

## Молекулярно-генетические особенности первичного гиперпаратиреоза у пациентов молодого возраста

Е.О. МАМЕДОВА, д.м.н. Н.Г. МОКРЫШЕВА, к.м.н. Е.А. ПИГАРОВА, к.м.н. И.А. ВОРОНKOBA, С.Н. КУЗНЕЦОВ, к.б.н. Е.В. ВАСИЛЬЕВ, к.х.н. В.М. ПЕТРОВ, проф. Н.С. КУЗНЕЦОВ, проф. Л.Я. РОЖИНСКАЯ, д.м.н. А.Н. ТЮЛЬПАКОВ

ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия

При выявлении первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) у пациента молодого возраста в отсутствие других клинических проявлений дифференциальная диагностика между спорадической формой ПГПТ и ПГПТ как первого проявления одного из наследственных синдромов, в рамках которых он может возникать, затруднена. Установление диагноза спорадической или наследственной формы ПГПТ определяет объем хирургического вмешательства, тактику дальнейшего наблюдения и лечения, а также необходимость обследования и лечения родственников первой линии родства.

Цель исследования — определить молекулярно-генетические характеристики как спорадического ПГПТ, так и ПГПТ в рамках семейного изолированного гиперпаратиреоза (familial isolated hyperparathyroidism — FIHP) у пациентов с манифестацией патологии в молодом возрасте (<40 лет).

Материалы и методы. В исследование включены 40 пациентов с дебютом ПГПТ в возрасте до 40 лет (4 — с FIHP). Одиннадцати пациентам проведено прямое секвенирование гена *MEN1* по Сэнгеру (ABI 3130 Genetic Analyser, «Applied Biosystems», США), а 37 — высокопроизводительное параллельное секвенирование (next-generation sequencing — NGS) (Ion Torrent PGM, «Thermo Fisher Scientific — Life Technologies», США) панели генов-кандидатов (*MEN1*, *CASR*, *CDC73*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*).

Результаты. У 3 (7,5%) пациентов (1 из них с FIHP) выявлены герминальные гетерозиготные мутации в гене *MEN1*: в экзоне 9 р.D418N, в экзоне 3 р.R176Q, в интроне 3 с.654+1G>A. У 4 (10%) пациентов обнаружены герминальные гетерозиготные мутации в гене *CDC73*: 3 нонсенс-мутации у пациентов с раком околощитовидных желез — в экзоне 3 р.R91X, в экзоне 6 р.Q166X, в экзоне 7 р.R229X и 1 миссенс-мутация у пациентки с гиперплазией околощитовидной железы в экзоне 8 р.R263C.

Заключение. В большинстве случаев (75%) у молодых пациентов без отягощенного семейного анамнеза ПГПТ является спорадическим. Исследование герминальных мутаций, приводящих к развитию наследственных форм ПГПТ (прежде всего в генах *MEN1* и *CDC73*), целесообразно у молодых пациентов с отягощенным семейным анамнезом и при подозрении на отягощенный семейный анамнез, а также и у пациентов с раком околощитовидных желез. В большинстве (75%) случаев FIHP необходим поиск других, вероятно, еще неустановленных, генов, ответственных за его развитие.

Ключевые слова: первичный гиперпаратиреоз, синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа, синдром гиперпаратиреоза с опухолью челюсти, семейный изолированный гиперпаратиреоз; рак околощитовидных желез, *MEN1*, *CDC73*, FIHP, NGS.

## Molecular and genetic features of primary hyperparathyroidism in young patients

Е.О. МАМЕДОВА, N.G. МОКРЫШЕВА, Е.А. ПИГАРОВА, I.A. ВОРОНKOBA, S.N. КУЗНЕЦОВ, E.V. VASILYEV, V.M. PETROV, N.S. КУЗНЕЦОВ, L.Y. ROZHINSKAYA, A.N. TIULPAKOV

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

When primary hyperparathyroidism (PHPT) is diagnosed in a young patient in the absence of other clinical manifestations differential diagnosis between a sporadic form of PHPT and PHPT as the first manifestation of one of hereditary syndromes may be challenging. Diagnosis of sporadic or hereditary PHPT determines the extent of surgical intervention, a strategy for further observation and treatment, and the need for examination and treatment of first-degree relatives.

Aim of the study — to determine genetic characteristics of PHPT with manifestation at a young age (<40 years old) with clinically sporadic PHPT and familial isolated hyperparathyroidism (FIHP). Material and methods. 40 patients with manifestation of PHPT at the age younger than 40 years, 4 of which with FIHP, were included in the study. In 11 patients Sanger sequencing of *MEN1* gene was performed (ABI 3130 Genetic Analyser, «Applied Biosystems», USA). 37 patients underwent next-generation sequencing (NGS) (Ion Torrent PGM, Thermo Fisher Scientific — Life Technologies, USA) using a panel of candidate genes (*MEN1*, *CASR*, *CDC73*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*).

Results. In 3 (7,5%) patients (1 of which with FIHP) we revealed germline heterozygous mutations in *MEN1* gene: in exon 9 p.D418N, exon 3 p.R176Q, intron 3 с.654+1G>A. In 4 (4/40, 10%) patients we revealed germline heterozygous mutations in *CDC73* gene: 3 nonsense mutations in patients with parathyroid carcinoma — in exon 3 p.R91X, exon 6 p.Q166X, exon 7 p.R229X, and 1 missense mutation in a patient with parathyroid hyperplasia in exon 8 p.R263C.

Conclusions. In the majority of cases (75%) PHPT in young patients without positive family history is sporadic. Search for germline mutations in the genes, leading to development of hereditary forms of PHPT (first of all in *MEN1* and *CDC73*), is appropriate in young patients with positive family history, or when positive family history may be suspected, and in patients with parathyroid carcinoma. In the majority (75%) of FIHP cases search for other, probably yet unknown, genes is necessary.

