

*На правах рукописи*

**Трухина Диана Аршалуйсовна**

**КЛИНИЧЕСКИЕ И ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С  
ФЕНОКОПИЯМИ СИНДРОМА  
МНОЖЕСТВЕННЫХ ЭНДОКРИННЫХ НЕОПЛАЗИЙ 1 ТИПА**

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 имени академика И.И. Дедова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Белая Жанна Евгеньевна**

доктор медицинских наук, профессор

**Официальные оппоненты:**

**Бирюкова Елена Валерьевна**

доктор медицинских наук, профессор кафедры эндокринологии научно-образовательного Института клинической медицины им. Н.А. Семашко Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Гринева Елена Николаевна**

член-корреспондент РАН, профессор, доктор медицинских наук, директор Института эндокринологии, заведующая кафедрой эндокринологии с клиникой Института медицинского образования Федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

Защита диссертации состоится «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 21.1.045.01 при ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России по адресу: 117292, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России или на сайте [www.endocrincentr.ru](http://www.endocrincentr.ru).

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

Мазурина Наталия Валентиновна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность исследования

Синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН-1) (OMIM #131100) – редкое, аутосомно-доминантное заболевание, обусловленное мутациями в гене *MEN1*, кодирующем белок менин [Agarwal S.K., 2013]. Синдром предрасполагает к развитию опухолей околощитовидных желез, нейроэндокринных опухолей поджелудочной железы, аденом гипофиза, а также других эндокринных и неэндокринных новообразований, которые обычно манифестируют в молодом возрасте [Brandi M.L. et al., 2021]. В случае выявления у пациента фенотипа МЭН-1 при отсутствии мутаций в гене *MEN1*, состояние расценивается как фенокопия данного синдрома [Thakker R.V. et al., 2012; Brandi M.L. et al., 2025]. Одной из причин развития фенокопий МЭН-1 могут быть мутации в других генах, однако даже при полногеномном секвенировании остаётся группа пациентов с фенотипом синдрома МЭН-1, у которых мутации не выявляются [Backman S. et al., 2020]. Таким образом поиск клинических признаков, способных своевременно определять пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 является актуальной задачей. В последнее время для таких целей все чаще используются математические модели. Совершенствование существующих диагностических моделей или разработка новых упростит выявление пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1, что поможет избежать неоправданного долгосрочного лабораторно-инструментального скрининга.

Другими возможными причинами сочетания нескольких эндокринных опухолей у таких пациентов могут быть эпигенетические изменения, влияющие на экспрессию менина. Изменение экспрессии микроРНК рассматривается как важный механизм в посттрансляционной регуляции генов, и уже существует множество данных, подтверждающих роль микроРНК в развитии опухолей различных органов, включая гипофиз, поджелудочную и околощитовидные железы [Nagy Z. et al., 2017]. Некоторые микроРНК могут непосредственно влиять на мРНК менина, снижая или повышая его экспрессию в тканях, а сам менин, выступая в роли транскрипционного фактора, участвовать в регуляции синтеза микроРНК [Luzi E. et al., 2012]. Исходя из этого, возможным триггером развития опухолевого процесса, схожего с синдромом МЭН-1, могут быть посттрансляционные изменения экспрессии менина или экспрессии других генов, ассоциированных с множественными опухолями эндокринной системы, в том числе вследствие изменений профиля микроРНК.

Особенностью микроРНК является их стабильность, тканеспецифичность, способность высвобождаться за пределы клетки и присутствовать в крови и других биологических жидкостях в составе внеклеточных везикул, липидов. МикроРНК таким способом участвуют в межклеточной коммуникации, выполняя в том числе паракринную функцию, а при воздействии на другие органы и ткани функцию подобную гормонам [Anfossi S. et al., 2018]. Опухолевые клетки и стромальные компоненты опухоли представляют собой источник содержания не кодирующих РНК в крови. По сравнению с нормальными клетками, опухолевые клетки выделяют по меньшей мере в десять раз больше внеклеточных везикул, которые содержат микроРНК, действуя как опухолевые супрессоры или онкогены в органах мишенях [Anfossi S. et al., 2018]. Таким образом, измерение микроРНК в периферической крови у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 и сравнение их с генетически верифицированным синдромом МЭН-1, а также со спорадическими аналогами заболеваний может помочь в определении сходств и различий профилей экспрессии микроРНК у данных пациентов и в перспективе определить возможные причины возникновения сочетанных эндокринных опухолей у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1.

### **Цель исследования**

Выявление отличительных особенностей фенокопий синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа от генетически подтвержденного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа и спорадических аналогов заболеваний на основе клинических характеристик, результатов иммуногистохимического исследования и экспрессии микроРНК.

### **Задачи исследования**

1. Сравнить клинические признаки пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 и генетически подтвержденным синдромом МЭН-1.
2. Разработать диагностическую модель с использованием клинических характеристик для определения вероятности наличия генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 среди пациентов с фенотипом МЭН-1.
3. Исследовать экспрессию менина иммуногистохимическим методом в образцах аденом гипофиза у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1, генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и спорадической акромегалией.
4. Провести сравнительный анализ экспрессии микроРНК, полученных методом высокопроизводительного секвенирования (NGS) в периферической крови у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1, генетически подтвержденным синдромом МЭН-1, спорадической акромегалией, спорадическим первичным гиперпаратиреозом и группой относительно здоровых добровольцев.
5. Валидизировать установленные отличия экспрессии микроРНК в периферической крови методом количественной полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени (RT-qPCR).

### **Научная новизна**

Впервые в мире определена экспрессия менина в тканях аденом гипофиза у фенокопий синдрома МЭН-1 методом иммуногистохимического исследования.

Впервые в мире проведено исследование экспрессии микроРНК в периферической крови в группе пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 методом NGS, сравнение их с группами пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1, спорадической акромегалией, спорадическим первичным гиперпаратиреозом и относительно здоровыми добровольцами, а также проведена валидация полученных результатов методом RT-qPCR.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Предложен комплекс клинических характеристик, вошедших в диагностический алгоритм, который позволяет дифференцировать синдром МЭН-1 и его фенокопии на этапе скрининга.

Получены микроРНК в плазме крови, валидизированные двумя методами (NGS и RTqPCR), которые отличаются у пациентов с синдромом МЭН-1 и фенокопиями.

### **Личный вклад автора в проведенное исследование**

Автор лично провел анализ состояния научной проблемы в мире на основании литературных данных, сформулировал цель, задачи и дизайн диссертационной работы, принимал непосредственное участие в работе с пациентами и организации проведения лабораторных исследований, а также участвовал в интерпретации данных иммуногистохимического исследования, результатов метода RT-qPCR. Основной объем работы по сбору клиникоanamnestических данных, подготовке базы пациентов, статистической обработке данных и интерпретации полученных результатов, отбору критериев для разработки диагностической модели, подготовке публикаций и докладов по теме работы выполнены лично автором.

### **Положения, выносимые на защиту**

Пациенты с фенокопиями синдрома МЭН-1 могут быть выделены от генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 по клиническим признакам, объединённым в диагностическую модель с использованием метода k-ближайших соседей с диагностической точностью 96,7%.

Аденомы гипофиза пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 по данным иммуногистохимического исследования экспрессии менина соответствуют спорадическим формам, и отличаются от аденом гипофиза пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1.

По данным профиля циркулирующих микроРНК методом NGS пациенты с фенокопиями синдрома МЭН-1 отличаются от пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1. Различия между группами подтверждаются методом RT-qPCR по микроРНК miR-576-5p.

### **Апробация результатов**

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 20.05.2025 на заседании межкафедрального собрания Института высшего и дополнительного профессионального образования ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России. Основные результаты диссертационной работы представлены на ежегодных конгрессах Эндокринологического общества (ENDO, онлайн формат, 2021 г.; в качестве устного доклада, Атланта (штат Джорджия, США) 2022 г.; в качестве устного доклада, Чикаго (штат Иллинойс, США) 2023 г.; в качестве устного доклада, Бостон (штат Массачусетс, США) 2024 г.), на 22 Европейском эндокринологическом Конгрессе (ECE, онлайн-формат, 2020), на V (XXX) Национальном конгрессе эндокринологов с международным участием «Инновационные технологии в эндокринологии» в 2024 г. в качестве устного доклада. Результаты работы удостоены награды Outstanding Abstract Award на конгрессе ENDO 2022 (Атланта, штат Джорджия, США, 2022).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 9 печатных работ, в том числе в журналах, которые входят в перечень отечественных рецензируемых журналов, рекомендуемых для публикации основных результатов диссертаций – 2; тезисы, опубликованные за рубежом – 5. На основании результатов проведенного исследования получен патент на изобретение RU 2838817 C1.

