

ОТЗЫВ

официального оппонента, доктора медицинских наук, профессора, заведующий курсом эндокринологии кафедры терапии Института клинической медицины ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России Суплотовой Людмилы Александровны на диссертационную работу Пылиной Светланы Викторовны на тему «Мутация в гене *MEN1* в патогенезе костных нарушений при наследственной форме первичного гиперпаратиреоза», представленной на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.19. Эндокринология (медицинские науки)

Актуальность темы диссертации

Диссертационная работа Пылиной С.В. посвящена изучению костных нарушений при редкой форме первичного гиперпаратиреоза, ассоциированного с синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН1). Согласно традиционным представлениям более низкие показатели сывороточного кальция, фосфора и ПТГ считаются неотъемлемой особенностью МЭН1-ассоциированного гиперпаратиреоза (мПГПТ) по сравнению со спорадической формой заболевания (сПГПТ). Однако высокая частота костных осложнений не соответствует классическому описанию мягкой формы первичного гиперпаратиреоза при МЭН1. Противоречие может быть объяснено гетерогенностью причин костных нарушений, что затрудняет оценку изолированного влияния мПГПТ на костную ткань. Несмотря на значительный прогресс в улучшении диагностики и лечения данного заболевания, особенности костных нарушений при мПГПТ остаются малоисследованными. Данное диссертационное исследование направлено на восполнение этого пробела, что подчеркивает его научную и практическую значимость.

Научная новизна исследования, полученных результатов и практических рекомендаций

В мировой литературе не проводились исследования по установлению

изолированного влияния мПГПТ на костную ткань. В работе Пылиной С.В. применен сложный дизайн исследований, где стратификация пациентов в группы мПГПТ и сПГПТ проведена исключительно на основании генетического критерия установления диагноза. Также исключался ряд причин, оказывающих негативное влияние на костное remodelирование: другие гормонально-активные компоненты синдрома МЭН1, патология углеводного обмена и нарушение функции щитовидной железы. В дополнение к вышесказанному, для установления особенностей нарушения микроархитектоники костной ткани применен новый метод исследования – 3D-моделирование проксимального отдела бедренной кости, впервые апробированного при данной редкой патологии.

В рамках фундаментального блока исследования молекулярные механизмы остеогенеза при мутации в гене *MEN1* были изучены с использованием пациент-специфической модели на основе индуцированных плюрипотентных стволовых клеток (ИПСК). Реализация указанного подхода способствует значительному повышению репрезентативности экспериментальных данных, по сравнению с ранее использованными животными моделями, поскольку исключает межвидовые различия в физиологии костного remodelирования.

Практическая и теоретическая значимость полученных результатов

В практическом аспекте работа позволила внедрить инновационную методику 3D-моделирования микроархитектоники костной ткани (3D-Shaper Medical) для комплексной оценки степени вовлеченности кортикальной и трабекулярной костной ткани в патологический процесс при мПГПТ. Оптимизированный протокол получения МСК-подобных клеток из ИПСК может быть использован для дальнейшего изучения особенностей остеогенеза при синдроме МЭН1.

Теоретическая значимость исследования определяется установлением новых патогенетических механизмов костных нарушений при мПГПТ. Результаты транскриптомного анализа *in vitro* моделей МСК-подобных

клеток и остеобластов, полученных от пациента с мутацией *MEN1*:c.1230dupC свидетельствуют о снижении остеобластогенеза и минерализации костного матрикса при данном варианте мутации.