Keywords: primary hyperparathyroidism, multiple endocrine neoplasia syndrome type 1, hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome, familial isolated hyperparathyroidism, parathyroid carcinoma, *MEN1*, *CDC73*, FIHP, NGS.

Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ) — эндокринное заболевание, обусловленное формированием очага хронической гиперпродукции паратиреоидного гормона (ПТГ) (в 85% случаев — вследствие аденомы одной околощитовидной железы (ОЩЖ), в 15% случаев — аденомы/гиперплазии нескольких ОЩЖ, менее 1% случаев — карциномы ОЩЖ) [1]. В зарубежной литературе выделяют манифестные и мягкие формы ПГПТ [1]. Отечественная классификация далее подразделяет формы ПГПТ в зависимости от поражения конкретных органов-мишеней. Манифестная форма включает висцеральную (клинически проявляющийся нефролитиаз (НЛ), нефрокальциноз), костную (фиброзно-кистозная остеодистрофия, низкоэнергетические переломы, остеопороз) и костно-висцеральную. Мягкая форма включает бессимптомную (отсутствие патологических изменений в органах-мишенях) и малосимптомную (микролиты, случайно выявленные при УЗИ почек, незначительное снижение МПК) [2].

В 90—95% случаев ПГПТ является спорадическим и чаще встречается у женщин в постменопаузе [3]. Гораздо реже он бывает наследственным и проявляется в виде изолированной эндокринопатии или в сочетании с другими клиническими симптомами [4]. Генетические синдромы, ассоциированные с 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 tumor syndrome — НРТ-ЖТ), семейную гипокальциурическую гиперкальциемию (familial hypocalciuric hypercalcemia — ФНН) и семейный изолированный гиперпаратиреоз (familial isolated hyperparathyroidism — ФИНР). К развитию указанных синдромов, соответственно, приводят мутации в генах *MEN1*, *RET*, *CDKN1B*, *CDC73*, *CASR*; мутации, обуславливающие развитие ФИНР, до сих пор неизвестны, однако в некоторых случаях ФИНР обнаруживаются мутации в генах *MEN1*, *CASR* или *CDC73*. Следует отметить, что ПГПТ никогда не является первым проявлением синдрома МЭН-2А, а диагностируется либо одновременно с медулярным раком щитовидной железы, либо спустя некоторое время после тиреоидэктомии по поводу медулярного рака [4].

ПГПТ у молодых пациентов может быть как спорадическим, так и первым проявлением одного из наследственных синдромов [5]. Учитывая различия в частоте и времени манифестации других компонентов вышеперечисленных синдромов (аденомы гипофиза, нейроэндокринные опухоли поджелудочной железы в рамках синдромов МЭН-1 и МЭН-4; опухоли почек, матки, верхней/нижней челюсти и пр. при НРТ-ЖТ; практически бессим-

птомное течение ФНН), диагностика спорадической или наследственной формы ПГПТ может быть затруднена, однако она определяет тактику лечения. В случае спорадического ПГПТ выполняется удаление солитарного образования/нескольких образований ОЩЖ. В случае МЭН-1 и МЭН-4 предпочтительны субтотальная или тотальная паратиреоидэктомия (ПТЭ). В большинстве случаев ФНН лечение не требуется. Выбор тактики лечения при НРТ-ЖТ индивидуален, поскольку при этом синдроме чаще, чем при других, развиваются злокачественные новообразования ОЩЖ. Кроме того, верификация одного из вышеперечисленных наследственных синдромов определяет необходимость регулярного скрининга пациентов с целью раннего выявления других компонентов конкретного синдрома, а также обследования родственников первой линии [6].

Цель исследования — определить молекулярно-генетические характеристики как спорадического ПГПТ, так и ПГПТ в рамках ФИНР у пациентов с манифестацией патологии в молодом возрасте (менее 40 лет)

## Материалы и методы

В исследование были включены 40 пациентов обоего пола с подтвержденным диагнозом ПГПТ [3, 7]. Критерием включения являлся возраст на момент манифестации ПГПТ менее 40 лет. Манифе-

### Сведения об авторах:

*Мамедова Елизавета Октаевна\** — асп. отд. нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия, e-mail: lilybet@mail.ru;

*Мокрышева Наталья Георгиевна* — д.м.н., рук. Центра гиперпаратиреоза ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, зам. дир. ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Лигарова Екатерина Александровна* — к.м.н., вед.н.с. отд. нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Воронкова Ия Александровна* — к.м.н., врач отд. фундаментальной патоморфологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Кузнецов Сергей Николаевич* — врач отд. хирургии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Васильев Евгений Витальевич* — к.б.н., с.н.с. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Петров Василий Михайлович* — к.х.н., с.н.с. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Кузнецов Николай Сергеевич* — д.м.н., проф., зав. отд. хирургии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Рожинская Людмила Яковлевна* — д.м.н., проф., гл.н.с. отд. нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

*Тюльпаков Анатолий Николаевич* — д.м.н., зав. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия

стадией ПГПТ считалось: возникновение НЛ или низкоэнергетических переломов вследствие фиброзно-кистозной остеодистрофии или остеопороза при манифестных формах; случайно выявленное повышение уровней кальция и ПТГ в крови при мягких формах. Критериями исключения были: вторичный и третичный гиперпаратиреоз, клинические и/или лабораторно-инструментальные данные о наличии аденомы гипофиза, нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы или иных локализаций, медуллярного рака щитовидной железы, феохромоцитомы. У 4 пациентов был диагностирован ГИР (диагноз ПГПТ был подтвержден у одного или нескольких родственников первой линии в отсутствие других эндокринных опухолей). Еще у 4 пациентов имелось подозрение на отягощенный семейный анамнез (у 2 — НЛ, у 1 — поликистоз почек, у 1 — гастрит, тяжело поддающийся терапевтическому лечению, у родственников первой линии родства). У остальных пациентов ( $n=32$ ) был диагностирован спорадический ПГПТ. С учетом молодого возраста пациентов в соответствии с международными клиническими рекомендациями всем им было проведено хирургическое лечение ПГПТ [7]. Всеми пациентами было подписано информированное согласие на участие в исследовании. Исследование было одобрено этическим комитетом ФГБУ «Эндокринологический научный центр» МЗ РФ (протокол №11 от 23.10.13).