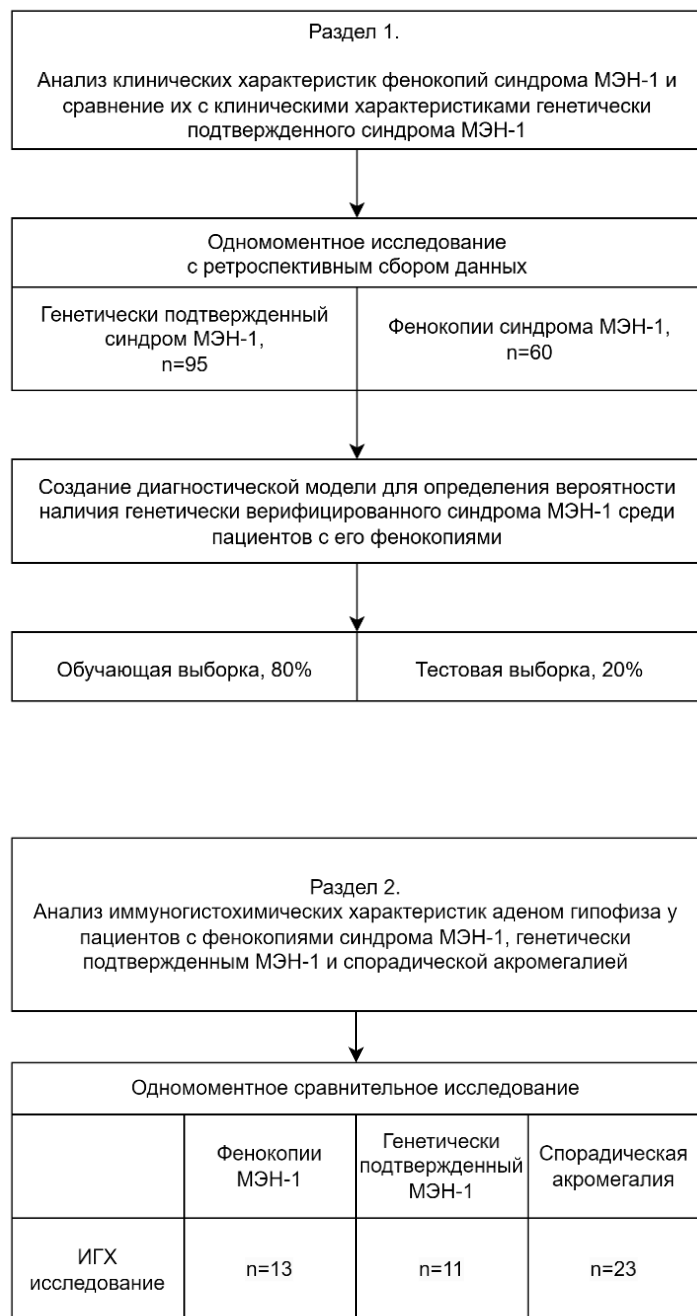
### **Структура и объем диссертации**

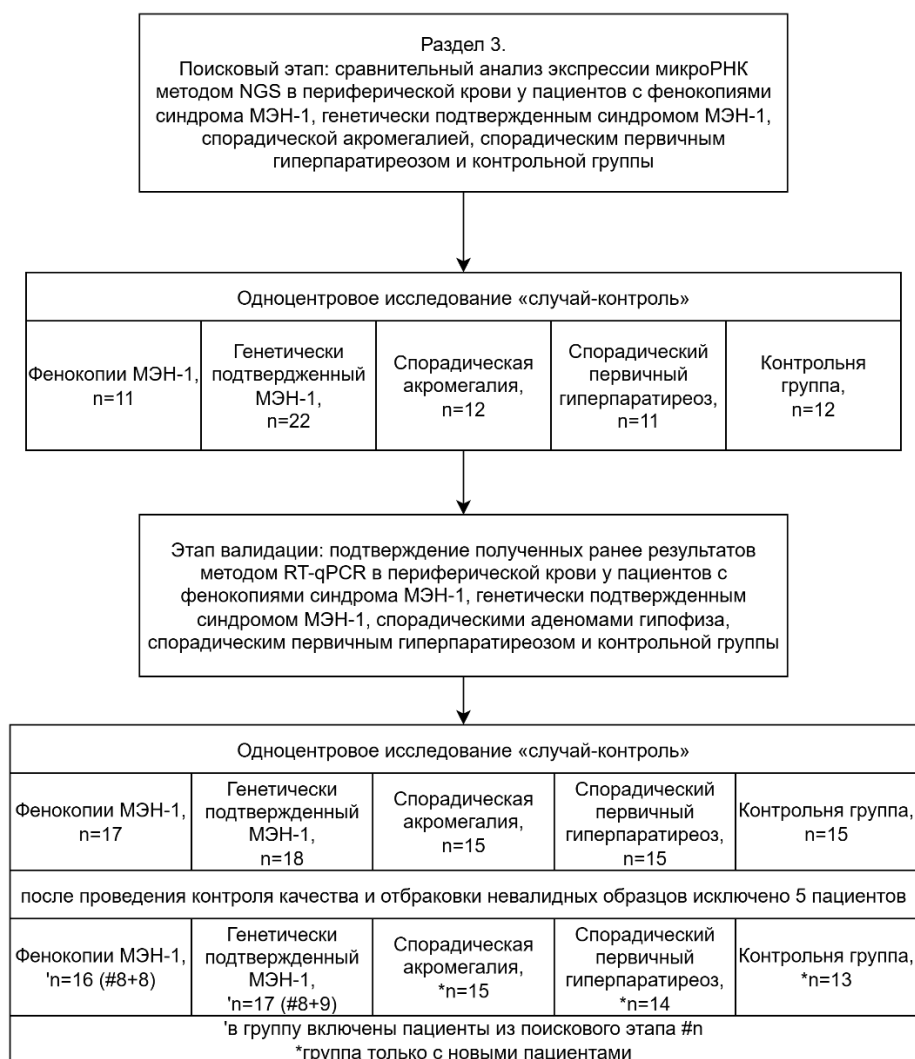
Диссертация изложена на 140 страницах, состоит из введения, 4 глав (обзор литературы, описание материалов и методов проведения исследования, собственные результаты и их обсуждение, заключение), выводов, практических рекомендаций, списка сокращений, условных обозначений и списка литературы. Библиография включает 244 источника (из них 13 отечественных и 231 зарубежный). Работа иллюстрирована 23 рисунками и 33 таблицами.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В соответствии с поставленными целями и задачами, в разделе 1 проведено одноцентровое одномоментное сравнительное исследование с ретроспективным сбором данных, включившее пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и его фенокопиями (всего 155 пациентов), с дальнейшим созданием диагностической модели. Для раздела 2 проведено ИГХ исследование экспрессии менина в тканях аденом гипофиза (всего 47 образцов) от пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1, его фенокопиями и спорадической акромегалией. Для раздела 3 проведено одноцентровое исследование «случай-

контроль» экспрессии микроРНК в плазме крови методом NGS (поисковый этап, всего 68 пациентов) и валидизация наиболее отличающихся микроРНК методом RT-qPCR (этап валидации, всего 80 пациентов, после проведения контроля качества и отбраковки невалидных образцов – 75 пациентов). Дизайн исследования представлен на рисунке 1. Набор пациентов и сбор образцов биологического материала проводился на базе ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России.





**Рисунок 1** – Дизайн исследования. МЭН-1 – синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа.

**Таблица 1** – Критерии соответствия

Раздел 1	Раздел 2	Раздел 3
Критерии включения		
Для разделов 1 и 3: пациенты обоих полов, от 18 лет и старше		
<p>Группа фМЭН-1: наличие двух и более опухолевых поражений эндокринных желез с отсутствием мутаций по данным NGS; отсутствием крупных делеций/дупликаций кодирующей области <i>MEN1</i> по данным MLPA.</p> <p>Группа гМЭН-1: пациенты мутацией в гене <i>MEN1</i> по методу секвенирования по Сэнгеру или методом NGS. Формирование выборки пациентов – сплошное.</p> <p>Период набора: апрель 2019 – май 2023 гг.</p>	<p>Образцы тканей АГ пациентов с гМЭН-1, фМЭН-1, спорадической акромегалией прошедших оперативное лечение с апреля 2008 по декабрь 2020 гг. Формирование выборки пациентов – сплошное. Исследование проведено в 2021 г.</p>	<p>Группа гМЭН-1: пациенты с мутацией в гене <i>MEN1</i> по методу секвенирования по Сэнгеру или методом NGS. Обязательное условие – наличие АГ как компонента синдрома МЭН-1.</p> <p>Группа фМЭН-1: пациенты в активной стадии (без лечения, либо с отсутствием ремиссии на фоне лечения) акромегалии и ПГПТ, болезни Иценко-Кушинга и ПГПТ; с отсутствием мутаций по данным NGS; отсутствием крупных делеций/дупликаций кодирующей области <i>MEN1</i> по данным MLPA.</p> <p>В группу спорадической акромегалии: активная фаза акромегалии, подтвержденная в соответствии с действующими</p>

		клиническими рекомендациями [Пржиялковская Е.Г. и др., 2024]. В группу сПППТ: активная фаза ПГПТ, подтвержденная в соответствии с действующими клиническими рекомендациями [Дедов И.И. и др., 2025]. Способ формирования выборки пациентов – сплошной. В группу здоровых добровольцев: отсутствие клинических проявлений эндокринных заболеваний. Способ формирования выборки здоровых добровольцев – произвольный. Период набора образцов: для метода NGS сентябрь 2019 – декабрь 2022 гг.; для метода RT-qPCR декабрь 2022 – сентябрь 2023 гг.
Критерии исключения		
—	Злокачественные новообразования, лучевая терапия, отсутствие генетического тестирования у пациентов с фенотипом МЭН-1	Группы фМЭН-1, спорадическая акромегалия, сПППТ: ремиссия заболевания, беременность и лактация, острые состояния. гМЭН-1: беременность и лактация, острые состояния. Группа здоровых добровольцев: беременность и лактация, острые состояния, онкологические заболевания, декомпенсации хронических заболеваний

Примечания: гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа; фМЭН-1 – фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа; сПППТ – спорадический первичный гиперпаратиреоз.

#### Лабораторные методы исследования

Забор крови из периферической вены выполнялся утром натощак в промежуток 8:00–10:00. Образцы центрифугировались при температуре 5°C и скорости вращения 3000 оборотов/мин в течение 20 минут (лабораторная центрифуга Eppendorf 5810R с комплектом роторов (A-4-81, Ф-4-81-MTP/Flex, 33 FA-45-30-11 и F-45-48-PCR)). Образцы сыворотки и плазмы немедленно замораживались и хранились при температуре -80°C.

Гормональные и биохимические исследования проводились в клиничко-диагностической лаборатории ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России. Поправка концентрации кальция в сыворотке на альбумин выполнялась по формуле: общий кальций сыворотки (ммоль/л) = измеренный общий кальций сыворотки (ммоль/л) + 0,02 × (40 – измеренный альбумин сыворотки (г/л)).

#### Инструментальные методы исследования

МРТ головного мозга и МРТ органов брюшной полости проводились на магнитно-резонансных томографах GE Optima MR450w 1,5T (США) и Siemens (Erlange, Германия) 1,5 T с толщиной среза 3 мм для сагитальных и фронтальных изображений и 4 мм для аксиальных изображений с введением гадолиниевого контрастного препарата по показаниям. УЗИ ОЩЖ, ЩЖ проводились на аппаратах Voluson E8 датчиками RAB 6-D, C1-5 (GE Healthcare, США) или Aplio 500 датчиком 6C1 (Toshiba, Япония). КТ органов брюшной полости и забрюшинного пространства проводилась на мультidetекторном компьютерном томографе Optima CT660



фирмы General Electric. Толщина срезов при исследовании составляла 0,625 мм. Область сканирования – от диафрагмы до седалищных бугров. При необходимости выполнялось внутривенное болюсное контрастирование не ионным контрастным веществом (Йомепрол 400 мг/мл).

### **Гистологические и иммуногистохимические исследования**

Морфологический анализ образцов аденом гипофиза выполнен в сотрудничестве с к.м.н. А.М. Лапшиной. В исследование были включены парафиновые блоки образцов тканей опухолей гипофиза. Срезы толщиной 3–4 мкм, которые наносили на адгезивные стекла (Menzel GmbH&Co KG, Германия), депарафинизировали, проводили демаскировку антигенов при помощи высоко- и низко pH-буферов (Leica). Далее окрашивали гематоксилином и эозином и проводили иммуногистохимические реакции с антителами (АТ), используемыми для определения типа секреции АГ и экспрессии менина: АТ к менину (Abcam ab2605), которые связывались с частью С-конца менина человека. При оценке экспрессии менина использовалась 4-балльная система оценки: отсутствие окраски – 0; цитоплазматическая и ядерные окраски – с (слабая), ср (средняя), сл (сильная). В качестве положительного контроля для АТ к менину в работу были взяты образцы ткани нормального гипофиза и ткань нормальной ПЖ.

### **Молекулярно-генетические исследования**

Молекулярно-генетическое тестирование пациентов проводилось в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии им. академика И.И. Дедова» Минздрава России. Выделение, высокопроизводительное секвенирование и RT-qPCR микроРНК, MLPA произведены в лаборатории медико-генетического центра «Геномед». Массовое параллельное секвенирование (NGS) проводилось на платформе Illumina методом парно-концевого чтения (2x150 п.о.) с использованием таргетной панели, включавшей гены (*MEN1*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*, *AIP*, *CASR*, *CDC73*), и полноэкзомного секвенирования. Подготовку полногеномной библиотеки (KAPA HyperPlus, Roche, Швейцария) и обогащение матрицы ДНК (KAPA HyperCapture, Roche, Швейцария) производили в соответствии с протоколами производителя (Roche (La Roche Ltd)). Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением компьютерных алгоритмов предсказания патогенности вариантов (SIFT, PolyPhen-2 HDIV, Polyphen-2 HVAR, PROVEAN, CADD). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные международного проекта gnomAD Exomes для экзонных вариантов и базы gnomAD Genomes для интронных вариантов. Для предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга и прилежащих к сайту сплайсинга интронных участках использованы программы SpliceAI и AdaBoost. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, HGMD и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов дано с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS. В заключение включены только варианты, имеющие возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента. Полиморфизмы, классифицированные по различным критериям как нейтральные, не включены в заключение. Анализировались панели, средняя глубина покрытия которых была не менее 70х, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10х – не менее 97%.

