

ПЫЛИНА СВЕТЛАНА ВИКТОРОВНА

**Мутация в гене *MEN1* в патогенезе костных нарушений при
наследственной форме первичного гиперпаратиреоза**

3.1.19. Эндокринология

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук**

Москва — 2025

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

Научный руководитель:

Мокрышева Наталья Георгиевна

доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор ФГБУ «НМИЦ
эндокринологии» Минздрава России

Официальные оппоненты:

Суплотова Людмила Александровна

доктор медицинских наук, профессор, заведующая курсом эндокринологии кафедры
терапии Института клинической медицины ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава
России

Салихова Диана Ирековна

кандидат биологических наук, заведующая лабораторией клеточных биотехнологий,
Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего
образования "Российский университет дружбы народов имени Патриса Лумумбы"

Ведущая организация:

ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России

Защита диссертации состоится «___» _____ 2025 года, в ___ часов на заседании
диссертационного совета 21.1.045.01 в ФГБУ «Национальный медицинский
исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России по адресу: 117292,
г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11.

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

Автореферат разослан «___» _____ 2025 года

Ученый секретарь

диссертационного совета

доктор медицинский наук

Мазурина Наталия Валентиновна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа (МЭН1) — заболевание с аутосомно-доминантным типом наследования, возникающее вследствие мутации в гене-онкосупрессоре *MEN1*, кодирующем одноименный белок менин. С наибольшей пенетрантностью (в 90% случаев) [Thakker R.V., 2012] при данном синдроме поражаются околощитовидные железы (ОЩЖ), вследствие чего развивается МЭН1-ассоциированный первичный гиперпаратиреоз (мППТ). В отличие от sporadicческой формы мППТ имеет ряд своих особенностей, включая ранний дебют заболевания, множественное поражение ОЩЖ, лабораторный профиль кальций-фосфорного обмена, а также особенности поражения органов-мишеней.

Доступные данные о частоте и степени тяжести костных нарушений при мППТ малочисленны и противоречивы. Прежде всего, это связано с орфанностью заболевания, отсроченной диагностикой ввиду ограниченности генетического скрининга, а также потенциальным влиянием других компонентов синдрома на костную систему [Maraghehli D., 2020]. Хирургическое лечение мППТ сопряжено с высоким риском рецидива/персистенции заболевания или возникновением стойкого послеоперационного гипопаратиреоза [Santucci N., 2024; Nastos C., 2021; Nilubol N., 2016; Keutgen X., 2016], что оказывает дополнительное негативное влияние на костное ремоделирование [Brescia M., 2022]. Весь перечисленный пул факторов создает основание для неоднородности оцениваемых выборок при изучении мППТ-ассоциированных костных нарушений. Пациенты могут значительно различаться по возрасту манифестации, длительности, фазе заболевания (активная фаза, персистенция или рецидив заболевания), а также комбинации с другими эндокринными заболеваниями в рамках синдрома МЭН1.

При анализе имеющихся литературных данных очевидным становится отсутствие описания особенностей микроархитектоники, степени вовлечения кортикальной и трабекулярной костной ткани в патологический процесс [Lamas C., 2019; Mathew U. E., 2023; Eller-Vainicher C., 2009; Kong J., 2016; Song A., 2023]. Кроме того, малоизученным остается вопрос о восстановлении минеральной плотности кости (МПК) после паратиреоидэктомии (ПТЭ) у пациентов с мППТ [Burgess J.R., 1999; Coutinho F., 2010; Silva A.M., 2017]. Исследования по взаимосвязи костных нарушений с объемом/исходами хирургического лечения не проводились.

В дополнение к выше сказанному, среди потенциальных причин, обуславливающих тяжесть костной патологии при мППТ, рассматривается нарушение регуляции менином минерализации костного матрикса и дифференцировки остеобластов [Naito J., 2005; Kaji H., 2012; Kanazawa I., 2015; Sowa H., 2003; Liu P., 2017].

Цель исследования

Исследовать клиничко-лабораторные и инструментальные особенности течения первичного гиперпаратиреоза, ассоциированного с синдромом МЭН1, по сравнению со

спорадической формой заболевания, а также непосредственное влияние мутации в гене *MEN1* на остеогенез с использованием пациент-специфической клеточной модели.

Задачи исследования

1. Изучить фенотипические особенности генетически верифицированного МЭН1-ассоциированного гиперпаратиреоза, включая костные нарушения в популяции пациентов из Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга первичного гиперпаратиреоза на территории РФ.
2. Провести сравнительный анализ костно-метаболических нарушений между группами пациентов: с генетически верифицированным МЭН1-ассоциированным гиперпаратиреозом и спорадической формой заболевания, без мутации в гене *MEN1* на момент манифестации заболевания по данным специализированного отделения.
3. Оценить динамику выявленных костно-метаболических нарушений у исследуемой группы и группы сравнения через 1 год после паратиреоидэктомии.
4. Изучить особенности экспрессии генов в клетках остеогенного ряда с использованием пациент-специфической клеточной линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению со здоровым контролем.

Научная новизна

Особенностью данного исследования, отличающего его от аналогичных зарубежных, является комплексный анализ костно-метаболических нарушений при мПГПТ с использованием строгих критериев включения и исключения, позволяющих устранить дополнительное влияние возраст-ассоциированных и эндокринных факторов на костную систему. Формирование групп проводилось исключительно на основании результатов генетического исследования, что позволило корректно стратифицировать пациентов, а также исключить фенокопии. Для оценки кортикального и трабекулярного компонента проксимального отдела бедренной кости впервые в мире использовалась инновационная методика 3D-shaper medical. В рамках фундаментального блока в качестве модели для изучения особенностей остеогенеза при мутации в гене *MEN1* впервые в мире использовалась пациент-специфическая клеточная линия с ранее не описанной патогенной герминальной мутацией в гене *MEN1* и линия контроля (от здорового донора). В работе выявлено 10 ранее не описанных вариантов мутаций в гене *MEN1*, 3 из которых имеют неизвестную клиническую значимость.

Теоретическая и практическая значимость

Использованная в данной работе методика 3D-моделирования бедренной кости продемонстрировала высокую информативность для оценки кортикального и трабекулярного поражения в группе мПГПТ. Она может быть рекомендована в качестве дополнительного метода исследования в данной популяции пациентов. Выявленные особенности костного фенотипа при мПГПТ могут быть использованы для формирования персонализированного подхода в лечении костных нарушений, особенно в случаях отказа от хирургического лечения.

В результате реализации проекта получена *in vitro* модель остеобластов человека с мутацией в гене *MEN1*. Модель создана на основе пациент-специфичной линии индуцированных плюрипотентных клеток (ИПСК) с мутацией в гене *MEN1* путем постадийной дифференцировки

ИПСК в клетки, подобные мезенхимальным (МСК-подобные клетки), и далее в остеобласты. Данная модель позволяет изучать причины и фундаментальные механизмы костно-минеральных нарушений у пациентов с гиперпаратиреозом в рамках синдрома МЭН1. На полученной клеточной модели методом транскриптомного анализа было показано влияние менина на дифференцировку остеобластов и минерализацию костного матрикса, что может выступать дополнительным фактором, обуславливающим тяжесть костных нарушений при этом заболевании.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автором проведен анализ состояния научной проблемы на основании клинических и фундаментальных данных. Автором сформирована и систематизирована база данных пациентов в рамках проведенного проспективного исследования, выполнен статистический анализ клинических данных. Автор принимал непосредственное участие в организации лабораторных исследований. В рамках фундаментального блока исследования автор осуществлял основной спектр клеточных работ: проводил культивирование, пассирование и криоконсервацию различных клеточных культур (фибробластов, ИПСК, МСК-подобных клеток, остеобластов); пробоподготовку для кариотипирования образцов ИПСК, проточной цитометрии и сортировки клеток, а также иммуноцитохимическое окрашивание. Автором проведена оптимизация протокола дифференцировки ИПСК в МСК-подобные клетки. Автор также проводил базовые молекулярно-генетические работы: полимеразную цепную реакцию, выделение ДНК и РНК. Автором подготовлены публикации по теме диссертации, в которых отражены основные результаты научно-исследовательской работы.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Особенностью костных нарушений при МЭН1-ассоциированном гиперпаратиреозе по сравнению со спорадической формой на момент манифестации является более значимое снижение МПК в поясничном отделе позвоночника, бедренной кости, а также дистальной трети лучевой кости.
2. При манифестации МЭН1-ассоциированного гиперпаратиреоза по сравнению со спорадической формой заболевания отмечается значимое поражение кортикальной костной ткани: уменьшается ее толщина, поверхностная и объемная плотности; уменьшение объемной плотности трабекулярной кости характерно только для шейки бедренной кости.
3. При ремиссии заболевания через 1 год после паратиреоидэктомии как для группы МЭН1-ассоциированного, так и спорадического гиперпаратиреоза характерен статистически значимый прирост МПК в поясничном отделе позвоночника и бедренной кости; восстановление поверхностных и объемных показателей кортикальной и трабекулярной кости. Увеличение толщины кортикальной кости отмечено только в группе МЭН1-ассоциированного гиперпаратиреоза.
4. Транскриптомный анализ созданных клеточных культур свидетельствует о снижении остеобластогенеза и минерализации костного матрикса при герминальной мутации в гене *MEN1*.

Апробация результатов работы

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 27 августа 2024 года (протокол № 11) на расширенной межкафедральной научной конференции ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России. Результаты работы представлены на отечественных и международных конгрессах: VIII Российском конгрессе по остеопорозу, остеоартриту и другим метаболическим заболеваниям скелета с международным участием (Санкт-Петербург, 2022); конференции по минеральному обмену и патологии околощитовидных желез «Эндокальций» (Москва, 2022); на 25-м конгрессе Европейской ассоциации эндокринологов (Стамбул, 2023); Всемирном конгрессе по остеопорозу, остеоартриту и заболеваниям опорно-двигательного аппарата IOF-ESCEO (Лондон, 2024).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 3 полнотекстовые оригинальные рукописи (2 из которых включены в перечень ВАК для публикации основных научных результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук и 1 статья, входящая в Q1, индексируемая в международных базах данных Scopus и Web of Science) и 4 тезиса международных и российских конференций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на русском языке в объеме 133 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, результатов и обсуждения результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложения. Работа иллюстрирована 16 таблицами и 26 рисунками. Список использованной литературы включает 186 источников.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Первый этап исследования

На первом этапе в соответствии с **задачей 1** проводилось изучение фенотипических особенностей мПГПТ, включая ассоциированные костные нарушения с использованием Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга первичного гиперпаратиреоза (ПГПТ) — далее База данных, доступна на сайте <https://pgpt.clin-reg.ru/>. На момент анализа к Базе данных был подключен 81 регион РФ. На момент загрузки общее количество зарегистрированных пациентов составило 6 480 человек различных возрастов. В исследование были включены данные за период с 12.12.2016 г. по 14.11.2023 г.

Первое исследование включало описание группы пациентов с подозрением на наследственную причину ПГПТ. Тип исследования: многоцентровое, наблюдательное, одномоментное, несравнительное. Критерии включения: диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0); наличие одного или сочетание нескольких признаков, разработанных для диагностического поиска наследственной причины ПГПТ в рамках синдрома МЭН1 (множественное поражение ОЩЖ, рецидив/персистенция ПГПТ; возраст манифестации ПГПТ <40 лет; наличие сопутствующей эндокринной патологии: нейроэндокринные новообразования (НЭН)

поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта, опухоли гипофиза, надпочечников, карциномы легкого или тимуса; подтверждение генетической природы ПГПТ у родственников первой линии родства).

Второе исследование включало сравнительный анализ клинко-лабораторных характеристик между генетически верифицированным мПГПТ и группой сравнения — гетерогенной выборкой пациентов с ПГПТ в активной фазе заболевания, которые были отнесены к спорадической форме заболевания (сПГПТ) согласно действующим клиническим рекомендациям по ПГПТ, результатам клинко-лабораторных и инструментальных методов обследования, внесенных Базу данных. Тип исследования: многоцентровое, наблюдательное, одномоментное, сравнительное, неконтролируемое. Были сформированы две группы пациентов: исследуемая (мПГПТ), в которую были включены пациенты обоих полов в возрасте старше 18 лет с диагнозом ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе заболевания на момент первого визита и наличием мутации в гене *MEN1*, подтвержденной результатами генетического исследования. Критерии формирования группы сравнения были аналогичны исследуемой, за исключением результатов генетического исследования. В группу сПГПТ включались пациенты с отсутствием сведений о наличии мутации в гене *MEN1* или отсутствием мутации по результатам генетического исследования.

Третье исследование заключалось в оценке особенностей костного фенотипа. Для этого в искомых группах были выделены подгруппы пациентов молодого возраста — мужчины до 50 лет и женщины до наступления менопаузы. Тип исследования: многоцентровое, наблюдательное, одномоментное, сравнительное, неконтролируемое. Дизайн исследования представлен на рисунке 1. Способ формирования выборок во всех трех исследованиях — сплошной.