Научная обоснованность и достоверность основных положений, выводов и заключений, сформулированных в диссертации

Диссертационная работа Пылиной С.В. выполнена на высоком методологическом уровне. Научная обоснованность и достоверность полученных результатов подтверждается следующими ключевыми аспектами. Для первого этапа исследования используется репрезентативная выборка пациентов (n=6480) из Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга первичного гиперпаратиреоза, что обеспечивает высокую статистическую мощность анализа. Второй этап исследования, выполненный на базе специализированного отделения патологии околощитовидных желез и нарушений минерального обмена ФГБУ «НМИЦ Эндокринологии» Минздрава РФ, проводился с использованием строгих критериев включения и исключения. У всех пациентов, включенных в исследование, было проведено секвенирование гена *MEN1* на предмет наличия мутации. В исследование были включены пациенты молодого возраста, сопоставимые по полу и возрасту, что исключило возрастные и гендерные различия в метаболизме костной ткани. Для коррекции проблемы множественных сравнений в клинической части работы использовалась поправка Бенджамини-Хохберга (p_0 -value), что позволило исключить ложноположительные результаты. Для третьего этапа исследования применялся метод параллельной дифференцировки клеточных культур в трех повторностях, что, безусловно, повысило репрезентативность. Для оценки результатов транскриптомного анализа отбирались только валидные образцы на основании графика MDS (Multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования). Основные результаты исследования представлены в виде устных и постерных докладов не только на российских, но и международных конференциях и конгрессах.

Отдельно стоит отметить личный вклад диссертанта в получение результатов, особенно в фундаментального блока работы. 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.

Оценка содержания диссертации

Диссертация Пылиной С.В. выполнена в соответствии с требованиями ВАК Российской Федерации и имеет стандартную структуру: состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, результатов и обсуждения результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и приложения. Диссертация изложена на русском языке в объеме 133 страниц машинописного текста, иллюстрирована 16 таблицами и 26 рисунками. Список использованной литературы включает 186 источников.

В разделе «Введение» обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования. Отражены научная новизна исследования, теоретическая и практическая значимость. Обозначен личный вклад автора в получение результатов.

В главе «Обзор литературы» проведен систематизированный анализ современных данных, раскрывающих функциональную роль белка менина в регуляции молекулярных процессов, включая его взаимодействие с транскрипционными факторами (RUNX2, SMAD1/5, JUND), критически значимыми для остеогенеза. Особое внимание уделено методологическим ограничениям существующих экспериментальных моделей (*in vivo*, *in vitro*), используемых для изучения патогенеза синдрома МЭН1. С клинической

точки зрения обозначены ключевые проблемы, связанные с ограничениями при изучении костных нарушений при мПГПТ. Проведена сравнительная характеристика фенотипических особенностей мПГПТ и спорадического гиперпаратиреоза, включая различия в возрасте манифестации, множественном поражении ОЦЖ и лабораторных параметрах кальций-фосфорного обмена. Обзор литературы завершается заключением, в котором тезисно обозначены нерешенные вопросы и методологические ограничения в рамках исследуемой темы.

Глава «Материалы и методы» четко структурирована. Дизайн каждого этапа работы описан детально с использованием потоковых диаграмм для наглядности. Для каждой из изучаемых выборок описаны критерии включения и исключения, оценена репрезентативность всех групп. Протоколы фундаментального этапа исследования описаны подробно, что позволяет судить о релевантности и воспроизводимости экспериментов. Все этапы исследования выполнены в строгом соответствии с международными биоэтическими стандартами (для каждого этапа приведен протокол этической экспертизы).

«Результаты и обсуждение» объединены в одну главу, что является осознанным методологическим решением, ввиду многообразия методов исследования, использованных в диссертационной работе. Описанные результаты полностью соответствуют поставленным задачам. В заключительной части каждого смыслового блока детально анализируются методологические ограничения, характерные для конкретного этапа работы, а также формулируются перспективные направления для последующих научных изысканий.

Глава «Заключение» является кратким изложением основных результатов, полученных в диссертационном исследовании. Выводы и практические рекомендации не противоречат поставленным целям и задачам.

В «Приложении» дано детальное унифицированное описание всех выявленных вариантов мутаций в гене *MEN1* согласно референсной

последовательности NM_001370259.2. Для оценки патогенности вариантов автор руководствовался клиническими рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики (ACMG) и методическими указаниями Медико-генетического научного центра им. академика Н.П. Бочкова, что соответствует современным стандартам интерпретации генетических данных.