Пациентам с фенотипом МЭН-1 и отсутствием мутаций было проведено MLPA с использованием набора зондов SALSA MLPA Probemix P017 MEN1 (MRC-Holland, Нидерланды) и набора реагентов SALSA MLPA EK1-FAM (MRC-Holland, Нидерланды). Капиллярный электрофорез проводился на анализаторе ABI 3500 Genetic Analyser (Applied Biosystems, США) с использованием капилляра длиной 50 см и полимера POP-7 согласно рекомендациям производителя. В качестве маркера был использован размерный стандарт GeneScan™ – 600 LIZ® Size Standard (Applied Biosystems, США). Первичную обработку полученных данных, а также фрагментный анализ проводили с использованием программного обеспечения Coffalyser.Net (MRC-Holland, Нидерланды).

Выделение микроРНК проводилось из 200 мкл плазмы с использованием наборов miRNeasy Serum/Plasma Kit («Qiagen», Германия), согласно инструкции производителя, на автоматической станции QIAcube («Qiagen», Германия). Для предотвращения деградации в выделенную РНК добавляли 1 ед. RiboLock RNase Inhibitor («Thermo Fisher Scientific», США) на 1 мкл раствора нуклеиновых кислот. Концентрацию суммарной РНК в водном растворе оценивали на спектрофотометре NanoVue Plus («GE Healthcare», Великобритания). Полногеномный анализ экспрессии микроРНК был выполнен на высокопроизводительном секвенаторе NextSeq 500 с помощью TruSeq Small RNA Library Prep Kit («Illumina», США). Биоинформатический анализ полученных данных проводился с помощью программного обеспечения Cutadapt (удаление адаптеров), Bowtie2 (выравнивание прочтений), FastQC (контроль качества), Seqbuster (аннотация последовательностей микроРНК, анализ изомеров микроРНК). Итоговый анализ для получения данных по различиям в экспрессии микроРНК проводился при помощи DESeq2.

Анализ экспрессии микроРНК производили с помощью ПЦР в режиме «реального времени» с обратной транскрипцией (RT-qPCR). Исследование проведено на оборудовании StepOnePlus (Applied Biosystems, США) с наборами TaqMan Advanced miRNA cDNA Synthesis (Thermo Fisher Scientific, США) и TaqMan Advanced miRNA (Thermo Fisher Scientific, США), согласно инструкциям производителей. Общий объем ПЦР реакции составлял 20 мкл. Условия амплификации фрагментов ДНК: 95C/20 сек – 1 цикл; 95C/1 сек, 95C/20 сек – 40 циклов. В качестве контролей выделения детектировали РНК UniSp2, UniSp4, UniSp5. Контроль обратной транскрипции проводили при помощи cel-miR-39-3p. Для получения значений пороговых циклов (cycle threshold, Ct) использовано программное обеспечение SDS (версия 2.3, Applied Biosystems, США). Значение Ct <40 выбрано в качестве порогового для определения экспрессии микроРНК.

### **Статистический анализ**

Были использованы пакеты прикладных программ IBM SPSS Statistics v23 (IBM, США) для Microsoft® Windows10, GraphPad Prism 8 (GraphPad Software Inc., США; статистический анализ и графический вывод результатов по микроРНК, полученных в ходе RT-qPCR). Размер выборки предварительно не рассчитывался ввиду редкости заболевания. Систематизация исходной информации осуществлялась в электронных таблицах Office Excel 2016 (Microsoft, США), имеющиеся пропуски в данных не заполнялись. Основные количественные характеристики пациентов представлены в виде медианы (Me) и интерквартильных интервалов [Q1; Q3]. Соотношения качественных признаков представлены в виде долей (%). Сравнение между количественными параметрами пациентов и группой относительно здоровых добровольцев проводили с использованием критериев Краскела-Уоллиса (3 и более независимые группы) и Манна-Уитни (2 независимые группы). Для сравнения качественных параметров использованы критерий хи-квадрат (когда число ожидаемых наблюдений в ячейках

было 5 или более), точный критерий Фишера (когда число ожидаемых наблюдений в любой из ячеек четырех- или многопольной таблицы было менее 5) и критерий Фримена-Холтона (для таблиц 2x3, 3x3, с помощью онлайн-калькулятора <http://vassarstats.net/fisher2x3.html> и <http://vassarstats.net/fisher3x3.html>). Доверительные интервалы рассчитывались методом Клоппера-Пирсона с помощью онлайн-калькулятора (<https://www.graphpad.com/quickcalcs/confintervals1/>). Возрастную пенетрантность основных проявлений синдрома МЭН-1 у пациентов с мутациями и без оценивали по методу Каплана-Мейера. Сравнение кривых Каплана-Мейера у пациентов с мутациями и без проводилось с помощью логрангового критерия. Статистически значимым признавался уровень ошибки первого рода менее 5% ( $p < 0,05$ ). Для коррекции проблемы множественных сравнений применялась поправка Бонферрони (кроме сравнений в уровнях экспрессии микроРНК, для которых применялся метод Бенджамини-Хохберга, встроенный в соответствующие вычислительные алгоритмы).

Статистический анализ и графических вывод результатов по микроРНК, полученных в ходе NGS, выполнялся в сотрудничестве с к.м.н. Солодовниковым Александром Геннадьевичем (Уральский государственный медицинский университет, Екатеринбург) с использованием программного обеспечения R версии 4.3.3 с пакетом Bioconductor версии 3.18. Итоговый анализ для получения данных по различиям в экспрессии микроРНК методом NGS проводился при помощи DESeq2 версии 1.42. Количественные данные, полученные из исходного анализа RT-qPCR, были преобразованы методом  $\Delta\Delta Ct$  с базовой группой (относительно здоровые добровольцы). Затем значения FC сравнивались между группами при помощи критерия Краскела-Уоллиса с вычислением нескорректированного  $p$ -значения. Группы попарно сравнивались методом Манна-Уитни с вычислением скорректированного значения  $p$ .

#### **Способ определения вероятности наличия генетически верифицированного синдрома МЭН-1 среди пациентов с его фенотипами**

Программа разрабатывалась совместно с Вороновым К.А. (ООО «Статэндокс», Екатеринбург). С помощью алгоритма Boruta [Kursa, M. V. et al., 2010] отбирались предикторы для обучения моделей. Предварительная обработка данных включала в себя удаление всех случаев, содержащих неполные данные, удаление признаков с околонулевой дисперсией, отсеив коллинеарных предикторов, проводилась нормализация и центрирование предикторов. Во избежание утечки данных вся предварительная обработка и трансформация выполнялись после разделения набора данных. Разделение на обучающую/тренировочную и тестовую выборки проводилась по схеме 80/20 случайным стратифицированным отбором (для обучения ( $n=125$ ), для тестирования моделей ( $n=30$ )). С целью подтверждения соответствия распределения данных в обучающей и тестовой выборках выполнялся анализ с оценкой модифицированного многомерного расстояния Махаланобиса и тестированием нулевой гипотезы о соответствии распределений (методом Монте-Карло). Для идентификации наилучшей модели прогнозирования наличия генетически верифицированного синдрома МЭН-1 среди пациентов с клиническими проявлениями МЭН-1 применялась вложенная кросс-валидация с 5 внешними и 3 внутренними циклами. Обучение и оценка качества работы алгоритмов машинного обучения проводилось на тренировочном наборе данных. Проводилось сравнение 8 алгоритмов машинного обучения: логистическая регрессия (Logistic Regression), метод  $k$ -ближайших соседей ( $k$ -nearest neighbors,  $kNN$ ; пороговое значение 50%), наивный байесовский классификатор (Naive Bayes), бинарное дерево решений (CART), алгоритмы дерева решений C5.0, бутстрэп-агрегирование CART (Bagged CART), случайный лес (Random Forest), градиентный бустинг (Stochastic Gradient Boosting, GBM). Результаты эффективности полученных моделей сравнивались между собой путем анализа стандартных метрик,

полученных из матрицы ошибок классификации (confusion matrix): 1. Диагностическая точность модели; 2. Площадь под кривой операционных характеристик – ROC AUC; 3. Чувствительность; 4. Специфичность; 5. Точность; 6 F<sub>1</sub>-мера. Основными метриками для выбора финальной модели были ROC-AUC, чувствительность и специфичность. На финальном этапе выбранная модель проверялась на тестовом наборе данных.

## РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

### Клиническая характеристика пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 и сравнение их с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1

В ходе одномоментного сравнительного исследования проанализированы клиничко-анамнестические данные 155 пациентов с фенотипом МЭН-1 (пациенты распределены на две группы по окончательному клиническому диагнозу): 95 пациентов с мутациями и 60 пациентов без мутаций по данным генетического тестирования. Основные характеристики пациентов представлены в таблице 2.

**Таблица 2** – Общая характеристика и основные лабораторно-инструментальные показатели включенных в исследование пациентов с фенотипом МЭН-1

Параметр	Пациенты с мутацией, n=95	Пациенты без мутации, n=60	P-value
Пол, жен, n (%)	63 (66,3)	54 (90,0)	<b>0,001</b>
Возраст на момент диагностики клинического МЭН-1, лет Me [Q1; Q3]	37 [30; 48]	61 [57; 67]	<b>&lt;0,001</b>
Отягощенная наследственность, n (%)	59 (62,1)	3 (5,0)	<b>&lt;0,001</b>
Сочетание АГ+ПГПТ, n (%)	21 (22,1)	53 (88,3)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Аденомы гипофиза (АГ)</b>			
▼Наличие аденомы гипофиза, n (%)	73 (76,8)	57 (95)	0,003
Манифестация с АГ, n (%)	37 (50,7)	47 (82,5)	<b>&lt;0,001</b>
Возраст на момент диагностики АГ, лет, Me [Q1; Q3]	30 [22; 40]	55 [46; 61]	<b>&lt;0,001</b>
Микроаденома, n (%)	45 (61,6)	22 (38,6)	0,009
Тип секреции СТГ-АГ, n (%) ПРЛ-АГ, n (%) Другие, n (%)	9 (12,3) 30 (41,1) 34 (46,6)	39 (68,4) 6 (10,5) 12 (21,1)	<b>&lt;0,001</b>
<b>Первичный гиперпаратиреоз (ПГПТ)</b>			
▼Наличие ПГПТ, n (%)	91 (95,8)	58 (96,7)	1,000*
Манифестация с ПГПТ, n (%)	35 (38,5)	12 (20,7)	0,023
Возраст на момент диагностики ПГПТ, лет, Me [Q1; Q3]	33 [26; 41]	57 [53; 62]	<b>&lt;0,001</b>
Количество ОЩЖ, Me [Q1; Q3]	3 [2; 4]	1 [1; 1]	<b>&lt;0,001</b>
ПТГ до операции, пг/мл,	127,0	124,7	0,298