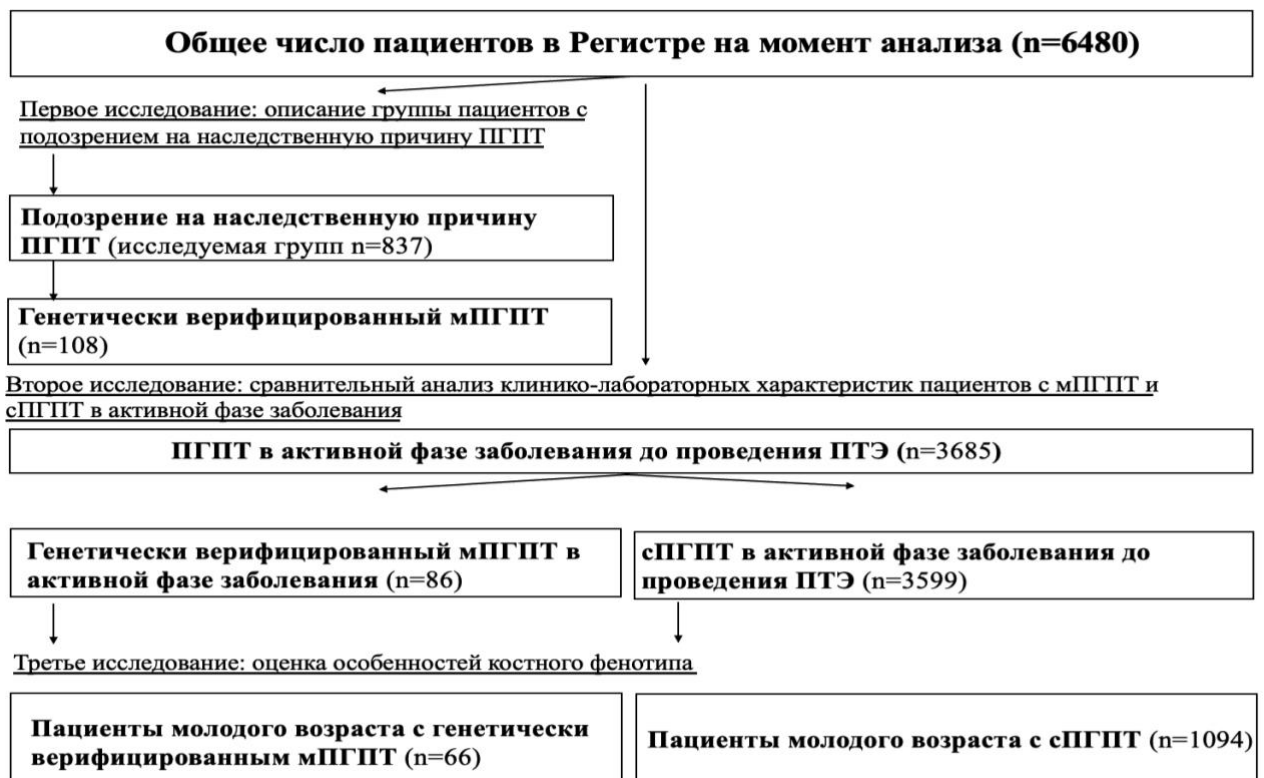


Рисунок 1 — Дизайн первого этапа исследования

Клинические методы

Верификация диагноза ПГПТ проводилась согласно действующим Национальным клиническим рекомендациям. Для сравнительного анализа использовались данные пациентов в активной фазе заболевания (до проведения ПТЭ), внесенные на момент первого визита. Первый визит — первое заполнение Базы данных при включении пациента в исследование. У всех пациентов оценивались форма заболевания и демографические параметры (возраст на момент манифестации ПГПТ, пол). Симптомная форма ПГПТ определялась наличием клинически значимой гиперкальциемии (повышении концентрации кальция крови более чем на 0,25 ммоль/л от верхней границы референса локальной лаборатории), гиперкальциурии (более 10 ммоль/сут.) и/или осложнений со стороны костной и мочевыделительной систем. Костные нарушения определялись по наличию низкоэнергетических переломов в анамнезе и/или по результатам DXA. Снижение МПК ниже ожидаемых возрастных значений диагностировалось при значении Z-критерия $\leq -2,0$ SD у лиц молодого возраста; у лиц старшей возрастной группы устанавливали наличие остеопении (снижение МПК по T-критерию в диапазоне от $-1,0$ до $-2,5$ SD) или остеопороза (снижение МПК по T-критерию $\leq -2,5$ SD). Осложнения со стороны почек определялись при снижении расчетной скорости клубочковой фильтрации (pСКФ) по CKD-EPI <60 мл/мин./1,73м² и/или подтверждении нефролитиаза/нефрокальциноза по данным ультразвукового исследования (УЗИ) и/или компьютерной томографии (КТ).

Инструментальные методы

Оценка МПК по Z- или T-критерию проводилась в поясничном отделе позвоночника L1-L4 (LS-lumbar spine), бедренной кости в целом (TH-total hip), шейке бедренной кости (FN-femur neck), лучевой кости в целом (RT-radius total) и дистальной трети лучевой кости (R33%-radius 33%). Исследование проводилось на различных денситометрах и разными операторами.

Лабораторные исследования

Оценивались показатели кальциево-фосфорного обмена: кальций общий, ммоль/л; альбумин-скорректированный кальций (альбумин-скорр. кальций), ммоль/л, (рассчитанный по формуле: альбумин-скорр. кальций (ммоль/л) = измеренный общий кальций сыворотки крови (ммоль/л) + 0,02 x (40 — измеренный уровень альбумина г/л); кальций ионизированный (кальций ион.), ммоль/л; фосфор, ммоль/л; кальций суточной мочи, ммоль/сут.; pСКФ, мл/мин./1,73м² по формуле CKD-EPI 2009, а также концентрация (ПТГ, пг/мл). Для интерпретации показателей использовался референсный интервал локальной лаборатории.

Генетические исследования

Генетические анализы выполнялись в различных медицинских организациях. В карту Базы данных вносилась информация по наличию/отсутствию мутации, в ряде случаев врач в качестве дополнения указывал конкретную мутацию.

Этическая экспертиза

Протокол исследования был рассмотрен и одобрен на заседании локального этического комитета ГНЦ РФ «НМИЦ Эндокринологии» Минздрава РФ от 17.01.2018 г. (протокол № 1).

Второй этап исследования

На втором этапе в соответствии с задачами 2–3 проводилось одноцентровое, наблюдательное, динамическое, проспективное, сравнительное, неконтролируемое исследование, в которое были включены пациенты, проходившие стационарное лечение в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, директор Центра — член-корреспондент РАН, профессор, Мокрышева Н. Г., в отделении патологии ОЩЖ и нарушений минерального обмена (зав. отделением — к.м.н. Еремкина А. К.) отдела терапевтической эндокринологии Института клинической эндокринологии (зав. отделом — д.м.н. Платонова Н. М.).

Источник случаев: архив отделения патологии ОЩЖ и нарушений минерального обмена в период с 16.06.2016 г. по 31.08.2021 г., а также новые случаи ПГПТ в отделении в период с 01.09.2021 г. по 30.12.2023 г.

Для проведения сравнительного анализа было сформировано две группы: мПГПТ — пациенты с верифицированной мутацией в гене *MEN1* и подтвержденным ПГПТ в активной фазе заболевания и группа сравнения (сПГПТ) — лица со спорадическим первичным гиперпаратиреозом в активной фазе заболевания без мутации в гене *MEN1*. Группа мПГПТ (исследуемая) была разделена на подгруппы: А — наличие мПГПТ с исключением других гормонально-активных опухолей, Б — наличие мПГПТ в сочетании с другими гормонально-активными опухолями. В исследование включались пациенты обоих полов старше 18 лет с подтвержденным диагнозом ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе, а также отсутствием ПТЭ в анамнезе. Критерии исключения: беременность и лактация, менопауза у женщин, возраст старше 50 лет для мужчин; отсутствие достаточных данных о клиническом течении ПГПТ (в том числе его костных осложнений, результатов двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии — DXA); нарушение функции щитовидной железы (тиреотоксикоз/гипотиреоз); синдром гиперкортицизма; сахарный диабет 1-го и 2-го типов; рСКФ <60 мл/мин./1,73м² и прием препаратов, влияющих на минеральный обмен (препараты кальция, активные метаболиты витамина D, тиазидные диуретики, деносумаб, бисфосфонаты, цинакальцет), по данным анамнеза. Способ формирования выборок: произвольный.

Через 1 год после ПТЭ проводился повторный анализ костно-метаболических нарушений между исследуемой группой и группой сравнения. Выбывание из исследования происходило вследствие отказа пациента от динамического исследования, при диагностировании рецидива/персистенции ПГПТ, стойкого гипопаратиреоза или беременности на момент повторного визита. Также динамическое исследование не проводилось, если на момент окончания исследования (на 30.12.2023 г.) срок послеоперационного наблюдения был менее 1 года. Дизайн исследования представлен на рисунке 2.

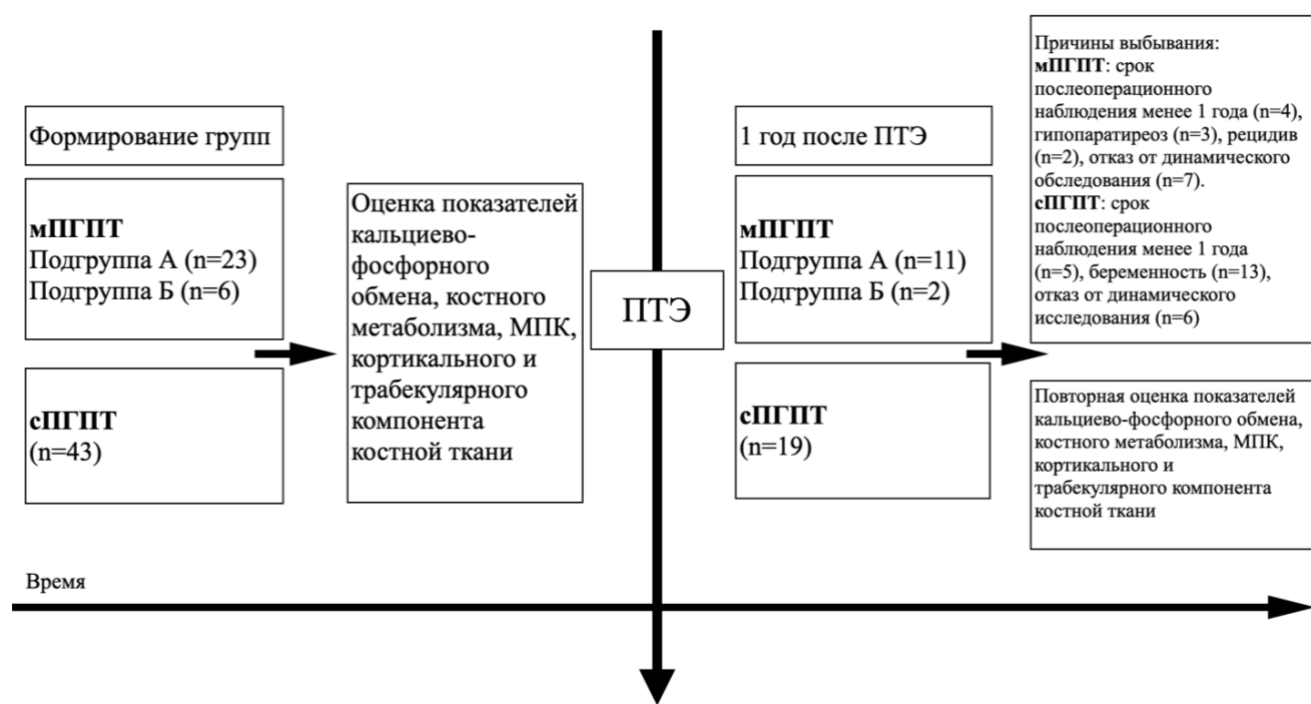


Рисунок 2 — Дизайн второго этапа исследования

Инструментальные методы исследования

Магнитно-резонансная томография (МРТ), КТ, DXA были выполнены в отделении компьютерной и магнитно-резонансной терапии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ (руководитель — к. м. н. Тарбаева Н. В.).

Для оценки наличия других компонентов синдрома МЭН1 применялась топическая диагностика НЭН брюшной полости и забрюшинного пространства с применением мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) (Revolution CT, GE, США), визуализация опухолей гипофиза проводилась в ходе МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием (GE SIGNA Pioneer, Япония). При наличии специфических жалоб или отклонений уровня гастрина от РИ выполнялась эзофагогастродуоденоскопия на аппарате Olympus GIF-XP, Япония. Для топической диагностики образований ОЩЖ при наличии показаний к хирургическому лечению ПППТ использовались следующие методы: УЗИ ОЩЖ на аппарате Aplio 500 линейный датчик 14L5, 18L7 и Voluson E8, сцинтиграфия с Tc-99m — Технетрилом (MIBI) на системе ОФЭКТ/КТ Discovery NM/CT 670, GE, США.

Для скрининга осложнений ПППТ применялось УЗИ почек на аппаратах Voluson E8 (датчиками RAB6-D, C1-5, GE, США), Aplio 500 (датчиком 6C1, Toshiba, Япония); измерение МПК методом DXA; оценка трабекулярного костного индекса на аппаратах: Lunar iDXA enCORE (GE Healthcare версия 17; США — трабекулярный костный индекс был измерен при помощи программного обеспечения iNsite версии 3.0.2.0) и Lunar iDXA encore (GE Healthcare версия 15; США — трабекулярный костный индекс был измерен при помощи программного обеспечения iNsite версии 3.0.0.0). Измерение МПК проводилось в следующих точках: LS, FN, TH, RT, R33%. Диагноз фиброзно-кистозного остеита устанавливался на основе результатов МСКТ

(Revolution CT, Optima CT, GE, США) или рентгенографического исследования (система рентгенодиагностическая с дистанционным управлением Optima RF420, GE, США).

Для выявления особенностей повреждения кортикального и трабекулярного компонента костной ткани проведено с использованием нового программного обеспечения 3D-Shaper Medical (версия v2.12.1, Барселона, Испания). В программу заложена статистическая модель формы и плотности проксимального отдела бедренной кости, построенная на основе популяционных данных количественной КТ [Lewiecki E. M., 2024]. На практике с использованием модели можно создавать трехмерные изображения (3D) проксимального отдела бедренной кости пациента на основе двумерных снимков (2D), получаемых при DXA. Данное исследование получило название 3D-DXA. Сравнительный анализ между группами проводился как в бедре в целом (TH), так и шейке бедренной кости (FN) по следующим параметрам: поверхностная плотность кортикальной кости, мг/см^2 ; толщина кортикальной кости, мм; объемная плотность кортикальной кости, мг/см^3 и объемная плотность трабекулярной кости, мг/см^3 .

Лабораторные методы исследования

Лабораторные исследования проводились в клинко-диагностической лаборатории ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ (зав. лабораторией — к.м.н. Никанкина Л. В.).

Для установления диагноза ПГПТ использовались следующие биохимические и гормональные показатели: определение интактного ПТГ (референсный интервал (РИ) 15–65 пг/мл) с использованием электрохемилюминесцентного анализатора COBAS 6000 (Roche, Швейцария); кальция общего (референсный интервал РИ) 2,15–2,55 ммоль/л), альбумина (РИ 34–48 г/л для женщин, РИ 35–50 г/л для мужчин), фосфора (РИ 0,74–1,52 ммоль/л), кальция суточной мочи (РИ 2,5–8,0 ммоль/л) — с использованием автоматического биоанализатора ARCHITECT c8000 (Abbott, США). Расчет альбумин-скорректированного кальция осуществлялся по следующему принципу: альбумин-скорректированный кальций (ммоль/л) = измеренный общий кальций сыворотки крови (ммоль/л) + 0,02 × (40 — измеренный уровень альбумина г/л).

