

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «НАЦИОНАЛЬНЫЙ
МЕДИЦИНСКИЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЭНДОКРИНОЛОГИИ»
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ПЫЛИНА Светлана Викторовна

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

3.1.19. Эндокринология

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
член-корреспондент РАН
Мокрышева Н. Г.

Москва — 2025

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 Синдром множественной эндокринной неоплазии 1-го типа: молекулярно-генетические основы и критерии постановки диагноза.....	9
1.2 МЭН1-ассоциированный первичный гиперпаратиреоз: особенности костно-метаболический нарушений и критерии верификации диагноза.....	12
1.3 Основные ограничения при проведении сравнительного анализа костных нарушений при МЭН1-ассоциированном и спорадическом первичном гиперпаратиреозе	15
1.4 Эффективность топической диагностики и выбор оптимального объема хирургического лечения в контексте минимизации костных осложнений при МЭН1-ассоциированном ПГПТ .	16
1.5 Возможности консервативной терапии мПГПТ	19
1.6 Фундаментальные исследования по изучению влияния мутации в гене <i>MEN1</i> на остеогенез	20
1.7 Потенциал изучения синдрома МЭН1 с использованием пациент-специфических клеточных моделей.....	22
1.8 Заключение	24
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	25
2.1 Общий дизайн исследования	25
2.2 Этап 1. Одномоментное исследование.....	25
2.3 Этап 2. Динамическое исследование.....	30
2.4 Этап 3. Фундаментальное исследование.....	40
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	48
3.1 Клинико-лабораторные характеристики и особенности костных нарушений у пациентов с МЭН1-ассоциированным ПГПТ по результатам клинико-эпидемиологического мониторинга ПГПТ на территории РФ	48
3.2 Обсуждение результатов сравнительного анализа групп с использованием Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга ПГПТ на территории РФ	53
3.3 Результаты сравнительного анализа костно-метаболических нарушений между группами МЭН1-ассоциированного ПГПТ и спорадической формой заболевания.....	56
3.4 Обсуждение результатов сравнительного анализа костно-метаболических нарушений между группами пациентов мПГПТ/сПГПТ	64

3.5 Сравнительный анализ костно-метаболических нарушений между группами МЭН1-ассоциированного ПГПТ и спорадической формой заболевания через 1 год после паратиреоидэктомии	67
3.6 Обсуждение результатов хирургического лечения, особенностей восстановления МПК через 1 год после паратиреоидэктомии в группах мПГПТ и сПГПТ	79
3.7 Результаты генетического исследования в группе мПГПТ	82
3.8 Фундаментальный блок: получение линии ИПСК с мутацией в гене <i>MEN1</i>	84
3.9 Обсуждение результатов фундаментального исследования	100
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	103
ВЫВОДЫ	106
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	107
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	108
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	110
ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное) Результаты генетического исследования	129

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность

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) [1] при данном синдроме поражаются околощитовидные железы (ОЩЖ), вследствие чего развивается МЭН1-ассоциированный первичный гиперпаратиреоз (мППТ). В отличие от спорадической 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 [2]. Хирургическое лечение мППТ сопряжено с высоким риском рецидива/персистенции заболевания или возникновением стойкого послеоперационного гипопаратиреоза [3, 4, 5, 6], что оказывает дополнительное негативное влияние на костное ремоделирование [7]. 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 [8, 9, 10, 11, 12]. Кроме того, малоизученным остается вопрос о восстановлении минеральной плотности кости (МПК) после паратиреоидэктомии (ПТЭ) у пациентов с мППТ [13, 14, 15]. 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 [16, 17, 18, 19, 20]. Однако

фундаментальные исследования этого вопроса имеют ряд существенных ограничений, поскольку выполнены с применением животных моделей, что не позволяет экстраполировать полученные данные на человека ввиду межвидовых различий в костном метаболизме.

Цель

Исследовать клинико-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 работы:

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.

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 полученных результатов:

Официальная апробация диссертационной работы состоялась 27 августа 2024 года (протокол № 11) на расширенной межкафедральной научной конференции ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

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 страницы 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Синдром множественной эндокринной неоплазии 1-го типа: молекулярно-генетические основы и критерии постановки диагноза

Синдром МЭН1 — редкое аутосомно-доминантное заболевание (распространенность 3–20 на 100 000 тысяч населения [21]), возникающее вследствие гетерозиготной мутации в гене *MEN1* [22]. Классическими проявлениями синдрома являются: мПГПТ, нейроэндокринные новообразования (НЭН) гастроэнтеропанкреатического тракта и передней доли гипофиза [23]. Однако, в рамках синдрома могут встречаться и другие эндокринные и неэндокринные новообразования, в том числе надпочечников, бронхопульмональной области и тимуса, липомы, ангиофибромы, коллагеномы, опухоли центральной нервной системы и др. [24, 25, 26, 27, 28].

Первое предположение о наследственной природе заболевания было выдвинуто в работе Wermer P. и соавт. в 1954 г. [29]. При этом генетическое картирование *MEN1* на длинном плече хромосомы 11q13 проведено лишь 40 лет спустя в 1997 г. [30, 31], что и стало отправной точкой для внедрения генетического скрининга в клиническую практику. Ген *MEN1* содержит 10 экзонов, из которых экзоны 2–10 кодируют белок менин, состоящий из 610 аминокислотных остатков (рисунок 1). На сегодняшний день описано более 1600 герминальных и 203 соматических мутаций в гене *MEN1* [32, 33].