Ме [Q1; Q3]	[92,3; 170,0]	[89,7; 153,6]	
Кальций скорр. по альбумину, до операции ммоль/л, Ме [Q1; Q3]	2,58 [2,45; 2,66]	2,61 [2,51; 2,70]	0,247
Фосфор, до операции ммоль/л, Ме [Q1; Q3]	0,9 [0,82; 1,02]	1,03 [0,89; 1,18]	0,008
Креатинин, мкмоль/л, до операции, Ме [Q1; Q3]	68,2 [63,8; 76,7]	66,55 [59,60; 72,60]	0,175
Рецидив ПГПТ, n (%)	32 (52,5)	2 (8,7)	<b>&lt;0,001</b>
Наличие мочекаменной болезни, n (%)	43 (45,3)	33 (55,9)	0,251
Наличие язвенной болезни желудка, n (%)	14 (14,7)	6 (10,2)	0,380
Остеопороз, n (%)	32 (35,2)	31 (53,4)	0,028
<b>Нейроэндокринные новообразования</b>			
▼Наличие НЭО ПЖ, n (%)	68 (71,6)	5 (8,3)	<b>&lt;0,001</b>
Манифестация с НЭО ПЖ, n (%)	23 (33,8)	1 (20)	0,661*
Возраст на момент диагностики НЭО ПЖ, лет, Ме [Q1; Q3]	32 [26; 40]	59 [58; 59]	0,004
▼Другие НЭО, n (%)	14 (14,8)	4 (6,8)	0,127
<b>Другие образования</b>			
▼Образование надпочечника, n (%)	39 (41,1)	19 (31,7)	0,240
▼Наличие узловых образований в щитовидной железе, n (%)	30 (32,3)	42 (71,2)	<b>&lt;0,001</b>
Папиллярный рак щитовидной железы, n (%)	4 (13,3)	2 (4,2)	0,390*
▼Наличие других опухолей, n (%)	40 (42,1)	19 (31,7)	0,192

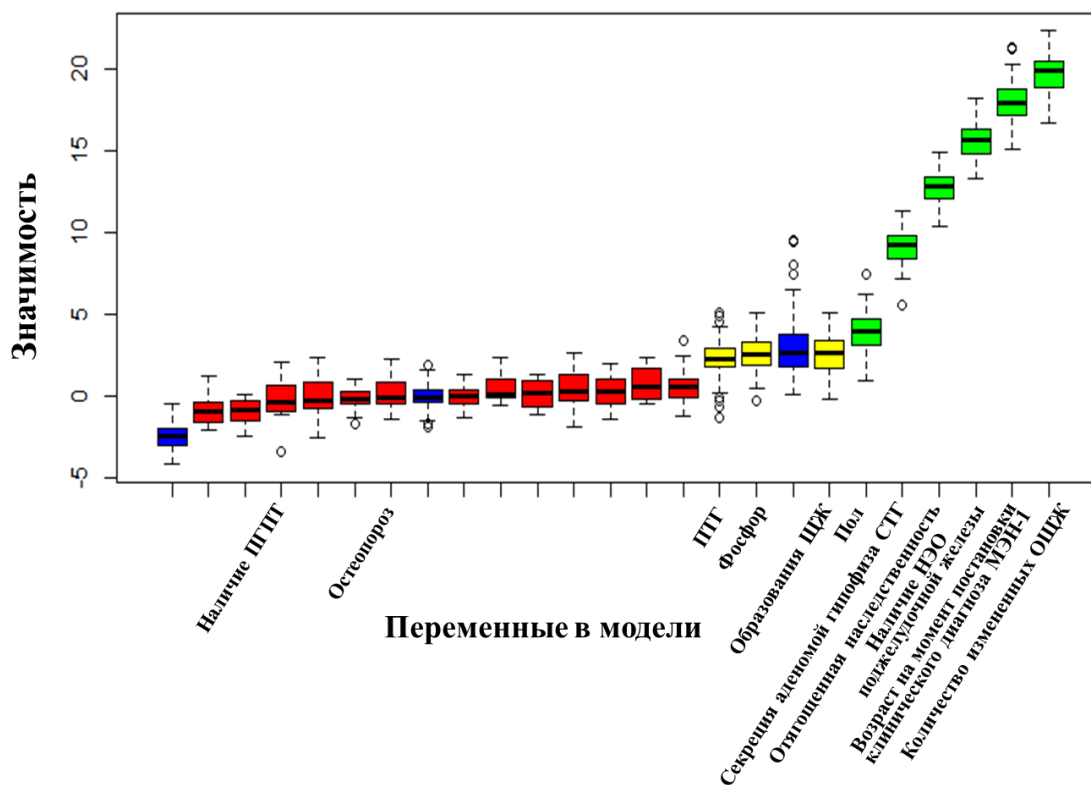
Примечание: Сравнение качественных параметров проводилось при помощи критерия хи-квадрата Пирсона (кроме параметров, отмеченных «\*», для которых применялся двусторонний точный критерий Фишера). Сравнение количественных параметров – при помощи критерия Манна-Уитни. Поправка на множественность сравнений проводилась методом Бонферрони, уровнем статистической значимости считался  $p < 0,002$  ( $0,05/33$ ; полужирным выделены статистически значимые уровни  $p$ ). Доли признаков, отмеченных знаком «▼», посчитаны от общего числа пациентов; доли характеристик этих признаков посчитаны по количеству пациентов с наличием этого признака. НЭО – нейроэндокринная опухоль; АГ – аденома гипофиза; ПЖ – поджелудочная железа; ПГПТ – первичный гиперпаратиреоз; ОЩЖ – околощитовидная железа; СТГ – соматотропный гормон; ПРЛ – пролактин.

Помимо более молодого возраста манифестации заболевания, наличия семейного анамнеза, большего количества случаев множественного поражения ОЩЖ и рецидива ПГПТ у пациентов с мутацией в гене МЭН-1, мы выявили различия по гормональной секреции АГ по сравнению с пациентами без мутаций. В группе с мутациями чаще у пациентов выявлялись микроаденомы, секретирующие пролактин, тогда как в группе без мутаций большинство АГ являлись макроаденомами и секретируют СТГ. Из основных компонентов синдрома МЭН-1 сочетание АГ и ПГПТ намного реже встречалось в группе с мутациями (22,1%), тогда как в группе без мутаций почти во всех случаях имелось только это сочетание (88,3%). Среди других

Параметр	Пациенты с мутацией, n	Пациенты без мутации, n
НЭО легких	12	1
НЭО тимуса	2	–
НЭО желудка	–	2
НЭО подвздошной кишки	–	1

В группе без мутаций чаще выявлялись узловые образования щитовидной железы, по сравнению с группой с мутациями, возможно из-за более старшего возраста пациентов с фенокопиями. Тем не менее, статистически значимой разницы в частоте папиллярного рака щитовидной железы между двумя группами выявлено не было.

Исходно общая группа пациентов с фенотипом МЭН-1 (n=155) случайным образом была разделена на две выборки в соотношении 80%:20% – для обучения (n=125) и для тестирования моделей (n=30). Далее был выполнен отбор наиболее информативных переменных с помощью метода случайного леса и алгоритма Boruta. В качестве потенциальных параметров рассматривались исходные клинические показатели пациентов, представленные в таблице 1. По окончании процедуры отбора каждый признак получил значение, которое выражает степень его информативности. Чем выше значение, тем ценнее этот признак для прогнозирования и классификации. В результате был получен перечень признаков, которые можно ранжировать в соответствии с их значимостью для решения задачи классификации (рис. 2).



**Рисунок 2** – Ранжирование отдельных признаков по степени влияния на потенциал модели. На графиках зеленым цветом обозначены признаки, вошедшие в модель и являющиеся значимыми; красным цветом – признаки вне модели; желтым – признаки, почти достигшие значимого результата; синим цветом показана важность для значений теневых признаков. ПТГ – паратгормон, ЩЖ – щитовидная железа, СТГ – соматотропный гормон, НЭО – нейроэндокринное образование, ОЩЖ – околощитовидная железа.

Финальными переменными для классификации и прогнозирования наличия генетически верифицированного синдрома МЭН-1 среди пациентов с клиническими проявлениями МЭН-1 (фенокопиями) стали: 1. Количество измененных ОЩЖ; 2. Возраст на момент постановки клинического диагноза МЭН-1; 3. Наличие НЭО поджелудочной железы; 4. Отягощенная наследственность; 5. Секреция аденомой гипофиза СТГ; 6. Пол. Переменные, оказавшиеся менее релевантными, были удалены из анализа.

Для обучения моделей использовался тренировочный набор данных (n=125). Сравнение параметров эффективности диагностических моделей, полученных после применения алгоритмов машинного обучения к обучающей выборке, представлено в таблице 4.

**Таблица 4** – Сравнение эффективности моделей в прогнозировании наличия мутации у пациентов с фенотипом МЭН-1

Модель	Площадь под ROC-кривой (AUC)	Чувствительность, %	Специфичность, %
Logistic Regression	0,945 [0,924; 0,947]	92 [86,3; 92,0]	83,3 [75; 87,5]
kNN	0,958 [0,925; 0,976]	84 [80,5; 88,0]	97,9 [96,9; 100,0]
Naive Bayes	0,951 [0,930; 0,964]	88 [82,5; 92,0]	89,6 [84,4; 93,8]
CART	0,815 [0,801; 0,831]	76 [72,6; 82,0]	85,4 [78,1; 90,6]
C5.0	0,950 [0,926; 0,968]	92 [88,3; 92,0]	77,1 [65,6; 87,5]
Bagged CART	0,921 [0,901; 0,936]	92 [86,3; 92,0]	70,8 [59,4; 78,1]
Random Forest	0,970 [0,933; 0,974]	92 [86,3; 94,0]	83,3 [75; 90,6]
Generalized Boosted Modeling	0,938 [0,915; 0,958]	92 [86,3; 92,0]	79,2 [68,8; 90,6]

При оценке вышеуказанных параметров наилучшие значения AUC показали модели Random Forest и kNN, однако в рамках приведенных дисперсий значений AUC можно говорить об эквивалентности моделей, за исключением модели CART, которая показала наихудшие значения. Значения чувствительности также не различаются в рамках доверительных интервалов, за исключением модели CART. Наилучшее значение специфичности показала модель kNN среди всех проверенных моделей. Таким образом оптимальный алгоритм для определения вероятности наличия генетически верифицированного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа среди пациентов с его фенокопиями можно реализовать на модели kNN.

Результаты проверки точности классификации, сделанной методом kNN, на тестовой выборке (n=30) представлены в таблицах 5, 6.

**Таблица 5** – Таблица сопряженности для анализа диагностической эффективности метода k-ближайших соседей на тестовой выборке

Метод k-ближайших соседей	Диагноз подтверждён при молекулярно-генетическом исследовании		Сумма
	Наличие мутации	Отсутствие мутации	
Выявлено	17	–	17
Не выявлено	1	12	13
Сумма	18	12	30

**Таблица 6.** Метрики качества диагностической модели при помощи метода k-ближайших соседей (k-nearest neighbors, kNN), полученные после применения к тестовой выборке

Модель	Диагностическая точность	Чувствительность	Специфичность	Точность	F1-мера	ROC-AUC
kNN	96,7%	94,4%	100,0%	100,0%	0,971	1,0

Диагностическая точность разработанной модели для определения вероятности наличия генетически верифицированного синдрома МЭН-1 среди пациентов с клиническими проявлениями МЭН-1 составила 96,7%: выявление пациентов с фенотипом МЭН-1 и мутацией с вероятностью верного заключения (прогностическая ценность положительного результата) составляет 100%; исключение пациентов с фенотипом МЭН-1 с мутациями с вероятностью верного заключения (прогностическая ценность отрицательного результата) – 92,3%. Данный способ позволяет с чувствительностью 94,4% и специфичностью 100% определить вероятность наличия генетически верифицированного синдрома МЭН-1 среди пациентов с клиническими проявлениями МЭН-1.

Заявляемый способ может представлять собой инструмент для поддержки принятия врачебных решений. На выходе врач получает вероятность наличия генетически верифицированного синдрома МЭН-1 среди пациентов с клиническими проявлениями МЭН-1 (фенокопиями), выраженную в процентах. Диагностическая модель реализована в виде калькулятора (рис. 3) и доступна по ссылке: <https://r-datascience.shinyapps.io/mencalc/>.