Для оценки особенностей костного метаболизма использовались следующие маркеры: остеокальцин (РИ для женщин 11–43 нг/мл; для мужчин 14–42 нг/мл) и С-концевой телопептид коллагена 1-го типа (РИ 0,3–1,1 нг/мл для женщин, РИ 0,1–0,85 нг/мл для мужчин) — получены с использованием электрохемилюминесцентного анализатора COBAS 6000 (Roche, Швейцария). Для определения рСКФ использовался креатинин крови (РИ 50–98 мкмоль/л для женщин, 63–110 мкмоль/л для мужчин), полученный с использованием биохимического анализатора ARCHITECT c8000 (Abbott, США) и формула СКД-EPI 2009.

Для выявления нарушений функции щитовидной железы (тиреотоксикоз/гипотиреоз), патологии углеводного обмена и синдрома гиперкортицизма проводилась оценка уровня ТТГ (РИ 0,25–3,5 мМЕ/л, ARCHITECT I2000SR, Abbott, США) и глюкозы крови натощак (ГЛК, РИ 3,1–6,1 ммоль/л, ARCHITECT c8000, Abbott, США). При выявлении отклонений от РИ выполнялся пероральный глюкозотолерантный тест согласно стандартному алгоритму. При выявлении инциденталомы надпочечника или клинических признаков гиперкортицизма

проводился ночной подавляющий тест с 1 мг дексаметазона (включение в исследование при подавлении сувороточного кортизола менее 50 нмоль/л).

В рамках биохимического скрининга компонентов синдрома МЭН1 анализировались следующие показатели: ИФР1 (РИ: 51–271 нг/мл для женщин; 62–230 нг/мл для мужчин; LIAISON, DiaSorin, Италия) — при наличии отклонений ИФР1 от РИ проводился анализ уровня СТГ (РИ 0,06–6,9 нг/мл, для женщин, 0,02—1,23 нг/мл, для мужчин; LIAISON, DiaSorin, Италия) с применением ОГТТ (оценка уровня СТГ после перорального приема 75 гр глюкозы через каждые 30 минут в течение двух часов); пролактин (РИ 102–496 мЕд/л для женщин; 86–324 мЕд/л для мужчин) — при наличии клинических проявлений гиперпролактинемии, нарушении менструального цикла и/или выявлении инциденталомы гипофиза; при наличии НЭН желудочно-кишечного тракта по данным КТ органов брюшной полости — хромогранин А (РИ <3 нмоль/л; ELISA, DiaSource Diagnostics, Бельгия), гастрин (РИ 13–115 пг/мл, анализ на базе ЦМД — Центра молекулярной диагностики, методом ИХЛА).

Молекулярно-генетические методы

Генетические исследования и биоинформатический анализ результатов секвенирования проводились в лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ (зав. лабораторией — к.б.н Попов С. В.).

Для подтверждения наличия/отсутствия мутации в гене *MEN1* в группе пациентов мПГПТ подгрупп А+Б (n = 29) и сПГПТ (n = 43) проводилось массовое параллельное секвенирование панели генов (*AIP*, *AP2S1*, *CASR*, *CDC73*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*, *DICER1*, *FAM111A*, *GATA3*, *GCM2*, *GNA11*, *GNAS*, *MEN1*, *POU1F1*, *PRKAR1A*, *PRKCA*, *PTEN*, *PTTG2*, *SDHA*, *SDHB*, *SDHC*, *SDHD*, *TBCE*) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения или секвенирование гена *MEN1* по методу Сенгеру на приборе Genetic Analyzer 3500 (Thermo Scientific, США). Выбор метода генетического исследования был обусловлен согласием пациента.

Этическая экспертиза

Научно-исследовательская работа по теме «Сравнительный анализ костных осложнений при МЭН1 ассоциированном и спорадическом первичном гиперпаратиреозе с применением технологии 3D-моделирования микроархитектоники проксимального отдела бедренной кости» одобрена к проведению согласно протоколу № 21 Заседания локального этического комитета от 22.11.2023 г.

Третий этап исследования

Комплекс исследований по фундаментальной части работы выполнялся на базе НИИ Персонализированной медицины ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ (директор НИИ — д.м.н. профессор, академик РАН Чехонин В. П.). Проведение клеточных работ на базе НИИ персонализированной медицины ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ отдела клеточной биологии, группы индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (руководитель группы — Бастрич А. Н.). Цитометрический анализ и комплексная сортировка клеток на базе НИИ персонализированной медицины ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ отдела клеточной биологии группы проточной

цитометрии (руководитель — к.б.н. Логинова М. Ю.). Анализ образцов биоматериала ИПСК человека для определения количества и качества хромосомного набора был проведен в Медико-генетическом научного центре имени академика Н. П. Бочкова на базе лаборатории мутагенеза (заведующий лабораторией — к.б.н. Воронина Е. С.). Забор панч-биопсии дермы у донора выполнен врачом-хирургом отдела хирургии ГНЦ РФ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ Кузнецовым С. Н.

Для решения **задачи 4** у пациента с генетически верифицированным синдромом МЭН1 методом панч-биопсии дермы была получена первичная культура фибробластов. Репрограммирование в ИПСК проводилось методом трансфекции факторов плюрипотентности (Oct-3/4, Klf-4, Sox2, Glis1, c-Myc) с использованием вектора на основе мРНК (ReproRNAtm-OKSGM Kit, Stem cell technology, #05930, Канада). Комплексная характеристика ИПСК включала оценку кариотипа, идентификацию клеточных линий с использованием технологии мультиплексного анализа аутосомных Short Tandem repeat локусов, оценку экспрессии маркеров плюрипотентности, а также способности к дифференцировке в эмбриоидные тельца — трехмерные агрегаты, состоящие из трех зародышевых листков: эктодермы, энтодермы и мезодермы. В качестве сравнения для проведения параллельных дифференцировок в МСК-подобные клетки и остеобласты использовалась линия ИПСК (без мутации в гене *MEN1*), полученная коллективом лаборатории клеточной биологии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ от здорового донора, сопоставимого по полу с исследуемой линией. Дифференцировка обеих линий на различных этапах осуществлялась параллельно при одинаковых условиях культивирования в трех повторностях.

Для получения целевой популяции МСК-подобных клеток, экспрессирующих ключевые маркеры мезенхимальных стволовых клеток (МСК) — CD90/CD105/CD73, и не экспрессирующих эндотелиальные и гемопоэтические маркеры CD45/CD34/CD11b/CD19/HLA-DR применялась оценка эффективности дифференцировки и сортировка клеток на цитометр-сортере (Sony MA900; Sony, Япония) с использованием набора антител (Stemflow™ Human MSC Analysis Kit, BD, # 562245, США). Полученная гомогенная популяция МСК-подобных клеток была дифференцирована в остеобласты. Длительность дифференцировки составила 21 день и проводилась согласно коммерческому протоколу для набора MesenCult™ Osteogenic Differentiation Kit (Human), #05465, Stem cell technology, Канада. В качестве матрикса использовался Animal Component-Free Cell Attachment Substrate; #07130; Stem cell technology, Канада.

Транскриптомный анализ

Для подготовки образцов к транскриптомному анализу Bulk-RNA-sequencing на каждом из этапов дифференцировки осуществлялась экстракция тотальной РНК из клеточной суспензии на уровне МСК-подобных клеток и остеобластов. Подготовка библиотек и секвенирование образцов выполнено совместно с молекулярным биологом Кузнецовой А. А. и биологом-технологом Плаксиной Е. В. на базе лаборатории общей, молекулярной и популяционной генетики на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ. Дизайн исследования представлен на рисунке 3.

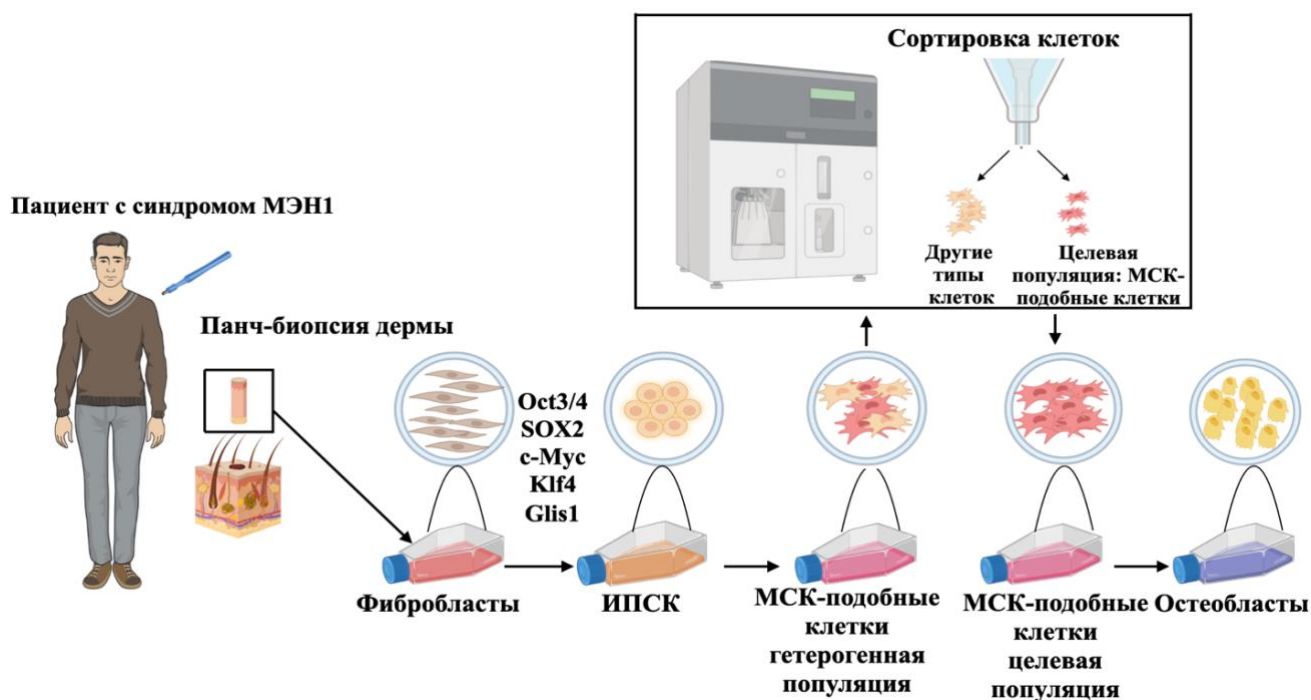


Рисунок 3 — Дизайн третьего этапа исследования

Этическая экспертиза

Локальным этическим комитетом ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 25 от 08.12.2021 г., одобрено проведение фундаментальной научно-исследовательской работы по теме «Характеристика клеток остеогенного ряда в изогенной модельной системе при мутации в гене *MEN1*».

Статистический и биоинформатический анализ

Статистический анализ исследуемых групп для 1-го этапа исследования выполнен с помощью языка программирования Python 3.11 (Python Software Foundation) совместно с главным аналитиком, врачом-статистиком отдела цифровой трансформации ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ Елфимовой А. Р.; для 2-го этапа исследования использовался пакет прикладных программ Statistica 13 (Tibco, США). Описательная статистика количественных переменных представлена медианами (Me), первым и третьим квартилем [Q1; Q3], категориальных — абсолютными и относительными частотами (n (%)). Сравнительный анализ двух независимых групп по категориальным признакам проведен с помощью точного двустороннего критерия Фишера (ТФК₂). Сравнительный анализ количественных признаков двух независимых групп проведен с использованием критерия Манна-Уитни (U-тест). Сравнительный анализ количественных признаков двух зависимых групп проведен с использованием критерия Вилкоксона (W-тест). Уровень значимости (p-value) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для нивелирования проблемы множественных сравнений применялась поправка Бенджамини-Хохберга (p₀-value). Значения p-value интерпретировались как статистически значимые при $p < p_0\text{-value}$. Значения p-value меньше 0,05, но выше уровня статистической значимости интерпретировались как статистическая тенденция.

Статистический и биоинформатический анализ 3-го этапа исследования выполнены совместно с биоинформатиком группы функциональной транскриптомики на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ Девятияровым Р. М. Сравнительный анализ экспрессии генов, влияющий на эффективность дифференцировки клеток и минерализацию костного матрикса, проводился для каждой из линий. Для повышения статистической значимости результатов на каждой из стадий эксперимент выполнялся в трех повторностях. Для определения статистически значимых различий в экспрессии генов МСК-подобных клеток и остеобластов был использован подход на основе оценки параметров обобщенных линейных моделей с порогами по скорректированным на множественные сравнения значениям p -value (FDR от англ. false discovery rate $<0,05$), а также порогами по уровню изменения среднего уровня экспрессии не менее чем в 4 раза. Нормализация и статистический анализ данных проводились с помощью пакета edgeR (версия 4.2.1) в среде разработки R (версия 4.4.1).

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ № 20–75-00077 «Характеристика клеток остеогенного ряда в изогенной модельной системе при мутации в гене *MEN1*», а также гранта Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2020-784).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты первого этапа исследования

На момент проведения анализа в Базу данных были включены 6 480 пациентов с ПГПТ: 5 979 женщин и 501 мужчина (12:1). Возраст на момент постановки диагноза ПГПТ составил 52 [37; 64] года у мужчин и 59 [51; 66] лет у женщин ($p < 0,001$, U-тест). Из общего числа пациентов подозрение на наследственную причину ПГПТ было установлено в 13% случаев ($n = 837/6480$). Описательная статистика данной группы представлена в таблице 1. Генетически верифицированный мПГПТ был выявлен у 108 пациентов, из которых ПГПТ в активной фазе заболевания был подтвержден у 86 пациентов. Описательная статистика данной группы представлена в таблице 2.

