О.*	^	О.Р.*	О.Я.
Пол	ж	ж	ж	ж	ж	ж	ж	ж	м	м
Возраст на момент дебюта ПГПТ, лет	13	40	27	58	20	45	23	Н/д	27	60
Возраст на момент хирургического лечения, ПГПТ лет	14	40	28	Не оперирована	21	47	31	Н/д	30	Не оперирован
ПТГ, пг/мл	1550	193,7	1209	126,8	109,2	82,2	478,3	Н/д	126,3	123,5
Кальций общий, ммоль/л	3,57	3,0	3,24	2,59	2,76		2,86	Н/д	2,86	2,73
Кальций ионизированный, ммоль/л	1,58	1,31	1,5	1,26	1,23	1,78	1,34	Н/д	1,27	н/д
Креатинин, мкмоль/л	65,7	117	52	54	80,3	94,6	61,2	Н/д	80,5	74,9
Фосфор, ммоль/л	-	0,7	-	0,9	0,7	0,88	0,7	Н/д	0,87	0,84
Форма ПГПТ	Манифестная	Манифестная	Манифестная	Мягкая	Мягкая	Манифестная	Мягкая	Н/д	Манифестная	Манифестная
Объем	См.	в ПТЭ	ПТЭ	Не	ПТЭ	Удалены	ПТЭ	Н/д	ПТЭ	Не

операции	тексте.			оперирована		е 2 ОЦЖ				оперирован
Гистологическое заключение	Рак ОЦЖ и гиперплазия ОЦЖ	Аденома ОЦЖ	Аденома ОЦЖ	Не оперирована	Аденома ОЦЖ	1 аденома ОЦЖ и 1 гиперплазия ОЦЖ	Аденома ОЦЖ	Н/д	Аденома ОЦЖ	Не оперирован
Молекулярно-генетическое исследование	Делеция всего гена <i>CDC73</i>	Не проводилось	Не выявлено	Не проводилось	Не выявлено	Не проводилось	Не выявлено	Не проводилось	<i>MEN1</i>	<i>MEN1</i>

* – пациенты, включенные в исследование. ^ - см. описание в тексте. Н/д – нет данных.

3.3.6 Отличительные особенности спорадического ПГПТ и ПГПТ в рамках наследственных синдромов

С целью выявления возможных характерных особенностей ПГПТ в рамках наследственных синдромов в отличие от спорадического ПГПТ у пациентов молодого возраста нами был проведен сравнительный анализ клинических, анамнестических, морфологических и лабораторных данных пациентов из различных подгрупп нашего исследования. Следует отметить, что количество пациентов в группах с выявленными мутациями было значительно меньше, чем в группе спорадического ПГПТ, что могло повлиять на выявление закономерностей.

При сравнении групп спорадического ПГПТ (n=44) и ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ (n=6) нами была выявлена достоверная разница между уровнями ПТГ ($p=0,017$) и уровнем общего кальция ($p=0,002$) (рис. 22), однако по возрасту манифестации группы не отличались.

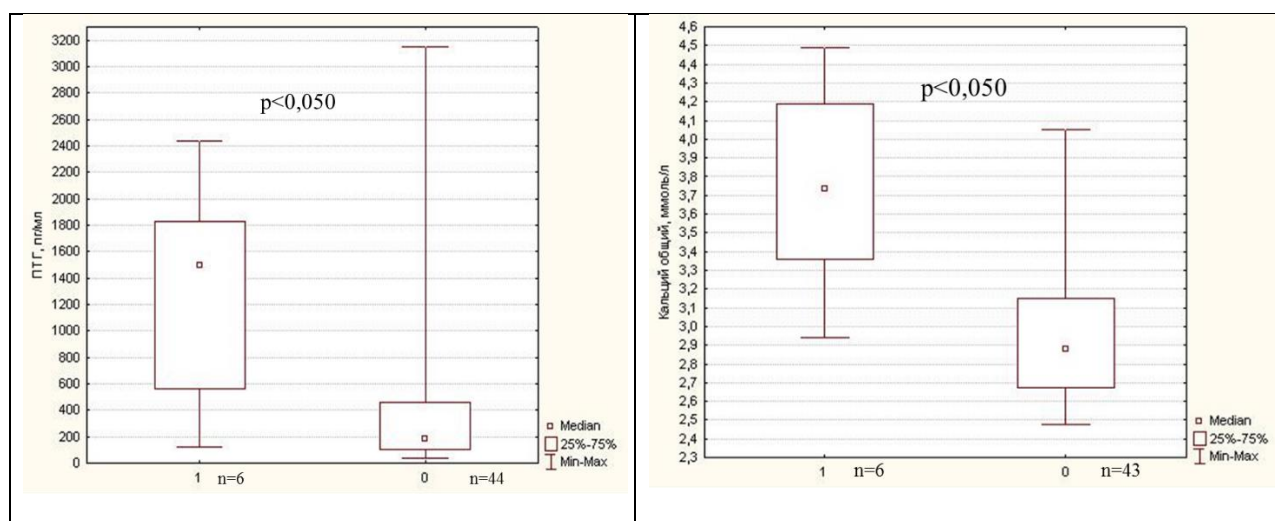


Рисунок 22. Показатели ПТГ и общего кальция в группах спорадического ПГПТ (0) и ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ (1).

При выделении среди пациентов со спорадическим ПГПТ подгруппы из 11 человек с тяжелой фиброзно-кистозной остео дистрофией и сравнении ее с пятью пациентами с генетически подтвержденным НРТ-ЖТ и тяжелым течением ПГПТ, нами не было выявлено статистически значимых различий по возрасту манифестации, уровню ПТГ, однако отмечалась статистическая тенденция к более высокому уровню общего кальция в группе пациентов с НРТ-ЖТ ($p=0,050$) (рис. 23).

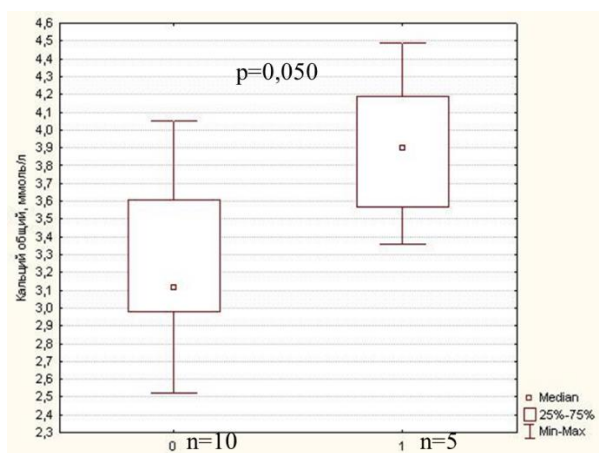


Рисунок 23. Показатели общего кальция в группах sporadicкого ППТ с тяжелой фиброзно-кистозной остеодистрофией (0) и в группе НРТ-ЖТ (1).

Пациенты с НРТ-ЖТ достоверно чаще имели гистологический диагноз рака ОЦЖ или атипичной аденомы ОЦЖ по сравнению с пациентами со sporadicким ППТ (таблица 17).

Таблица 17. Сравнение качественных показателей в подгруппах sporadicкого ППТ и НРТ-ЖТ.

Показатель	Сporadicкий ППТ (n=43)	НРТ-ЖТ (n=6)	Двусторонний точный критерий Фишера, p
Рак ОЦЖ или атипичная аденома ОЦЖ	3	5	0,0002
Не рак ОЦЖ, не атипичная аденома ОЦЖ	40	1	
Мягкие формы			
Мягкие формы	16	1	0,650
Манифестные формы	28	5	
Отягощенный семейный анамнез			
Отягощенный семейный анамнез	5	3	0,076
Неотягощенный семейный анамнез	39	3	

Таким образом, пациенты с НРТ-ЖТ имеют более высокие показатели ПТГ, общего кальция, и чаще имеют гистологическое заключение рака ОЩЖ или атипичной аденомы ОЩЖ по сравнению со спорадическим ПГПТ.

Сравнение группы пациентов с ПГПТ как первым компонентом генетически подтвержденного МЭН-1 со спорадическим ПГПТ затрудняла исходная гетерогенность этой группы: у большинства пациентов на момент исследования было проведено более, чем одна ПТЭ, в связи с отсутствием ремиссии заболевания. Тем не менее, по результатам сравнения групп пациенты достоверно не отличались по уровням ПТГ, кальция общего и возрасту манифестации ПГПТ. Пациенты с ПГПТ в рамках МЭН-1 статистически значимо чаще имелиотягощенный семейный анамнез и у них чаще имелась персистенция ПГПТ (таблица 18). Сравнение данных гистологического заключения нам не представлялось возможным ввиду наличия множественных ПТЭ в группе МЭН-1. При сравнении по частоте мягких и манифестных форм нами также не были выявлены статистически достоверные различия.

Таблица 18. Сравнение качественных показателей в подгруппах спорадического ПГПТ и МЭН-1.

Показатель	Спорадический ПГПТ	МЭН-1	Двусторонний точный критерий Фишера, р
Ремиссия ПГПТ	43	4	<0,001
Персистенция ПГПТ	0	7	
Отягощенный семейный анамнез	5	10	<0,001
Неотягощенный семейный анамнез	39	1	

Таким образом, пациенты с ПГПТ как первым проявлением МЭН-1 отличаются частой персистенцией ПГПТ после хирургического лечения и частым отягощенным семейным анамнезом. Однако дизайн нашего исследования не позволил выявить предикторы, которые могли бы указывать на наличие синдрома МЭН-1 у пациента

молодого возраста с впервые выявленным ПГПТ, помимо наличия отягощенного семейного анамнеза.

Сравнение пациентов из семей с ГИНР без установленной генетической причины нам не представлялось возможным в связи с крайне малой выборкой пациентов.

Таким образом, по результатам нашего исследования было установлено, что в около 1/3 случаев ПГПТ, дебютировавший в возрасте до 40 лет, является компонентом одного из известных наследственных синдромов или ГИНР без установленной генетической причины. Сравнение подгрупп, сформированных по результатам молекулярно-генетического исследования, позволило выявить некоторые характерные особенности. Для спорадического ПГПТ в структуре гистологических диагнозов преобладали солитарные аденомы ОЩЖ. Для ПГПТ в рамках НРТ-ГТ в целом характерно агрессивное течение и наличие гистологического диагноза рака ОЩЖ или атипичной аденомы ОЩЖ. Для ПГПТ как первого проявления МЭН-1 характерна персистенция ПГПТ после хирургического лечения и достоверно более частое наличие данных об отягощенном семейном анамнезе.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ И ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Последние десятилетия ПГПТ занял третье место в мире по распространенности среди эндокринных заболеваний после сахарного диабета и заболеваний щитовидной железы [6, 9]. При этом существует ряд хорошо изученных особенностей ПГПТ. Так, в последние 30 лет ПГПТ наиболее часто диагностируют у женщин в постменопаузе, в большинстве случаев ПГПТ является спорадическим заболеванием и обусловлен солитарной аденомой ОЩЖ, в большинстве случаев ПГПТ выявляют на стадии мягких форм [2].