Несмотря на большое количество идентифицированных мутаций, «избирательность» при поражении органов эндокринной системы на данный момент не имеет четкого молекулярно-генетического обоснования. В большинстве случаев установить корреляции между типом мутации, клиническим проявлением и прогнозом заболевания не удавалось, поскольку различное сочетание компонентов синдрома выявлялось даже при идентичной мутации в гене *MEN1* у кровных родственников. Тем не менее в работе Thevenon J. и соавт. [34] было показано, что герминальные мутации, приводящие к нарушению структуры домена для связывания транскрипционного фактора JUND (JUND Proto-Oncogen, AP-1 Transcription factor Subunit), сопровождаются высоким риском летального исхода (ОР 1,88; 95%-ДИ: 1,15–3,07) вследствие прогрессирования онкологического заболевания. С менее благоприятным прогнозом также связывают мутации в *MEN1*, приводящие к потере взаимодействия с доменом киназы 1-й контрольной точки (CHES1), что сопровождается более высоким риском злокачественных НЭН поджелудочной железы и более высокой летальностью [35].

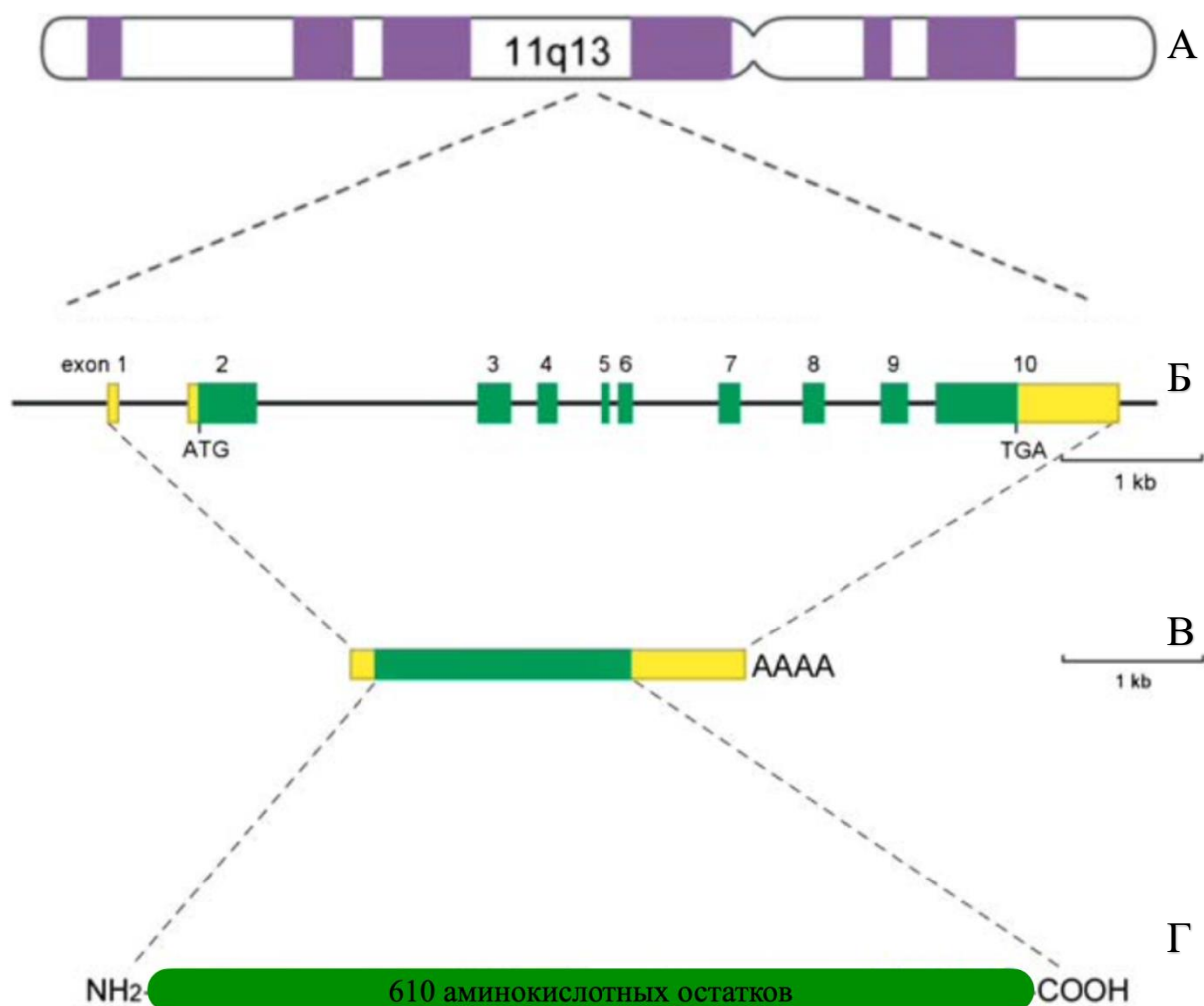


Рисунок 1 — Хромосомная локализация и структурная организация гена *MEN1*. А. Локализация гена на 11q13 хромосоме. Б. Кодированные (зеленые участки) и некодирующие (желтые) регионы гена *MEN1*. В. Кодированные (зеленые участки) и некодирующие (желтые) области матричной РНК. Г. Белок менин, состоящий из 610 аминокислотных остатков [22]