Таблица 1 — Описательная статистика пациентов с подозрением на наследственную причину ПГПТ ($n = 837$)

Параметр	Пациенты с подозрением на наследственную причину ПГПТ	
	N	n (%)
Наличие двух и более МЭН1-ассоциированных образований	837	346 (41%)
Обследование на предмет аденомы гипофиза	837	471 (56%)
Подтвержденные случаи аденомы гипофиза	471	183 (39%)
Обследование на предмет НЭН поджелудочной железы	837	449 (54%)
Подтвержденные случаи НЭН поджелудочной железы	449	105 (23%)

Обследование на предмет новообразований надпочечников	837	467 (56%)
Подтвержденные случаи новообразования надпочечников	467	179 (38%)
Изолированный ПГПТ	837	449 (54%)
Проведение генетического анализа на наличие мутации в гене <i>MEN1</i>	837	161 (19%)
Подтверждение наличие мутации в гене <i>MEN1</i> по результатам генетического исследования	161	108 (67%)
Отягощенный семейный анамнез у лиц с верифицированной мутацией в гене <i>MEN1</i>	108	27 (25%)

Таблица 2 — Описательная статистика пациентов с генетически верифицированным мПГПТ в активной фазе заболевания на момент первого визита (n = 86)

Параметр	мПГПТ генетически верифицированный в активной фазе заболевания (n = 86)	
	N	n (%)
Множественное поражение ОЦЖ	86	28 (33%)
Сочетание ПГПТ с аденомой гипофиза	86	55 (64%)
Сочетание ПГПТ с НЭН поджелудочной железы	86	41 (48%)
Сочетание ПГПТ с опухолями надпочечников	86	39 (45%)
Сочетание ПГПТ с НЭН тимуса	86	2 (2%)
Наличие трех основных компонентов МЭН1 (ПГПТ; Опухоли передней доли гипофиза; Опухоли гастроэнтеропанкреатического тракта)	86	28 (33%)

При сравнительном анализе клинико-лабораторных показателей между группами генетически верифицированного мПГПТ в активной фазе заболевания (n = 86) с группой сравнения — сПГПТ в активной фазе заболевания (n = 3599) выявлено отсутствие различий по уровню ПТГ, фосфора, альбумин-скорректированного кальция и суточной кальциурии. При этом уровень общего кальция был выше в группе мПГПТ (p = 0,019), а ионизированного в группе сПГПТ (p = 0,010). Также при мПГПТ частота сочетанных костных и почечных осложнений была ниже, чем при сПГПТ. Стоит отметить, что суммарная частота изолированных костных нарушений в группе мПГПТ составила 38% против 27% в группе сПГПТ; однако различия не достигли статистической значимости. Результаты сравнительного анализа представлены в таблице 3.

Таблица 3 — Описательная статистика пациентов с генетически верифицированным мПГПТ в активной фазе заболевания на момент первого визита (n = 86)

Параметр	мПГПТ		ПГПТ		p-value p ₀ -value
	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] или n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] или n (%)	
Мужской пол	86	24 (28%)	3599	234 (7%)	p<0,001 ² p ₀ =0,004
Возраст при манифестации, лет	86	32 [25; 47]	3599	61 [53; 67]	p<0,001 ¹ p ₀ =0,007
Кальций общий, ммоль/л	82	2,80 [2,67; 2,97]	3599	2,74 [2,62; 2,88]	p=0,019 ¹ p ₀ =0,029
Кальций ионизированный, ммоль/л	73	1,31 [1,24; 1,43]	2526	1,37 [1,29; 1,47]	p=0,010 ¹ p ₀ =0,025
Альбумин-скорр. кальций, ммоль/л	11	2,80 [2,67; 2,97]	3451	2,68 [2,58; 2,83]	p=0,382 ¹ p ₀ =0,039
Фосфор, ммоль/л	58	0,90 [0,77; 1,04]	2505	0,89 [0,77; 1,01]	p=0,565 ¹ p ₀ =0,043
ПТГ, пг/мл	86	144,6 [97,8; 221,5]	3570	135,0 [93,0; 210,8]	p=0,364 ¹ p ₀ =0,036
Суточная кальциурия, ммоль/сут.	26	8,25 [5,83; 10,08]	1662	7,50 [4,91; 10,09]	p=0,636 ¹ p ₀ =0,046
СКФ-ЕРІ мл/мин./1,73м ²	63	103 [83; 119]	2528	77 [62; 90]	p<0,001 ¹ p ₀ =0,011
Симптомная форма	86	58 (67%)	3599	2928 (81%)	p=0,002 ² p ₀ =0,021
Изолированные костные нарушения	61	23 (38%)	2846	773 (27%)	p=0,081 ² p ₀ =0,032
Изолированная патология почек	86	14 (16%)	3599	641 (18%)	p=0,886 ² p ₀ =0,050
Сочетание костных и почечных осложнений	76	10 (13%)	3327	1037 (31%)	p=0,001 ² p ₀ =0,018
Множественное поражение ОЦЖ	86	28 (33%)	3599	238 (7%)	p<0,001 ² p ₀ =0,014
<i>Примечание:</i> сравнение показателей с использованием критерия Манна-Уитни (¹ U-тест) и точного двустороннего критерия Фишера (² ТФК ₂). Статистически значимые параметры выделены полужирным шрифтом (при p<p ₀ -value).					

При сравнительном анализе результатов DXA между группами пациентов с мПГПТ и сПГПТ молодого возраста выявлено, что пациенты с мПГПТ были значимо моложе пациентов с сПГПТ, а также имели более высокие показатели рСКФ. Снижение МПК относительно ожидаемых возрастных значений в шейке бедренной кости чаще отмечалось при мПГПТ (p = 0,009) в сравнении с сПГПТ. По другим отделам статистически значимых различий между группами выявлено не было. Детализация результатов представлена в таблице 4.

Таблица 4 — Оценка МПК по Z-критерию в группах пациентов молодого возраста с мППТ и сППТ

Параметр	мППТ молодой возраст		ППТ молодой возраст		p-value p ₀ -value
	N	Me [Q1; Q3] или n (%)	N	Me [Q1; Q3] или n (%)	
Возраст при манифестации, лет	66	28 [19; 35]	1094	42 [35; 47]	p<0,001¹ p ₀ =0,004
СКФ-ЕРІ мл/мин./1,73м ²	45	111 [95;123]	744	94 [78; 106]	p<0,001¹ p ₀ =0,008
Z-критерий ≤-2,0 SD (FN)	29	14 (48%)	402	100 (25%)	p=0,009² p ₀ =0,013
Z-критерий FN	29	-1,8 [-2,5; -1,0]	402	-1,1 [-1,9; -0,2]	p=0,019 ¹ p ₀ =0,017
Z-критерий ≤-2,0 SD (TH)	23	6 (26%)	241	48 (20%)	p=0,587 ² p ₀ =0,046
Z-критерий TH	23	-1,4 [-2,3; -0,6]	241	-0,8 [-1,7; 0,1]	p=0,055 ¹ p ₀ =0,025
Z-критерий ≤-2,0 SD (LS)	33	14 (42%)	464	135 (29%)	p=0,241 ² p ₀ =0,029
Z-критерий LS	33	-1,6 [-2,3; -0,6]	464	-1,2 [-2,2; -0,3]	p=0,390 ¹ p ₀ =0,038
Z-критерий ≤-2,0SD (R33%)	18	8 (44%)	289	100 (35%)	p=0,449 ² p ₀ =0,042
Z-критерий R33%	18	-1,8 [-2,3; -1,3]	289	-1,1 [-2,5; -0,1]	p=0,043 ¹ p ₀ =0,021
Z-критерий ≤-2,0 SD (RT)	18	6 (33%)	231	67 (29%)	p=0,789 ² p ₀ =0,050
Z-критерий RT	18	-1,7 [-2,6; 0,1]	231	-0,8 [-2,3; 0,1]	p=0,315 ¹ p ₀ =0,033
<i>Примечание:</i> сравнение показателей с использованием критерия Манна-Уитни (¹ U-тест) и точного двустороннего критерия Фишера (² ТФК ₂). Статистически значимые параметры выделены полужирным шрифтом (при p<p ₀ -value). LS (lumbar spine — поясничный отдел позвоночника L1-L4); TH (total hip — бедро в целом); FN (femur neck — шейка бедренной кости); RT (radius total — лучевая кость в целом); R33% (radius 33% — дистальная треть лучевой кости). SD — standard deviation (стандартное отклонение).					

Результаты второго этапа исследования

Согласно разработанному дизайну исследования, в группу мППТ было включено 29 пациентов, в группу сППТ — 43 пациента. Обе группы были сопоставимы по полу и возрасту, длительности течения ППТ, а также распространенности основных осложнений ППТ. У 19 из 29 (66%) пациентов мППТ был первым и единственным гормонально-активным компонентом синдрома МЭН1. Количество низкоэнергетических переломов также не различалось в обеих

группах (таблица 5). У двух пациентов из подгруппы А был подтвержден фиброзно-кистозный остеоит

Таблица 5 — Общая характеристика групп мПГПТ (А+Б) и сПГПТ

Показатель	мПГПТ подгруппы А+Б		сПГПТ		p-value p ₀ -value
	N	Me [Q1; Q3] или n (%)	N	Me [Q1; Q3] или n (%)	
Возраст на момент включения в исследование, лет	29	35 [25;39]	43	34 [30;38]	p=0,721 ¹ p ₀ =0,017
Длительность ПГПТ, лет	29	1 [0;2]	43	1 [0;1]	p=0,907 ¹ p ₀ =0,033
Мужской пол	29	6 (21%)	43	5 (12%)	p=1,000 ² p ₀ =0,050
Наличие переломов	29	2 (7%)	43	4 (9%)	p=0,366 ² p ₀ =0,008
Нефролитиаз	29	15 (52%)	43	26 (60%)	p=0,737 ² p ₀ =0,025
Суммарная частота костных нарушений	29	13 (30%)	43	12 (41%)	p=0,974 ² p ₀ =0,042
<i>Примечание:</i> суммарная частота костных нарушений (наличие 1 и более показателя <-2SD по Z-критерию и/или низкоэнергетические переломы в анамнезе); ¹ Сравнение количественных показателей с использованием критерия Манна-Уитни (U-тест). ² Сравнение показателей с использованием точного двустороннего критерия Фишера (ТФК ₂).					

Группа мПГПТ была разделена на 2 подгруппы: подгруппу А, где единственным гормонально-активным компонентом синдрома МЭН1 был мПГПТ, но при этом наблюдались гормонально-неактивные образования: НЭН поджелудочной железы (n = 12), аденомы гипофиза (n = 3) и узелковая гиперплазия надпочечников (n = 1); подгруппу Б, где помимо мПГПТ были выявлены следующие гормонально активные образования: пролактинома (n = 5) и инсулинома (n = 1). Во всех выявленных случаях пролактином была достигнута медикаментозная компенсация на фоне терапии агонистами дофаминовых рецепторов. Среди гормонально-неактивных опухолей в подгруппе Б также отмечались: НЭН поджелудочной железы (n = 3), карциноид легкого (n = 1), узелковая гиперплазия надпочечников (n = 1) и НЭН двенадцатиперстной кишки (n = 1). В группе сПГПТ за исключением ПГПТ определялись гормонально-неактивные инциденталомы гипофиза (n = 3). Различий по основным показателям кальциево-фосфорного обмена, рСКФ, а также маркерам костного метаболизма между группами мПГПТ и сПГПТ не выявлено. Статистически значимые различия между группами были получены как по абсолютным значениям МПК, так и по Z-критерию, а также результатам 3D-моделирования бедренной кости. Статистические различия сохраняли свою значимость и после дополнительного сопоставления сПГПТ с мПГПТ подгруппы А, за исключением объемной плотности трабекулярного компонента в бедре в целом, что может быть связано с дополнительным влиянием на костную ткань других гормонально-активных образований у пациентов из подгруппы Б. Результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 — Сравнительный анализ основных показателей кальциево-фосфорного обмена, костного метаболизма, результатов DXA и 3D-DXA пациентов с мПГПТ/сПГПТ до проведения ПТЭ

Показатель	мПГПТ подгруппы А+Б		мПГПТ подгруппа А		сПГПТ		мПГПТ (А+Б) vs сПГПТ	мПГПТ (А) vs сПГПТ
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	U-тест	U-тест
ПТГ, пг/мл	29	138,1 [95,6; 208,0]	23	127,2 [91,8; 208,8]	43	123,5 [102,7; 169,5]	p=0,801 p ₀ =0,048	p=0,840 p ₀ =0,050
Кальций скорр., ммоль/л	29	2,65 [2,61; 2,74]	23	2,65 [2,61; 2,75]	43	2,66 [2,62; 2,77]	p=0,765 p ₀ =0,046	p=0,696 p ₀ =0,046
Фосфор, ммоль/л	29	0,78 [0,70; 0,90]	23	0,79 [0,69; 0,92]	43	0,81 [0,73; 0,92]	p=0,275 p ₀ =0,040	p=0,415 p ₀ =0,042
рСКФ, мл/мин./1,73 м ²	29	109 [96; 115]	23	110 [96; 115]	43	102 [93; 110]	p=0,223 p ₀ =0,038	p=0,143 p ₀ =0,038
Кальций суточной мочи, ммоль/л	29	8,94 [6,93; 10,32]	23	8,74 [6,42; 10,29]	43	8,65 [6,60; 11,31]	p=0,881 p ₀ =0,050	p=0,798 p ₀ =0,048
Остеокальцин, нг/мл	20	60,31 [35,75; 81,11]	18	60,31 [32,89; 87,20]	33	48,66 [34,46; 60,53]	p=0,354 p ₀ =0,044	p=0,436 p ₀ =0,044
С-концевой телопептид коллагена 1-типа, нг/мл	20	1,04 [0,80; 1,40]	18	1,04 [0,84; 1,52]	32	0,88 [0,61; 1,35]	p=0,333 p ₀ =0,042	p=0,368 p ₀ =0,040
МПК LS, г/см ²	27	1,009 [0,904; 1,107]	22	0,998 [0,904; 1,107]	40	1,139 [1,036; 1,218]	p=0,001 p ₀ =0,013	p=0,002 p ₀ =0,015
Z-критерий LS	27	-1,5 [-2,0; - 0,8]	22	-1,5 [-2,0; - 0,8]	40	-0,6 [-1,2; - 0,1]	p=0,007 p ₀ =0,023	p=0,019 p ₀ =0,023
МПК FN, г/см ²	28	0,816 [0,682; 0,918]	23	0,818 [0,659; 0,948]	40	0,961 [0,886; 1,049]	p <0,001 p ₀ =0,002	p <0,001 p ₀ =0,002
Z-критерий FN	28	-1,45[-2,00; - 0,85]	23	-1,5 [-2,10; - 0,70]	40	-0,4 [-0,95; 0,05]	p <0,001 p ₀ =0,003	p=0,001 p ₀ =0,010
МПК ТН, г/см ²	28	0,872 [0,724; 0,956]	23	0,830 [0,721; 0,922]	40	0,972 [0,898; 1,104]	p <0,001 p ₀ =0,006	p <0,001 p ₀ =0,003
Z-критерий ТН	28	-1,15 [-1,85; -0,45]	23	-1,20 [-1,9; - 0,50]	40	-0,4 [-0,85; 0,40]	p=0,001 p ₀ =0,015	p=0,001 p ₀ =0,012
МПК RT, г/см ²	26	0,579 [0,519; 0,643]	21	0,572 [0,519; 0,672]	43	0,640 [0,582;0,696]	p=0,037 p ₀ =0,033	p=0,071 p ₀ =0,033
Z-критерий RT	25	-1,30 [-2,6; - 0,3]	20	-1,40 [-2,65; -0,10]	42	-0,70 [-1,3; 0,3]	p=0,060 p ₀ =0,035	p=0,108 p ₀ =0,037
МПК R33%, г/см ²	26	0,743 [0,679; 0,823]	21	0,737 [0,679; 0,823]	43	0,826 [0,772; 0,889]	p=0,019 p ₀ =0,029	p=0,023 p ₀ =0,029