Пол (муж/жен)  
Женщина

Возраст на момент постановки клинического диагноза МЭН-1  
50

Отягощенная наследственность (родственники с клиническими проявлениями синдрома МЭН-1) (да/нет)  
Нет

Количество пораженных околощитовидных желез  
1

Наличие нейроэндокринного новообразования поджелудочной железы (да/нет)  
Нет

Секреция аденомой гипофиза соматотропного гормона (да/нет)  
Да

Вероятность синдрома, %  
8.33

**Рисунок 3** – Пример использования калькулятора для определения вероятности наличия генетически верифицированного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа среди пациентов с его фенокопиями. \* – вероятность генетически подтвержденного синдрома.

**Иммуногистохимическое исследование тканей аденом гипофиза у пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 (гМЭН-1), фенокопиями синдрома (фМЭН-1) и спорадической акромегалией (СА)**

В иммуногистохимическое исследование было включено 47 образцов опухолей гипофиза. В группу гМЭН-1 вошли 11 образцов, в группу фМЭН-1 – 13; в группу СА – 23 образца. Пациенты трех групп были сопоставимы по полу, размерам АГ. Группа гМЭН-1 отличалась от фМЭН-1 и СА по возрасту: пациенты в этой группе были моложе на момент проведения трансназальной аденомэктомии (табл. 7).



**Таблица 7 – Клинические характеристики исследуемых групп**

Показатель	гМЭН-1 n=11	фМЭН-1 n=13	СА n=23	P-value
Пол, жен., n (%)	8 (72,7)	10 (76,9)	18 (78,3)	0,909
Возраст на момент проведения операции, лет, Ме [Q1; Q3]	33 [16; 47]	59 [56; 64]	57 [52; 62]	<b>&lt;0,001</b> <b>p<sub>1-2</sub> &lt;0,001, p<sub>1-3</sub> &lt;0,001, p<sub>2-3</sub> = 0,415</b>
Размер аденомы, микро, n (%)	6 (54,5)	3 (23,1)	7 (30,4)	0,291

Примечание: Сравнение качественных параметров проводилось при помощи критерия Фримана-Холтона. Сравнение количественных параметров – при помощи критерия Краскела-Уоллиса/Манна-Уитни. Поправка на множественность сравнений проводилась методом Бонферрони, уровнем статистической значимости считался  $p < 0,017$  ( $0,05/3$ ; полужирным выделены статистически значимые результаты). гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа, фМЭН-1 – фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа; СА – спорадическая акромегалия.

АГ в группе гМЭН-1 представлены 5 плотногранулированными кортикотропинами (ПГК), 2 – ПГ соматотропинами, 1 – ПГ пролактиномой, 1 – молчащей гонадотропиномой, 1 – полигормональной Pit1 позитивной опухолью (секреция ТТГ+ПРЛ), 1 – двойной кортико и пролактиномой. ПГПТ диагностирован у 9/11 пациентов.

В группе фМЭН-1: 4 АГ являлись редкогранулированными соматотропинами (РГС), 7 – плотногранулированными соматотропинами (ПГС), и 2 АГ были смешанные сомато- и лакотрофные (ССЛ). У всех пациентов группы фМЭН-1 был установлен диагноз ПГПТ. У 3 пациентов, кроме поражения гипофиза и околощитовидных желез, были выявлены другие образования: у пациентки 59 лет, кроме соматотропиномы и ПГПТ были выявлены также гормонально-неактивное образование надпочечника и поджелудочной железы, нейрофиброма правого забрюшинного пространства, гемангиомы лобной кости и 11 грудного позвонка; у пациентки 68 лет, кроме соматотропиномы и ПГПТ были выявлены гормонально-неактивные аденомы обоих надпочечников и аденокарцинома правой почки; у пациентки 72 лет, кроме соматотропиномы и ПГПТ были выявлены кистозное образование головки ПЖ, кисты обеих почек, печени и гиперплазия обоих надпочечников. В группе СА по данным гистологической характеристики АГ были разделены на 6 РГС и 17 ПГС.

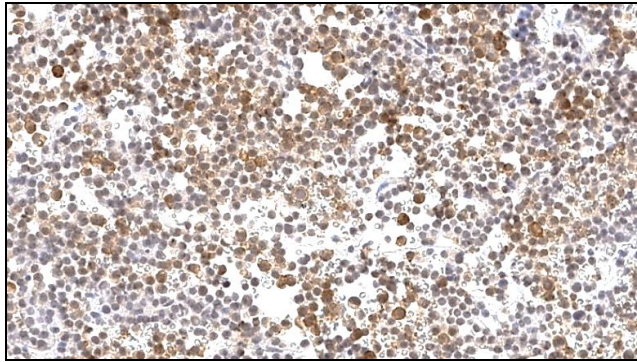
Результаты окрашивания на менин и сравнение результатов оценки экспрессии менина между тремя группами представлены в таблице 8.

**Таблица 8 – Результаты окрашивания на менин в группах генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 (гМЭН-1), фенокопий синдрома МЭН-1 (фМЭН-1) и спорадической акромегалии (СА)**

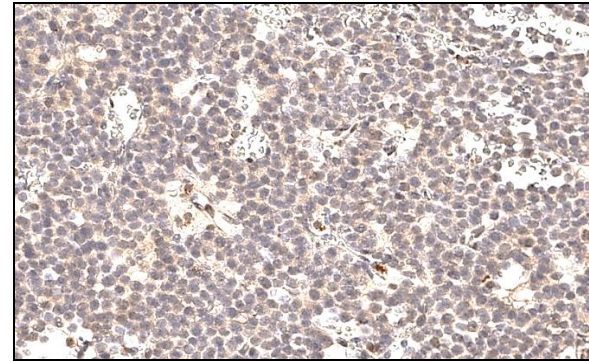
Группы Окраска	гМЭН-1 n=11	фМЭН-1 n=13	СА n=23	P-value
Ядерная	0	1 (с)	7 (с-4; ср-3)	<b>0,005</b> <b>p<sub>1-2</sub>=0,011</b> <b>p<sub>1-3</sub>=0,011</b> <b>p<sub>2-3</sub>=0,141</b>
Цитоплазматическая	6 (с-5; ср-1)	12 (с-1; ср-8; сл-3)	14 (с-5; ср-9)	
Отсутствие	5	0	2	

Примечания: с – слабая; ср – средняя; сл – сильная. Сравнение качественных параметров проводилось при помощи критерия Фримана-Холтона. Поправка на множественность сравнений проводилась методом Бонферрони, уровнем статистической значимости считался  $p < 0,017$  ( $0,05/3$ ; полужирным выделены статистически значимые результаты).

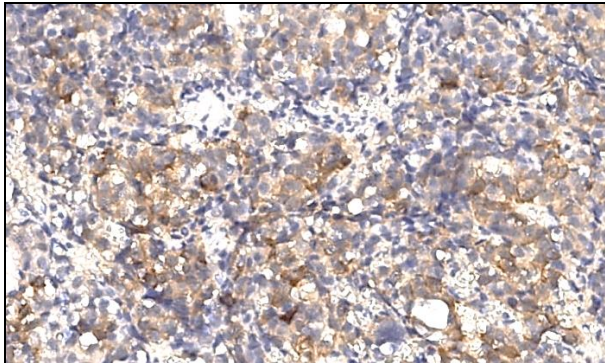
По результатам окрашивания на менин образцов АГ нами было выявлено, что группа фМЭН-1 (рис. 4) отличалась от группы гМЭН-1 (рис. 5, 6), но не отличалась по экспрессии менина от группы спорадической акромегалии (рис. 7).



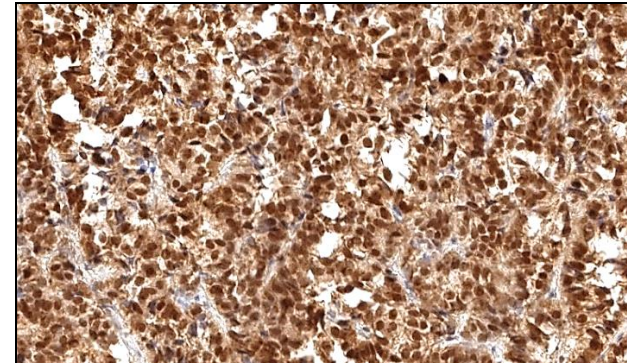
**Рисунок 4** – Цитоплазматическая экспрессия менина в образце ткани аденом гипофиза у пациента с фенокопией синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа, x200.



**Рисунок 5** – Отсутствие экспрессии менина и в ядре, и в цитоплазме в образце ткани аденом гипофиза у пациента с генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа, x200.



**Рисунок 6** – Слабая цитоплазматическая экспрессия менина в образце ткани аденом гипофиза у пациента с генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа, x200.



**Рисунок 7** – Ядерная и цитоплазматическая экспрессия менина в образце ткани аденом гипофиза у пациента со спорадической акромегалией, x200.

### Клиническая характеристика пациентов и относительно здоровых добровольцев, включенных в исследование экспрессии микроРНК методом NGS

Для исследования экспрессии микроРНК плазмы крови методом NGS включено 56 пациентов и 12 относительно здоровых добровольцев. Общая характеристика пациентов представлена в таблице 9.

**Таблица 9** – Характеристики пациентов и относительно здоровых добровольцев, включенных в анализ экспрессии микроРНК плазмы крови методом NGS

Параметр	фМЭН-1 n=11	СА n=12	сПГПТ n=11	гМЭН-1 n=22	З n=12	P-value
Пол, жен, n (%)	10 (90,9)	11 (91,7)	10 (90,9)	18 (81,8)	11 (91,7)	0,924
Возраст, лет Ме [Q1; Q3]	59 [51; 60]	59 [52; 63]	60 [53; 62]	38 [34; 41]	59,5 [51,5; 62,5]	<0,001 P <sub>1-2</sub> =0,486, P <sub>1-3</sub> =0,242, P <sub>1-4</sub> <0,001, P <sub>1-5</sub> =0,413, P <sub>2-5</sub> =0,887, P <sub>3-5</sub> =0,832, P <sub>4-5</sub> =<0,001
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Ме [Q1; Q3]	28,9 [26,7; 35,7]	31,5 [24,9; 35,6]	26,3 [24,9; 31,8]	25 [22,1; 30,4]	26,8 [23,5; 31,5]	0,171

Примечание: Сравнение качественных параметров проводилось при помощи двустороннего точного критерия Фишера. Сравнение количественных параметров – при помощи критерия Краскела-Уоллиса (попарно при помощи критерия Манна-Уитни). Поправка на множественность сравнений проводилась методом Бонферрони, уровнем статистической значимости считался  $P < 0,007$  (0,05/7; группы гМЭН-1, СА и сПГПТ не сравнивались). фМЭН-1 – фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа, СА – спорадическая акромегалия, сПГПТ – спорадический первичный гиперпаратиреоз, гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа, З – относительно здоровые добровольцы.