Основной гипотезой опухолевой трансформации клеток при МЭН1 остается двуударная теория канцерогенеза Альфреда Кнудсона, впервые описанная на примере ретинобластомы [36]. Мутантный аллель гена *MEN1* наследуется от одного из родителей или возникает *de novo* на эмбриональном уровне (первый удар), затем происходит потеря гетерозиготности в соматической клетке (второй удар). Главным ограничением данной теории служит широкий диапазон событий, потенциально происходящих на втором этапе опухолевой трансформации: от крупных хромосомных делеций до точечных мутаций, инактивирующих ген [37]. В результате каждый из вариантов может привести к различным изменениям в функционировании как белка

менина, так и генов, находящихся вблизи локуса *MEN1*. Стоит отметить, что биаллельные соматические мутации в гене *MEN1* описаны при спорадических опухолях эндокринной системы различных локализаций [38, 39, 40], что подтверждает регуляцию менином клеточной пролиферации и не исключает иных механизмов канцерогенеза при развитии МЭН1-ассоциированных НЭН. Например, Luzzi E. и соавт. [41] выявили, что микро-РНК miR-24–1 блокирует трансляцию менина в МЭН1-ассоциированных опухолях ОЩЖ, не утративших гетерозиготность, что, по сути, имитирует «второй удар» при наличии функционирующей копии гена.

Герминальные мутации в гене *MEN1* могут приводить к различным нарушениям функционирования белка-онкосупрессора. Например, миссенс мутации ускоряют расщепление менина по убиквитин-протеасомному пути [42, 43] и снижают его способность связываться с транскрипционными факторами, такими как JUND (JUND Proto-Oncogen, AP-1 Transcription factor Subunit), Sin3A (SIN3 Transcription Regulator Family Member A), RUNX2 (RUNX Family Transcription Factor 2), а также гистон метилтрансферазным комплексом и членами семейства структурно похожих белков SMAD (SMAD1, SMAD3 и SMAD5) [17, 44, 45, 46]. Нонсенс мутации и мутации со сдвигом рамки считывания могут приводить к нарушению синтеза матричной РНК менина, преждевременной терминации трансляции или синтезу укороченных форм белка, что потенциально снижает его функцию и нарушает эпигенетические механизмы регуляции гена *MEN1* [21]. Мутации в зоне сплайсинга могут приводить к полному отсутствию транскриптов и накоплению нерасщепленных прекурсоров матричной РНК [47].

Многообразие вариантов и типов мутаций, а также различия в эпигенетических механизмах регуляции гена *MEN1* в каждом отдельном случае создают уникальную комбинацию событий, приводящих к дестабилизации генетического аппарата клетки и ее последующей опухолевой трансформации, вследствие чего клиническая картина и пенетрантность компонентов синдрома могут значительно варьировать. По этой причине для своевременной диагностики и планирования дальнейшего наблюдения на практике применяются различные критерии для установления диагноза МЭН1, предложенные в 2012 г. Thakker R. и соавт. [1]: клинические (наличие двух и более классических проявлений синдрома), семейные (пациент с МЭН1-ассоциированным образованием при наличии родственника первой линии родства с верифицированным МЭН1) и генетические (наличие герминальной мутации в гене *MEN1* в независимости от клинических проявлений).

Каждый из указанных выше критериев не является взаимоисключающим. Ввиду того, что пенетрантность компонентов синдрома находится в прямой зависимости от возраста пациента [48], применение только клинического критерия удлиняет срок установления диагноза, особенно при отсутствии выраженной клинической картины при гормонально неактивных образованиях [49]. Генетический критерий позволяет своевременно идентифицировать носителя мутации в гене *MEN1* в семьях с подтвержденным МЭН1 или у лиц молодого возраста при наличии только одного компонента МЭН1, а также провести дифференциальный диагноз с другими типами множественных эндокринных неоплазий и их фенокопиями. Особую роль генетический скрининг играет в планировании объема хирургического лечения при мПППТ [50]. Несмотря на то что на сегодняшний день не установлены достоверные корреляции между типом мутации и прогнозом заболевания, имеются данные, что в «ядерных» семьях с синдромом МЭН1 риск смертности ниже по сравнению со спорадической формой МЭН1 [51]. Предположительно это может быть связано с более ранней диагностикой и прицельным диспансерным наблюдением за данной категорией пациентов.

1.2 МЭН1-ассоциированный первичный гиперпаратиреоз: особенности костно-метаболический нарушений и критерии верификации диагноза

Наследственные формы первичного гиперпаратиреоза (ПППТ), к которым относится мПППТ, составляют 5–10% всех случаев ПППТ [52]. В структуре синдрома МЭН1 мПППТ занимает первое место по распространенности и встречается в 90% случаев [1], а по данным Schaaf L. и соавт. [53], пенетрантность может составлять 100% к 65 годам. В РФ первое описание особенностей мПППТ было выполнено Мокрышевой Н. Г. в 2011 г. В работе выявлено преобладание мягкой формы ПППТ над манифестной при мПППТ, а также определены наиболее частые сочетания мПППТ с другими компонентами синдрома МЭН1: в 70% случаев с опухолями передней доли гипофиза (с преобладанием пролактина 34%), в 40% с опухолями поджелудочной железы (с преобладанием инсулина 24% и гастрина 33%), в 30% с образованиями надпочечников [54]. На основании первоначальной базы данных Мокрышевой Н. Г. для оценки выявляемости ПППТ и его эпидемиологической составляющей, а также изучения различных форм заболевания в РФ в 2017 году был создан Всероссийский онлайн-регистр ПППТ. На конец 2017 г. подозрение на наличие наследственной формы ПППТ вызывали 326 (17%) пациентов, их средний возраст составил $31,2 \pm 12,3$ года. При этом мутации в гене *MEN1* были верифицированы лишь в 2,9% случаев (55/1914), а общий охват генетическим скринингом составил 3,2% (61/1914) [55].