Z-критерий R33%	25	-1,40 [-2,3; -0,6]	20	-1,55 [-2,3; -0,60]	42	0,80 [0,70; 0,87]	p <0,001 p ₀ =0,008	p <0,001 p ₀ =0,006
ТКИ (РИ>1,310)	10	1,383 [1,318;1,448]	6	1,384 [1,318; 1,448]	16	1,487 [1,400; 1,513]	p=0,069 p ₀ =0,037	p=0,071 p ₀ =0,035
Поверхностная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ²	22	131,145 [106,631; 151,856]	18	128,694 [106,365; 151,856]	37	151,954 [141,885; 163,723]	p=0,001 p ₀ =0,017	p=0,002 p ₀ =0,017
Поверхностная плотность кортикальной кости FN, мг/см ²	22	102,062 [92,117; 119,528]	18	101,183 [92,117; 125,078]	37	130,095 [119,679; 138,089]	p <0,001 p ₀ =0,010	p <0,001 p ₀ =0,008
Толщина кортикальной кости ТН, мм	22	1,765 [1,650; 1,842]	18	1,756 [1,604; 1,842]	37	1,910 [1,858; 2,013]	p <0,001 p ₀ =0,012	p=0,001 p ₀ =0,013
Толщина кортикальной кости FN, мм	22	1,479 [1,400; 1,611]	18	1,490 [1,401; 1,653]	37	1,647 [1,489; 1,804]	p=0,002 p ₀ =0,019	p=0,008 p ₀ =0,019
Объемная плотность трабекулярной кости ТН, мг/см ³	22	142,216 [102;711 181,021]	18	142,217 [101,390; 187,021]	37	168,814 [150,224; 212,225]	p=0,029 p ₀ =0,030	p=0,035 p ₀ =0,030
Объемная плотность трабекулярной кости FN, мг/см ³	22	181,929 [152,130; 238,375]	18	181,930 [152,130; 238,375]	37	237,740 [212,915; 265,665]	p=0,008 p ₀ =0,027	p=0,012 p ₀ =0,025
Объемная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ³	22	724,788 [652,151; 783,300]	18	719,702 [636,288; 783,300]	37	800,740 [751,189; 857,710]	p=0,007 p ₀ =0,025	p=0,009 p ₀ =0,023
Объемная плотность кортикальной кости FN, мг/см ³	22	713,812 [665,416; 770,039]	18	712,694 [665,416; 799,198]	37	797,815 [758,034; 858,380]	p=0,002 p ₀ =0,021	p=0,008 p ₀ =0,021

Примечание: рСКФ — расчетная скорость клубочковой фильтрации, ТКИ — трабекулярный костный индекс, РИ — референсный интервал, МПК — минеральная плотность костной ткани; LS (lumbar spine — поясничный отдел позвоночника L1-L4); ТН (total hip — бедро в целом); FN (femur neck — шейка бедренной кости); RT (radius total — лучевая кость в целом); R33% (radius 33% — дистальная треть лучевой кости). Статистически значимые параметры выделены полужирным шрифтом (при p<p₀-value).

Согласно используемым критериям включения и исключения из исследования, динамическое обследование проведено 13 пациентам из группы мПППТ (А+Б) и 19 пациентам из группы сПППТ, вследствие малых выборок отдельный анализ по подгруппам не проводился. Результаты хирургического лечения представлены на рисунке 4. Группы были сопоставимы по времени динамического контроля после ПТЭ (мПППТ 1,06 [1,00;1,15] год vs сПППТ 1,06 [0,99; 1,19] год; p = 0,700). Новые случаи переломов на момент динамического наблюдения отсутствовали в обеих группах. Значимых различий между группами по показателям кальциево-

фосфорного обмена и маркерам костного метаболизма, результатам DXA и 3D-DXA не выявлено. При этом внутри каждой группы прирост МПК был зафиксирован в одних и тех же точках: в поясничном отделе позвоночника, шейке бедренной кости и бедре в целом. В лучевой кости статистически значимого прироста МПК относительно дооперационных значений не отмечалось, за исключением показателей Z-критерия в дистальном отделе лучевой кости в группе сПГПТ. Результаты 3D-DXA свидетельствуют о комплексном восстановлении как кортикального, так и трабекулярного компонента проксимального отдела бедренной кости в группах мПГПТ и сПГПТ, однако прирост толщины кортикальной кости был характерен только для группы мПГПТ). Результаты представлены в таблицах 7-8.

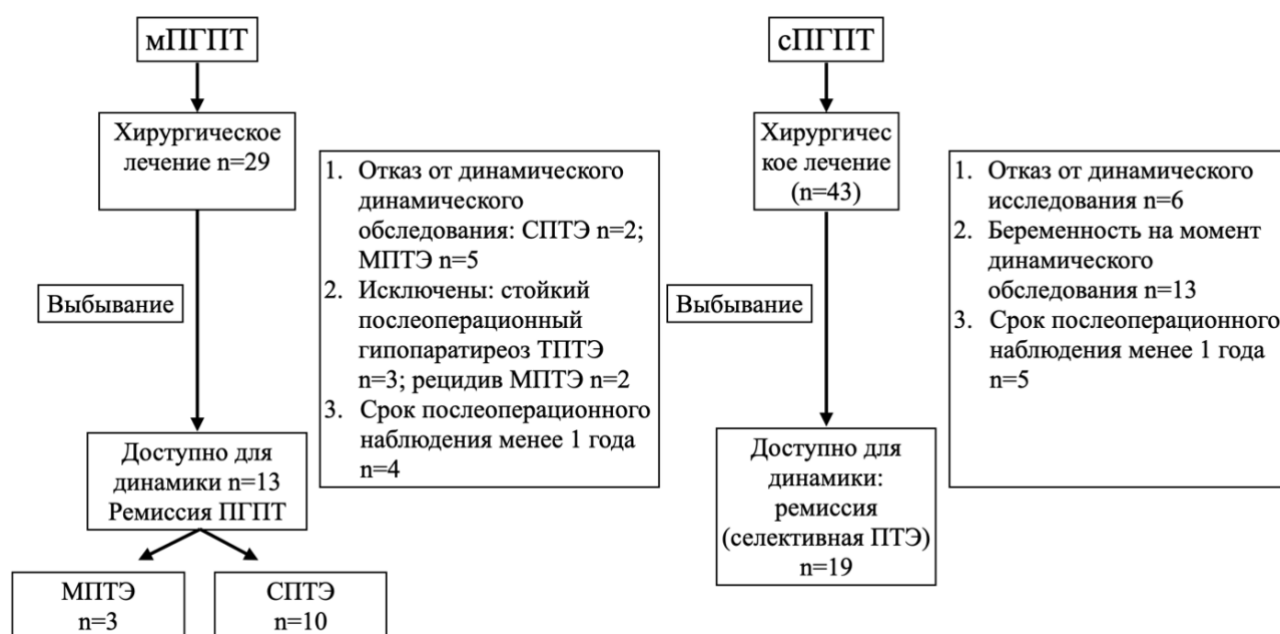


Рисунок 4 — Результаты хирургического лечения ПГПТ в группах мПГПТ и сПГПТ.

Примечание: СПТЭ — субтотальная ПТЭ с сохранением 0,5 или 1 наименее измененной ОЩЖ, ТПТЭ — тотальная ПТЭ с гетеротопической трансплантацией, МПТЭ — субтотальная ПТЭ с удалением любого, но меньшего количества околощитовидных желез, по сравнению с субтотальной ПТЭ. Селективная ПТЭ — удаление одной ОЩЖ

Таблица 7 — Сравнительный анализ прироста МПК и восстановления кортикального и трабекулярного компонента проксимального отдела бедренной кости в группе мПГПТ после ПТЭ

Показатель	мПГПТ (А+Б) до ПТЭ		мПГПТ (А+Б) после ПТЭ		p-value p ₀ -value W-тест
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
ПК LS, г/см ²	11	1,073[0,942; 1,128]	11	1,162 [1,000; 1,277]	p=0,005 p ₀ =0,014
Z-критерий LS	11	-1,50 [-1,70; -0,80]	11	-0,60 [-1,10; 0,20]	p=0,005 p ₀ =0,017
МПК FN, г/см ²	12	0,844 [0,721; 0,986]	12	0,872 [0,754; 1,055]	p=0,004 p ₀ =0,011

Z-критерий FN	12	-1,25[-1,75; -0,65]	12	-0,90 [-1,55; -0,45]	p=0,005 p ₀ =0,014
МПК ТН, г/см ²	12	0,934 [0,740; 1,087]	12	1,000 [0,696; 1,052]	p=0,003 p ₀ =0,008
Z-критерий ТН	12	-1,00 [-2,15; -0,45]	12	-0,40 [-1,80; 0,00]	p=0,005 p ₀ =0,017
МПК RT, г/см ²	13	0,605[0,552; 0,674]	13	0,609 [0,542; 0,752]	p=0,158 p ₀ =0,044
Z-критерий RT	13	-1,10 [-2,00; 0,00]	13	-1,10 [-2,20; 0,60]	p=0,083 p ₀ =0,042
МПК R33%, г/см ²	13	0,781[0,696; 0,857]	13	0,795 [0,698; 0,887]	p=0,182 p ₀ =0,047
Z-критерий R33%	13	-1,60 [-2,10; -0,20]	13	-1,35 [-2,20; -0,10]	p=0,388 p ₀ =0,050
Поверхностная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ²	11	135,704 [100,651; 153,832]	11	147,712 [106,213; 168,081]	p=0,001 p ₀ =0,003
Поверхностная плотность кортикальной кости FN, мг/см ²	11	112,202 [95,041; 123,622]	11	121,334 [101,162; 132,551]	p=0,001 p ₀ =0,006
Толщина кортикальной кости ТН, мм	11	1,789 [1,683; 1,964]	11	1,878 [1,729; 2,012]	p=0,005 p ₀ =0,022
Толщина кортикальной кости FN, мм	11	1,611 [1,495; 1,705]	11	1,648 [1,575; 1,708]	p=0,007 p ₀ =0,031
Объемная плотность трабекулярной кости ТН, мг/см ³	11	157,17 [113,95; 177,26]	11	172,62 [120,75; 226,64]	p=0,019 p ₀ =0,033
Объемная плотность трабекулярной кости (мг/см ³)	11	204,18 [170,26; 226,75]	11	207,64 [170,02; 286,12]	p=0,019 p ₀ =0,036
Объемная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ³	11	745,443 [597,691; 776,262]	11	761,411 [614,264; 835,441]	p=0,005 p ₀ =0,025
Объемная плотность кортикальной кости FN, мг/см ³	11	738,111 [636,252; 781,541]	11	767,693 [667,842; 816,353]	p=0,019 p ₀ =0,039
Примечание: МПК (минеральная плотность кости); LS (lumbar spine — поясничный отдел позвоночника L1-L4); ТН (total hip — бедро в целом); FN (femur neck — шейка бедренной кости); RT (radius total — лучевая кость в целом); R33% (radius 33% — дистальная треть лучевой кости). Статистически значимые параметры выделены полужирным шрифтом (при p<p ₀ -value).					

Таблица 8 — Сравнительный анализ прироста МПК и восстановления кортикального и трабекулярного компонента проксимального отдела бедренной кости в группе сПППТ после ПТЭ

Показатель	сПППТ до ПТЭ		сПППТ после ПТЭ		p-value p ₀ -value W-тест
	N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
МПК LS, г/см ²	16	1,162 [1,052; 1,209]	16	1,186 [1,151; 1,299]	p=0,003 p ₀ =0,006
Z-критерий LS	16	-0,40 [-1,10; -0,15]	16	0,05 [-0,90; 0,30]	p=0,004 p ₀ =0,011

МПК FN, г/см ²	16	0,961 [0,886; 1,083]	16	1,012 [0,912; 1,106]	p=0,003 p ₀ =0,008
Z-критерий FN	16	-0,50 [-0,75;0,20]	16	-0,20 [-0,45;0,20]	p=0,028 p ₀ =0,031
МПК TH, г/см ²	16	0,991 [0,897; 1,132]	16	1,063 [0,969; 1,163]	p=0,001 p ₀ =0,003
Z-критерий TH	16	-0,40 [-0,65;0,65]	16	0,05 [-0,30; 0,75]	p=0,005 p ₀ =0,014
МПК RT, г/см ²	19	0,652 [0,600; 0,683]	19	0,673 [0,615; 0,689]	p=0,034 p ₀ =0,033
Z-критерий RT	19	-0,60 [-1,20; 0,00]	19	-0,30 [-1,10; 0,10]	p=0,088 p ₀ =0,042
МПК R33%, г/см ²	19	0,853 [0,800; 0,889]	19	0,849 [0,811; 0,898]	p=0,647 p ₀ =0,047
Z-критерий R33%	19	0,81[0,20; 0,87]	19	-0,30 [-0,70; 0,40]	p=0,012 p ₀ =0,022
Поверхностная плотность кортикальной кости TH, мг/см ²	14	157,059 [140,407; 178,586]	14	174,108 [147,501; 186,591]	p=0,005 p ₀ =0,017
Поверхностная плотность кортикальной кости FN, мг/см ²	14	133,070 [123,911; 149,898]	14	142,114 [131,301; 150,757]	p=0,058 p ₀ =0,039
Толщина кортикальной кости TH, мм	14	1,930 [1,846; 2,110]	14	1,977 [1,872; 2,104]	p=0,502 p ₀ =0,044
Толщина кортикальной кости FN, мм	14	1,700 [1,569; 1,844]	14	1,665 [1,552; 1,842]	p=0,855 p ₀ =0,050
Объемная плотность трабекулярной кости TH, мг/см ³	14	166,931 [144,940; 232,276]	14	203,192 [151,754; 229,457]	p=0,035 p ₀ =0,036
Объемная плотность трабекулярной кости (мг/см ³)	14	232,960 [213,043; 287,853]	14	250,997 [224,425; 278,628]	p=0,020 p ₀ =0,028
Объемная плотность кортикальной кости TH, мг/см ³	14	816,767 [766,933; 935,135]	14	843,293 [834,995; 925,188]	p=0,013 p ₀ =0,025
Объемная плотность кортикальной кости FN, мг/см ³	14	826,034 [788,358; 910,543]	14	845,866 [819,875; 905,262]	p=0,011 p ₀ =0,019
Примечание: МПК (минеральная плотность кости); LS (lumbar spine — поясничный отдел позвоночника L1-L4); TH (total hip — бедро в целом); FN (femur neck — шейка бедренной кости); RT (radius total — лучевая кость в целом); R33% (radius 33% — дистальная треть лучевой кости). Статистически значимые параметры выделены полужирным шрифтом (при p<p ₀ -value).					