Сведения о публикациях и выступлениях по теме диссертации

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.

Соответствие содержания автореферата основным положениям диссертации

Автореферат диссертации Пылиной С.В. соответствует основным положениям диссертации и оформлен в классическом стиле. В нем отражены актуальность темы, цель и задачи исследования, научная новизна, основные результаты, а также выводы и практические рекомендации. Структура автореферата соответствует плану диссертации. Принципиальных замечаний к содержанию и оформлению диссертации не имеется.

В рамках дискуссии хотелось бы обсудить следующие вопросы:

1. Как Вы считаете, высокий процент выбывания пациентов в проспективном исследовании мог сказаться на результатах динамики восстановления МПК в изучаемых группах?

2. Почему из всех рассматриваемых мутаций в гене *MEN1* в рамках фундаментального блока Вы остановились на изучении варианта *MEN1*: 1230dupC?

3. Как Вы считаете, указанные Вами практические рекомендации по использованию протокола получения МСК-подобных

клеток из ИПСК для фундаментальных исследований патогенеза синдрома МЭН1, а также применение 3D-моделирования для уточнения спектра и характера костных нарушений при мПГПТ в дополнение к рентгеновской денситометрии будут полезны практикующему врачу?

Заключение

Таким образом, диссертационная работа Пылиной Светланы Викторовны «Мутация в гене *MEN1* в патогенезе костных нарушений при наследственной форме первичного гиперпаратиреоза», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.19. Эндокринология, является законченной научно-квалификационной работой, в которой решается научная задача комплексного изучения гетерогенной природы костных нарушений при мПГПТ с использованием клинических и фундаментальных методов исследования. Данное исследование важно для развития персонализированного подхода в лечении костных осложнений при мПГПТ.

По своей новизне, научно-практической значимости и достоверности полученных результатов диссертация Пылиной Светланы Викторовны на тему «Мутация в гене *MEN1* в патогенезе костных нарушений при наследственной форме первичного гиперпаратиреоза», представленная на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.19. Эндокринология (медицинские науки) соответствует критериям, установленным «Положением о присуждении ученых степеней», утвержденным постановлением Правительства Российской Федерации от 24.09.2013 г. № 842 «О порядке присуждения ученых степеней» в редакции постановлений Правительства Российской Федерации от 30.07.2014 № 723, от 21.04.2016 № 335, от 02.08.2016 № 748, от 29.05.2017 № 650, от 28.08.2017 № 1024, от 01.10.2018 № 1168, от 20.03.2021 № 426, от 11.09.2021 № 1539, от 26.09.2022 № 1690, от 26.01.2023 № 101, от 18.03.2023 № 415, от 26.10.2023 № 1786, от 25.01.2024 № 62, от 16.10.2024 г. № 1382, а ее автор Пылина

Светлана Викторовна заслуживает присуждения искомой ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 3.1.19. Эндокринология (медицинские науки).

Официальный оппонент:

доктор медицинских наук, профессор, заведующий курсом эндокринологии
кафедры терапии Института клинической медицины

ФГБОУ ВО Тюменский

ГМУ Минздрава России

Суплотова Л.А.

Даю согласие на обработку персональных данных

«14» апреля 2025 г.

Суплотова Л.А.

Подпись доктора медицинских наук Супловой Л.А. заверяю

Ученый секретарь ФГБОУ

ВО Тюменский ГМУ Минздрава России,

Кандидат медицинских наук

Гнатицына С.В.

Контактная информация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Тюменский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России). Адрес: 625023, Российская Федерация, г. Тюмень, ул. Одесская, дом 54. Телефон: +7 (3452) 69-07-50. E-mail: tgmu@tyumsmu.ru, Web-сайт: www.tyumsmu.ru.