В то же время в большинстве исследований, посвященных особенностям ПГПТ у пациентов молодого возраста, отмечается, что у них ПГПТ чаще бывает манифестным, чаще встречается НЛ, тяжелое поражения костей, панкреатит, гиперкальциемические кризы [15, 113]. Однако низкая частота выявления мягких форм ПГПТ у молодых пациентов по сравнению с пациентами старшего возраста может объясняться отсутствием рутинного определения у них уровня кальция в крови, особенно при наличии неспецифических жалоб. Примечательно, что ПГПТ у молодых пациентов также чаще обусловлен солитарной аденомой ОЩЖ [15, 113]. В большинстве исследований, посвященных описанию особенностей ПГПТ у пациентов молодого возраста, не проводилось молекулярно-генетического исследования с целью разделения спорадического и наследственного ПГПТ. В связи с вышеперечисленным цель нашей работы заключалась в изучении спорадических и наследственных форм ПГПТ и их характерных особенностей среди лиц с дебютом заболевания в возрасте до 40 лет.

Проведенное нами молекулярно-генетическое исследование позволило выделить группы спорадического ПГПТ и ПГПТ как первого проявления некоторых наследственных синдромов у пациентов молодого возраста. В целом, наследственный ПГПТ у пациентов моложе 40 лет был выявлен нами в 32,3% случаев, спорадический ПГПТ – в 67,7%. Выявленная частота наследственных форм ПГПТ превышает таковую в исследовании L.F. Starker [124], составившую 9,3% при клинически спорадическим ПГПТ и 23,5% при суммировании с пациентами, диагностированными рутинно при клиническом обследовании. Однако в указанном исследовании включались пациенты с синдромом МЭН-2А, не учитывались пациенты с FHP без установленной генетической причины, а также не было указано, каким по счету проявлением наследственных синдромов был ПГПТ. Процентное соотношение наследственных синдромов также несколько отличалось в нашем исследовании: 17% – МЭН-1, 9,2% – НРТ-JT, 4,6% – FHP без установленной

генетической причины и 1,5% – гетерозиготная мутация в *CASR* (FHH?) (рис. 24) (для сравнения в исследовании L.F. Starker 4,64% – МЭН-1, 3,48% – FHH, 1,16 – НРТ-JT в когорте 86 клинически спорадических ПГПТ и 14,7% – МЭН-1, 3,9% – МЭН-2А, 2,9% – FHH, 2% – НРТ-JT всего среди всех молодых пациентов [124]).

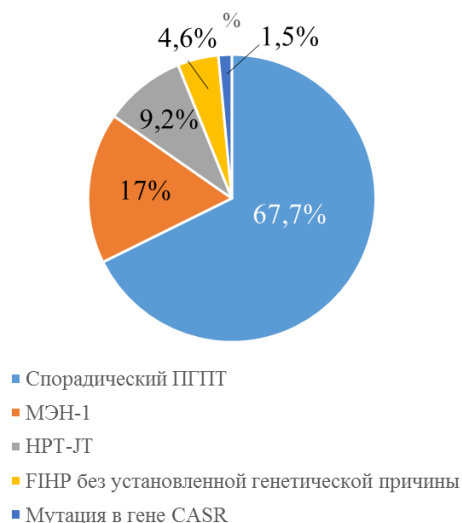


Рисунок 24. Соотношение наследственных форм ПГПТ и спорадического ПГПТ в нашем исследовании.

Исследование клинико-лабораторных особенностей спорадического ПГПТ у пациентов молодого возраста, в целом, совпадает с результатами зарубежных исследований [15, 113]. Соотношение женщин и мужчин составляет около 2:1, что соответствует данным литературы о том, что это соотношение постепенно увеличивается с возрастом и составляет около 1:1 среди детей и подростков, и увеличивается до 3:1 к возрасту 50-60 лет. У лиц молодого возраста чаще встречаются манифестные формы заболевания (в нашем исследовании 63,6%), чаще при гистологическом исследовании выявляют солитарную аденому ОЩЖ (в нашем исследовании 81,4%). Кроме того, результаты нашего исследования продемонстрировали, что выявление солитарной гиперплазии ОЩЖ, а также наличие нескольких аденом ОЩЖ может встречаться при спорадическом ПГПТ. При спорадическом ПГПТ может встречаться рак ОЩЖ или атипичная аденома ОЩЖ (суммарно 7%). Также отмечено, что у большинства пациентов со спорадическим ПГПТ (39/44, 88,6%) нет подозрения на отягощенный семейный анамнез.

В нашем исследовании частота рака и атипичных аденом ОЩЖ была выше, чем в исследованиях, где не проводились деления пациентов на возрастные группы: 6/65, 9,2% -

рак ОЩЖ, 2/65, 3,1% - атипичные аденомы ОЩЖ, суммарно 12,3%, тогда как по данным зарубежных и отечественных исследований частота рака ОЩЖ при ПГПТ составляет 1-5% [116]. Кроме того, в зарубежных исследованиях, посвященных описанию особенностей ПГПТ у пациентов молодого возраста, мы не встретили описания более частой встречаемости рака ОЩЖ в этой категории, за исключением исследования Nicholson KJ и коллег [102]. Тем не менее, в цели нашего исследования не входило сравнение клиничко-лабораторных показателей с пациентами старших возрастных групп, в связи с чем невозможно говорить о статистической достоверности выявленного наблюдения.

Результаты нашего исследования демонстрируют высокую распространенность мутаций в гене *CDC73* среди пациентов молодого возраста, преимущественно за счет пациентов с раком ОЩЖ или атипичной аденомой ОЩЖ. В целом синдром НРТ-ЖТ был выявлен в 5 из 8 (62,5%) случаев рака или атипичных аденом ОЩЖ. У большинства пациентов с НРТ-ЖТ ПГПТ дебютировал в возрасте до 30 лет (83,3%) и имел агрессивное течение. Однако агрессивное течение ПГПТ, а именно наличие тяжелой ФКД, само по себе позволяет лишь заподозрить наличие НРТ-ЖТ, и более достоверным показателем в данном случае будет результат гистологического исследования послеоперационного материала (наличие атипичной аденомы или рака ОЩЖ). Ни у кого из пациентов с НРТ-ЖТ в нашем исследовании не было выявлено опухолей челюсти или опухолей почек. В целом, известно, что указанные образования встречаются реже при НРТ-ЖТ по сравнению с ПГПТ, однако данные об их возраст-зависимой пенетрантности в литературе отсутствуют. Также в нашей работе описан случай ребенка с раком ОЩЖ в рамках НРТ-ЖТ, что встречается крайне редко [15, 115].

Ген *CDC73* состоит из 17 экзонов [31]. По данным литературы наиболее часто мутации выявляются в экзонах 1, 2 и 7, поэтому в литературе предлагается начинать исследование гена с экзонов 1-7, и при отсутствии выявления мутаций продолжить анализ оставшихся экзонов [145]. Тем не менее проведение NGS может быть оправдано не только в связи со снижением трудозатрат при сравнении с последовательным секвенированием всех экзонов протяженного гена по Сэнгеру, но и в связи с тем, что NGS позволяет косвенно заподозрить крупные делеции гена с помощью *in silico* алгоритмов и прицельно проводить MLPA только пациентам, подозрительным на их наличие. В нашем исследовании впервые в России были выявлены мутации в гене *CDC73*, в том числе 3 мутации, не описанные в литературе, а также две крупные делеции в гене.

В целом, для НРТ-ЖТ по данным литературы не были выявлены корреляции генотип-фенотип, однако в ряде работ было отмечено, что миссенс-мутации более вероятно ассоциированы с ГИНР, тогда как мутации, приводящие к грубым нарушениям структуры парафибромина, более вероятно ассоциированы с классическим фенотипом синдрома НРТ-ЖТ. По данным литературы семьи с ГИНР имеют большее соотношение миссенс-мутаций к нонсенс-мутациям/мутациям со сдвигом рамки считывания по сравнению с семьями с НРТ-ЖТ [33, 72, 77, 101, 104, 108, 111, 121, 124]. В нашем исследовании у всех пациентов с нонсенс-мутациями и крупными делециями гена имелся либо рак ОЩЖ, либо атипичная аденома ОЩЖ. В единственном случае пациентки с миссенс-мутацией была выявлена солитарная гиперплазия ОЩЖ. Нонсенс-мутации, приводящие к преждевременной терминации трансляции и синтезу укороченного белка, теоретически в большей степени могут влиять на его функцию. Однако количество выявленных случаев НРТ-ЖТ в нашем исследовании невелико, в связи с чем проведение корреляций генотип-фенотип представляется нерепрезентативным. Наши результаты согласуются с данными литературы, что всем пациентам с раком ОЩЖ или атипичной аденомой ОЩЖ показано проведение молекулярно-генетического исследования с целью исключения герминальных мутаций в гене *CDC73*.

Мы выявили единственную пациентку с герминальной гетерозиготной мутацией в гене *CASR*. Указанная мутация была рассмотрена нами как вероятно патогенная, однако нельзя исключить, что ее расположение в С-концевом домене CaSR может не влиять на функцию рецептора. В целом, по сравнению с внеклеточным доменом и трансмембранным доменом CaSR мутации в С-концевом хвосте, состоящим из 216 аминокислот, встречаются значительно реже, и этот домен является наименее консервативным у разных видов [92]. Однако несколько его участков (аминокислоты 863-925 и 960-984) являются консервативными, первый участок важен для экспрессии рецептора на поверхности клеток и биологической активности рецептора, тогда как второй связывается с белками [92]. Также в этом домене имеются 3 сайта для фосфорилирования протеинкиназой С – Thr888, Ser895 и Ser915 [92], но все они расположены проксимальнее выявленной нами мутации. После оперативного вмешательства у пациентки в течение длительного времени сохранялась нормокальциемия и нормальный уровень ПТГ, что не согласуется с типичным фенотипом ГИНР. Тем не менее отсутствие данных о ее распространенности в популяции и результаты предсказательных *in silico* алгоритмов свидетельствуют в пользу патогенности варианта, однако окончательное заключение можно сделать только на основании измерения

внутриклеточной концентрации кальция в ответ на изменения внеклеточной концентрации кальция в клетках, трансфецированных мутантным и дикими аллелями, что не входило в задачи нашего исследования.