Результаты третьего этапа исследования

Пациент-специфический клеточный материал с мутацией в гене *MEN1* был получен методом панч-биопсии дермы у пациентки Л. 31 года с генетически верифицированным синдромом МЭН1 (*MEN1: c.1230dupC; p.Ala411ArgfsTer38, NM_001370259.2.*, патогенный вариант, дупликация, приводящая к образованию преждевременного стоп-кодона, не описана). Среди основных компонентов МЭН1 у пациентки подтверждены аденома передней доли

гипофиза (СТГ и пролактин секретирующая), мПГПТ и НЭН поджелудочной железы (G2; T3N0M0, стадия ПА, Ki-67=6,5%).

На следующем этапе фибробласты были репрограммированы в ИПСК: появление колоний было детектировано на 17-й день эксперимента. Подтверждение наличия мутации в гене *MEN1* было выполнено методом Сенгера. Результаты характеристики клеточной линии представлены на рисунках 5–7. Далее полученные ИПСК были дифференцированы в предшественники остеобластов — МСК-подобные клетки. В качестве контрольной линии на всех этапах параллельной дифференцировки использовалась линия ИПСК без мутации в гене *MEN1*, ранее полученная в лаборатории клеточной биологии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ от здорового донора женского пола.

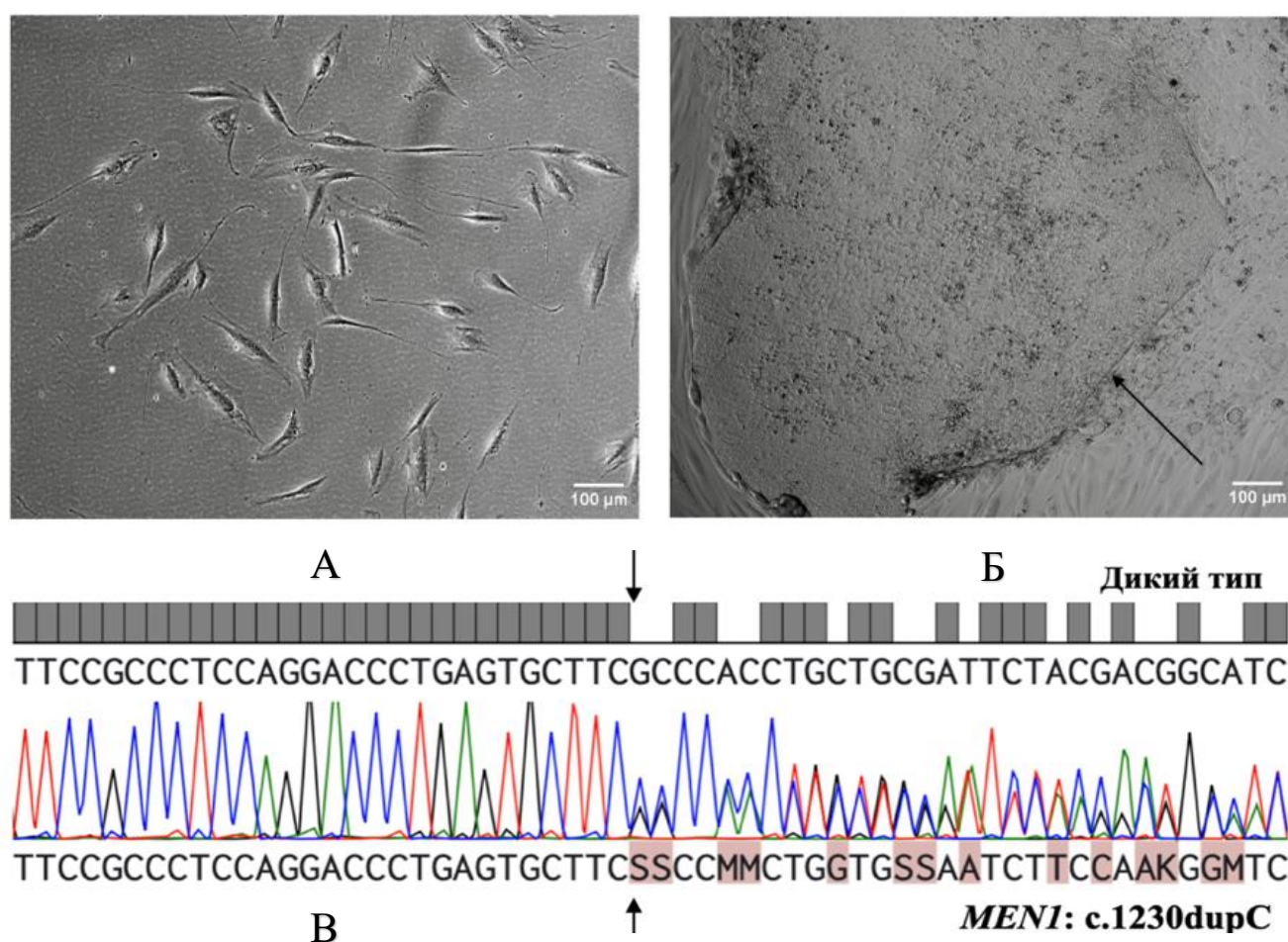


Рисунок 5 — А. Фибробласты человека линии с мутацией *MEN1*: c.1230dupC; Б — Внешний вид колонии ИПСК, 17-й день репрограммирования фибробластов (колония обозначена стрелкой). В — Результаты секвенирования препарат ДНК из ИПСК для подтверждения наличия мутации в гене *MEN1*: c.1230dupC — точка мутации обозначена стрелкой

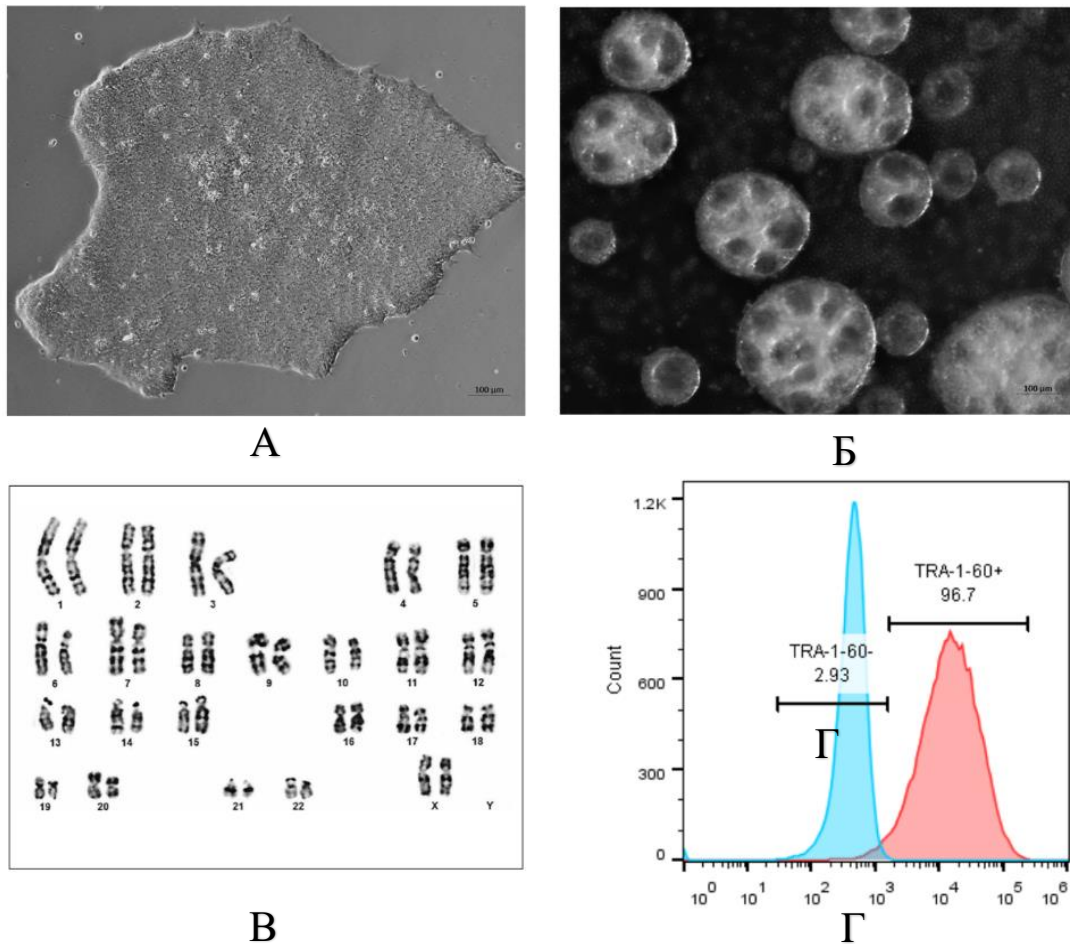


Рисунок 6 — Характеристика линии ИПСК (*MEN1*: c.1230dupC). А — Морфология колонии ИПСК; Б — Эмбриоидные тельца. В. Результаты хромосомного анализа линии ИПСК: эуплоидный набор хромосом с XX-гоносомным генотипом (женский кариотип 46XX); Г — Количественная оценка поверхностного маркера плюрипотентности TRA 1–60 методом проточной цитометрии (TRA 1–60 положительная клеточная популяция 96,7%; TRA 1–60 отрицательная клеточная популяция 2,93%)

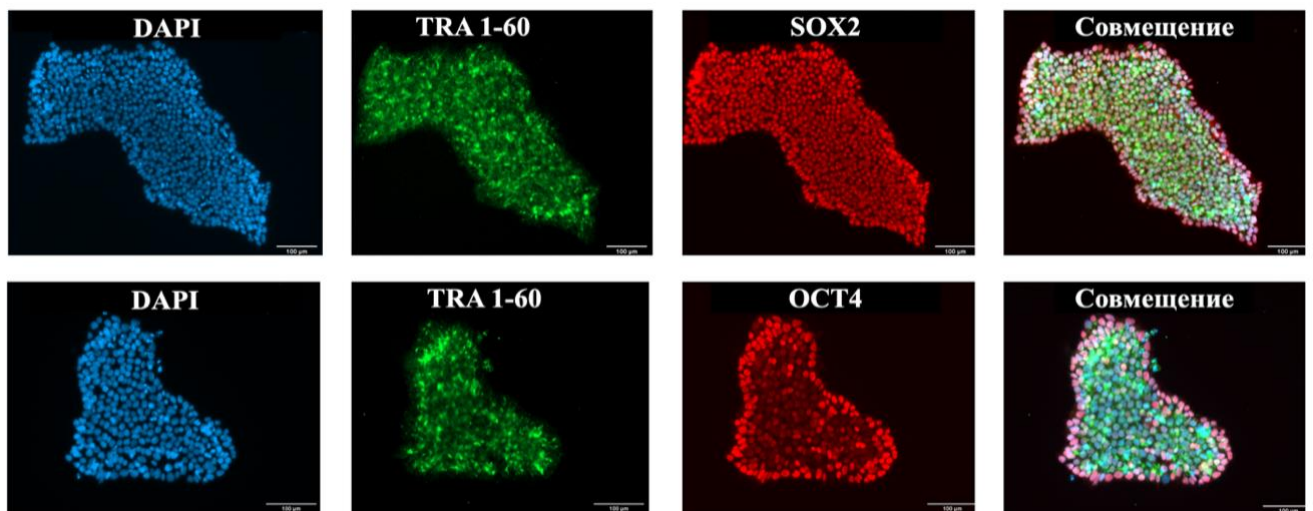


Рисунок 7 — Экспрессия маркеров плюрипотентности OCT4, TRA 1–60 и SOX2, окраска клеточных ядер DAPI в линии ИПСК с мутацией в гене *MEN1* c.1230dupC

Для проведения дальнейшей дифференцировки МСК-подобных клеток в остеобласты с использованием цитометра-сортера была отсортирована только целевая популяция клеток обеих линий, положительная по всем основным маркерам МСК-подобных клеток CD105/CD90/CD73. Дополнительно исключались клетки, экспрессирующие эндотелиальные и гемопоэтические маркеры CD45/CD34/CD11b/CD19/HLA-DR, экспрессия которых не характерна для МСК-подобных клеток. Остеобласты были получены путем дифференцировки из МСК-подобных клеток.

Для изучения влияния мутации в гене *MEN1* на остеогенез на молекулярно-генетическом уровне была проанализирована полиаденилированная РНК МСК-подобных клеток и остеобластов с помощью метода Bulk-RNA-seq. Каждая дифференцировка выполнялась параллельно для обеих линий в трех повторностях. Для отбора образцов, валидных для дальнейшего анализа, был построен график MDS (Multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования). Данный метод обеспечивает визуализацию основных параметров экспрессии генов в исследуемых образцах и объединяет их в группы по определенным характеристикам. По результатам анализа графика MDS, в обеих линиях образцы на идентичных этапах дифференцировки группируются вместе, что свидетельствует о схожем профиле экспрессии генов в обеих линиях на уровне МСК-подобных клеток и остеобластов, а также об идентичности выбранных условий при проведении дифференцировки клеточных культур (рисунок 8). Следовательно, все 12 образцов валидны для дальнейшего анализа.