По данным зарубежной литературы, мПГПТ характеризуется более ранней манифестацией (20–35 лет против 55–70 лет) и отсутствием гендерных различий в распространенности по сравнению со спорадическим первичным гиперпаратиреозом (сПГПТ) (мужчины/женщины 1:1 против 1:3) [1, 2]. Однако в российской популяции возраст выявления наследственных форм смещен на 10 лет: в 15% случаев манифестация заболевания приходится на 35–40 лет, при этом чаще мПГПТ выявляется у женщин (мужчины/женщины 1:6) [55].

За рубежом наиболее крупными базами данных по изучению мПГПТ считаются: Испанский регистр по изучению множественной эндокринной неоплазии, феохромоцитом и параганглиом (REGMEN) [8], Флорентийская база данных по МЭН1 [56] и Японский консорциум по множественной эндокринной неоплазии [57]. Согласно исследованию Lamas С. и соавт. [8], выполненному на основе данных Испанского регистра, в структуре мПГПТ ($n = 89$) отсутствуют гендерные различия, средний возраст постановки диагноза широко варьируется ($34,2 \pm 13$ года), а тяжесть костных осложнений не коррелирует с уровнем паратиреоидного гормона (ПТГ) и кальция крови. При этом высокая частота остеопороза, по сравнению с остеопенией и нормальной МПК, была характерна для более старшей возрастной группы ($42,8 \pm 18,3$ лет против $36,4 \pm 18,3$ против 28 ± 10 лет, соответственно $p = 0,028$). Обновленные данные Японского регистра по МЭН1 свидетельствуют о высокой частоте мПГПТ 90,4 % (506/560) среди иных компонентов синдрома МЭН1, однако в базе отсутствуют сведения о костных осложнениях при мПГПТ [57]. Согласно результатам Marini F. и соавт. [56], полученным с использованием Флорентийской базы данных, для пациентов с мПГПТ ($n = 65$) остеопения была выявлена в 46,2% случаев, а остеопороз — в 32,3%, независимо от сочетания мПГПТ с иными компонентами синдрома МЭН1.

Более низкие показатели сывороточного кальция, фосфора и ПТГ считаются неотъемлемой особенностью мПГПТ по сравнению со спорадической формой заболевания, однако высокая частота костных осложнений не соответствует классическому описанию мягкой формы ПГПТ при МЭН1 [1, 2, 58]. Одним из потенциальных объяснений данного противоречия является гетерогенность причины костных нарушений, что затрудняет оценку изолированного влияния мПГПТ на костную ткань. Длительная экспозиция высоких концентраций ПТГ при мПГПТ часто приходится на завершающие этапы набора пика костной массы ввиду возрастных особенностей манифестации заболевания, что приводит к преждевременной потере кортикальной кости и увеличивает риск низкоэнергетических переломов в будущем [59, 60]. Весомый вклад может вносить сочетание мПГПТ с другими МЭН1-ассоциированными

опухолями. Так, на фоне медикаментозного лечения НЭН желудочно-кишечного тракта аналогами соматостатина часто возникает патология углеводного обмена, что в свою очередь приводит к нарушению процессов ремоделирования костной ткани с преобладанием костной резорбции [59]. Сами по себе гормонально-активные НЭН желудочно-кишечного тракта могут повышать риск остеопороза и остеопении у пациентов с мПГПТ, что подтверждается исследованием Lourenço D. M. и соавт. [61] в отношении гастриномы. МПК ниже возрастных значений при сочетании гастриномы с мПГПТ регистрировались значительно чаще, чем при изолированном мПГПТ (86,7% против 52,4%; $p = 0,03$). При этом наиболее значимые различия по МПК были достигнуты в дистальной трети лучевой кости (мПГПТ $0,577 \pm 0,086$ против мПГПТ/гастронома $0,639 \pm 0,091$; $p = 0,051$). В работе Altieri B. и соавт. [62] высокая частота остеопороза при НЭН объясняется, прежде всего, алиментарной недостаточностью и возникновением синдрома мальабсорбции вследствие хирургических вмешательств на поджелудочной железе и двенадцатиперстной кишке. Особенности костной патологии при сочетании мПГПТ с АКТГ-продуцирующими опухолями гипофиза, пролактиномами и соматотропиномами не описаны. Однако данные компоненты синдрома хорошо известны в качестве самостоятельных причин костных нарушений.

Диагностический поиск на предмет мПГПТ проводится на основании критериев, обозначенных в действующих клинических рекомендациях от 2020 г. К ним относятся: манифестация ПГПТ у пациентов моложе 40 лет; множественное поражение ОЩЖ в любом возрасте; персистенция/рецидив ПГПТ; наличие двух и более МЭН-ассоциированных образований: опухолей ОЩЖ, НЭН поджелудочной железы, аденомы гипофиза; родственник первой линии родства — носитель мутации в гене *MEN1* (даже в случае отсутствия симптомов); гастринома или НЭН поджелудочной железы в любом возрасте при наличии двух и более МЭН-ассоциированных опухолей, не относящихся к классической триаде МЭН-1 [63]. Однако для окончательной постановки диагноза требуется генетическая верификация, особенно в том случае, если мПГПТ является единственным проявлением МЭН1 у пациентов молодого возраста. Вместе с тем общепринятых стандартов, какой возрастной диапазон обозначить как «молодой», не существует. В международных консенсусах анализ на наличие мутации в гене *MEN1* рекомендован пациентам с ПГПТ до 30 лет с мультигландулярным поражением ОЩЖ или рецидиве ПГПТ [1, 64]. По результатам пилотного российского исследования Мамедова Е. О. и соавт. [65], предпочтительным возрастным порогом является возраст до 40 лет, что подтверждается более поздней манифестацией мПГПТ в российской популяции по обновленным

данным регистра по ПГПТ (мПГПТ 32 [25; 47] против 59 [51; 66] лет, $p < 0,001$) [66]. Аналогичный возрастной порог был указан в работе Langer P. и соавт. [67].