В литературе имеются описания единичных клинических случаев сочетания ПГПТ и ФНН, при этом мутации располагались как во внеклеточном домене (R220P [48], R25X, E250K [54]), гомозиготная мутация P339T [65], так и во внутриклеточном С-концевом домене (Q926R [54], F881L [29]), однако является ли это случайным сочетанием или между двумя заболеваниями имеется причинно-следственная связь, неясно. Примечательно, что в вышеперечисленных исследованиях ПГПТ у пациентов с мутациями в *CASR* диагностировали чаще в возрасте 50-70 лет. У пациентов с мутациями R220P, R25X после удаления аденомы ОЩЖ уровень кальция оставался несколько выше верхней границе нормы, тогда как у пациентов с мутациями E250K, Q926R уровень кальция в крови нормализовался. Как уже упоминалось выше, в первой описанной семье с АДМН и мутацией F881L нормализация уровня кальция была достигнута у членов семьи, подвергшихся субтотальной ПТЭ (гистологический диагноз в 5 случаях – гиперплазия, в 2 – аденомы ОЩЖ), тогда как у 2 пациентов, которым была выполнено удаление только двух гиперплазированных ОЩЖ сохранялся повышенный уровень кальция [29].

Примечательно, что у трех пациентов с низким показателем UCCR в нашем исследовании герминальные мутации в гене *CASR* выявлены не были. Теоретически у таких пациентов возможно наличие более редких ФНН2 и ФНН3, однако их поиск не входил в цели нашего исследования и, кроме того, у всех этих пациентов нормализовались показатели кальция и ПТГ в послеоперационном периоде. Известно, что показатель UCCR $<0,01$ не всегда позволяет дифференцировать ПГПТ и ФНН, поскольку около 20% пациентов с ФНН имеют показатель UCCR $>0,01$, и около 4% пациентов с истинным ПГПТ имеют показатель UCCR $<0,01$, особенно пациенты с дефицитом витамина D и нарушением функции почек [71]. В целом, исследование гена *CASR* у всех пациентов с ПГПТ, дебютировавшем в молодом возрасте нам представляется нецелесообразным и может быть проведено только при подозрении на ФНН с целью выбора консервативной тактики ведения.

В связи с низкой частотой выявления мутаций в гене *MEN1* методом NGS в группе 1 мы предположили, что большинство пациентов с МЭН-1, наиболее вероятно, было выявлено методом прямого секвенирования по Сэнгеру ввиду наличия или отягощенного семейного анамнеза, или сопутствующих эндокринных опухолей, или возникновения истинного рецидива ПГПТ после хирургического лечения. Поэтому мы дополнительно

проанализировали базу данных пациентов с генетически подтвержденным МЭН-1, в которой были отобраны только те пациенты, у которых ПГПТ был первым проявлением синдрома и дебютировал в возрасте до 40 лет. Анализ этой подгруппы показал, что у большинства пациентов с ПГПТ как первым проявлением генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 имеются данные об отягощенном семейном анамнезе (10/11, 90,9% vs. 5/44, 11,3% при спорадическом ПГПТ и 3/6, 50% при НРТ-ЖТ). Также у этих пациентов чаще имелись данные о персистенции ПГПТ после оперативного лечения (7/11, 63,6%) по сравнению со спорадическим ПГПТ (0%) или другими наследственными синдромами. У этой подгруппы пациентов в равной степени встречались как манифестные, так и мягкие формы.

В цели нашего исследования не входило описание особенностей ПГПТ в рамках генетически подтвержденного МЭН-1 в целом, однако при анализе базы данных пациентов с генетически подтвержденным МЭН-1 (n=51), только у 13 пациентов (13/51, 25,4%) ПГПТ был первым компонентом синдрома, из них у 10 в возрасте до 40 лет. В остальных случаях синдром манифестировал АГ, НЭО ПЖ и другими опухолями. Эти данные отличаются от данных других исследований. Например, в исследовании Goudet P из 160 пациентов с МЭН-1, выявленном в возрасте до 21 года, ПГПТ был диагностирован у 122 человек, из них у 90 ПГПТ был первым проявлением синдрома (90/160, 56%) и у большинства (71/90, 79%) был выявлен при биохимическом скрининге [61]. Кроме того, мутация в гене *MEN1* была выявлена нами в одном случае ФИНР. Таким образом, по результатам нашей работы исследование гена *MEN1* представляется целесообразным при наличии отягощенного семейного анамнеза, в случаях ФИНР и при персистенции ПГПТ после хирургического лечения.

В нашей работе ни у кого из пациентов не было выявлено патогенных вариантов нуклеотидной последовательности генов ингибиторов циклин-зависимых киназ (*CDKIs*). Эти данные согласуются с данными литературе о незначительном вкладе этих генов в развитие наследственных форм ПГПТ [13].

В наше исследование вошло пять семей с ФИНР. При этом по результатам молекулярно-генетических исследований только в двух семьях (40%) была установлена генетическая причина заболевания: в одном случае – мутация в гене *MEN1*, во втором случае – крупная делеция всего гена *CDC73*. Следует отметить, что диагноз ФИНР устанавливался на основании наличия ПГПТ минимум у двух родственников из одной семьи, при этом диагноз может быть пересмотрен в дальнейшем при развитии компонентов, характерных для классических синдромов МЭН-1 и НРТ-ЖТ.

Примечательно, что в семье М. с крупной делецией всего гена *CDC73* у пробанда был рак ОЩЖ, тогда как у матери пробанда – аденома ОЩЖ. Отсутствие корреляций генотип-фенотип характерно для синдромов МЭН-1 и НРТ-ЖТ, однако причина этого феномена остается неизвестной. Отсутствие выявления мутаций в известных генах, ассоциированных с развитием наследственных форм ПГПТ, в большинстве случаев ФНР в нашем исследовании согласуется с данными литературы [34, 64, 95, 97, 119, 120, 134]. Тем не менее с целью исключения «мягких» вариантов известных синдромов молекулярно-генетическое исследование оправданно во всех случаях ФНР. Использование NGS оправдано при исследовании семей с ФНР, поскольку позволяет одновременно исследовать все известные гены-кандидаты, а также косвенно оценивать наличие крупных делеций. Также необходим поиск новых, еще не установленных генов, ответственных за развитие ФНР.

Результаты нашей работы позволили разработать алгоритм отбора пациентов с ПГПТ, дебютировавшем в молодом возрасте, для проведения молекулярно-генетического исследования (приложение, рис. 25).

ВЫВОДЫ

1. Среди пациентов с дебютом ПГПТ до 40 лет наследственные формы выявлены в 32,3% случаев. Наиболее часто встречались синдром МЭН-1 (52,4% случаев) и синдром НРТ-ЖТ (28,6% случаев).
2. А) ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ в большинстве случаев (83,3%) характеризуется наличием рака или атипичной аденомы околощитовидной железы и тяжелым, агрессивным течением. В целом, 62,5% случаев рака или атипичных аденом околощитовидных желез с дебютом до 40 лет обусловлены мутациями в гене *CDC73*.
- Б) ПГПТ как первое проявление МЭН-1 у молодых пациентов в равной мере может иметь как мягкое, так и манифестное течение, и в большинстве случаев (63,6%) характеризуется персистенцией.
3. Спорадический ПГПТ в отличие от ПГПТ в рамках НРТ-ЖТ у молодых пациентов характеризуется более низкими показателями уровня кальция и ПТГ и менее агрессивной морфологической картиной; в сравнении с синдромом МЭН-1 реже встречаетсяотягощенный семейный анамнез и персистенция заболевания.
4. Среди пациентов с дебютом ПГПТ до 40 лет молекулярно-генетическое исследование показано при персистенции ПГПТ после хирургического лечения, при наличии отягощенного семейного анамнеза, при подтвержденном диагнозе рака или атипичной аденомы околощитовидной железы, семьям с FHP.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. У всех пациентов с ПГПТ, дебютировавшем в возрасте до 40 лет, необходим тщательный сбор анамнеза заболевания и семейного анамнеза для выявления потенциальных случаев наследственных форм ПГПТ.
2. У всех пациентов с морфологическим диагнозом рака или атипичной аденомы околощитовидной железы необходимо молекулярно-генетическое исследование гена *CDC73*, при этом метод высокопроизводительного параллельного секвенирования является предпочтительным, поскольку позволяет предположить наличие крупных делеций в гене.
3. На основании результатов работы предложен алгоритм молекулярно-генетического исследования у пациентов с ПГПТ молодого возраста (приложение 1, рисунок 25, стр. 125).

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

25ОНD – 25-гидроксивитамин D, кальцидиол

АКТГ – аденокортикотропный гормон

ГН – гормонально неактивный

ГНАГ – гормонально неактивная аденома гипофиза

Г-Э – гематоксилин-эозин

ДИ – доверительный интервал

ИГХ – иммуногистохимическое исследование

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

МПК – минеральная плотность кости

МРТ – магнитно-резонансная томография

МЭН-1 – синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа

МЭН-2А – синдром множественных эндокринных неоплазий 2А типа

МЭН-4 – синдром множественных эндокринных неоплазий 4 типа

НЛ – нефролитиаз

ОЩЖ – околощитовидная железа

ПГПТ – первичный гиперпаратиреоз

ПРЛ – пролактин

ПТГ – паратиреоидный гормон, паратгормон

ПТЭ - паратиреоидэктомия

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СТГ – гормон роста

УЗИ – ультразвуковое исследование

ФКД – фиброзно-кистозная остеодистрофия

ЩЖ – щитовидная железа

ЩФ – щелочная фосфатаза

АДМН – autosomal dominant moderate (mild) hyperparathyroidism, аутосомно-доминантный мягкий гиперпаратиреоз

CaSR – кальций-чувствительный рецептор

CASR – ген, кодирующий кальций-чувствительный рецептор

CDC73 – ген, кодирующий белок парафибромин

CDKIs (*CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2*) – гены, кодирующие ингибиторы циклин-зависимых киназ

DEXA – двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия, остеоденситометрия

ФНН – семейная гипокальциурическая гиперкальциемия (familial hypocalciuric hypercalcemia)

ФИП – семейный изолированный гиперпаратиреоз (familial isolated hyperparathyroidism)

НРТ-ЖТ – синдром гиперпаратиреоза с опухолью челюсти (hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome)

MEN1 – ген, кодирующий белок менин

MLPA – мультиплексная амплификация лигазно-связанных проб (multiplex ligation-dependent probe amplification)

NGS – высокопроизводительное параллельное секвенирование (next-generation sequencing)

NSHPT – neonatal severe hyperparathyroidism, неонатальный тяжелый гиперпаратиреоз

UCCR – соотношение экскреции кальция/креатинина в суточной моче

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**Книги**

1. Николаев, О.В. Гиперпаратиреоз / О.В. Николаев, В.Н. Таркаева. — М.: Медицина, 1974. — 264 с.
2. Arnold, A. Familial primary hyperparathyroidism (including MEN, FHH and HPT-JT) / A. Arnold, S.J. Marx. // In: Rosen C.J. editor. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral metabolism. 8th ed. — Wiley-Blackwell; 2013. P. 553–561.
3. Brown, E.M. Ca²⁺-Sensing Receptor / E.M. Brown. // In: Rosen C.J. editor. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral metabolism. 8th ed. — Wiley-Blackwell; 2013. P. 224–234.
4. DeLellis, R.A. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and genetics. Tumours of endocrine organs / R.A. DeLellis, R.V. Lloyd, P.U. Heitz and C. Eng editors. — IARC Press Lyon 2004. P. 124–133.
5. Silverberg, S.J. Primary Hyperparathyroidism / S.J. Silverberg. // In: Rosen C.J. editor. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral metabolism. 8th ed. — Wiley-Blackwell; 2013. P. 543–552.