Сравнительный анализ экспрессии генов в МСК-подобных клетках и остеобластах проводился на основании экспериментальных данных [Sowa H., 2004], согласно которым менин регулирует дифференцировку остеобластов и минерализацию костного матрикса путем взаимодействия с транскрипционными факторами, кодируемыми генами *BMP2*, *SMAD1*, *SMAD5*, *RUNX2*, *SMAD3*. Гены *JUND*, *COL1A1*, *BGLAP*, *ALPL* были выбраны на основании результатов [Naito J., 2005]. В исследовании было показано, что транскрипционный фактор *JUND*, относящегося к семейству белка-активатора 1, стимулирует дифференцировку остеобластов и минерализацию костного матрикса, повышая экспрессию генов *COL1A1*, *BGLAP*, *ALPL*. Нокаут гена *MEN1* в остеобластах приводит к увеличению экспрессии гена *JUND*, при этом сверхэкспрессия менина снижает экспрессию *JUND*. Предположительно менин в данном случае действует как блокатор клеточного роста, тем самым регулируя активность процессов минерализации костного матрикса. Схематическая модель регуляции менином остеобластогенеза представлена на рисунке 9. Для оценки влияния мутации на минерализацию костного матрикса анализ был дополнен генами, кодирующими неколлагеновые белки костного матрикса, связывающие кальций: *SPARC* (остеонектин), *BGLAP* (остеокальцин), *SPP1* (остеопонтин), *IBSP* (костный сиалопротеин II), *MGP* (матриксный Gla-протеин) [Rosset E. M., 2016; Zainal Ariffin S. H., 2022]. В качестве специфических маркеров, регулирующих дифференцировку остеобластов, использовались гены, кодирующие транскрипционные факторы *RUNX2*, *ATF4*, *SP7* и *DLX5* [Vimalraj S., 2015; Zhang C., 2010]. Результаты транскриптомного анализа представлены на рисунках 10-11. Аннотация функции дифференциально экспрессируемых генов приведена в таблицах 9-10.

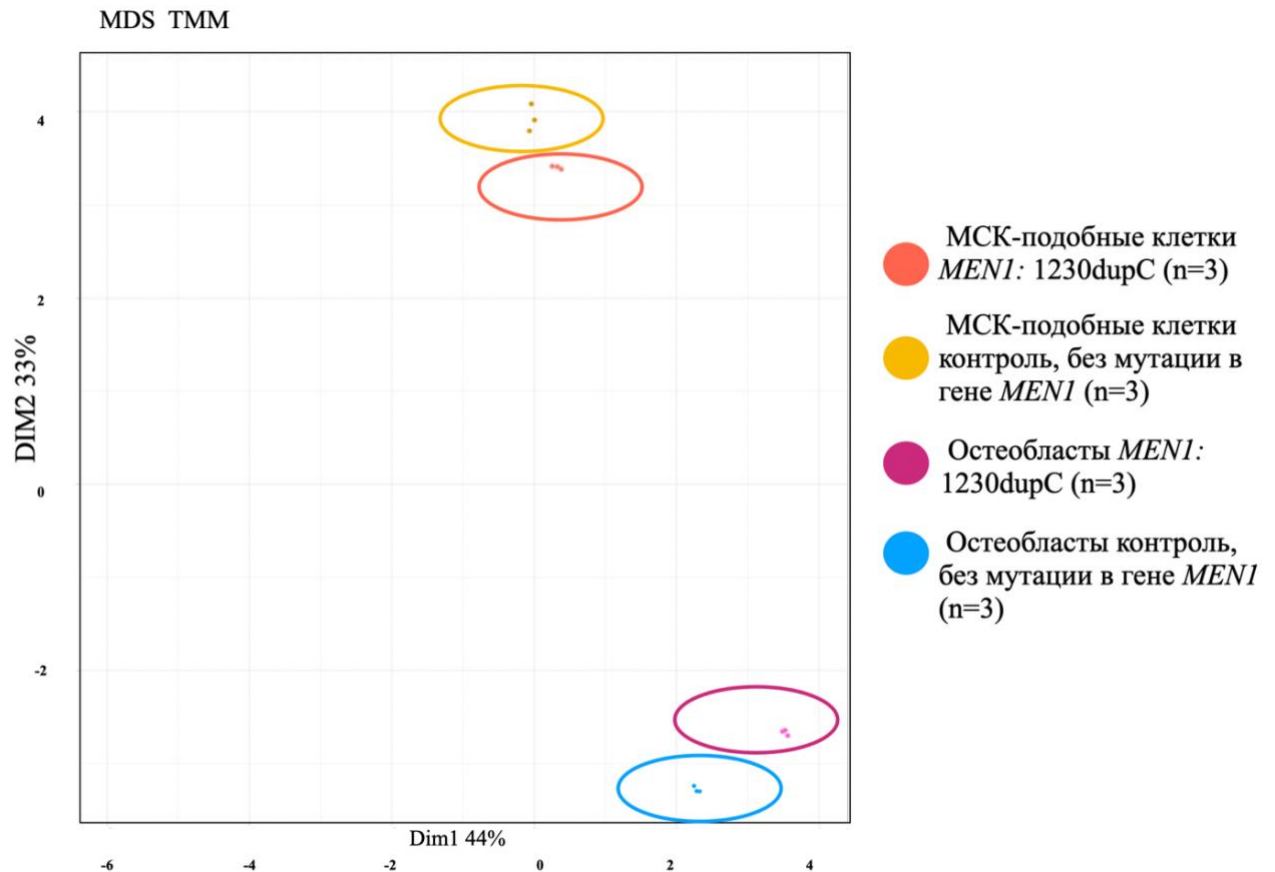


Рисунок 8 — График MDS (Multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования). На графике изображены кластеры клеточных образцов на разных этапах дифференцировки. Эксперимент для каждой из линий выполнялся в трех повторностях ($n = 3$)

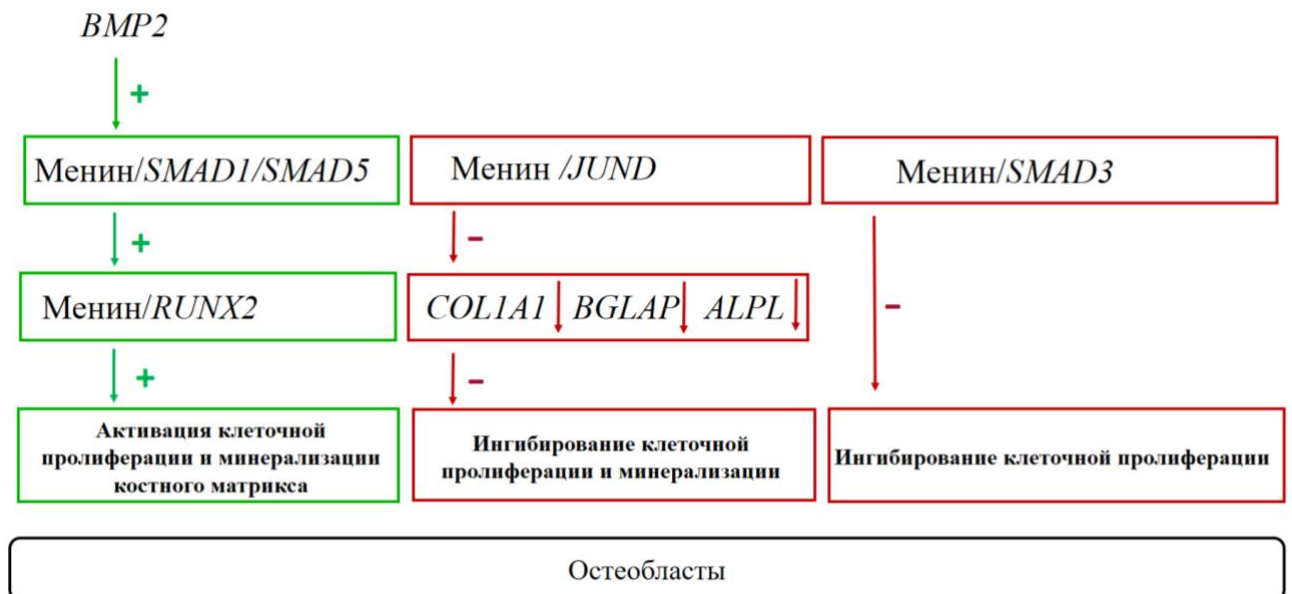
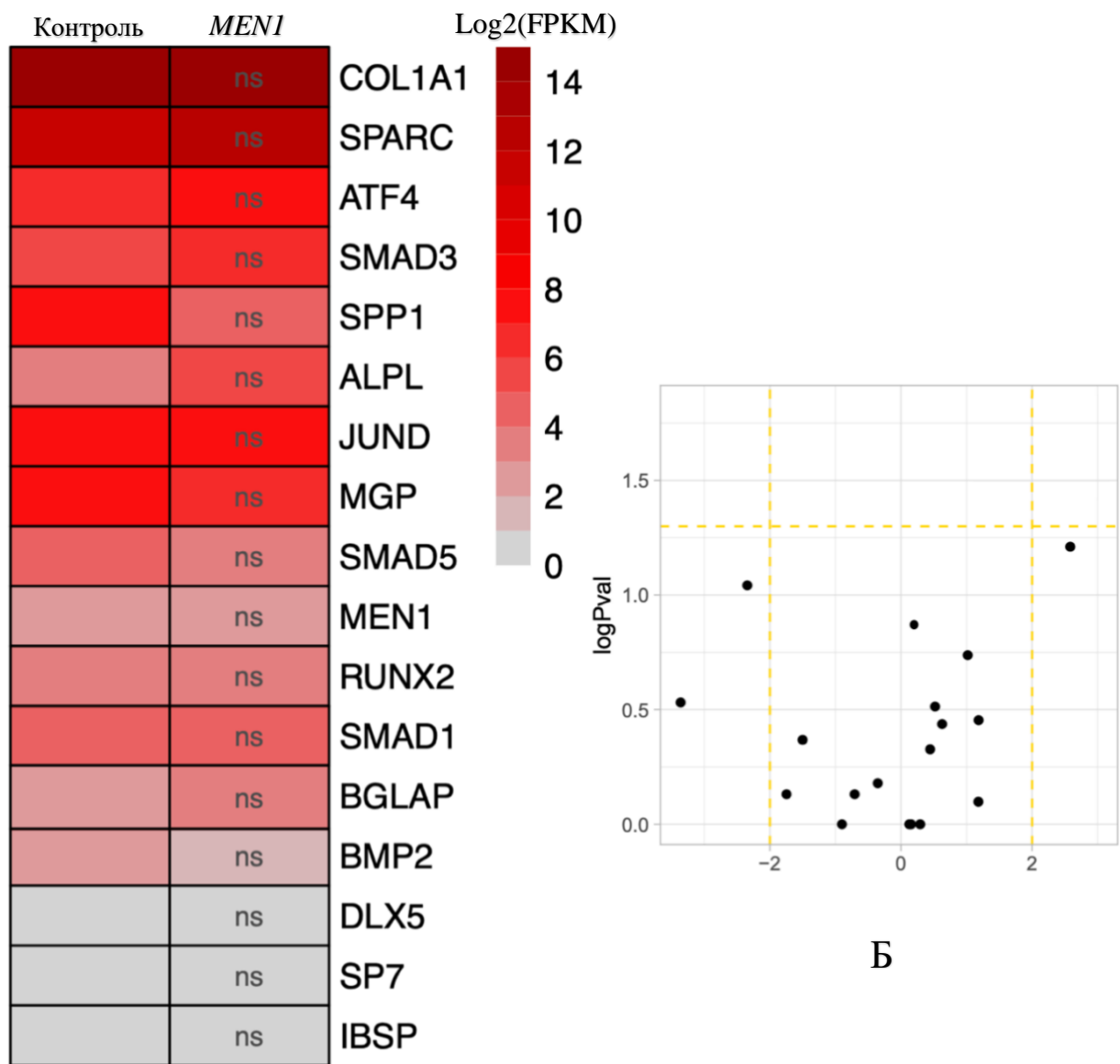


Рисунок 9 — Схематическая модель регуляции менином дифференцировки остеобластов и минерализации костного матрикса путем взаимодействия с различными транскрипционными факторами, предложенная [Sowa H., 2004; Naito J., 2005]