Обработка данных проводилась с использованием пакета прикладных программ StatSoft Statistica 8.0 для Microsoft Windows XP. При анализе данных использовались следующие параметры: для описания количественных признаков — медиана (25-й и 75-й процентиля), в ряде случаев — минимальные и максимальные значения [Q25—Q75, min—max], стандартные отклонения (SD); для описания качественных признаков — доли.

#### Молекулярно-генетическое исследование

Геномную ДНК выделяли из цельной крови с использованием набора MagNA Pure LC DNA Isolation Kit I («Roche Diagnostics», Швейцария) с помощью MagNA Pure LC 2.0 Instrument («Roche Diagnostics», Швейцария).

Некоторым пациентам ( $n=11$ ) была выполнена амплификация с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим прямым секвенированием по Сэнгеру 2—10 экзонов и прилежащих участков интронов гена *MEN1*. 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: 2F,

5'-GGGGCGGGTGGAACTTAG-3'; 2R,  
5'-GGGCAGAGGTGAGGTTGATG-3'; 3F,  
5'-GGTTGGGTCACAGGCTTGGGA-3'; 5F,  
5'-GGTGGGTGGTCCCTGTTG-3'; 7R,  
5'-CCTAGGGACTGGATGGAAAG-3'; 8F,  
5'-CAGTGAGGACCCACCTACT-3'; 9F,  
5'-CTGGAGCCAGGGGTCTTTG-3'; 10R,  
5'-CAGAACATGGGCTCAGAGTTG-3'.

Синтезированные фрагменты разделяли 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.

Пациентам, у которых секвенирование по Сэнгеру не выявило мутации в гене *MEN1*, а также тем, которым секвенирование по Сэнгеру не проводилось ( $n=37$ ), было проведено высокопроизводительное параллельное секвенирование (next-generation sequencing — NGS) панели генов-кандидатов. Панель включала гены, 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. Этапы подготовки проб и собственно NGS проводили на секвенаторе Ion Torrent PGM («Thermo Fisher Scientific — Life Technologies», США) в соответствии со стандартными протоколами (<https://ioncommunity.thermofisher.com/community/protocols-home>). Анализ данных NGS проводился с помощью программного обеспечения Torrent Suite («Thermo Fisher Scientific — Life Technologies», США). Для аннотирования выявленных изменений использовали программу ANNOVAR (<http://annovar.openbioinformatics.org>) [8]. В качестве референсной последовательности вышеперечисленных генов использовались ссылки Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) под номерами NM\_130799, NM\_000388, NM\_024529, NM\_078467, NM\_004064, NM\_000076, NM\_000077, NM\_001262, NM\_001800 соответственно.

## Результаты

### Клиническая характеристика пациентов

В исследование были включены 27 женщин (67,5%) и 13 мужчин (32,5%). Медиана возраста на момент манифестации ПГПТ составила 23,5 года [20—28; 10—38], SD 6,47; медиана возраста на момент хирургического лечения — 26,0 года [21,5—31,5; 14—39], SD 6,46. У 22 (55%) пациентов диагностирована манифестная форма ПГПТ: у 7 — висцер-

ральная у 2 — костная, у 13 — костно-висцеральная, у 18 (45%) — мягкая форма ПГПТ: у 8 — малосимптомная, у 10 — бессимптомная. Медиана уровня общего кальция в крови составила 2,94 ммоль/л (2,76—3,32, 2,48—4,19), SD 0,42; уровень ионизированного кальция — 1,4 ммоль/л [1,29—1,56, 1,16—2,16], SD 0,24; уровень ПТГ — 351,6 пг/мл [125,7—1075,0, 41,8—3148], SD 779,7. По данным гистологического заключения, после оперативного вмешательства у 28 (70%) пациентов диагностирована солитарная аденома ОЩЖ, у 1 (2,5%) — 2 аденомы ОЩЖ, у 1 (2,5%) — 1 аденома и 1 — гиперплазированная ОЩЖ, у 5 (12,5%) — гиперплазия одной ОЩЖ, у 1 (2,5%) — атипичная аденома ОЩЖ, у 4 (10%) — рак ОЩЖ. У всех пациентов в раннем послеоперационном периоде была достигнута ремиссия ПГПТ (нормокальциемия и нормализация уровня ПТГ или гипокальциемия со вторичным повышением уровня ПТГ). У 2 пациентов в последствии генетически подтвержденным МЭН-1 развился рецидив ПГПТ через год после удаления солитарных аденом ОЩЖ. Из сопутствующих заболеваний у 3 пациенток был диагностирован полип эндометрия, у 1 пациента — полип уретры, у 1 пациентки — Т3-тиреотоксикоз, у 1 пациентки — множественные рецидивирующие эпюлиды верхней и нижней челюсти, у 1 пациентки — образование верхней челюсти (без заключения гистолога), у 1 пациента — идиопатическая мономорфная желудочковая экстрасистолия (градация II по Лауну), у 1 пациентки с ФНР — генуинная эпилепсия (синдром Леннокса—Гасто), у 1 пациента — олигофрения, у 1 пациента — неспецифический язвенный колит, у 4 — артериальная гипертензия.