Диссертации

6. Мокрышева, Н.Г. Первичный гиперпаратиреоз. Эпидемиология, клиника, современные принципы диагностики и лечения : - дис. ... д-ра. мед. наук : 14.01.02 / Мокрышева Наталья Георгиевна. — М., 2011. — 253 С.
7. Ростомян, Л.Г. Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа: распространенность среди пациентов с первичным гиперпаратиреозом, клинические и молекулярно-генетические характеристики : - дис. ... канд. мед. наук : 14.01.02 / Ростомян Лилия Грантовна. — М., 2011. — 206 С.

Статьи

8. Витебская, А.В. Случай тяжелого неонатального гиперпаратиреоза, обусловленный дефектом кальциевого рецептора / А.В. Витебская, Е.Е. Петрайкина, А.Ю. Разумовский, А.А. Павлов, А.Н. Тюльпаков // Проблемы эндокринологии. — 2010. — Т. 56. — №4. — С. 27–33.
9. Дедов, И.И. Первичный гиперпаратиреоз: клиника, диагностика, дифференциальная диагностика, методы лечения / И.И. Дедов, Г.А. Мельниченко, Н.Г. Мокрышева, Л.Я. Рожинская, Н.С. Кузнецов, Е.А. Пигарова, А.К. Еремкина,

- Л.В. Егшатын, Е.О. Мамедова, Ю.А. Крупинова // Проблемы эндокринологии. – 2016. – Т. 62. – №6. – С. 40–77.
10. Дедов, И.И. Эпидемиология первичного гиперпаратиреоза в России (первые результаты по базе данных ФГУ ЭНЦ) / И.И. Дедов, Н.Г. Мокрышева, С.С. Мирная, Л.Г. Ростомян, Е.А. Пигарова, Л.Я. Рожинская // Проблемы эндокринологии. – 2011. – Т.57 – №3 – С. 3– 10.
 11. Милюков, В.Е. Критерии формирования возрастных групп пациентов в медицинских исследованиях / В.Е. Милюков, Т.С. Жарикова // Клиническая медицина. – 2015. – №11 (93). – С. 5–11.
 12. Рожинская, Л.Я. Эпидемиологические аспекты первичного гиперпаратиреоза в России / Л.Я. Рожинская, Л.Г. Ростомян, Н.Г. Мокрышева, С.С. Мирная, Н.О. Кирдянкина // Остеопороз и остеопатии. – 2010. – №3. – С. 13–18.
 13. Agarwal, S.K. Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in multiple endocrine neoplasia type 1 and related states / S.K. Agarwal, C.M. Mateo, S.J. Marx // J Clin Endocrinol Metab. – 2009. – Vol.94. – №5. – P. 1826–1834.
 14. Alagaratnam, S. Surgical treatment of children with hyperparathyroidism: single centre experience / S. Alagaratnam, C. Brain, H. Spoudeas, M.T. Dattani, P. Hindmarsh, J. Allgrove, W. Van't Hoff, T.R. Kurzawinski // Journal of Pediatric Surgery. – 2014. – №49. – P. 1539–1543.
 15. Alagaratnam, S. Aetiology, diagnosis and surgical treatment of primary hyperparathyroidism in children: new trends / S. Alagaratnam, T.R. Kurzawinski // Hormone research in paediatrics. – 2015. – №83. – P. 365–375.
 16. Alevizaki, M. Primary hyperparathyroidism in MEN2 syndromes / M. Alevizaki, K. Saltiki // Recent Results Cancer Res. – 2015. – Vol. 204. – P. 179–186.
 17. Au, A.Y. PTH mutation with primary hyperparathyroidism and undetectable intact PTH / A.Y. Au, K. McDonald, A. Gill, M. Sywak, T. Diamond, A.D. Conigrave, R.J. Clifton-Bligh // N Engl J Med. – 2008. – №359. – P. 1184–1186.
 18. Aziz, N. College of American Pathologists' laboratory standards for next-generation sequencing clinical tests / N. Aziz, Q. Zhao, L. Bry, D.K. Driscoll, B. Funke, J.S. Gibson, W.W. Grody, M.R. Hegde, G.A. Hoeltge, D.G. Leonard, J.D. Merker, R. Nagarajan, L.A. Palicki, R.S. Robetorye, I. Schrijver, K.E. Weck, K.V. Voelkerding // Arch Pathol Med. – 2015. – Vol. 139. – №4. – P. 481–493.
 19. Bassett, J.H. Characterization of mutations in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 / J.H. Bassett, S.A. Forbes, A.A. Pannett, S.E. Lloyd, P.T. Christie, C. Wooding,

- B. Harding, G.M. Besser, C.R. Edwards, J.P. Monson, J. Sampson, J.A. Wass, M.H. Wheeler, R.V. Thakker // *Am J Hum Genet.* – 1998. – Vol. 62. – №2. – P. 232–244.
20. Bellido, V. A novel mutation in a patient with hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome / V. Bellido, I. Larrañaga, M. Guimón, R. Martinez-Conde, A. Eguia, G. Perez de Nanclares, L. Castaño, S. Gaztambide // *Endocr Pathol.* – 2016. – Vol. 27. – №2. – P. 142–146.
21. Bhadada, S.K. Characteristics of primary hyperparathyroidism in adolescents / S.K. Bhadada, A. Bhansali, P. Dutta, A. Behera, G.V. Chanukya, B.R. Mittal // *J Pediatr Endocrinol Metab.* – 2008. – №21. – P. 1147–1153.
22. Bilezikian, J.P. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the fourth international workshop / J.P. Bilezikian, M.L. Brandi, R. Eastell, S. Silverberg, R. Udelsman, C. Marcocci, J.T. Potts Jr // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2014. – Vol. 99. – №10. – P. 3561–3569.
23. Bilezikian, J.P. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the third international workshop / J.P. Bilezikian, A.A. Khan, J.T. Potts Jr // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2009. – Vol. 94. – №2. – P. 335–339.
24. Bradley, K.J. Parafibromin pathogenic variants in hereditary hyperparathyroidism syndromes and parathyroid tumours / K.J. Bradley, B.M. Cavaco, M.R. Bowl, B. Harding, T. Cranston, C. Fratter, G.M. Besser, M. Conceicao Pereira, M.W. Davie, N. Dudley, V. Leite, G.P. Sadler, A. Seller, R.V. Thakker // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2006. – №64. – P. 299–306.
25. Brandi, M.L. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2 / M.L. Brandi, R.F. Gagel, A. Angeli, J.P. Bilezikian, P. Beck-Peccoz, C. Bordi, B. Conte-Devolx, A. Falchetti, R.G. Gheri, A. Libroia, C.J. Lips, G. Lombardi, M. Mannelli, F. Pacini, B.A. Ponder, F. Raue, B. Skogseid, G. Tamburrano, R.V. Thakker, N.W. Thompson, P. Tomassetti, F. Tonelli, S.A. Wells Jr, S.J. Marx // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2001. – Vol. 86. – №12. – P. 5658–5671.
26. Bricaire, L. Frequent large germline HRPT2 deletions in a French National cohort of patients with primary hyperparathyroidism / L. Bricaire, M.F. Odou, C. Cardot-Bauters, B. Delemer, M.O. North, S. Salenave, D. Vezzosi, J.M. Kuhn, A. Murat, P. Caron, J.L. Sadoul, C. Silve, P. Chanson, A. Barlier, E. Clauser, N. Porchet, L. Groussin; GTE Group // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2013. – Vol. 98. – №2. – P. E403–E408.