С учетом различий по возрасту между группами в дальнейшем применялась поправка для нивелирования этого фактора. В группе фМЭН-1 у всех пациентов имелись акромегалия и ПГПТ в активной стадии. У 3/11 пациентов, кроме поражения гипофиза и ОЩЖ, были выявлены другие эндокринные и неэндокринные образования. Во всех случаях акромегалия была диагностирована раньше, чем ПГПТ; медиана до диагностики второй опухоли составила 1 год [0; 2]. Пациенты с ПГПТ не отличались между группами по показателям минерального обмена, также, как и пациенты с акромегалией не отличались по уровню ИФР-1 между группами. В группе гМЭН-1 у всех пациентов имелись АГ и ПГПТ. По секреции АГ были разделены следующим образом: 11 – пролактином (ПРЛ), 4 – гормонально-неактивные АГ (НАГ), 3 – болезнь Иценко–Кушинга (БИК), 2 – соматотропиномы+пролактиномы (СТГ+ПРЛ), 1 – СТГ, 1 – смешанная секреция адренокортикотропного гормона (АКТГ)+ПРЛ. Только АГ и ПГПТ на момент включения в исследование были выявлены у 4/22 пациентов; АГ, ПГПТ, образования поджелудочной железы – у 6/22 пациентов; у остальных пациентов компоненты синдрома представлены большим количеством эндокринных и неэндокринных поражений.

### Анализ экспрессии микроРНК плазмы у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1, спорадическими акромегалией, первичным гиперпаратиреозом, генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и относительно здоровым контролем методом NGS

По результатам биоинформатического и статистического анализов получены результаты по экспрессии 122 микроРНК при сравнении групп фМЭН-1 и СА, из которых 10 микроРНК различались между группами ( $p < 0,05$ ), после поправки на множественность сравнений различий не выявлено. При сравнении групп фМЭН-1 и сПГПТ выявлена экспрессия 172 из которых 16 микроРНК различались между группами ( $p < 0,05$ ), но после применения поправки на множественность сравнений выявлены различия только в 1 микроРНК (miR-6124).

При сравнении групп гМЭН-1 и фМЭН-1 были обнаружены 24/234 различно экспрессирующихся микроРНК: экспрессия 4 микроРНК была ниже в группе гМЭН-1 по сравнению с фМЭН-1, а экспрессия 20 микроРНК – выше, с уровнем значимости  $p < 0,05$  после поправки на множественность сравнений. МикроРНК были разделены на группы с более и менее чем 10 прочтений в одной из групп (табл. 10, 11). Тепловая карта экспрессии 24 микроРНК в группах пациентов фМЭН-1 по сравнению с гМЭН-1 представлена на рисунке 8, где видно достаточно четкое распределение по группам большинства пациентов.

**Таблица 10** – МикроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 ( $n=22$ ) по сравнению с его фенокопиями ( $n=11$ ) (более 10 прочтений)

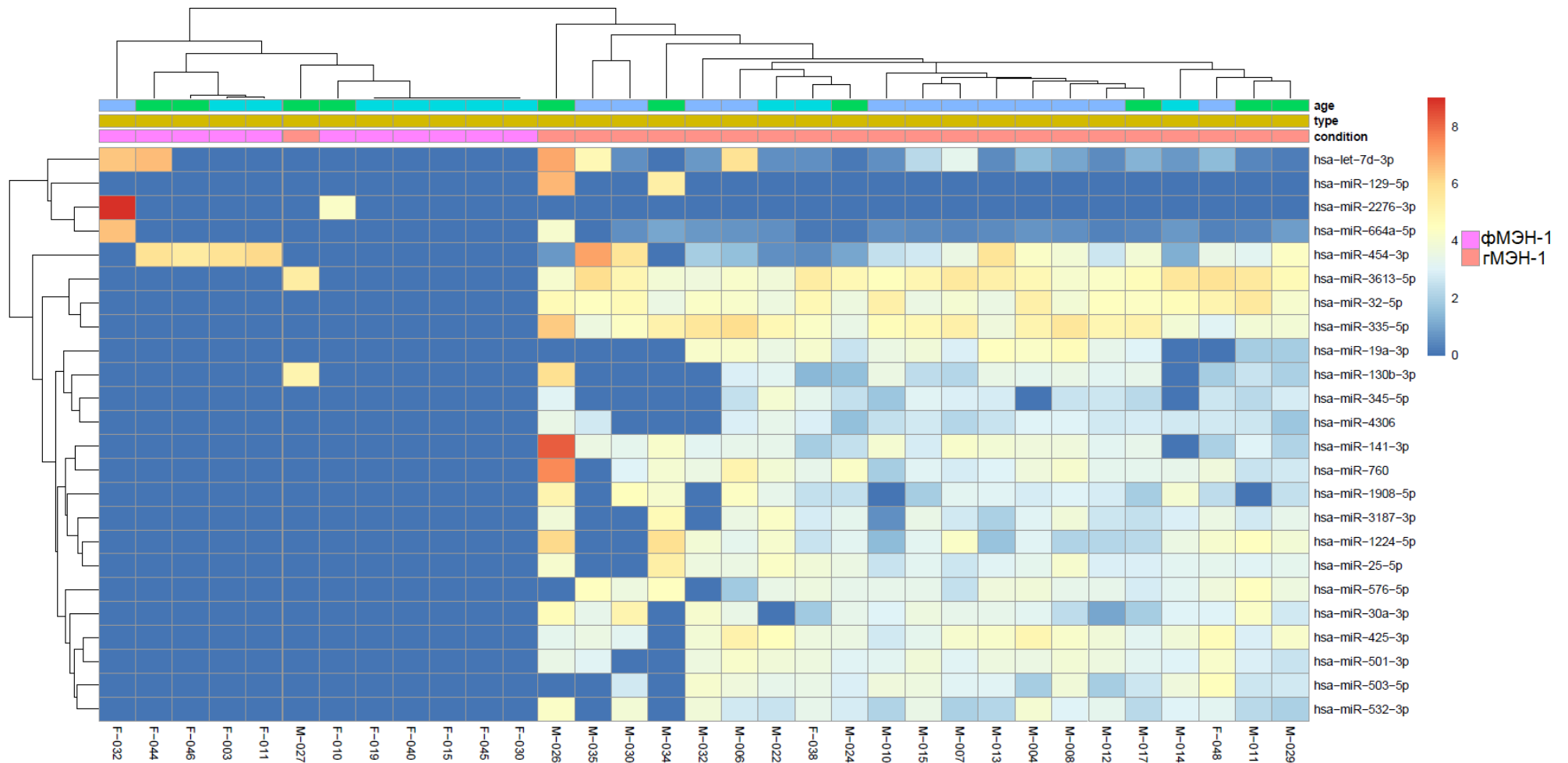
МикроРНК	Изменение экспрессии (Log2FC)	P-value	P <sub>adj</sub>
hsa-miR-3613-5p	6,009964	<0,001	<0,001
hsa-miR-335-5p	5,643685	<0,001	<0,001
hsa-miR-32-5p	5,405104	<0,001	<0,001
hsa-miR-760	5,277836	<0,001	<0,001
hsa-miR-2276-3p	-28,44718	<0,001	<0,001
hsa-miR-454-3p	-2,926644	<0,001	0,046

Примечание: значения «изменения экспрессии» со знаком «-» означают пониженную экспрессию; анализ изменения экспрессии проводился с использованием DESeq2, который оценивает изменение кратности Log2FC, используя в качестве входных данных необработанные, ненормализованные количества прочтений;  $p_{adj}$  – поправка на множественность сравнений методом Benjamini–Hochberg.

**Таблица 11** – МикроРНК, различно экспрессирующиеся в плазме крови пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 ( $n=22$ ) по сравнению с его фенокопиями ( $n=11$ ) (менее 10 прочтений в одной из групп)

МикроРНК	Изменение экспрессии (Log2FC)	P-value	P <sub>adj</sub>
hsa-miR-425-3p	4,729436	<0,001	<0,001
hsa-miR-25-5p	4,748414	<0,001	<0,001
hsa-miR-501-3p	4,215495	<0,001	<0,001
hsa-miR-576-5p	4,472254	<0,001	<0,001
hsa-miR-1224-5p	4,988417	<0,001	<0,001
hsa-miR-141-3p	3,582906	<0,001	<0,001
hsa-miR-129-5p	15,62514	<0,001	0,001
hsa-miR-532-3p	3,864718	<0,001	0,001
hsa-miR-3187-3p	4,403906	<0,001	0,001
hsa-miR-503-5p	3,991885	<0,001	0,001
hsa-miR-30a-3p	3,735631	<0,001	0,002
hsa-miR-4306	3,610371	<0,001	0,002
hsa-miR-1908-5p	4,373386	<0,001	0,004
hsa-miR-664a-5p	-3,937607	<0,001	0,004
hsa-miR-130b-3p	4,091780173	0,001	0,010
hsa-let-7d-3p	-3,543134153	0,003	0,030
hsa-miR-19a-3p	3,813056169	0,005	0,045
hsa-miR-345-5p	3,677793403	0,006	0,046

Примечание: значения «изменения экспрессии» со знаком «-» означают пониженную экспрессию; анализ изменения экспрессии проводился с использованием DESeq2, который оценивает изменение кратности Log2FC, используя в качестве входных данных необработанные, ненормализованные количества прочтений;  $p_{adj}$  – поправка на множественность сравнений методом Benjamini–Hochberg.

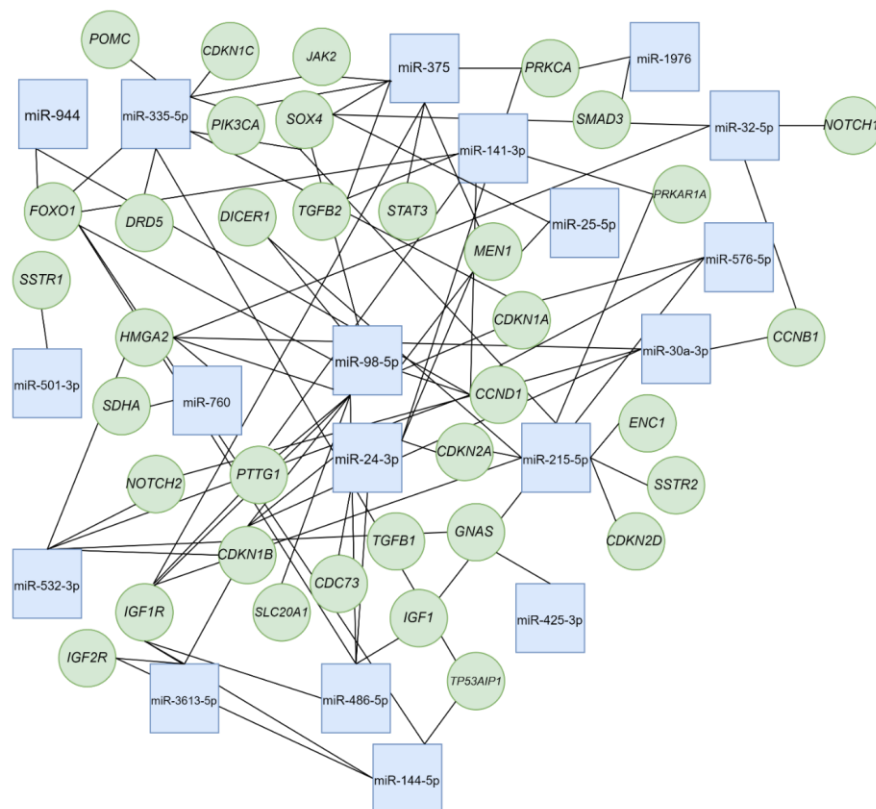


**Рисунок 8** – Кластерный анализ экспрессии циркулирующих микроРНК у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 (фМЭН-1, n=11) и генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 (гМЭН-1, n=22). Кластерный анализ представлен в виде тепловой карты. На тепловой карте представлены 24 различно экспрессирующихся микроРНК между группами. Синий цвет соответствует низкому уровню экспрессии, красный – высокому.