#### Молекулярно-генетическое исследование

У 2 (5%) из 39 пациентов при проведении прямого секвенирования гена *MEN1* по Сэнгеру были выявлены гетерозиготные мутации: в экзоне 9 — с.1252G>A (p.D418N), в экзоне 3 — с.512G>A (p.R176Q), в интроне 3 — с.654+1G>A. Миссенс-мутация p.D418N была выявлена у пациента с висцеральной формой ПГПТ с дебютом заболевания в 27 лет, аденомой одной ОЩЖ на момент диагностики ПГПТ. В связи с длительно протекавшим НЛ у его отца у последнего также был активно выявлен ПГПТ и та же мутация в гене *MEN1*. Патология в данной семье рассматривалась нами как более мягкий вариант синдрома МЭН-1 — ФНР, подробно описанный ранее [9]. Спустя год после операции у пробанда был выявлен рецидив ПГПТ. Гетерозиготная замена p.R176Q, являющаяся редким полиморфизмом и встречающаяся в общей популяции с частотой 1,6%, была выявлена у пациентки с висцеральной формой ПГПТ с дебютом в 22 года, гиперплазией 1 удаленной ОЩЖ и описана нами ранее [10]. В семейном анамнезе пациентки обращало на себя внимание также наличие НЛ у отца, однако дальнейшее обследова-

ние семьи не проводилось в связи с отказом пациентов. Сплайсинговая мутация с.654+1G>A была выявлена у пациентки с бессимптомной формой ПГПТ, диагностированной в 14 лет при обследовании по поводу тахикардии. В семейном анамнезе обращало внимание наличие у отца гастрита, тяжело поддающегося терапевтическому лечению. Через год после удаления солитарной аденомы ОЩЖ развился рецидив ПГПТ.

Из 37 пациентов, которым было проведено NGS, у 4 были выявлены гетерозиготные мутации в гене *CDC73*: 3 нонсенс-мутации [в экзоне 3 — с.271C>T (p.R91X), в экзоне 6 — с.496C>T (p.Q166X), в экзоне 7 — с.685A>T (p.R229X)] и 1 миссенс-мутация в экзоне 8 — с.787C>T (p.R263C). Мутации p.R91X p.R229X и p.R263C ранее в литературе описаны не были. Все 3 нонсенс-мутации были диагностированы у молодых пациентов с раком ОЩЖ. Пациентка с тяжелой костно-висцеральной формой ПГПТ (гиперпаратиреоидная остеодистрофия и микролиты обеих почек) с дебютом в 20 лет, метастазами рака ОЩЖ в легкие, полипом эндометрия и мутацией p.R91X, и пациентка с тяжелой костно-висцеральной формой ПГПТ (также гиперпаратиреоидная остеодистрофия и микролиты обеих почек) с дебютом в возрасте 24 лет, мутацией p.Q166X и отягощенным семейным анамнезом (у матери поликистоз почек с исходом в терминальную стадию почечной недостаточности, требующей проведения программного гемодиализа) были описаны нами ранее [11].

У пациента с мутацией p.R229X костная форма ПГПТ (тяжелая гиперпаратиреоидная остеодистрофия) манифестировала в 22 года. При обследовании были выявлены значительно повышенный уровень ПТГ — 1441,5 пг/мл (15—68,3), общего кальция — 3,90 ммоль/л (2,15—2,55) и ионизированного кальция — 1,84 ммоль/л (1,03—1,29). При мультиспиральной компьютерной томографии на срезах органов шеи превертебрально, справа от пищевода и трахеи, а также кзади от нижнего полюса правой доли щитовидной железы была выявлена эктопированная аденома ОЩЖ с кистозной трансформацией, размером 1,73×1,9×2,5 см. В течение 5 лет после паратиреоидэктомии у пациента сохраняется ремиссия ПГПТ. Гистологическое заключение — рак ОЩЖ (рис. 1, а, б). Из сопутствующих заболеваний у пациента выявлена идиопатическая мономорфная желудочковая экстрасистолия (градации II по Лауну).

У пациентки с миссенс-мутацией p.R263C гиперкальциемия была выявлена в 30 лет при обследовании по поводу артериальной гипертензии (уровень общего кальция — 2,94 ммоль/л (2,15—2,55), ионизированного кальция — 1,24 ммоль/л (1,03—1,29), ПТГ — 125,1 пг/мл (15—65)). При УЗИ обнаружена аденома правой нижней ОЩЖ 1,2×0,6×0,6 см, диагностирована мягкая форма ПГПТ. Одно-

временно с ПГПТ был диагностирован Т3-тиреотоксикоз (уровень ТТГ — 0,018 мМЕ/л (0,25–3,5), Т4 св. — 19,1 пмоль/л (9–20), Т3 св. — 6,3 пмоль/л (2,5–5,5), щитовидная железа неоднородной структуры, умеренно пониженной экзогенности, 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, за средней третью правой доли — образование аденоматозного вида размером 1,0×0,5 см, за гортанью слева — образование размером около 1,0×0,6 см, в проекции нижнего полюса левой доли — образование размером 1,0×0,5 см. Выполнена тиреоидэктомия, тотальная паратиреоидэктомия, 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. 2); в жировой клетчатке лимфоузлы с признаками реактивной гиперплазии; 2 лимфоузла с признаками реактивной гиперплазии; зрелая жировая ткань; диффузный пролиферирующий коллоидный зоб.

Среди пациентов, которым было проведено NGS, ни у одного не были выявлены мутации в гене *MEN1*, а также в гене *CASR* и генах 6 ингибиторов циклин-зависимых киназ (*CDKIs*).