27. Burke, J.F. Radioguided parathyroidectomy effective in pediatric patients / J.F. Burke, K. Jacobson, A. Gosain, R.S. Sippel, H. Chen // *J Surg Res.* – 2013. – Vol. 184. – №1. – P. 312–317.
28. Cardinal, J.W. A report of a national mutation testing service for the MEN1 gene: clinical presentations and implications for mutation testing / J.W. Cardinal, L. Bergman, N. Hayward, A. Sweet, J. Warner, L. Marks, D. Learoyd, T. Dwight, B. Robinson., M. Epstein, M. Smith, B.T. Teh, D.P. Cameron, J.B. Prins // *J Med Genet.* – 2005. – Vol. 42. – №1. – P. 69–74.
29. Carling, T. Familial hypercalcemia and hypercalciuria caused by a novel mutation in the cytoplasmic tail of the calcium receptor / T. Carling, E. Szabo, M. Bai, P. Ridefelt, G. Westin, P. Gustavsson, S. Trivedi, P. Hellman, E.M. Brown, N. Dahl, J. Rastad // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2000. – Vol. 85. – №5. – P. 2042–2047.
30. Carling, T. Parathyroid surgery in familial hyperparathyroid disorders / T. Carling, R. Udelsman // *J Intern Med.* – 2005. – № 257. – P. 27–37.
31. Carpten, J.D. *HRPT2*, encoding parafibromin, is mutated in hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome / J.D. Carpten, C.M. Robbins, A. Villablanca, L. Forsberg, S. Presciuttini, J. Bailey-Wilson, W.F. Simonds, E.M. Gillanders, A.M. Kennedy, J.D. Chen, S.K. Agarwal, R. Sood, M.P. Jones, T.Y. Moses, C. Haven, D. Petillo, P.D. Leotlela, B. Harding, D. Cameron, A.A. Pannett, A. Höög, H 3rd Heath, L.A. James-Newton, B. Robinson, R.J. Zarbo, B.M. Cavaco, W. Wassif, N.D. Perrier, I.B. Rosen, U. Kristoffersson, P.D. Turnpenny, L.O. Farnebo, G.M. Besser, C.E. Jackson, H. Morreau, J.M. Trent, R.V. Thakker, S.J. Marx, B.T. Teh, C. Larsson, M.R. Hobbs // *Nature Genetics.* – 2002. – Vol. 32. – №4. – P. 676–680.
32. Cascón, A. Detection of the first gross *CDC73* germline deletion in an HPT-JT syndrome family / A. Cascón, C.V. Huarte-Mendicoa, L. Javier Leandro-García, R. Letón, J. Suela, A. Santana, M.B. Costa, I. Comino-Méndez, I. Landa, L. Sánchez, C. Rodríguez-Antona, J.C. Cigudosa, M. Robledo // *Genes Chromosomes Cancer.* – 2011. – Vol. 50. – №11. – P. 922–929.
33. Cavaco, B.M. Identification of *de novo* germline pathogenic variants in the *HRPT2* gene in two apparently sporadic cases with challenging parathyroid tumor diagnoses / B.M. Cavaco, R. Santos, A. Felix, D. Cavalho, J.M. Lopes, R. Domingues, M. Sirgado, N. Rei, F. Fonseca, J.R. Sangos, L. Sobrinho, V. Leite // *Endocr Pathol.* – 2011. – № 22. – P. 44–52.

34. Cetani, F. Genetic analyses in familial isolated hyperparathyroidism: implication for clinical assessment and surgical management / F. Cetani, E. Pardi, E. Ambrogini, M. Lemmi, S. Borsari, L. Cianferotti, E. Vignali, P. Viacava, P. Berti, S. Mariotti, A. Pinchera, C. Marcocci // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2006. – № 64. – P. 146–152.
35. Cetani, F. Genetic analyses of the *HRPT2* gene in primary hyperparathyroidism: germline and somatic pathogenic variants in familial and sporadic parathyroid tumors / F. Cetani, E. Pardi, S. Borsari, P. Viacava, G. Dipollina, L. Cianferotti, E. Ambrogini, E. Gazzo, G. Colussi, P. Berti, P. Miccoli, A. Pinchera, C. Marcocci // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2004. – № 89. – P. 5583–5591.
36. Chandrasekharappa, S.C. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1 / S.C. Chandrasekharappa, S.C. Guru, P. Manickam, S.E. Olufemi, F.S. Collins, M.R. Emmert-Buck, L.V. Debelenko, Z. Zhuang, I.A. Lubensky, L.A. Liotta, J.S. Crabtree, Y. Wang, B.A. Roe, J. Weisemann, M.S. Boguski, S.K. Agarwal, M.B. Kester, Y.S. Kim, C. Heppner, Q. Dong, A.M. Spiegel, A.L. Burns, S.J. Marx // *Science*. – 1997. – Vol. 276 – №5311. – P. 404–407.
37. Christensen, S.E. Discriminative power of three indices of renal calcium excretion for the distinction between familial hypocalciuric hypercalcaemia and primary hyperparathyroidism: a follow-up study on methods / S.E. Christensen, P.H. Nissen, P. Vestergaard, L. Heickendorff, K. Brixen, L. Mosekilde // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2008. – № 69. – P. 713–720.
38. Clarke, B.L. Epidemiology of Primary Hyperparathyroidism / B.L. Clarke // *J Clin Densitom*. – 2013. – Vol. 16. – №1. – P. 8–13.
39. Costa-Guda, J. Germline and somatic mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes *CDKN1A*, *CDKN2B* and *CDKN2C* in sporadic parathyroid adenomas / J. Costa-Guda, C-P. Soong, V.I. Parekh, S. Agarwal, A. Arnold // *Horm Cancer*. – 2013. – Vol. 4. – №5. – P.301–307.
40. Cronin, C.S. Primary hyperparathyroidism in childhood and adolescence / C.S. Cronin, T.S. Reeve, B. Robinson, P. Clifton-Bligh, A. Guinea, L. Delbridge // *J Paediatr Child Health*. – 1996. – №32. – P. 397–399.
41. Cupisti, K. Primary hyperparathyroidism in the young age group: particularities of diagnostic and therapeutic schemes / A. Raffel, C. Dotzenrath, M. Krausch, H.D. Röher, K.M. Schulte // *World J Surg*. – 2004. – Vol. 28. – P. 1153–1156.

42. De Carlo, E. Isolated R171Q amino acid change in *MEN1* gene: polymorphism or mutation? / E. De Carlo, C. Pilon, M.C. Zatelli, E.C. degli Uberti, F. Fallo // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2008. – Vol. 69. – №3. – P. 511.
43. Del Pozo, C. Parathyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia type 1. Case report and review of the literature / C. Del Pozo, L. García-Pascual, M. Balsells, M.J. Barahona, E. Veloso, C. González, J. Anglada-Barceló // *Hormones (Athens)*. – 2011. – Vol. 10. – №4. – P. 326–331.
44. Domingues, R. Identification of the first germline HRPT2 whole-gene deletion in a patient with primary hyperparathyroidism / R. Domingues, R.A. Tomaz, C. Martins, C. Nunes, M.J. Bugalho, B.M. Cavaco // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2012. – Vol. 76. – №1. – P. 33–38.
45. Dreijerink, K.M. Breast-cancer predisposition in multiple endocrine neoplasia type 1 / K.M. Dreijerink, P. Goudet, J.R. Burgess, G.D. Valk, International Breast Cancer in MEN1 Study Group // *N Engl J Med*. – 2014. – Vol. 371. – №6. – P. 583–584.
46. Durkin, E.T. What is the optimal treatment for children with primary hyperparathyroidism? / E.T. Durkin, P.F. Nichol, D.P. Lund, H. Chen, R.S. Sippel // *J Pediatr Surg*. – 2010. – Vol. 45. – №6. – P. 1142–1146.
47. Eastell, R. Diagnosis of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the fourth international workshop // R. Eastell, M.L. Brandi, A.G. Costa, D'Amour, D.M. Shoback and R.V. Thakker // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2014. – Vol. 99. – №10. – P. 3570–3579.
48. Egan, AM. Primary hyperparathyroidism in a patient with familial hypocalciuric hypercalcaemia due to a novel mutation in the calcium-sensing receptor gene / A.M. Egan, J. Ryan, M.A. Aziz, T.P. O'Dwyer, M.M. Byrne // *J Bone Miner Metab*. – 2013. . – Vol. 31. – P. 477–480.
49. Ellard, S. Detection of an MEN1 gene mutation depends on clinical features and supports current referral criteria for diagnostic molecular genetic testing / S. Ellard, A.T. Hattersley, C.M. Brewer, B. Vidya // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2005. Vol. 62. – P. 169–175.
50. Eller-Vainicher, C. Sporadic and MEN1-related primary hyperparathyroidism: differences in clinical expression and severity / C. Eller-Vainicher, I. Chiodini, C. Battista, R. Viti, M.L. Mascia, S. Massironi, M. Peracchi, L. D'Agruma, S. Minisola, S. Corbetta, D.E. Cole, A. Spada, A. Scillitani // *J Bone Miner Res*. – 2009. Vol. 24. – P. 1404–1410.

51. Elston, M.S. Early-onset primary hyperparathyroidism associated with a novel germline mutation in CDKN1B / M.S. Elston, G.Y. Meyer-Rochow, M. Dray, M. Swarbrick, J.V. Conaglen // *Case Reports in Endocrinology*. – 2015. 510985.
52. Ennazk, L. Jaw tumor in primary hyperparathyroidism is not always a brown tumor / L. Ennazk, G. El Mghari, N. El Ansari // *Clin Cases Miner Bone Metab.* – 2016. Vol. – 13. – №1. – P. 64-66.
53. Foley, T.P. Jr. Familial benign hypercalcemia / T.P. Foley Jr, H.C. Harrison, C.D. Arnaud, H.E. Harrison // *J Pediatr.* – 1972. – Vol.81. – P. 1060-1067.
54. Frank-Raue, K. Inactivating calcium-sensing receptor mutations in patients with primary hyperparathyroidism / K. Frank-Raue, G. Leidig-Bruckner, C. Haag, E. Schulze, A. Lorenz, H. Schmitz-Winnenthal, F. Raue // *Clinical Endocrinology*. – 2011. – Vol. 75. – P. 50–55.
55. Fritz, A. Recessive transmission of a multiple endocrine neoplasia syndrome in the rat / A. Fritz, A. Walch, K. Piotrowska, M. Rosemann, E. Schäffer, K. Weber, A. Timper, G. Wildner, J. Graw, H. Höfler, M.J. Atkinson // *Cancer Res.* – 2002. – Vol. 62. – P. 3048–3051.
56. George, J. Primary hyperparathyroidism in children and adolescents. J. George, S.V. Acharya, T.R. Bandgar, P.S. Menon, N.S. Shah // *Indian J Pediatr.* – 2010. – Vol. 77. – P. 175–178.
57. Georgitsi, M. Germline CDKN1B/p27Kip1 mutation in multiple endocrine neoplasia // M. Georgitsi, A. Raitila, A. Karhu, R.B. van der Luijt, C.M. Aalfs, T. Sane, O. Vierimaa, M.J. Mäkinen, K. Tuppurainen, R. Paschke, O. Gimm, C.A. Koch, S. Gündogdu, A. Lucassen, M. Tischkowitz, L. Izatt, S. Aylwin, G. Bano, S. Hodgson, E. De Menis, V. Launonen, P. Vahteristo, L.A. Aaltonen // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2007. – Vol. 92. – P.3321–3325.
58. Giraud, S. Germ-line mutation analysis in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 and related disorders / S. Giraud, C.X. Zhang, O. Serova-Sinilnikova, V. Wautot, J. Salandre, N. Buisson, C. Waterlot, C. Bauters, N. Porchet, J.P. Aubert, P. Emy, G. Cadiot, B. Delemer, O. Chabre, P. Niccoli, F. Leprat, F. Duron, B. Emperauger, P. Cougard, P. Goudet, E. Sarfati, J.P. Riou, S. Guichard, M. Rodier, A. Meyrier, P. Caron, M.C. Vantyghem, M. Assayag, J.L. Peix, M. Pugeat, V. Rohmer, M. Vallotton, G. Lenoir, P. Gaudray, C. Proye, B. Conte-Devolx, P. Chanson, Y.Y. Shugart, D. Goldgar, A. Murat, A. Calender // *Am J Hum Genet.* – 1998. – Vol. 63. – №2. – P. 455–467.