Поскольку генетический скрининг нецелесообразно проводить всем пациентам с ПГПТ ввиду его высокой стоимости [68] и низкой частоты выявления мПГПТ среди всех случаев заболевания [69], продолжается поиск клинических маркеров, позволяющих прогнозировать высокий риск мутации в гене *MEN1* для эффективной маршрутизации пациента. Одной из таких прогностических моделей является работа Laat J. M. и соавт., [70] выполненная на основании данных регистров Нидерландов и Швеции. Факторы, увеличивающие риск мПГПТ, определены как возраст до 35 лет, рецидив ПГПТ или мультигландулярное поражение ОЩЖ и/илиотягощенный наследственный анамнез по МЭН1 — предиктивная способность модели 0,86 (95% ДИ 0,81–0,90) и 0,77 (95% ДИ 0,66–0,88) на тестовой и валидационной выборках соответственно. Модель Мокрышевой Н. Г. и соавт. [71], созданная на основе базы данных ГНЦ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ, имела схожие результаты при диагностической чувствительности 96%, 95% ДИ [80%; 100%]; диагностической специфичности 98%, 95% ДИ [94%; 99%]; прогностической ценности положительного результата 91%, 95% ДИ [77%; 95%] и прогностической ценности отрицательного результата 99%, 95% ДИ [95%; 100%]. В отличие от модели Laat J.M. и соавт. [70], российский вариант был дополнен такими факторами, как количество измененных ОЩЖ и гистологические характеристики образований. В обеих моделях показатели кальциево-фосфорного обмена и осложнения ПГПТ не влияли на прогнозирование мутации в гене *MEN1* у пациентов с ПГПТ.

1.3 Основные ограничения при проведении сравнительного анализа костных нарушений при МЭН1-ассоциированном и спорадическом первичном гиперпаратиреозе

Большинство исследований, посвященных особенностям течения мПГПТ, в том числе его костных осложнений, имеют ряд существенных ограничений [9, 10, 11, 12, 58, 72]. В качестве группы сравнения включались пациенты со спорадической формой заболевания, как правило, не сопоставимые по полу и возрасту с пациентами группы мПГПТ [9, 11, 12, 72]. Ограниченность применения генетического скрининга могла быть связана с некорректной стратификацией пациентов в группы: включение в группу мПГПТ пациентов с фенокопиями, а в группу сПГПТ молодых пациентов с мПГПТ, в качестве единственного проявления МЭН1 [9, 10, 12, 72]. Кроме того, различные сочетания компонентов МЭН1 при мПГПТ не позволяли сделать выводы об изолированном влиянии мПГПТ на костную ткань. В ряде работ выводы о преимущественном

снижении МПК при той или иной форме заболевания сделаны на основе суррогатных критериев (Z- или T-критерия), а не абсолютных значений МПК, что снижает репрезентативность полученных результатов [9, 10, 73].

Малоизученным остается вопрос об особенностях повреждения кортикального и трабекулярного компонента костной ткани при мПГПТ и сПГПТ ввиду преимущественного использования только рентгенологического и/или денситометрического исследований. В то же время понимание того, какой тип костной ткани преимущественно повреждается при той или иной форме заболевания, является важной составляющей при выборе антиостеопоротической терапии, особенно в случае отказа от хирургического лечения. На сегодняшний день различия в нарушении микроархитектоники между группами изучались лишь в двух исследованиях, результаты которых остаются противоречивы. В работе Song A. и соавт. [12] пациенты с мПГПТ имели более низкие показатели трабекулярного костного индекса ($1,22 \pm 0,14$ против $1,29 \pm 0,11$; $p = 0,001$), а также более низкие значения МПК в поясничном отделе позвоночника ($0,91 \pm 0,18$ против $1,01 \pm 0,17$; $p \leq 0,001$) и Z-критерия в шейке бедренной кости ($-1,15 \pm 1,05$ против $-0,43 \pm 1,01$; $p = p \leq 0,001$) по сравнению с группой сПГПТ. Однако в работе Wang W. и соавт. [74] различий по кортикальному и трабекулярному компоненту костной ткани между группами по данным количественной компьютерной томографии высокого разрешения выявлено не было.

1.4 Эффективность топической диагностики и выбор оптимального объема хирургического лечения в контексте минимизации костных осложнений при МЭН1-ассоциированном ПГПТ

Хирургическое лечение мПГПТ сопряжено с высокой частотой персистенции и рецидива заболевания, а также возникновением стойкого послеоперационного гипопаратиреоза. Очевидно, что данные осложнения также оказывают дополнительное негативное влияние на качество костной ткани. При выборе оптимального объема операции должна учитываться генетическая верификация наследственной природы ПГПТ, результаты топической диагностики, опыт и навыки хирурга, а также наличие мультидисциплинарной команды специалистов [7].