Из 4 семей с FHNP только в одном случае (25%) была обнаружена герминальная мутация в гене *MEN1* (p.D418N) (см. выше). В 3 (75%) других семьях с FHNP (2 — с наличием ПГПТ у 2 членов семьи, 1 — с наличием ПГПТ у 4 членов семьи, у всех 3 пробандов — мягкие формы ПГПТ) герминальные мутации в исследованных генах выявлены не были.

## Обсуждение

Вопрос о необходимости молекулярно-генетического скрининга у молодых пациентов с ПГПТ на наличие наследственных форм ПГПТ остается открытым. Не определен и пороговый возраст (30, 35, 40, 45 лет), при котором, возможно, подобный скрининг будет целесообразен. В исследовании A. Skandrajah и соавт. [12] при проведении прямого секвенирования гена *MEN1* по Сэнгеру у 21 пациента в возрасте до 40 лет с клинически спорадическим ПГПТ мутация была выявлена только у 1 (4,7%) 32-летнего мужчины с НЛ и двойной аденомой ОЩЖ. Авторы делают вывод о нецелесообразности подобного скрининга у всех пациентов с ПГПТ моложе 40 лет. В исследовании P. Langer и соавт. [13] у 2 (13,3%) из 15 пациентов в возрасте менее 40 лет со спорадическим ПГПТ (без отягощенного семейного анамнеза) были выявлены мутации в гене *MEN1*.

У обоих пациентов было мультигландулярное поражение ОЩЖ, тогда как у 13 пациентов с солитарной аденомой ОЩЖ мутации выявлены не были. Авторы делают вывод, что спорадический ПГПТ у пациентов моложе 40 лет с мультигландулярным 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 с мутациями в гене *MEN1* имело место мультигландулярное поражение ОЩЖ, тогда как у большинства пациентов без мутаций в этом гене были солитарные аденомы ОЩЖ [12, 13]. В работе L. Starker и соавт. [14] при обследовании 86 молодых (≤45 лет) пациентов с клинически спорадическим ПГПТ у 8 (9,3%) были выявлены герминальные мутации (4 в *MEN1*, 3 в *CASR* и 1 в *CDC73*). В международных клинических рекомендациях [15] по синдрому МЭН-1 предлагается исследовать наличие герминальных мутаций в гене *MEN1* у всех пациентов моложе 30 лет с клинически спорадическим ПГПТ, а также при множественном поражении ОЩЖ независимо от возраста.

В нашей работе у 7 (17,5%) пациентов с дебютом ПГПТ в возрасте менее 40 лет были выявлены герминальные мутации (3 в гене *MEN1*, 4 в гене *CDC73*), приводящие к наследственным синдромам, в рамках которых возникает ПГПТ. При этом у 4 (66,7%) пациентов был отягощен семейный анамнез (1 — FHNP, 1 — НЛ у отца, 1 — поликистоз почек у матери, 1 — рецидивирующий гастрит у отца). Большой процент выявления мутаций в гене *CDC73* по сравнению с найденным L. Starker и соавт. обусловлен включением в исследование молодых пациентов с раком ОЩЖ.

ПГПТ выявляется в 90–100% случаев синдрома МЭН-1, часто бывает первым проявлением этого синдрома, протекает мягче, чем спорадический ПГПТ, и чаще обусловлен множественным поражением ОЩЖ (в основном, их гиперплазией) [5]. В нашей когорте пациентов отмечена относительно низкая частота выявления ПГПТ как первого проявления синдрома МЭН-1 (7,5%), что можно объяснить исключением из исследования пациентов с генетически подтвержденным МЭН-1 у родственников первой линии, а также пациентов с аденомами гипофиза и нейроэндокринными опухолями поджелудочной железы. Примечательно, что 2 пациента с выявленными мутациями в гене *MEN1* имели манифестную (висцеральную) форму ПГПТ, 1 пациентка — бессимптомную форму. Кроме того, у всех 3 пациентов имелось подозрение на отягощенный семейный анамнез (наличие НЛ или рецидивирующего гастрита у одного из родителей), что изначально указывало на возможную наследственную природу заболевания. Выявление мутаций в гене *MEN1* определяет необходимость пожизненного регулярного скрининга для раннего выявления и лечения

оставшихся компонентов синдрома, а также обследования родственников первой линии [14]. Ни у одного из пациентов с мягкой формой клинически спорадического ПГПТ герминальные мутации в гене *MEN1*, а также в других исследованных генах, выявлены не были. Герминальные мутации не были выявлены у 2 пациентов с исходным поражением нескольких ОЩЖ и у 4 из 5 пациентов с гиперплазией одной ОЩЖ.

Мутации в гене *CDC73* приводят к развитию синдрома НРТ-ЖТ, который проявляется ПГПТ (в 15% случаев — рак ОЩЖ), оссифицирующими фибромами верхней и/или нижней челюсти, поликистозом почек, опухолями мочеполовой системы. Для этого синдрома характерно также развитие атипичных и кистозных аденом ОЩЖ [16]. Примечательно, что у 3 из 4 пациентов с раком ОЩЖ были выявлены нонсенс-мутации в гене *CDC73*. Миссенс-мутация в гене *CDC73* была выявлена у пациентки с гиперплазией ОЩЖ и мягкой формой ПГПТ, что может свидетельствовать о корреляции генотип—фенотип при синдроме НРТ-ЖТ. Возможно, отсутствие выявленных мутаций в гене *CDC73* у некоторых пациентов (у пациента с раком ОЩЖ и полипом уретры, у пациентки с множественными рецидивирующими эпюлидами верхней челюсти, у пациентки с атипичной аденомой ОЩЖ) объясняется наличием крупных делеций экзонов гена *CDC73*, что не определяется методом NGS и требует использования дополнительных методов.