59. Giusti, F. Hereditary Hyperparathyroidism Syndromes. F. Giusti, L. Cavalli, T. Cavalli, M.L. Brandi // *J Clin Densitom.* – 2013. – Vol. 16. – №1. – P. 69–74.
60. Görtz, B. *MEN1* gene mutation analysis of sporadic adrenocortical lesions / (1999) B. Görtz, J. Roth, E.J. Speel, A. Krähenmann, R.R. De Krijger, X. Matias-Guiu, S. Muletta-Feurer, K. Rütman, P. Saremaslani, P.U. Heitz, P. Komminoth // *Int J Cancer.* – 1999. – Vol. 80. – №3. – P. 373–379.
61. Goudet, P. MEN1 disease occurring before 21 years old. A 160-patient cohort study from the GTE (Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines) / P. Goudet, A. Dalac, A. Le Bras, C. Cardot-Bauters, P. Niccoli, N. Lévy-Bohbot, H. du Boullay, X. Bertagna, P. Ruzniewski, E. Borson-Chazot, B. Vergès, J.L. Sadoul, F. Ménégau, A. Tabarin, J.M. Kühn, P. d'Anella, O. Chabre, S. Christin-Maitre, G. Cadiot, C. Binquet, B. Delemer // *J Clin Endocrinol Metab.* – 2014. Vol. 100. – №4. – P. 1568–1577.
62. Goudet, P. Risk factors and causes of death in MEN1 disease. A GTE (Groupe d'Etude des Tumeurs Endocrines) cohort study among 758 patients / P. Goudet, A. Murat, C. Binquet, C. Cardot-Bauters, A. Costa, P. Ruzniewski, P. Niccoli, F. Ménégau, G. Chabrier, F. Borson-Chazot, A. Tabarin, P. Bouchard, B. Delemer, A. Beckers, C. Bonithon-Kopp C // *World J Surg.* – 2010. – Vol. 34. – №2. – P. 249–55.
63. Hamill, J. Familial parathyroid carcinoma in a child / J. Hamill, K. Maoate, S.W. Beasley, R. Corbett, J. Evans // *J Paediatr Child Health.* – 2002. – Vol. 38. – P.314–317.
64. Hannan, F.M. Familial isolated primary hyperparathyroidism caused by mutations of the *MEN1* gene / F.M. Hannan, M.A. Nesbit, P.T. Christie, C. Fratter, N.E. Dudley, G.P. Sadler, R.V. Thakker // *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* – 2008. – Vol. 4. – №1. – P. 53–58.
65. Hannan, F.M. A homozygous inactivating calcium-sensing receptor mutation, Pro339Thr, is associated with isolated primary hyperparathyroidism: correlation between location of mutations and severity of hypercalcaemia / F.M. Hannan, M.A. Nesbit, P.T. Christie, W. Lissens, B. Van der Schueren, M. Bex, R. Bouillon, R.V. Thakker // *Clinical Endocrinology.* – 2010. – Vol. 73. – P. 715–722.
66. Harman, C.R. Sporadic primary hyperparathyroidism in young patients: a separate disease entity? / C.R. Harman, C.A. van Heerden, D.R. Farley // *Arch Surg.* – 1999. – Vol. 134. – №6. – P. 651–655.
67. Heath, H III. Primary hyperparathyroidism: incidence, morbidity, and potential economic impact on a community / H. III Heath, S.F. Hodgson, M.A. Kennedy // *N Engl J Med.* – 1980. – Vol. 302. – P. 189–193.

68. Horiuchi, K. An analysis of genotype–phenotype correlations and survival outcomes in patients with primary hyperparathyroidism caused by multiple endocrine neoplasia type 1: the experience at a single institution / K. Horiuchi, T. Okamoto, M. Iihara, T. Tsukada // *Surg Today*. – 2013. – Vol. 43. – P. 894–899.
69. Howell, VM. HRPT2 pathogenic variants are associated with malignancy in sporadic parathyroid tumours / V.M. Howell, C.J. Haven, K. Kahnoski, S.K. Khoo, D. Petillo, J. Chen, G.J. Fleuren, B.G. Robinson, L.W. Delbridge, J. Philips, A.E. Nelson, U. Krause, K. Hammje, H. Dralle, C. Hoang-Vu, O. Gimm, D.J. Marsh, H. Morreau, B.T. The // *J Med Genet*. – 2003. – Vol. 40. – P. 657–663.
70. Hsu, S.C. Primary hyperparathyroidism in children and adolescents: The Johns Hopkins Children’s Center experience 1984-2001 / S.C. Hsu, M.A. Levine // *J Bone Miner Res*. – 2002. – Vol. 17(Suppl.2). – P. N44–50.
71. Iacobone, M. Hereditary hyperparathyroidism – a consensus report of the European Society of Endocrine Surgeons (ESES) / M. Iacobone, B. Carnaille, F.F. Palazzo, M. Vriens // *Langenbecks Arch Surg*. – 2015. – Vol. 400. – №8. – P. 867–886.
72. Iacobone, M. Hyperparathyroidism jaw-tumor syndrome: a report of three large kindred / M. Iacobone, G. Masi, L. Barzon, A. Parzionato, V. Macchi, F.A. Ciarleglio, G. Palu, R. De Caro, G. Viel, G. Favia // *Langenbecks Arch Surg*. – 2009. – Vol. 394. – P. 817–825.
73. Jackson, C.E. Hereditary hyperparathyroidism and multiple ossifying jaw fibromas: a clinically and genetically distinct syndrome / C.E. Jackson, R.A. Norum, S.B. Boyd, G.B. Talpos, S.D. Wilson, R.T. Taggart, L.E. Mallette // *Surgery*. – 1990. – Vol. 108. – P. 1006-1012.
74. Karges, W. Concepts for screening and diagnostic follow-up in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) / W. Karges, L. Schaaf, H. Dralle, B.O. Boehm // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2000. – Vol. 108. – №5. – P. 334–340.
75. Kollars, J. Primary hyperparathyroidism in pediatric patients / J. Kollars, A. Zarroug, J. van Heerden, A. Lteif, P. Stavlo, L. Suarez, C. Moir, M. Ishitani, D. Rodeberg // *Pediatrics*. – 2005. – Vol. 115. – №4. – P. 974–980.
76. Korpi-Hyövälti, E. *CDC73* intragenic deletion in familial primary hyperparathyroidism associated with parathyroid carcinoma / E. Korpi-Hyövälti, T. Cranston, E. Ryhänen, J. Arola, K. Aittomäki, T. Sane, R.V. Thakker, C. Schalin-Jäntti // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2014. – Vol. 99. – №9. – P. 3044–3048

77. Kutcher, M.R. Hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome / M.R. Kutcher, M.H. Rigby, M. Bullock, J. Trites, S.M. Taylor, R.D. Hart // *Head Neck*. – 2013. – Vol. 35. – P. 175–177.
78. Lairmore, T.C. Clinical genetic testing and early surgical intervention in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1) / T.C. Lairmore, L.D. Piersall, M.K. DeBenedetti, W.G. Dilley, M.G. Mutch, A.J. Whelan, B. Zehnbaauer // *Ann Surg*. – 2004. – Vol. 239. – №5. – P. 637–645; discussion P. 645–647.
79. Langer, P. Prevalence of multiple endocrine neoplasia type 1 in young patients with apparently sporadic primary hyperparathyroidism or pancreatoduodenal endocrine tumours / P. Langer, A. Wild, A. Hall, I. Celik, M. Rothmund, D.K. Bartsch // *British Journal of Surgery*. – 2003. – Vol. 90. – №12. – P. 1599–1603.
80. Lassen, T. Primary hyperparathyroidism in young people. When should we perform genetic testing for multiple endocrine neoplasia 1 (MEN-1)? / T. Lassen, L. Friis-Hansen, A.K. Rasmussen, U. Knigge, U. Feldt-Rasmussen // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2014. – Vol. 99. – №11. – P. 3983–3987.
81. Lawson, M.L. Primary hyperparathyroidism in paediatric hospital / M.L. Lawson, S.F. Miller, G. Ellis, S.W. Kooh // *QJM*. – 1996. – Vol. 89. – P. 921–932.
82. Lee, M. Multiple endocrine neoplasia type 4 / M. Lee, N.S. Pellegata // *Front Horm Res*. – 2013. – Vol. 41. – P. 63–78.
83. Lemmens, I. Identification of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. The European Consortium on MEN1 / I. Lemmens, W.J. Van de Ven, K. Kas, C.X. Zhang, S. Giraud, V. Wautot, N. Buisson, K. De Witte, J. Salandre, G. Lenoir, M. Pugeat, A. Calender, F. Parente, D. Quincey, P. Gaudray, M.J. De Wit, C.J. Lips, J.W. Höppener, S. Khodaei, A.L. Grant, G. Weber, S. Kytölä, B.T. Teh, F. Farnebo, R.V. Thakker // *Hum Mol Genet*. – 1997. – Vol.6. – №7. – P. 1177–1183.
84. Li, C.C. 10-year retrospective study of primary hyperparathyroidism in children / C.C. Li, C. Yang, S. Wang, J. Zhang, X.R. Kong, J.A. Ouyang // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2012. – Vol. 120. – P. 229–233.
85. Libánský, P. Surgical treatment of primary hyperparathyroidism in children: report of 10 cases / P. Libánský, J. Astl, S. Adámek, O. Nanka, P. Pafko, J. Spacková, R. Foltán, J. Sedý // *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. – 2008. – Vol. 72. – №8. – P. 1177–1182.
86. Liu, W. A novel germline mutation of the MEN1 gene caused multiple endocrine neoplasia type 1 in a Chinese young man and 1 year follow-up // W. Liu, X. Han, Z. Hu,