Эффективность методов топической диагностики значительно снижается при мПГПТ по сравнению с сПГПТ ввиду мультигландулярного поражения ОЩЖ [75, 76]. Так, в метаанализе Ruda J. и соавт. [77] с включением 20 тыс. пациентов с ПГПТ, было показано, что множественное поражение ОЩЖ, в том числе выявление добавочных или эктопированных желез, снижает чувствительность ультразвукового исследования (УЗИ) с 78,5% до 34,9%. В исследовании

D'Alessandro A.F. и соавт. [78] частота дополнительных ОЩЖ в группе мПГПТ составила 12,2% (5/41), при этом ни в одном из случаев их не удалось идентифицировать дооперационно при УЗИ и сцинтиграфии с технетрилом $^{99m}\text{Tc-MIBI}$. Считается, что снижение чувствительности сцинтиграфии при мПГПТ связано с асинхронным типом роста опухоли и различной степенью активности паратироцитов, что приводит к преимущественному захвату радиофармпрепарата наиболее активной ОЩЖ [79].

Предпринималась попытка интраоперационной визуализации ОЩЖ при мПГПТ с помощью метода аутофлюоресценции, что было описано Squires M. H. и соавт. [80]. Аутофлюоресценция клеток ОЩЖ при мПГПТ ($n = 6$) была значительно ниже, чем при сПГПТ ($n = 65$) (54,4 против 74,3; Hedges $g = -1,03$; 95% ДИ: $-1,89$ до $-0,17$). При этом жировая клетчатка, окружающая ОЩЖ у пациентов с мПГПТ, демонстрировала высокую фоновую аутофлюоресценцию, что привело к высокой частоте ложноположительных результатов при мПГПТ 5 (83%) против сПГПТ 3 (5%). Таким образом, авторы не рекомендовали активное использование аутофлюоресценции для интраоперационной навигации в данной когорте пациентов.

Для увеличения чувствительности дооперационной визуализации ОЩЖ используется метод, сочетающий сцинтиграфию с технетрилом $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ и однофотонную эмиссионную компьютерную томографию с гибридизацией изображений с КТ (ОФЭКТ/КТ). При сравнении комбинации сцинтиграфии $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ с ОФЭКТ/КТ, с $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ с ОФЭКТ и КТ процент выявления мультигландулярного поражения ОЩЖ на выборке из 30 пациентов составил 46,7%, 13,3% и 36,7% соответственно [81]. На данный момент технология имеет 3D-визуализацию и позволяет оценить метаболическую активность патологически измененных ОЩЖ. В работе Gauthé M. и соавт. [82] при сравнении различных методов дооперационной визуализации ОЩЖ у пациентов с мПГПТ УЗИ позволило идентифицировать патологически измененные ОЩЖ у 20 из 22 пациентов (91%), сцинтиграфия с технетрилом $^{99m}\text{Tc-MIBI}$ и позитронно-эмиссионной компьютерной томографии с ^{18}F -холином — у 21 пациента из 22 (96%). При этом 3 ложноположительных результата были получены как при сцинтиграфии с технетрилом $^{99m}\text{Tc-MIBI}$, так и позитронно-эмиссионной и компьютерной томографии (в двух случаях карциноида тимуса и в одном случае реактивно измененного лимфатического узла).

Для дифференциальной диагностики интратиреоидно расположенных ОЩЖ преимуществом обладает тонкоигольная аспирационная биопсия образований со смывом на ПТГ, чувствительность и специфичность которой составляет 100 и 93% соответственно [83].

Однако, данная методика не позволяет проводить цитологическое исследование ОЩЖ ввиду сложности дифференциальной диагностики с фолликулярными опухолями щитовидной желез, а также дифференцировать аденому, атипическую опухоль и карциному ОЩЖ. Кроме того, тонкоигольная аспирационная биопсия часто осложняет морфологическую верификацию типа опухоли, поскольку приводит к утолщению и многослойности фиброзной капсулы, псевдоинвазии в капсулу, выявлению депозитов гемосидерина, фиброзных тяжей и имплантации опухоли [84].

Единого мнения по поводу объема первоначального хирургического лечения ПГПТ в рамках МЭН1 в настоящее время не существует. К основным хирургическим подходам относят: субтотальную ПТЭ с сохранением $\frac{1}{2}$ или 1 наименее измененной ОЩЖ (СПТЭ); субтотальная ПТЭ с удалением любого, но меньшего количества ОЩЖ, по сравнению с субтотальной ПТЭ (МПТЭ), и тотальную ПТЭ с гетеротопической трансплантацией (ТПТЭ) [85]. Многообразие хирургических техник, прежде всего, связано с мультигландулярным типом поражения ОЩЖ, а также соотношением риска-пользы в каждом конкретном случае. С одной стороны, менее радикальные по объему вмешательства увеличивают риск персистенции или рецидива заболевания. С другой стороны, тотальная ПТЭ сопряжена со стойким послеоперационным гипопаратиреозом. Данная особенность исходов хирургического лечения подтверждается в исследовании Nilubol N. и соавт. [5], в котором удаление 1–2 ОЩЖ повышает риск персистенции мПГПТ на 49% по сравнению с удалением 2,5–3 ОЩЖ ($p = 0,01$), а ТПТЭ связана с самым высоким риском стойкого послеоперационного гипопаратиреоза по сравнению с СПТЭ и МПТЭ (67 против 25%; $p = 0,003$). Персистенция/рецидив ПГПТ будут связаны с повышенной костной резорбцией и дальнейшим прогрессирующим снижением МПК. Стойкий послеоперационный гипопаратиреоз будет негативно влиять на костное ремоделирование в целом, так как будут замедлены процессы как остеосинтеза, так и костной резорбции. При этом оценить, какой тип хирургического вмешательства предпочтителен для минимизации костных осложнений при мПГПТ, пока не представляется возможным.