Всем пациентам с выявленными мутациями в гене *CDC73* необходимо регулярное пожизненное наблюдение с целью своевременной диагностики рецидива ПГПТ и исключения других компонентов синдрома. У пациентов с раком ОЩЖ мутации в гене *CDC73* встречаются примерно в 30% случаев [16]. Однако злокачественное поражение ОЩЖ, хоть и гораздо реже, но может встречаться и у пациентов с синдромом МЭН-1. В литературе [17, 18] имеются описания около 12 единичных случаев рака ОЩЖ в рамках МЭН-1.

Примечательно, что только в 1 из 4 семей с ФНР нам удалось установить генетическую причину заболевания — мутацию в гене *MEN1*. Эта мутация (p.D418N) была ранее обнаружена у пациентов с классическим синдромом МЭН-1 [19], а также у пациентов с раком ОЩЖ [18], что подтверждает отсутствие корреляций генотип—фенотип при синдроме МЭН-1. В остальных 3 семьях (в 2 были поражены мать и дочь, в 1 — дочь, ее старшая сестра, мать и тетя) герминальные мутации ни в одном из известных генов, ассоциированных с наследственными формами ПГПТ, найдены не были. Это согласуется с данными литературы [20], что известные герминальные мутации выявляются только у около 30% семей с ФНР. Остальные случаи ФНР могут быть обусловлены мутациями в других, еще не вы-

явленных, генах. Следует подчеркнуть, что только у 1 пробанда с мутацией в *MEN1* развился рецидив ПГПТ, у остальных 3 пробандов с ФНР при многолетнем наблюдении после удаления солитарной аденомы ОЩЖ сохраняется ремиссия заболевания.

Ни у одного из пациентов нашей когорты не было выявлено мутаций в гене *CASR*. Герминальные гетерозиготные мутации в этом гене обуславливают развитие ФНН — состояние, не требующее в большинстве случаев оперативного лечения. Кроме того, даже после паратиреоидэктомии у пациентов не достигается нормокальциемия. Гомозиготные мутации в гене *CASR* ассоциированы с тяжелым неонатальным ПГПТ (neonatal severe hyperparathyroidism — NSHPT), требующим экстренной тотальной паратиреоидэктомии [4].

Ни у одного из пациентов не были выявлены и мутации в генах ингибиторов циклин-зависимых киназ (*CDKIs*). Исследований указанных генов у молодых пациентов с ПГПТ не проводилось. В литературе [21] нами найдено описание единственного 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. S. Agarwal и соавт. [22] показали, что герминальные мутации в *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. J. Costa-Guda и соавт. [23] при исследовании 85 спорадических аденом ОЩЖ в 5 обнаружили гетерозиготные соматические замены в *CDKIs*, из них 3 — герминальные (1 — *CDKN1A*, 1 — *CDKN2B*, 1 — *CDKN2C*); все они были выявлены у пациентов старше 50 лет. Роль *CDKIs* в развитии наследственных форм ПГПТ требует дальнейшего изучения на большей выборке пациентов.

## Заключение

В большинстве случаев (75%) ПГПТ у молодых пациентов с манифестной и мягкой формами заболевания является спорадическим. Мутации в гене *MEN1* выявлены у пациентов как с манифестной, так и мягкой формой ПГПТ, в одном случае в рамках ФНР, в двух других — при подозрении на отягощенный семейный анамнез (наличие НЛ и рецидивирующего гастрита у родственников первой линии). У большинства пациентов с раком ОЩЖ (75%) выявлены герминальные мутации в гене *CDC73*. Исследование герминальных мутаций в генах, приводящих к развитию наследственных форм ПГПТ (прежде всего в *MEN1* и *CDC73*), представляется целесообразным у молодых пациентов с отягощенным семейным анамнезом, при подозрении на

отягощенный семейный анамнез, и у молодых пациентов с раком ОЩЖ. Выявление миссенс-мутации в гене *CDC73* у молодой пациентки с мягкой формой спорадического ПППТ и гиперплазией одной ОЩЖ обуславливает необходимость исследований на большей выборке пациентов. В случаях ГИНР молекулярно-генетическое исследование необходимо для исключения известных наследственных синдромов, однако важен поиск других, вероятно, еще не установленных генов, ответственных за развитие большинства случаев ГИНР.

#### Информация о финансировании и конфликте интересов

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №16-34-00401 мол\_а.

Результаты работы являются частью диссертационного исследования Мамедовой Е.О.

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

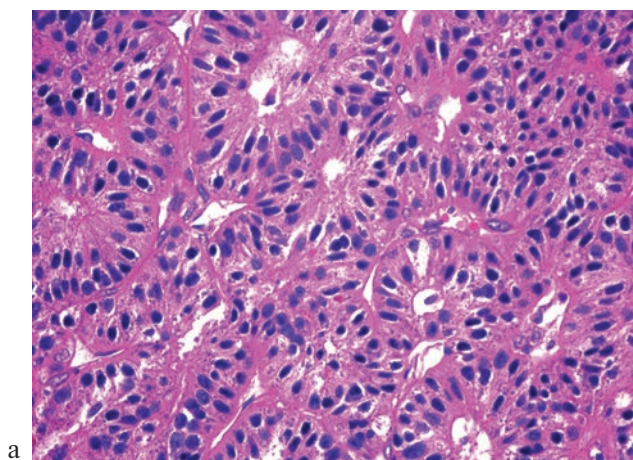
**Участие авторов:** Мамедова Е.О. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, анализ полученных данных, написание текста статьи; Мокрышева Н.Г. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материала, редактирование статьи; Пигарова Е.А. — сбор и обработка материала, редактирование статьи; Воронкова И.А. — обработка материала, редактирование статьи; Кузнецов С.Н. — сбор и обработка материала, редактирование статьи; Васильев Е.В. — обработка материала, анализ полученных данных; Петров В.М. — обработка материала, анализ полученных данных; Кузнецов Н.С. — редактирование статьи; Рожинская Л.Я. — редактирование статьи; Тюльпаков А.Н. — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, редактирование статьи.