- X. Zhang, Y. Chen, Y. Zhao, L. Ji // *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* – 2013. – Vol. 17. – №22. – P. 3111–3116.
87. Loh, K-C. Clinical profile of primary hyperparathyroidism in adolescents and young adults / K-C. Loh, Q-Y. Duh, D. Schoback, L. Gee, A. Siperstein, O.H. Clark // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 1998. – Vol. 48. – P. 435–443.
88. Lourenço, D.M. Jr. Multiple endocrine neoplasia type 1 in Brazil: MEN1 founding mutation, clinical features, and bone mineral density profile / D.M. Jr Lourenço, R.A. Toledo, I.I. Mackowiak, F.L. Coutinho, M.G. Cavalcanti, J.E. Correia-Deur, F. Montenegro, S.A. Siqueira, L.C. Margarido, M.C. Machado, S.P. Toledo // *Eur J Endocrinol.* – 2008. – Vol. 159. – №3. – P. 259–274.
89. Lourenço, D.M. Jr. Early-onset, progressive, frequent, extensive, and severe bone mineral and renal complications in multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism / D.M. Jr Lourenço, F.L. Coutinho, R.A. Toledo, F.L. Montenegro, J.E. Correia-Deur, S.P. Toledo // *J Bone Miner Res.* – 2010. – Vol. 25. – №11. – P. 2382–2391.
90. Machens, A. Age-related penetrance of endocrine tumours in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): a multicentre study of 258 gene carriers / A. Machens, L. Schaaf, W. Karges, K. Frank-Raue, D.K. Bartsch, M. Rothmund, U. Schneyer, P. Goretzki, F. Raue, H. Dralle // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2007. – Vol. 67. – P. 613–622.
91. Magalhães, P.K. Primary hyperparathyroidism as the first clinical manifestation of multiple endocrine neoplasia type 2A in a 5-year-old child / P.K. Magalhães, S.R. Antonini, F.J. de Paula, L.C. de Freitas, L.M. Maciel // *Thyroid.* 2011 – Vol.21. – №5. – P. 547–550.
92. Magno, A. The calcium-sensing receptor: a molecular perspective / A. Magno, B.K. Ward, T. Ratajczak // *Endocrine Reviews.* – 2011. – Vol. 32. – №1. – P. 3–30.
93. Mallet, E. Primary hyperparathyroidism in neonates and childhood. The French experience (1984–2004) / E. Mallet // *Horm Res.* – 2008. – Vol. 69. – P. 180–188.
94. Meier, D.E. Parathyroid carcinoma in a child / D.E. Meier, W.H. III Snyder, B.A. Dickson, L.R. Margraf, P.C. Jr Guzzetta // *J Pediatr Surg.* – 1999. – Vol.34. – P. 606-608.
95. Miedlich, S. Familial isolated primary hyperparathyroidism: a multiple endocrine neoplasia type 1 variant? / S. Miedlich, T. Lohmann, U. Schneyer, P. Lamesch, R. Paschke // *Eur J Endocrinol.* – 2001. – Vol. 145. – №2. – P. 155–160.

96. Miller, B.S. Age- and sex-related incidence of surgically treated primary hyperparathyroidism / B.S. Miller, J. Dimick, R. Wainess, R.E. Burney // *World J Surg.* – 2008. – Vol. 32. – P. 795–799.
97. Mizusawa, N. Genetic analyses in patients with familial isolated hyperparathyroidism and hyperparathyroidism-jaw tumour syndrome / N. Mizusawa, S. Uchino, T. Iwata, M. Tsuyuguchi, Y. Suzuki, T. Mizukoshi, Y. Yamashita, A. Sakurai, S. Suzuki, M. Beniko, H. Tahara, M. Fujisawa, N. Kamata, K. Fujisawa, T. Yashiro, D. Nagao, H.M. Golam, T. Sano, S. Noguchi, K. Yoshimoto // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2006. – Vol. – 65. – P. 9–16.
98. Nesbit, M.A. Mutations in AP2S cause familial hypocalciuric hypercalcemia type 3 / F. Hannan, S.A. Howles, A.A. Reed, T. Cranston, C.E. Thakker, L. Gregory, A.J. Rimmer, N. Rust, U. Graham, P.J. Morrison, S.J. Hunter, M.P. Whyte, G. McVean, D. Buck, R.V. Thakker // *Nat Genet.* – 2012. – Vol. 45. – №1. – P. 93–97.
99. Nesbit, M.A. Mutations affecting G-protein subunit $\alpha 11$ in hypercalcemia and hypocalcemia / M.A. Nesbit, F.M. Hannan, S. Howles, V.N. Babinsky, R.A. Head, T. Cranston, N. Rust, M.R. Hobbs, H. Heath, R.V. Thakker // *N Engl J Med.* – 2013. – Vol. 368. – №26. – P. 2476–2486.
100. Newey, P. J. Parafibromin – functional insights / P.J. Newey, M.R. Bowl, R.V. Thakker // *J Intern Med.* – 2009. – Vol. 266. – P. 84–98.
101. Newey, P.J. Cell division cycle protein 73 homolog (CDC73) mutations in the hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome (HPT-JT) and parathyroid tumors / P.J. Newey, M.R. Bowl, T. Cranston, R.V. Thakker // *Human Mutation.* – 2010. – Vol. 31. – P. 295–307.
102. Nicholson, K.J. Comparative characteristics of primary hyperparathyroidism in pediatric and young adult patients / K.J. Nicholson, K.L. McCoy, S.F. Witchel, M.T. Stang, S.E. Carty, L. Yip // *Surgery.* – 2016. – Vol. 160. – №4. – P. 1008–1016.
103. Ospina, N.S. Prevalence of parathyroid carcinoma in 348 patients with multiple endocrine neoplasia type 1 – case report and review of the literature / N.S. Ospina, T.J. Sebo, G.B. Thompson, B.L. Clarke, W.F. Jr Young // *Clin Endocrinol (Oxf).* – 2016. – Vol. 84. – №2. – P. 244–249.
104. Panicker, L.M. Defective nucleolar localization and dominant interfering properties of a parafibromin L95P missense mutant causing the hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome / L.M. Panicker, J.H. Zhang, P.K. Dagur, M.J. Gastinger, W.F. Simonds // *Endocr Relat Cancer.* – 2010. – Vol. 17. – P. 513–524.

105. Parfitt, J. Tumor suppressor gene mutation in a patient with a history of hyperparathyroidism–jaw tumor syndrome and healed generalized osteitis fibrosa cystica: a case report and genetic pathophysiology review / J. Parfitt, M. Harris, J.M. Wright, S. Kalamchi // *J Oral Maxillofac Surg.* – 2015. – Vol. 73. – №1. – P. 194.e1-194.e9.
106. Pashtan, I. Primary hyperparathyroidism in adolescents: the same but different / I. Pashtan, R.H. Grogan, S.P. Kaplan, K. Devon, P. Angelos, D. Liu, E.L. Kaplan // *Pediatr Surg Int.* – 2013. – Vol. 29. – P. 275–279.
107. Pellegata, N.S. Germ-line mutations in p27(Kip1) cause a multiple endocrine neoplasia syndrome in rats and humans / N.S. Pellegata, L. Quintanilla-Martinez, H. Siggelkow, E. Samson, K. Bink, H. Höfler, F. Fend, J. Graw, M.J. Atkinson // *Proc Nat Acad Sci USA.* – 2006. – Vol. 103. – №42. – P. 15558–15563.
108. Pichardo-Lowden, A.R. Familial hyperparathyroidism due to a germline pathogenic variant of the *CDC73* gene: implications for management and age-appropriate testing of relatives at risk / A.R. Pichardo-Lowden, A. Manni, B.D. Saunders, M.J. Baker // *Endocr Pract.* – 2011. – Vol. 17. – P. 602–609.
109. Plagnol, V. A robust model for read count data in exome sequencing experiments and implications for copy number variant calling / V. Plagnol, J. Curtis, M. Epstein, K.Y. Mok, E. Stebbings, S. Grigoriadou, N.W. Wood, S. Hambleton, S.O. Burns, A.J. Thrasher, D. Kumararatne, R. Doffinger, S. Nejentsev // *Bioinformatics.* – 2012. – Vol. 28. – №21. – P. 2747–2754.
110. Rehm, H.L. ACMG clinical laboratory standards for next-generation sequencing / H.L. Rehm, S.J. Bale, P. Bayrak-Toydemir, J.S. Berg, K.K. Brown, J.L. Deignan, M.J. Friez, B.H. Funke, M.R. Hegde, E. Lyon, Working Group of the American College of Medical Genetics and Genomics Laboratory Quality Assurance Committee // *Genet Med.* – 2013. – Vol. 15. – №9. – P. 733–747.
111. Rekik, N. Hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome: a case report / N. Rekik, B. Ben Naceur, M. Mnif, F. Mnif, H. Mnif, T. Boudawara, M. Abid // *Ann Endocrinol (Paris).* – 2010. – Vol. 71. – P. 121–126.
112. Roijers, J.F. Criteria for mutation analysis in MEN 1-suspected patients: MEN 1 case-finding / J.F. Roijers, M.J. de Wit, R.B. van der Luijt, H.K. Ploos van Amstel, J.W. Höppener, C.J. Lips // *Eur J Clin Invest.* – 2000. – Vol. 30. – №6. – P. 487–492.
113. Roizen, J. Primary hyperparathyroidism in children and adolescents / J. Roizen, M.A. Levine // *Journal of the Chinese Medical Association.* – 2012. – Vol. 75. – P. 425–434.