При сравнении образцов групп фМЭН-1 и здоровых добровольцев выявлено 10/136 различно экспрессирующихся микроРНК после поправки на множественность сравнений: экспрессия 5 микроРНК была выше в группе фМЭН-1 по сравнению с контрольной группой (miR-122-5p, let-7c-5p, let-7d-5p, miR-98-5p, miR-142-5p), 5 микроРНК – ниже (miR-191-5p, miR-151a-3p, miR-103a-3p, miR-944, miR-486-5p). В группах гМЭН-1 и здоровых добровольцев обнаружено 26/229 различно экспрессирующихся микроРНК после поправки на множественность сравнений: экспрессия 24 микроРНК (miR-144-5p, miR-576-5p, miR-25-5p, miR-1976, miR-30a-3p, miR-532-3p, miR-3187-3p, miR-574-3p, miR-4306, miR-130b-3p, miR-4433a-3p, miR-215-5p, miR-598-3p, miR-1301-3p, miR-625-5p, miR-345-5p, miR-99b-5p, miR-99a-5p, miR-205-5p, miR-500a-3p, miR-326, miR-190b, miR-485-5p, miR-210-3p) при гМЭН-1 по сравнению с контролем, а двух микроРНК – ниже (miR-375; miR-10a-5p).

Проведенный с помощью miRNet 2.0 анализ показал, что обнаруженные микроРНК, влияя на их гены-мишени, регулируют транскрипционные факторы, молекулы сигнальных путей, клеточные циклы, дифференцировку клеток, канцерогенез и гены-онкосупрессоры (рис. 9). Также стоит отметить, что такие гены как *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDC73*, *CDKN2A*, с которыми могут потенциально взаимодействовать указанные микроРНК, ассоциированы с МЭН-1 подобными проявлениями.



### Клиническая характеристика пациентов и относительно здоровых добровольцев, включенных в исследование экспрессии микроРНК методом RT-qPCR

В валидизирующую часть исследования было включено 80 образцов, однако после проведения контроля качества и отбраковки невалидных образцов 5 образцов в итоге были исключены из анализа. Таким образом, для исследования экспрессии микроРНК плазмы крови методом RT-qPCR включено 62 пациента и 13 относительно здоровых добровольцев. Общая характеристика пациентов представлена в таблице 12.

**Таблица 12** – Характеристики пациентов и лиц контрольной группы, включенных в анализ экспрессии микроРНК плазмы крови методом RT-qPCR

Показатель	фМЭН-1 n=16	СА n=15	сППТ n=14	гМЭН-1 n=17	З n=13	P-value
Пол, жен, п (%)	15 (93,8)	12 (80,0)	13 (92,9)	15 (88,2)	11 (84,6)	0,777
Возраст, лет Me [Q1; Q3]	59 [53; 67]	55 [53; 59]	60 [57; 66]	41 [38; 52]	58 [50; 61]	<b>&lt;0,001</b> p <sub>1-2</sub> = 0,281, p <sub>1-3</sub> = 0,411, <b>p<sub>1-4</sub> = 0,001</b> , p <sub>1-5</sub> = 0,475, p <sub>2-5</sub> = 0,751, p <sub>3-5</sub> = 0,141, p <sub>4-5</sub> = 0,035
ИМТ, кг/м <sup>2</sup> , Me [Q1; Q3]	28,95 [26,8; 30,6]	27,8 [24,3; 32,0]	32,1 [24,7; 34,2]	26,1 [22,1; 30,0]	24,9 [22,9; 32,8]	0,087

Примечание: Сравнение качественных параметров проведено двусторонним точным критерием Фишера. Сравнение количественных параметров – при помощи критерия Краскела-Уоллиса (попарно при помощи критерия Манна-Уитни). Поправка на множественность сравнений проводилась методом Бонферрони, уровнем значимости считался  $p < 0,007$  (0,05/7; группы СА, сППТ, гМЭН-1 между собой не сравнивались; полужирным выделены статистически значимые результаты). фМЭН-1 – фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа, СА – спорадическая акромегалия, сППТ – спорадический первичный гиперпаратиреоз, гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа, З – здоровые лица.

В группу фМЭН-1 вошли 14 пациентов с сочетанием акромегалии и ППТ в активной стадии заболеваний и 2 пациента с сочетанием БИК и ППТ, также в активной стадии. У 6/16 пациентов, кроме поражения гипофиза и ОЦЖ, были выявлены другие эндокринные и неэндокринные образования. Во всех случаях аденома гипофиза была диагностирована раньше, чем ППТ; медиана до диагностики второй эндокринной опухоли составила 2 года [1; 7,5].

Пациенты с ППТ не отличались между группами по данным минерального обмена, также, как и пациенты с акромегалией не отличались по уровню ИФР-1 между группами.

В группе гМЭН-1 у всех пациентов имелись АГ и ППТ. По секреции АГ были разделены следующим образом: 9 – ПРЛ, 3 – НАГ, 3 – СТГ+ПРЛ, 1 – СТГ, 1 – АКТГ. Только АГ и ППТ на момент включения в исследование были выявлены у 2/17 пациента; АГ, ППТ, образования поджелудочной железы – у 4/17 пациентов; у остальных пациентов компоненты синдрома МЭН-1 представлены большим количеством эндокринных и неэндокринных поражений.

### Анализ экспрессии микроРНК плазмы у пациентов с фенокопиями МЭН-1, спорадическими акромегалией, первичным гиперпаратиреозом, генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 и здоровыми лицами методом RT-qPCR

Амплификации таких микроРНК как hsa-miR-335-5p, hsa-miR-532-3p, hsa-miR-375-5p, hsa-miR-1976, hsa-miR-425-3p, hsa-miR-501-3p, hsa-miR-944, hsa-miR-25-5p, hsa-miR-1-3p, hsa-miR-215-5p, hsa-miR-3613-5p не было обнаружено в изученных образцах. Ниже представлены показатели экспрессии микроРНК плазмы у пациентов и относительно здоровых добровольцев в таблице 13. После поправки на множественность сравнений получены статистически значимые различия по hsa-miR-576-5p между группами.

**Таблица 13** – Экспрессия микроРНК плазмы крови у пациентов и у лиц из группы относительно здоровых добровольцев, измеренная методом RTqPCR

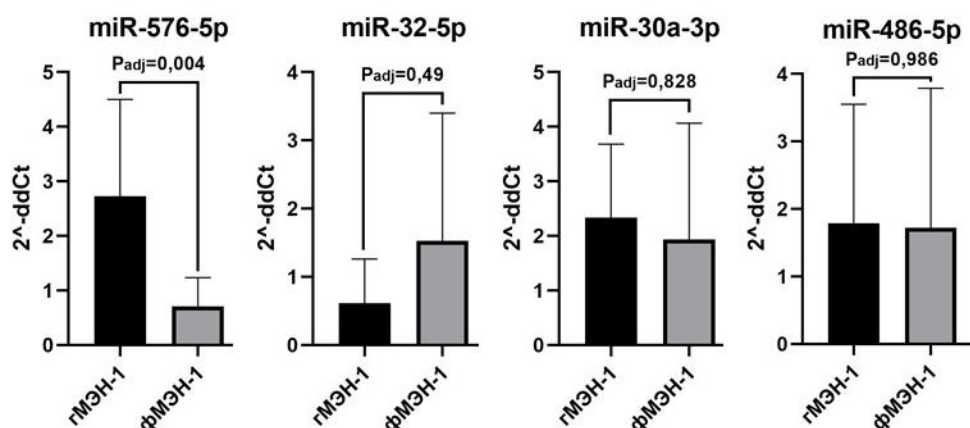
Показатель	N	Здоровые	N	гМЭН-1	N	фМЭН-1	N	сППТ	N	СА	P-value	*P <sub>adj</sub>
hsa-miR-98-5p	6	2,682 (4,827)	14	1,898 (1,274)	11	1,756 (1,609)	10	1,071 (1,187)	11	0,7368 (0,499)	0,085	0,170
hsa-miR-576-5p	9	1,162 (0,528)	10	2,725 (1,776)	12	0,709 (0,529)	14	1,140 (1,157)	14	1,007 (1,844)	<b>0,003</b>	<b>0,030</b>
hsa-miR-32-5p	13	2,792 (3,563)	17	0,6127 (0,649)	16	1,524 (1,876)	14	0,2701 (0,192)	15	0,4445 (0,501)	<b>0,040</b>	0,100
hsa-miR-30a-3p	9	1,118 (0,437)	14	2,335 (1,347)	15	2,682 (2,620)	14	1,079 (0,445)	15	1,296 (0,521)	<b>0,037</b>	0,100
hsa-miR-144-5p	13	2,904 (6,476)	17	1,027 (0,944)	16	2,582 (7,012)	14	0,6971 (0,363)	15	0,5533 (0,341)	0,254	0,317
hsa-miR-486-5p	9	1,182 (2,314)	17	1,790 (1,760)	16	1,721 (2,068)	14	0,4201 (0,340)	14	0,4791 (0,328)	<b>0,021</b>	0,100
hsa-let-7d-5p	13	2,303 (4,830)	17	1,062 (0,749)	16	1,796 (1,365)	14	1,144 (0,980)	15	4,040 (10,73)	0,289	0,321
hsa-miR-24-3p	13	1,307 (1,384)	17	1,197 (0,656)	16	1,041 (0,402)	14	0,9934 (0,519)	15	0,7561 (0,299)	0,189	0,270
hsa-miR-760	10	8,806 (17,42)	14	4,425 (8,971)	14	1,045 (0,862)	12	1,976 (4,880)	12	8,750 (23,10)	0,724	0,724
hsa-miR-141-3p	9	1,559 (1,376)	13	3,842 (3,049)	11	4,619 (3,526)	11	2,043 (0,562)	11	3,716 (3,624)	0,153	0,255

Примечания: Данные по уровням микроРНК для каждой группы представлены в виде относительной экспрессии ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ). Данные по экспрессии представлены в виде средней и стандартного отклонения. Сравнительный анализ выполнен с использованием критерия Краскела-Уоллиса. \*Поправка на множественность сравнений методом Бенджамини-Хохберга (полужирным выделены статистически значимые результаты). фМЭН-1 – фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа, СА – спорадическая акромегалия, сППТ – спорадический первичный гиперпаратиреоз, гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа



В дальнейшем сравнение проводилось по тем микроРНК, по которым были выявлены статистически значимые результаты.

При сравнении групп гМЭН-1 и фМЭН-1 (рис. 10) получены статистически значимые различия в экспрессии hsa-miR-576-5p у пациентов с гМЭН-1 (2,725, 95% ДИ: 1,048; 4,116) от пациентов с фМЭН-1 (0,709, 95% ДИ: 0,374; 0,898) ( $P_{adj} = 0,004$ ). Следует подчеркнуть, что изменения экспрессии между группами гМЭН-1 и фМЭН-1 были конкордантны с результатами метода NGS.



**Рисунок 10** – Экспрессия микроРНК в плазме крови у пациентов с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 ( $n_{\text{miR-576-5p}}=10$ ;  $n_{\text{miR-32-5p}}=17$ ;  $n_{\text{miR-30a-3p}}=14$ ;  $n_{\text{miR-486-5p}}=17$ ) в сравнении с фенокопиями синдрома МЭН-1 ( $n_{\text{miR-576-5p}}=12$ ;  $n_{\text{miR-32-5p}}=16$ ;  $n_{\text{miR-30a-3p}}=15$ ;  $n_{\text{miR-486-5p}}=16$ ). Данные по уровням микроРНК для каждой группы представлены в виде относительной экспрессии ( $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ). Данные представлены в виде средней, стандартного отклонения и 95% доверительного интервала. Сравнительный анализ выполнен с использованием критерия Манна-Уитни. гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа, фМЭН-1 – фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа.