## ЛИТЕРАТУРА

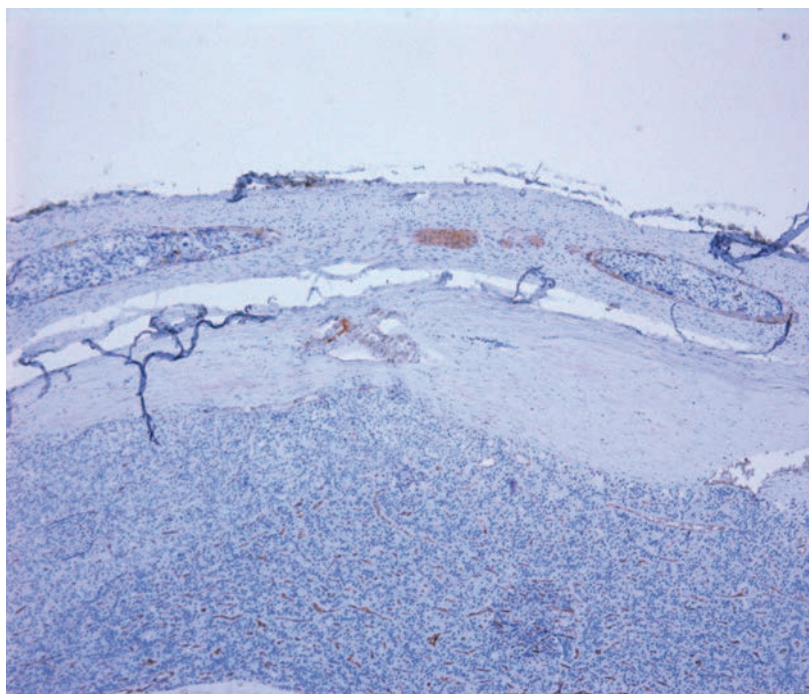
- Silverberg SJ. *Primary Hyperparathyroidism*. In: Rosen CJ, Editor. *Primer On The Metabolic Bone Diseases And Disorders Of Mineral Metabolism*. 8<sup>th</sup> Ed. Wiley-Blackwell; 2013. P. 543-552.
- Мокрышева Н.Г., Рожинская Л.Я., Перетокина Е.В., и др. Анализ основных эпидемиологических характеристик первичного гиперпаратиреоза в России (по данным регистра). // *Проблемы Эндокринологии*. — 2012. — Т. 58 — №5 — С. 16—20. [Mokrysheva NG, Rozhinskaia Li, Peretokina Ev, et al. The Results Of Analysis Of The Major Epidemiological Characteristics Of Primary Hyperparathyroidism In Russia Based On The Registry Data. *Probl Endocrinol (Mosk)*. 2012;58(5):16-20. (In Russ.)]. doi: 10.14341/Probl201258516-20.
- Мокрышева Н.Г. *Первичный гиперпаратиреоз. Эпидемиология, клиника, современные принципы диагностики и лечения*: Дис. ... докт. мед. наук. — Москва; 2011. [Mokrysheva NG. *Pervichnyi Giperparatireoz. Epidemiologiya, Klinika, Sovremennye Printsipy Diagnostiki I Lecheniya*. [Dissertation]. Moscow; 2011. (In Russ.)].  
Доступно По: [Http://Test.Vak.Ed.Gov.Ru/Common/Img/Uploaded/Files/Mokryshevang-0.Pdf](http://Test.Vak.Ed.Gov.Ru/Common/Img/Uploaded/Files/Mokryshevang-0.Pdf). Ссылка Активна На 26.01.2016.
- Giusti F, Cavalli L, Cavalli T, Brandi ML. Hereditary Hyperparathyroidism Syndromes. *J Clin Densitom*. 2013;16(1):69-74. doi: 10.1016/J.Jocd.2012.11.003.
- Lassen T, Friis-Hansen L, Rasmussen AK, et al. Primary Hyperparathyroidism In Young People. When Should We Perform Genetic Testing For Multiple Endocrine Neoplasia I (Men-1)? *J Clin Endocr Metab*. 2014;99(11):3983-3987. doi: 10.1210/Jc.2013-4491.
- Iacobone M, Carnaille B, Palazzo FF, Vriens M. Hereditary hyperparathyroidism-A consensus report of the European Society of Endocrine Surgeons (ESES). *Langenbecks Arch Surg*. 2015;400(8):867-886. doi: 10.1007/S00423-015-1342-7.
- Silverberg SJ, Clarke BL, Peacock M, et al. Current issues in the presentation of asymptomatic primary hyperparathyroidism: proceedings of the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):3580-3594. doi: 10.1210/Jc.2014-1415.
- Wang K, Li M, Hakonarson H. Annovar: functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2010;38(16):E164. doi: 10.1093/Nar/Gkq603.
- Мамедова Е.О., Пигарова Е.А., Мокрышева Н.Г., и др. Синдром множественных эндокринных неоплазий I-го типа и семейный изолированный гиперпаратиреоз. // *Клиническая Медицина*. — 2015. — Т. 93. — №11 — С. 73-77. [Mamedova EO, Pigarova EA, Mokrysheva NG, et al. Type 1 multiple endocrine neoplasia syndrome and familial isolated hyperparathyroidism. *Klinicheskaja Meditsina*. 2015;93(11):73-77. (In Russ.)].
- Mamedova E, Mokrysheva N, Kuznetsov S, et al. A novel Men1 polymorphism P.R176q in a young patient with primary hyperparathyroidism. In: Abstracts of the 14th International Workshop on multiple endocrine neoplasia and other rare endocrine tumors, September 25-27th, 2014, Vienna, Austria. *Wien Klin Wochenschr*. 2014;126(Suppl 3):139-170. doi: 10.1007/S00508-014-0578-5.
- Мамедова Е.О., Мокрышева Н.Г., Пигарова Е.А., и др. Мутации в гене *CDC73* у молодых пациентов с первичным гиперпаратиреозом (описание двух клинических случаев). // *Терапевтический архив*. — 2016. (в печати). [Mamedova EO, Mokrysheva NG, Pigarova EA, et al. *CDC73* mutations in young patients with primary hyperparathyroidism (description of two clinical cases). *Terapevticheskii arkhiv*. Forthcoming 2016. (In Russ.)].
- Skandarajah A, Barlier A, Morlet-Barlat N, et al. Should routine analysis of the Men1 gene be performed in all patients with primary hyperparathyroidism under 40 Years of age? *World J Surg*. 2010;34(6):1294-1298. doi: 10.1007/S00268-009-0388-5.
- Langer P, Wild A, Hall A, et al. Prevalence of multiple endocrine neoplasia type 1 in young patients with apparently sporadic primary hyperparathyroidism or pancreaticoduodenal endocrine tumours. *Br J Surg*. 2003;90(12):1599-1603. doi: 10.1002/Bjs.4355.
- Starker LF, Akerstrom T, Long WD, et al. Frequent germ-line mutations of the Men1, Casr, and Hprt2/Cdc73 genes in young patients with clinically non-familial primary hyperparathyroidism. *Horm Cancer*. 2012;3(1-2):44-51. doi: 10.1007/S12672-011-0100-8.