114. Schaaf, L. Developing effective screening strategies in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1) on the basis of clinical and sequencing data of German patients with MEN 1 / L. Schaaf, J. Pickel, K. Zinner, U. Hering, M. Höfler, P.E. Goretzki, F. Spelsberg, F. Raue, A. von zur Mühlen, H. Gerl, J. Hensen, D.K. Bartsch, M. Rothmund, U. Schneyer, H. Dralle, M. Engelbach, W. Karges, G.K. Stalla, W. Höppner // *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. – 2007. – Vol. 115. – №8. – P. 509–517.
115. Serrano-Gonzalez, M. A germline mutation of HRPT2/CDC73 (70G>T) in an adolescent female with parathyroid carcinoma: first case report and a review of the literature / M. Serrano-Gonzalez, S. Shay, J. Austin, D.R. Maceri, P. Pitukcheewanont // *J Pediatr Endocrinol Metab*. – 2016. – Vol. 29. – №9. – P. 1005–1012.
116. Shane, E. Parathyroid carcinoma / E. Shane // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2001. – Vol. 86. – P. 485-493.
117. Shih, R.Y. Parathyroid carcinoma in multiple endocrine neoplasia type 1 with a classic germline mutation / R.Y. Shih, S. Fackler, S. Maturo, M.W. True, J. Brennan, D. Wells // *Endocr Pract*. – 2009. – Vol. 15. – №6. – P. 567–572.
118. Silverberg, S.J. Asymptomatic primary hyperparathyroidism / S.J. Silverberg, M.D. Walker, J.P. Bilezikian // *J Clin Densitom*. – 2013. – Vol. 16. – №1. – P. 14–21.
119. Simonds, W.F. Familial isolated hyperparathyroidism: clinical and genetic characteristics of 36 kindreds / W.F. Simonds, L.A. James-Newton, S.K. Agarwal, B. Yang, M.C. Skarulis, G.N. Hendy, S.J. Marx // *Medicine (Baltimore)*. – 2002. – Vol. 81. – №1. – P. 1–26.
120. Simonds, W.F. Familial isolated hyperparathyroidism is rarely caused by germline pathogenic variant in HRPT2, the gene for the hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome / W.F. Simonds, C.M. Robbins, S.K. Agarwal, G.N. Hendy, J.D. Carpten, S.J. Marx // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2004. – Vol. 89. – P. 96–102.
121. Siu, WK. Novel nonsense *CDC73* pathogenic variants in Chinese patients with parathyroid tumors / W.K. Siu, C.Y. Law, C.W. Lam, C.M. Mak, G.W. Wong, Ay Ho, K.Y. Ho, K.T. Loo, S.C. Chiu, L.T. Chow, S.F. Tong, A.Y. Chan // *Fam Cancer*. – 2011. – Vol. 10. – P. 695–699.
122. Skandarajah, A. Should routine analysis of the MEN1 gene be performed in all patients with primary hyperparathyroidism under 40 years of age? / A. Skandarajah, A. Barlier, N. Morlet-Barlat, F. Sebag, A. Enjalbert, B. Conte-Devolx, J.F. Henry // *World J Surg*. – 2010. – Vol. 34. – №6. – P. 1294–1298.

123. Sneider, M.S. Sporadic primary hyperparathyroidism in young individuals: different disease and treatment? / M.S. Sneider, C.C. Solorzano, R.E. Montano, C. Anello, G.L. 3rd Irvin, J.I. Lew // *Journal of Surgical Research*. – 2009. – Vol. 155. – №1. – P. 100–103.
124. Starker, L.F. Frequent germ-line mutations of the MEN1, CASR, and HRPT2/CDC73 genes in young patients with clinically non-familial primary hyperparathyroidism / L.F. Starker, T. Åkerström, W.D. Long, A. Delgado-Verdugo, P. Donovan, R. Udelsman, R.P. Lifton, T. Carling // *Horm Cancer*. – 2012. – Vol. 3. – №1-2. – P. 44–51.
125. Thakker, R.V. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) / R.V. Thakker, P.J. Newey, G.V. Walls, J. Bilezikian, H. Dralle, P.R. Ebeling, S. Melmed, A. Sakurai, F. Tonelli, M.L. Brandi; Endocrine Society // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2012. – Vol. 97. – №9. – P. 2990–3011.
126. Thakker, R.V. Genetics of parathyroid tumours. *Journal of Internal Medicine* / R.V. Thakker // *J Intern Med*. – 2016. – Vol. 280. – №6. – 574–583.
127. Tonelli, F. A heterozygous frameshift mutation in exon 1 of CDKN1B gene in a patient affected by MEN4 syndrome / F. Tonelli, F. Giudici, F. Giusti, F. Marini, L. Cianferotti, G. Nesi, M.L. Brandi // *Eur J Endocrinol*. – 2014. – Vol. 171. – №2. – P. K7–K17.
128. Tsukada, T. *MEN1* gene and its mutations: basic and clinical implications / T. Tsukada, Y. Nagamura, N. Okhura // *Cancer Sci*. – 2009. – Vol. 100. – №2. – P. 209–215.
129. Udelsman, R. The surgical management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the fourth international workshop / R. Udelsman, G. Åkerström, C. Biagini, Q-Y. Duh, P. Miccoli, B. Niederle, F. Tonelli // *J Clin Endocrinol Metab* – 2014. – Vol. 99. - №10. – P. 3595–3606.
130. Vargas-Poussou, R. Familial hypocalciuric hypercalcemia types 1 and 3 and primary hyperparathyroidism: similarities and differences / R. Vargas-Poussou, L. Mansour-Hendili, S. Baron, J.P. Bertocchio, C. Travers, C. Simian, C. Treard, V. Baudouin, S. Beltran, F. Broux, O. Camard, S. Cloarec, C. Cormier, X. Debussche, E. Dubosclard, C. Eid, J.P. Haymann, S.R. Kiando, J.M. Kuhn, G. Lefort, A. Linglart, B. Lucas-Pouliquen, M.A. Macher, G. Maruani, S. Ouzounian, M. Polak, E. Requeda, D. Robier, C. Silve, J.C. Souberbielle, I. Tack, D. Vezzosi, X. Jeunemaitre, P. Houillier // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2016. – Vol. 101. – №5. – P. 2185–2195.

131. Venail, F. Solitary parathyroid adenoma: a rare cause of primary hyperparathyroidism in children / F. Venail, R. Nicollas, D. Morin, T. Mackle, J.M. Garnier, J.M. Triglia, M. Mondain // *Laryngoscope*. – 2007. – Vol. 117. – №5. – P. 946-949.
132. Villablanca, A. Germline and de novo pathogenic variants in the HRPT2 tumour suppressor gene in familial isolated hyperparathyroidism (FIHP) / A. Villablanca, A. Calender, L. Forsberg, A. Hoog, J.D. Cheng, D. Petillo, C. Bauters, K. Kahnoski, T. Ebeling, P. Salmela, A.L. Richardson, L. Delbridge, A. Meyrier, C. Proye, J.D. Carpten, B.T. Teh, B.G. Robinson, C. Larsson // *J Med Genet*. – 2004. – Vol. 41. – №3. – P. e32.
133. Wang, K. ANNOVAR: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data / K. Wang, M. Li, H. Hakonarson // *Nucleic Acids Res*. – 2010. – Vol. 38. – №16. – P. e164.
134. Warner, J. Genetic testing in familial isolated hyperparathyroidism: unexpected results and their implications / J. Warner, M. Epstein, A. Sweet, D. Singh, J. Burgess, S. Stranks, P. Hill, D. Perry-Keene, D. Learoyd, B. Robinson, P. Birdsey, E. Mackenzie, B.T. Teh, J.B. Prins, J. Cardinal // *J Med Genet*. – 2004. – Vol. 41. – P. 155–160.
135. Wermers, R.A. The rise and fall of primary hyperparathyroidism: a population-based study in Rochester, Minnesota, 1965-1992 / R.A. Wermers, S. Khosla, E.J. Atkinson, S.F. Hodgson, W.M. O'Fallon, L.J. 3rd Melton // *Ann Intern Med*. – 1997. – Vol. 126. – №6. – P. 433–440.
136. Wermers, R.A. Incidence of primary hyperparathyroidism in Rochester, Minnesota, 1993- 2001: an update on the changing epidemiology of the disease / R.A. Wermers, S. Khosla, E.J. Atkinson, S.J. Achenbach, A.L. Oberg, C.S. Grant, L.J. 3rd Melton // *J Bone Miner Res*. – 2006. – Vol. 21. – №1. – P. 171–177.
137. Yip, L. Identification of multiple endocrine neoplasia type 1 in patients with apparent sporadic primary hyperparathyroidism / L. Yip, J.B. Ogilvie, S.M. Challinor, R.A. Salata, D.L. Thull, J.H. Yim, S.E. Carty // *Surgery*. – 2008. – Vol. 144. – №6. – P. 1002–1006 (discussion 1006-1007).

Тезисы докладов

138. Романчишен, А.Ф. Клинико-лабораторные особенности первичного гиперпаратиреоза у детей и подростков / А.Ф. Романчишен, А.В. Гостимский, З.С. Матвеева // II Всероссийский конгресс «Инновационные технологии в

эндокринологии» с участием стран СНГ, 25-28 мая 2014 г., Москва. Сборник тезисов, раздел 1 «Эпидемиология эндокринных заболеваний», стр. 21.

139. Busaidy, N.L. Metastatic parathyroid carcinoma and hypercalcemia responds to treatment with sorafenib / N.L. Busaidi, M.E. Cabanillas, R. Dadu, C. Jimenez, M.A. Habra, A. Vaporciyan, L. Morris, N.D. Perrier, A.O. Hoff // 16th International Congress of Endocrinology ENDO 2014 – Endocrine Society 96th Annual Meeting and Expo; June 21-24, 2014; Chicago, USA. Режим доступа: <http://press.endocrine.org/doi/abs/10.1210/endo-meetings.2014.tb.2.sun-0279>
140. Scillitani, A. A rare case of multiple malignant parathyroid tumors in an atypical MEN1 family with a p.D418N mutation / A. Scillitani, A.S. Salcuni, C. Clemente et al. In: Niederle B, Scheuba C, Bichler C, Riss P, Selberherr A, Strobl St, editors. Wiener Klinische Wochenschrift. 2014; 126 (Suppl 3): S162 (P44). 14th International workshop on multiple endocrine neoplasia and other rare endocrine tumors; 2014 Sept 25-27; Vienna, Austria.

Электронные ресурсы

141. Глобальные рекомендации по физической активности для здоровья ВОЗ [Электронный ресурс] // World Health Organization. Geneva, 2010. 60 p. Режим доступа: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/44399/3/9789244599976_rus.pdf
142. Calcium Sensing Receptor Database [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.casrdb.mcgill.ca/>
143. Exome Aggregation Consortium (ExAC) [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://exac.broadinstitute.org/>
144. Human Gene Mutation Database [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/index.php>
145. Jackson, M.A. CDC73-Related Disorders / M.A. Jackson, T.A. Rich, M.I. Hu, N. Perrier, S.G. Waguespack // GeneReviews [Internet] ; под ред. R.A. Padoa-Schioppa, M.P. Adam, H.H. Ardinger, S.E. Wallace, A. Amemiya, L.J.H. Bean, T.D. Bird, C.T. Fong, H.C. Mefford, R.J.H. Smith, K. Stephens. Seattle (WA): University of Washington, 1993-2015. Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3789/>
146. Online Mendelian Inheritance in Man[®] OMIM [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.omim.org/>
147. Provisional guidelines on standart international age classifications [Электронный ресурс] / Department of International Economic and Social Affairs // United Nations,

New York, 1982. 32 p. Режим доступа:

https://unstats.un.org/unsd/publication/SeriesM/SeriesM_74e.pdf

Приложение. Рисунок 25. Алгоритм молекулярно-генетического исследования у пациентов с дебютом ПГПТ в возрасте до 40 лет.