При сравнении фМЭН-1 с группами пациентов с СА и сПППТ после поправки на множественность сравнений не было выявлено различий по вышеуказанным микроРНК. При сравнении группы фМЭН-1 с относительно здоровыми добровольцами, не было выявлено различий в экспрессии вышеуказанных микроРНК. При сравнении пациентов с гМЭН-1 со здоровыми добровольцами изменения экспрессии hsa-miR-576-5p и hsa-miR-30a-3p были, в целом, аналогичны результатам метода NGS, хотя и не достигли статистической значимости после поправки на множественность сравнений.

Для поиска мРНК-мишеней miR-576-5p использованы биоинформатические инструменты на основе их комплементарности с микроРНК. Использованы 3 базы данных TargetScan, miRNet, miRDB для поиска генов-мишеней выявленной микроРНК (таблица 14). При комбинации вышеуказанных методов возможно увеличить число истинных предсказаний мишеней микроРНК и ограничить количество ложноположительных результатов.

**Таблица 14.** Некоторые мишени микроРНК miR-576-5p, представленные в базах данных TargetScan, miRNet, miRDB

Базы данных	TargetScan	miRNet	miRDB
Гены мишени	n=5567	n=1214	n=1182
CDKN1B	–	+	–
CDKN1A	+, (-0,07)*	+	–

<i>CDKN2C</i>	+; (-0,01)*	—	—
<i>CDKN2B</i>	+; (-0,12)*	—	+; (78)#
<i>MAX</i>	+; (-0,01)*	+	—
<i>CDC73</i>	+; (-0,07)*	+	+; (54)#
<i>CDKN2A</i>	+; (-0,12)*	—	—
<i>CCND1</i>	—	+	—
<i>PIK3CA</i>	+; (-0,05)*	+	—
<i>RBI</i>	+; (-0,35)*	—	+; (98)#

Примечание: \* – индекс cumulative weighted context++ score, отражающий вклад 14 показателей вероятности связывания, чем ближе значение к -3, тем больше вероятность воздействия микроРНК на мРНК гена-мишени. # – target score, результат прогнозирования гена-мишени (оценка предсказания мишени варьирует от 50 до 100. Чем выше оценка, тем больше уверенность в предсказании гена-мишени).

Большинство предсказанных генов-мишеней микроРНК miR-576-5p связаны со злокачественными опухолями, а также с образованиями, которые могут поражаться при синдроме МЭН-1 (например, *CDKN2A*, *CCND1*, *PIK3CA*, *RBI*). Указанные гены, в основном, влияют на фазы клеточного цикла (блокируют переход из G1 в S-фазу) и на сигнальные пути, участвующие в онкогенезе (например, PI3K/АКТ/mTOR). Также некоторые из них описаны как возможная альтернативная причина развития МЭН-1 подобных клинических проявлений (*CDKN1B*, *CDKN1A*, *CDKN2C*, *CDKN2B* *MAX*, *CDC73*).

## ВЫВОДЫ

1. Характерными отличительными особенностями пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 по сравнению с пациентами с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 являются присутствие только двух компонентов синдрома (88,3%, 95% ДИ 77,4–95,2%), а именно, сочетание первичного гиперпаратиреоза с поражением только 1 околощитовидной железы и СТГ-секретирующей аденомы гипофиза. Третье проявление синдрома у пациентов с фенокопиями МЭН-1 развивается редко (6,7%, 95% ДИ 1,8–16,2%).
2. Разработана диагностическая модель при помощи модели k-ближайших соседей (kNN), включающая такие признаки, как количество измененных ОЩЖ, возраст на момент постановки клинического диагноза, наличие НЭО поджелудочной железы,отягощенная наследственность, секреция аденомой гипофиза СТГ и пол, которая позволяет с чувствительностью 94,4% и специфичностью 100% определять вероятность генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 среди пациентов с клиническими проявлениями синдрома МЭН-1.
3. Экспрессия менина в образцах тканей аденом гипофиза пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 не отличается от спорадических форм, но отличается от группы генетически подтвержденного синдрома МЭН-1.
4. Группа фенокопий синдрома МЭН-1 отличается сниженной экспрессией микроРНК в плазме крови (miR-944, miR-760, miR-25-5p, miR-3613-5p, miR-141-3p, miR-576-5p, miR-32-5p, miR-335-5p, miR-30a-3p, miR-425-3p, miR-501-3p) от группы генетически подтвержденного синдрома МЭН-1 по результатам высокопроизводительного секвенирования, в меньшей степени отличается от группы спорадического гиперпаратиреоза (miR-6124) и не отличается от группы спорадической акромегалии.
5. Валидизировано снижение концентрации miR-576-5p в периферической крови у пациентов с фенокопиями синдрома МЭН-1 по сравнению с генетически подтвержденным синдромом МЭН-1 при исследовании методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в режиме реального времени.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При оценке вероятности наличия фенокопий синдрома МЭН-1 необходимо обращать внимание на перечисленные клинические проявления: более старший возраст на момент постановки клинического диагноза МЭН-1, поражение только одной околощитовидной железы, секрецию аденомой гипофиза соматотропного гормона, отсутствие нейроэндокринного новообразования поджелудочной железы и какого-либо другого третьего проявления синдрома МЭН-1, отсутствие отягощенной наследственности.
2. Для прогнозирования вероятности наличия генетически обусловленного синдрома МЭН1 среди пациентов с его клиническими проявлениями в качестве первичного скрининга можно использовать диагностическую модель при помощи модели k-ближайших соседей (kNN) (<https://r-datascience.shinyapps.io/mencalc/>).

## Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Трухина Д.А.**, Мамедова Е.О., Лапшина А.М., Васильев Е.В., Тюльпаков А.Н., Белая Ж.Е. Морфологические характеристики аденом гипофиза в рамках фенокопий синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа // Проблемы эндокринологии. – 2021. – Т. 67. – № 6. – С. 50-58. doi: 10.14341/probl12815
2. **Трухина Д.А.**, Мамедова Е.О., Никитин А.Г., Кошкин Ф.А., Белая Ж.Е., Мельниченко Г.А. Различия в экспрессии микроРНК в плазме крови у пациентов с генетически подтвержденным синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа и их фенокопиями // Проблемы эндокринологии. – 2023. – Т. 69. – № 6. – С. 70-85. doi: 10.14341/probl13357
3. **Трухина Д.А.**, Мамедова Е.О., Белая Ж.Е., Мельниченко Г.А. Фенокопии синдрома множественных эндокринных неоплазий 1-го типа – возможные причины // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2024. – Т. 8. – № 9. – С. 526–530. doi: 10.32364/2587-6821-2024-8-9-4
4. Мамедова Е.О., **Димитрова Д.А.**, Белая Ж.Е., Мельниченко Г.А. Роль некодирующих РНК в патогенезе синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа // Проблемы эндокринологии. – 2020. – Т. 66. – № 2. – С.4–12. doi: 10.14341/probl12413
5. **Dimitrova D.**, Mamedova E., Belaya Zh., Melnichenko G. Clinical presentations of patients with MEN 1 syndrome and its phenocopies // Endocrine Abstracts. – 2020. – Vol. 70 – P. 272–273. doi: 10.1530/endoabs.70.AEP630
6. **Dimitrova D.A.**, Mamedova E.O., Lapshina A.M., Azizyan V.N., Grigoriev A.Y., Vasilyev E.V., Tiulpakov A.N., Belaya Zh.E., Melnichenko G.A. Differences in Menin Expression in Pituitary Adenomas in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1, Its Phenocopies and Sporadic Acromegaly // Journal of the Endocrine Society. – 2021. – Vol. 5. – № Suppl. 1. – P. A535–A536. doi: 10.1210/jendso/bvab048.1091
7. **Trukhina D.**, Mamedova E., Nikitin A., Koshkin P., Belaya Zh., Melnichenko G. RF25 | PMON147 Plasma MicroRNA Expression in Phenocopy of Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 Compared to Patients with Acromegaly and Primary Hyperparathyroidism: Potential Biomarkers of Multiple Endocrine Tumor Growth // Journal of the Endocrine Society. – 2022. – Vol. 6. – № Suppl. 1. – P. A584–A585. doi: 10.1210/jendso/bvac150.1211
8. **Trukhina D.A.**, Mamedova E.O., Nikitin A.G., Koshkin P.A., Belaya Zh.E., Melnichenko G.A. THU081 Differences In Circulating Microrna Levels In Genetically Confirmed Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 And Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 Phenocopies As Assessed By Next

Generation Sequencing // Journal of the Endocrine Society. – 2023. – Vol. 7. – № Suppl. 1. – P. bvad114.1161. doi: 10.1210/jendso/bvad114.1161

9. **Trukhina D.**, Voronov K., Mamedova E., Solodovnikov A., Belaya Zh. 7845 Machine Learning Methods In Differential Diagnosis Of Genetically Confirmed Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 And Its Phenocopies // Journal of the Endocrine Society. – 2024. – Vol. 8. – № Suppl. 1. – P. bvae163.1057. doi: 10.1210/jendso/bvae163.1057

### Патент

Патент на изобретение RU 2838817 C1. Способ определения вероятности наличия генетически верифицированного синдрома множественных эндокринных неоплазий 1 типа среди пациентов с его фенокопиями / **Трухина Д.А.**, Белая Ж.Е., Воронов К.А. и др.; заявка № 2024107693 заявл. 25.03.2024; опубл. 22.04.2025 Бюл. № 12.

### Список основных сокращений

Ct – cycle threshold, пороговый цикл	кДНК – комплементарная ДНК
kNN – k-nearest neighbors, метод k-ближайших соседей	КТ – компьютерная томография
Me – медиана	ЛГ – лютеинизирующий гормон
MLPA – Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, мультиплексная амплификация лигированных зондов	микроРНК – малые некодирующие РНК
NGS – next-generation sequencing, высокопроизводительное секвенирование	мРНК – матричная РНК
Q25 – 25 перцентиль	МРТ – магнитно-резонансная томография
Q75 – 75 перцентиль	МЭН-1 – синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа
ROC AUC – Receiver Operating Characteristic curve Area Under Curve, площадь под кривой операционных характеристик	НАГ – неактивные аденомы гипофиза
RT-qPCR – reverse-transcription quantitative polymerase-chain reaction, количественная полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией	НЭО – нейроэндокринное образование
UMI – уникальные молекулярные идентификаторы	ОЦЖ – околощитовидная железа
АГ – аденома гипофиза	ПГС – плотногранулированная соматотропинома
АКТГ – адренокортикотропный гормон	ПЖ – поджелудочная железа
АТ – антитела	ПРЛ – пролактин
гМЭН-1 – генетически подтвержденный синдром множественных эндокринных неоплазий 1 типа	ПТГ – паратгормон
ГН – гормонально-неактивное	ПЦР – полимеразная цепная реакция
ДИ – доверительный интервал	РГС – редкогранулированная соматотропинома
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота	РИ – референсный интервал
З – относительно здоровые добровольцы	РНК – рибонуклеиновая кислота
ИГХ – иммуногистохимия	СА – спорадическая акромегалия
ИМТ – индекс массы тела	сППТ – спорадический первичный гиперпаратиреоз
ИФР-1 – инсулиноподобный фактор роста 1	ССЛ – смешанная сомато-лактотрофная аденома
	СТГ – соматотропный гормон
	ТТГ – тиреотропный гормон
	УЗИ – ультразвуковое исследование
	фМЭН-1 – фенокопии синдрома МЭН-1
	ФСГ – фолликулостимулирующий гормон