15. Thakker RV, Newey PJ, Walls GV, et al. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(9):2990-3011. doi: 10.1210/Jc.2012-1230.
16. Jackson MA, Rich TA, Hu MI, et al. CDC73-related disorders. 2008 Dec 31 [Updated 2015 Jan 15]. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al., editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle (WA): University Of Washington, Seattle; 1993-2016. Available From: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3789/>
17. Singh Ospina N, Sebo TJ, Thompson GB, et al. Prevalence of parathyroid carcinoma in 348 patients with multiple endocrine neoplasia type 1 — case report and review of the literature. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2016;84(2):244-249. doi: 10.1111/Cen.12714.
18. Scillitani A, Salcuni AS, Clemente C, et al. A rare case of multiple malignant parathyroid tumors in an atypical MEN1 family with a p.D418N mutation. In: Niederle B, Scheuba C, Bichler C, et al., Editors. 14th International workshop on multiple endocrine neoplasia and other rare endocrine tumors. *Wiener Klinische Wochenschrift.* 2014;126(S3):139-170. doi: 10.1007/S00508-014-0578-5.
19. Bassett JHD, Forbes SA, Pannett AAJ, et al. Characterization Of Mutations In Patients With Multiple Endocrine Neoplasia Type 1. *Am J Hum Genet.* 1998;62(2):232-244. doi: 10.1086/301729.
20. Simonds WF. Familial isolated hyperparathyroidism. *Clinical Cases In Mineral And Bone Metabolism.* 2006;3(2):175-183.
21. Elston MS, Meyer-Rochow GY, Dray M, et al. Early Onset Primary Hyperparathyroidism Associated With A Novel Germline Mutation In CDKN1B. *Case Rep Endocrinol.* 2015;2015:510985. doi: 10.1155/2015/510985.
22. Agarwal SK, Mateo CM, Marx SJ. Rare germline mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes in multiple endocrine neoplasia type 1 and related states. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(5):1826-1834. doi: 10.1210/Jc.2008-2083.
23. Costa-Guda J, Soong CP, Parekh VI, et al. Germline and somatic mutations in cyclin-dependent kinase inhibitor genes CDKN1A, CDKN2B, and CDKN2C in sporadic parathyroid adenomas. *Horm Cancer.* 2013;4(5):301-307. doi: 10.1007/S12672-013-0147-9.





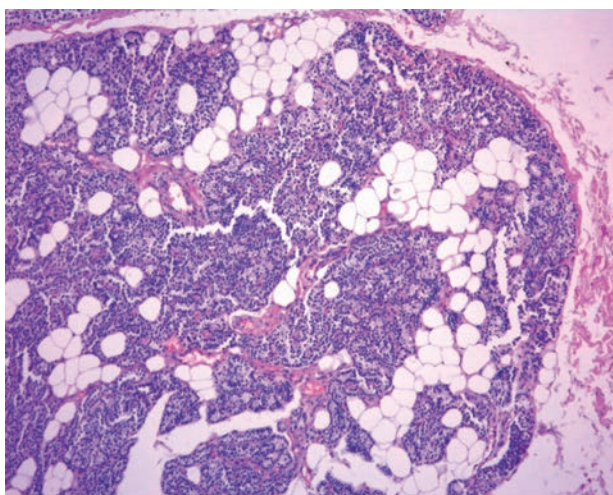
а



б

**Рис. 1.** Морфологическое строение рака ОШЖ у пациента с мутацией в гене *CDC73* p.R229X.

а — рак ОШЖ из главных (базофильных) клеток с формированием розеткоподобных структур (гематоксилин-эозин,  $\times 400$ ); б — инвазия рака ОШЖ в сосуды капсулы, подтвержденная с помощью антител к CD31 (эндотелиальный сосудистый маркер) ( $\times 50$ );



**Рис. 2.** Гиперплазия ОШЖ (гематоксилин-эозин,  $\times 100$ ).