Данные о восстановлении МПК после ПТЭ при мПГПТ лимитированы. Работы чаще имеют ретроспективный дизайн, а оцениваемые выборки малочисленны и гетерогенны: возраст пациентов, включенных в исследование, широко варьируется, как и временные интервалы для послеоперационного денситометрического исследования. Например, в работе Marini F. и соавт. [72] только 8 пациентов с мПГПТ имели данные двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (DXA) через 1 год после первичной ПТЭ, при этом средний возраст

исследуемой группы составил $49,3 \pm 14,5$ лет. Аналогичные ограничения заложены в дизайн исследования Burgess J. R. и соавт. [13]: выводы касательно положительного влияния ПТЭ на прирост МПК в шейке бедренной кости (+5,2%) и поясничных позвонках (+3,2%) сделаны на основе ретроспективной оценки контрольной DXA у 5 пациентов с мПГПТ.

В пилотном исследовании Coutinho F. L. и соавт. [14], проведенном на 16 пациентах с мПГПТ, статистически значимый прирост МПК был подтвержден в 8,4% ($p = 0,001$) в поясничном отделе позвоночника (+8,4% $p = 0,001$); шейке бедренной кости (+7,7% $p = 0,0001$) и бедре в целом 6,9% ($p < 0,001$), при этом в отношении лучевой кости статистически значимого прироста выявлено не было. Единственное исследование по сравнению восстановления МПК после ПТЭ в группах мПГПТ ($n = 14$) и сПГПТ ($n = 104$) было проведен Silva A. M. и соавт. [15], в котором пациенты с мПГПТ имели более низкие значения Z-критерия в поясничном отделе позвоночника (-0,63 SD против 0,21 SD; $p = 0,5$), шейке бедренной кости (-0,86 SD против -0,24 SD; $p = 0,01$) и бедре в целом (-0,74 SD против -0,11 SD; $p = 0,04$). Статистически значимый прирост МПК через 1 год после ПТЭ был подтвержден только в группе сПГПТ как по абсолютным показателям МПК, так и по Z-критерию ($p = 0,001$). Однако интерпретация полученных результатов существенно затруднена ввиду несопоставимости групп по возрасту на момент хирургического лечения (мПГПТ/сПГПТ 41,5 лет против 61 года; $p = 0,0016$), а также отсутствия данных о типе хирургического вмешательства, применяемого в отношении пациентов с мПГПТ.

1.5 Возможности консервативной терапии мПГПТ

При отказе от хирургического лечения, рецидиве или персистенции мПГПТ для контроля уровня кальция и ПТГ в качестве альтернативного подхода может быть использован цинакальцет. Впервые эффективность данного препарата при мПГПТ в отношении снижения уровня кальция (Me: 0,35 ммоль/л, $p = 0,012$, W-тест), ПТГ (Me: 5,05 пмоль/л, $p = 0,012$, W-тест), фосфора (Me: 0,13 ммоль/л, $p = 0,012$, W-тест) через 3 месяца от начала терапии была показана в исследовании Moyes V. J. и соавт. [86] на 8 пациентах с генетически верифицированным мПГПТ. Данные результаты были также подтверждены в работе Filopanti M. и соавт. [87], в которой сравнивался ответ на терапию цинакальцетом в группах мПГПТ и сПГПТ. Статистически значимое снижение уровня кальция и ПТГ было выявлено в обеих группах, при сопоставимой дозировке препарата (сПГПТ 45 ± 21 против мПГПТ 54 ± 25 мг/день, $p = 0,314$). Однако, цинакальцет не оказывает влияние на прирост МПК при мПГПТ, что подтверждается в исследовании Giusti F. и соавт. [88]. Исследования по сравнению эффективности применения

антиостеопоретических препаратов из группы бисфосфонатов и деносумаба в отношении восстановления МПК при мППТ не проводились, что не позволяет персонализировать консервативное лечение костных осложнений у данной категории пациентов.

1.6 Фундаментальные исследования по изучению влияния мутации в гене *MEN1* на остеогенез

Изучение патогенеза синдрома МЭН1 с использованием животных моделей было впервые выполнено в 2000 г. Crabtree J. S. и соавт. [89]. Биаллельная инактивация гена *MEN1* в эмбриональных клетках мыши привела к гибели эмбрионов или рождению особей со множественными дефектами краниофациальной области, что свидетельствовало об участии менина в регуляции интрамембранозного и энхондрального остеогенеза. У мышей гетерозиготных по *MEN1* манифестировали все классические проявления МЭН1, при этом генетический анализ опухолевого материала подтвердил потерю гетерозиготности в гене *MEN1* лишь в некоторых опухолях.

Ввиду того что гомозиготная мутация гена *MEN1* приводит к ранней эмбриональной летальности, для дальнейших исследований костной патологии при МЭН1 применялась система рекомбинации Cre-LoxP. Данная технология представляет собой сайт-специфическую рекомбиназную технологию, которая позволяет фланкировать («окружать») ген *MEN1* loxP-сайтами, которые специфически распознает Cre-рекомбиназа — фермент, вырезающий фрагменты ДНК в определенном месте генома и работающий под тканеспецифическим промотором [90]. Такое сочетание позволяет осуществлять селективный нокаут гена *MEN1* в определенных типах клеток.