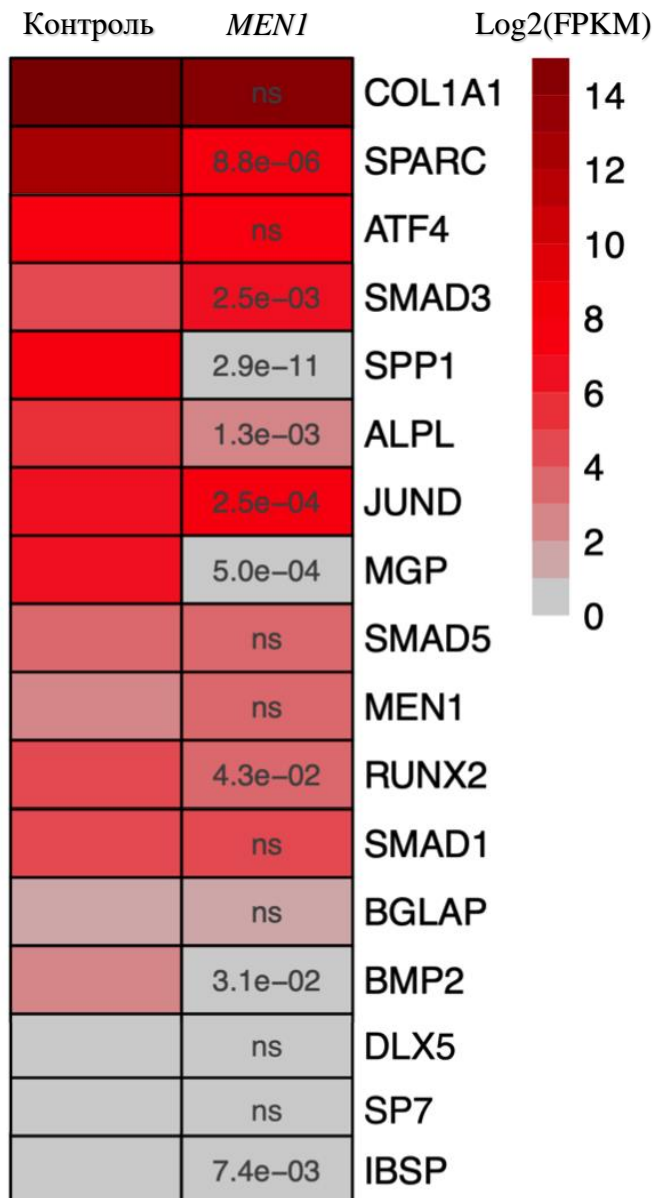


А

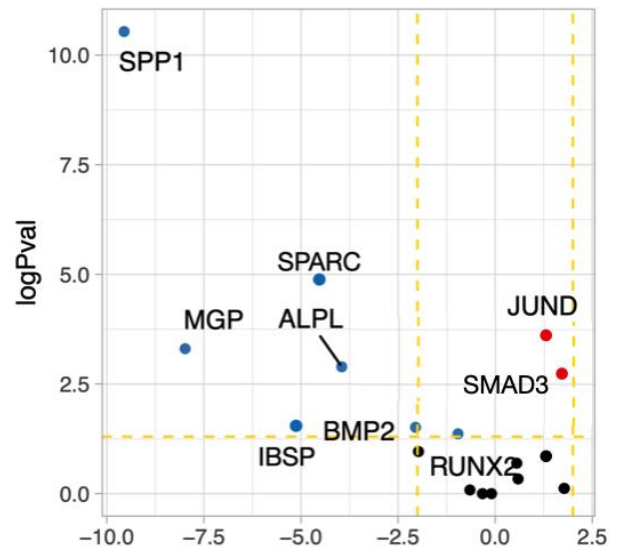
Рисунок 10 — А. Тепловая карта уровней экспрессии выбранных генов в МСК-подобных клетках в линии с мутацией в гене *MEN1:1230dupC* в сравнении с контрольной линией (без мутации в гене *MEN1*). Обозначения: Цифрами в ячейках обозначены значения FDR, в соответствующих сравнениях между контрольной и экспериментальной линиями; ns — статистически не значимо при $FDR \geq 0,05$; Log2(FPKM) — значение по модулю от логарифма экспрессии гена, выраженное в FPKM (от англ. fragments per kilobase per million).

$$FPKM = \frac{\text{Количество прочтений картированных на экзоны транскрипта} \cdot 10^9}{(\text{общее количество прочтений в библиотеке} \cdot \text{длину экзонов в транскрипте})}$$

Б. Вулканическая диаграмма экспрессии выбранных генов в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем (линии без мутации в гене *MEN1*). Обозначения: черными точками обозначены гены, экспрессия которых статистически не различается в обеих группах $FDR \geq 0,05$



А



Б

Рисунок 11 — А. Тепловая карта уровней экспрессии выбранных генов в остеобластах линии с мутацией в гене *MEN1:1230dupC* в сравнении с контрольной линией (без мутации в гене *MEN1*). Цифрами в ячейках обозначены значения FDR, в соответствующих сравнениях между контрольной и экспериментальной линиями; ns — статистически не значимо $FDR \geq 0,05$. Б. Вулканическая диаграмма дифференциально экспрессируемых генов в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем (линии без мутации в гене *MEN1*). Обозначения: красными точками на графике обозначены гены, уровень экспрессии которых значительно повышен в линии *MEN1: c.1230dupC* по сравнению с контролем (линии с отсутствием мутации в гене *MEN1*) ($FDR < 0,05$, $|\log_2FC| > 0$); синим — гены, экспрессия которых значительно снижена ($FDR < 0,05$, $|\log_2FC| < 0$); черными точками обозначены гены, экспрессия которых статистически не различается в обеих группах $FDR \geq 0,05$

Таблица 9 — Функциональная аннотация выбранных генов, экспрессия которых значительно снижена в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем

Название гена	Описание
<i>SPP1</i>	Ген, кодирующий неколлагеновый белок костного матрикса — остеопонтин, стимулирующий адгезию остеокластов к минерализованному костному матриксу. Данный белок связывает ионы кальция и обладает высокой аффинностью к гидроксиапатиту. Секретируется остеобластами и остеокластами.
<i>ALPL</i>	Ген, кодирующий печеночную, почечную и костную изоформы щелочной фосфатазы. Костная изоформа фермента синтезируется преимущественно остеобластами и является маркером костеобразования: дефосфорилирует пирофосфат — ингибитор костной минерализации, в результате продукт реакции — фосфат — включается в состав гидроксиапатита
<i>IBSP</i>	Ген, кодирующий неколлагеновый белок костного матрикса — костный сиалопротеин II типа, синтезируемый хондроцитами, остеобластами, остеоцитами и остеокластами. Данный белок связывает кальций и гидроксиапатит, стимулируя процесс минерализации костного матрикса.
<i>SPARC</i>	Ген, кодирующий неколлагеновый белок костного матрикса, — остеонектин, связывающий ионы кальция, меди и имеющий высокое сродство к коллагенам различного типа. Синтезируется остеобластами и инициирует минерализацию костного матрикса
<i>MGP</i>	Ген, кодирующий витамин К-зависимый белок, — матриксный Gla-протеин, основная функция которого заключается в ингибировании избыточной минерализации костного матрикса, а также предотвращении эктопической кальцификации
<i>BMP2</i>	Ген, кодирующий костный морфогенетический белок 2, который является лигандом сигнального пути TGF- β (трансформирующего фактора роста бета). Стимулирует дифференцировку остеобластов путем инициации канонического BMP-сигнального пути посредством связывания с рецепторами BMPR1A и BMPR2, а также ERK/MAP киназного каскада
<i>RUNX2</i>	Ген, кодирующий транскрипционный фактор RUNX2, стимулирующий дифференцировку и пролиферацию остеобластов. Является ключевым фактором, регулирующим процессы энхондрального и интрамембранозного остеогенеза. Увеличивает экспрессию генов, отвечающих за остеобластогенез: <i>ALPL</i> , <i>IBSP</i> , <i>SPP1</i> , <i>COL1A1</i>

Таблица 10 — Функциональная аннотация выбранных генов, экспрессия которых значительно повышена в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем

Название гена	Описание
<i>JUND</i>	Ген, кодирующий транскрипционный фактор JUND, который относится к семейству белка-активатора 1 (AP1) и подавляет пролиферативную активность клетки, в том числе остеобластов. Нокаут гена <i>JUND</i> приводит к преобладанию костеобразования над костной резорбцией и увеличению МПК
<i>SMAD3</i>	Ген, кодирующий белок SMAD3, который участвует в каскаде реакций сигнального пути трансформирующего фактора роста-бета (TGF- β) путем передачи сигнала от поверхности клеток в ядро. Регулирует экспрессию генов и ингибирует пролиферацию клеток, в том числе остеобластов

ВЫВОДЫ

1. Согласно анализу Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга первичного гиперпаратиреоза на территории Российской Федерации, пациенты с генетически верифицированным МЭН1-ассоциированным гиперпаратиреозом по сравнению со спорадической формой заболевания имеют сопоставимые параметры кальций-фосфорного обмена, за исключением общего и ионизированного кальция. Различий в частоте изолированной почечной патологии и костных нарушений между группами не обнаружено. По сравнению с пациентами молодого возраста со спорадическим первичным гиперпаратиреозом, генетически верифицированный МЭН1-ассоциированный гиперпаратиреоз характеризуется большей частотой снижения МПК относительно возрастных значений в шейке бедренной кости

2. При МЭН1-ассоциированном гиперпаратиреозе по сравнению со спорадической формой заболевания отмечается: более выраженное снижение МПК в поясничном отделе позвоночника, бедренной кости, шейке бедра и дистальной трети лучевой кости, а также более низкие показатели толщины, объемной и поверхностной плотности кортикальной кости в шейке бедра и бедренной кости в целом; уменьшение объемной плотности трабекулярной кости отмечено только в шейке бедра.

3. При ремиссии первичного гиперпаратиреоза через 1 год после паратиреоидэктомии как при МЭН1-ассоциированном, так и спорадическом гиперпаратиреозе выявлен статистически значимый прирост МПК в поясничном отделе позвоночника, шейке бедренной кости и бедре в целом. Для обеих групп характерен прирост как по поверхностным, так и объемным показателям кортикальной и трабекулярной кости проксимального отдела бедра, однако увеличение толщины кортикальной кости было характерно только для группы МЭН1-ассоциированного гиперпаратиреоза.

4. При герминальной мутации в гене *MEN1: 1230dupC* увеличивается экспрессия генов *JUND* и *SMAD3*, ингибирующих клеточную пролиферацию, и снижается экспрессия генов *SPPI1*, *ALPL*, *IBSP*, *SPARC*, *MGP*, *BMP2* и *RUNX2*, отражающих остеобластогенез и минерализацию костного матрикса.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для уточнения спектра и характера костных нарушений при МЭН1-ассоциированном гиперпаратиреозе в дополнение к рентгеновской денситометрии рекомендуется проведение 3D-моделирования проксимального отдела бедренной кости.
2. Протокол получения клеток, подобных мезенхимальным стволовым, из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток может быть использован для изучения особенностей остеогенеза при синдроме МЭН1.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Пылина, С. В.** Фенотипические особенности и состояние костного метаболизма при МЭН1-ассоциированном гиперпаратиреозе по данным Российского регистра / **С. В. Пылина**, А. К. Еремкина, Е. И. Ким [и др.]. – DOI 10.14341/ket12800 // *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. – 2024. – № 2 (20). – С. 38–47.
2. **Пылина, С. В.** Сравнительный анализ костных осложнений при МЭН1-ассоциированном и спорадическом первичном гиперпаратиреозе / **С. В. Пылина**, А. К. Еремкина, А. Р. Елфимова [и др.] // *Проблемы Эндокринологии*. – 2024. – № 1 (70). – Р. 81–90.
3. Eremkina, A. K. Analysis of Bone Phenotype Differences in MEN1-Related and Sporadic Primary Hyperparathyroidism Using 3D-DXA / A. K. Eremkina, **S. V. Pylina**, A. R. Elfimova [et al.]. – DOI 10.3390/jcm13216382 // *J. Clin. Med.* – 2024. – № 13. – Р. 6382.
4. **Пылина, С. В.** Особенности костной патологии при первичном гиперпаратиреозе, ассоциированном с синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа / **С. В. Пылина**, А. Р. Елфимова, А. М. Горбачева, А. К. Еремкина. – DOI 10.14341/osteol3077 // *Остеопороз и остеопатии*. – 2022. – Т. 25, № 3. – С. 101–103.
5. **Пылина, С. В.** Создание ИПСК при герминальной мутации в гене *MEN1* для проведения фундаментальных исследований / **С. В. Пылина**, З. В. Абилов, А. К. Еремкина, Н. Г. Мокрышева. – DOI 10.14341/ENDOCALCIUM-2022-65 // Конференция по минеральному обмену и патологии околощитовидных желез «Эндокальций», Москва, 22 октября 2022 года. – С. 59.
6. **Pylina, S.** Parathyroid carcinoma in a patient with both *MEN1* and *RET* mutations. EP 586 / **S. Pylina**, E. Kim, E. Bondarenko [et al.]. – DOI 10.1530/endoabs.90.EP586 // *Endocrine Abstracts*. – 2023.
7. Eremkina, A. Cortical and trabecular bone involvement in MEN1-associated primary hyperparathyroidism. P 143 / A. Eremkina, **S. Pylina**, A. Gorbacheva [et al.]. – DOI 10.1007/s40520-024-02766-y // *Aging. Clin. Exp. Res.* – 2024.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ИПСК — индуцированные плюрипотентные столбовые клетки человека
- КТ — компьютерная томография
- мПГПТ — первичный гиперпаратиреоз, ассоциированный с синдромом МЭН1
- МПК — минеральная плотность кости
- МПТЭ — субтотальная паратиреоидэктомия с удалением любого, но меньшего количества околощитовидных желез по сравнению с субтотальной паратиреоидэктомией
- МСК — мезенхимальные стволовые клетки
- МСК-подобные клетки — клетки подобные мезенхимальным стволовым
- МСКТ — мультиспиральная компьютерная томография
- МЭН1 — синдром множественных эндокринных неоплазий 1-го типа
- НЭН — нейроэндокринные новообразования
- ОЩЖ — околощитовидные железы
- ПГПТ — первичный гиперпаратиреоз
- ПТГ — паратиреоидный гормон
- ПТЭ — паратиреоидэктомия
- РИ — референсный интервал
- рСКФ — расчетная скорость клубочковой фильтрации по формуле CKD-EPI 2009
- сПГПТ — спорадический первичный гиперпаратиреоз
- СПТЭ — субтотальная паратиреоидэктомия с сохранением $\frac{1}{2}$ или 1 наименее измененной околощитовидной железы
- ТПТЭ — тотальная паратиреоидэктомия с гетеротопической трансплантацией
- ТФК₂ — точный двусторонний критерий Фишера
- УЗИ — ультразвуковое исследование
- 3D-DXA — исследование плотности кортикального и трабекулярного компонента костной ткани проксимального отдела бедренной кости, выполненное с применением программного обеспечения 3D-Shaper Medical (версия v2.12.1, Испания)
- DXA — двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (dual-energy X-ray absorptiometry)
- FN — оценка минеральной плотности кости в шейке бедренной кости (femur neck)
- HGVS — сообщество по изучению генома человека (The Human Genome Variation Society)
- LS — оценка минеральной плотности кости в поясничном отделе позвоночника (lumbar spine)
- MDS — график многомерного шкалирования (multidimensional scaling plot)
- MEN1* — ген, кодирующий белок менин
- R33% — оценка минеральной плотности кости в дистальной трети лучевой кости (radius 33%)
- RT — оценка минеральной плотности кости в лучевой кости в целом (radius total)
- SD — стандартное отклонение (standard deviation)
- SNP — база данных о полиморфизме нуклеотидной последовательности (single nucleotide polymorphism)
- ТН — оценка минеральной плотности кости в бедре в целом (total hip)
- U-тест — статистический критерий Манна-Уитни
- W-тест — статистический критерий Вилкоксона