Kanazawa I. и соавт. [18] создали линию трансгенных мышей (OC)-Cre-mice, у которых ген *MEN1* был селективно выключен в остеобластах. В качестве контроля и сравнения использовались мыши с фланкированным геном *MEN1^{fl/fl}* дикого типа и линия Colla1-Menin-Tg с трансгеном, обеспечивающим сверхэкспрессию менина. Нокаут гена *MEN1* в остеобластах привел к значимому снижению МПК, объемной плотности трабекулярной и толщины кортикальной кости по данным трехмерной компьютерной томографии и результатам гистоморфометрического анализа. Линия Colla1-Menin-Tg с оверэкспрессией менина демонстрировала более высокую скорость пролиферации остеобластов и минерализации костного матрикса, по сравнению с линиями (OC)-Cre-mice и *MEN1^{fl/fl}*. Аналогичная работа была проведена Liu P. и соавт. [20], в которой преобладание остеокластогенеза над остеобластогенезом

при инактивации гена *MEN1* было объяснено увеличением экспрессии интерферон-гамма индуцибельного протеина 10 (CXCL10) в остеоцитах, увеличивающего активность лиганда рецептора-активатора *NF-κB* (RANKL).

Troka I. и соавт. [91] инактивировали ген *MEN1* в предшественниках остеобластов — мезенхимальных стволовых клетках (МСК) на мышинной линии Prx1-Cre. В качестве контроля использовалась линия *MEN1^{fl/fl}* дикого типа. Оценивалось влияние нокаута гена *MEN1* не только на пролиферацию и дифференцировку МСК в остеобласты, но и способность остеобластов к минерализации матрикса на поздних стадиях дифференцировки. Для этого применялось 3D культивирование в специальном коллагеновом геле, имитирующем внеклеточное окружение. Оценка дифференцировки мышинных остеобластов в геле показала снижение минерализации костного матрикса у животных линии Prx1-Cre по сравнению с *MEN1^{fl/fl}* по данным инфракрасной спектроскопии неполного внутреннего отражения и рентген-дифракционному анализу гидратированного коллагенового геля. Экспрессия генов на ранней стадии дифференцировки не различалась, однако на поздней стадии экспрессия *COL1A1* (ген, кодирующий белок альфа-1 цепи коллагена I типа), *ALPL* (ген, кодирующий тканеспецифическую щелочную фосфатазу), *SPPI* (ген, кодирующий остеопонтин) и *IBSP* (ген, кодирующий костный сиалопротеин II) была значимо ниже в линии Prx1-Cre, что свидетельствовало о влиянии менина на минерализацию костной ткани путем регуляции экспрессии генов, находящихся под контролем сигнальных путей TGF-β/BMPs (сигнальные пути трансформирующего фактора роста бета и костных морфогенетических белков). Схожие результаты были продемонстрированы Sowa H. и соавт. [19, 92] в отношении взаимодействия менина с транскрипционными факторами SMAD1/5 и регулятором дифференцировки остеобластов RUNX2, являющегося частью канонического сигнального пути WNT/β-катенин.

В то же время изучение особенностей остеогенеза при МЭН1 с использованием животных моделей имеет ряд ограничений, основным из которых является межвидовое различие в физиологии костного метаболизма. В костной ткани мыши не развита система остеонов, которая является структурной единицей кости у человека, а цикл ремоделирования составляет 2 недели против 6–9 месяцев у человека. Возраст-ассоциированное или патологическое снижение МПК в организме мыши происходит преимущественно за счет истончения кортикального компонента кости, а не нарушения микроархитектоники с расширением и объединением каналов остеона, как у человека. Наступление половой зрелости не приводит к полному закрытию ростовых зон у мыши, в отличие от человека [93]. Другим ограничением является невозможность исключить

влияние генома и индивидуальную эпигенетическую регуляцию остеогенеза в рамках макроорганизма, что требует увеличения количества исследуемых линий для получения репрезентативного результата.

Подводя итог вышесказанному, можно сделать вывод, что тяжесть костных нарушений может быть связана с молекулярно-генетическими причинами, обуславливающими развитие синдрома МЭН1. При этом достоверно неизвестно, связана ли мутация в гене *MEN1* с нарушением остеогенеза, поскольку основные выводы касательно участия менина в поэтапной дифференцировке остеобластов, а также преобладании остеокластогенеза над остеобластогенезом сделаны путем сравнительного анализа нокаута гена *MEN1* с контролем — линии клеток дикого типа. Описанные исследования были проведены с использованием животных моделей, что не позволяет экстраполировать полученные данные на человека.

1.7 Потенциал изучения синдрома МЭН1 с использованием пациент-специфических клеточных моделей

Одним из современных подходов в изучении патогенеза редких генетических заболеваний человека *in vitro* является использование пациент-специфических клеток, обладающих неограниченным потенциалом к делению и дифференцировке в различные типы клеток. Для данной цели могут быть использованы плюрипотентные стволовые клетки: эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) или индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК) [94]. ЭСК человека были впервые получены Thomson J. A. и соавт. [95] в 1998 г., однако законодательные и этические барьеры в использовании человеческих эмбрионов с научными целями сделали невозможным массовое использование данного типа клеток. Проблема была решена в 2006 г. Takahashi K. и Yamanaka S. [96] путем создания метода получения стволовых клеток с индуцированной плюрипотентностью из соматических клеток. Ключевыми факторами, позволяющими вернуть клетку в плюрипотентное состояние, были определены Oct3/4 (Octamer-binding transcription factor 3/4), SOX2 (Sex determining region Y-Box transcription factor 2), c-Myc (MYC Proto-Oncogene, BHLF transcription factor) и Klf4 (Kruppel-like factor 4).

На сегодняшний день существует лишь несколько исследований, в которых для изучения синдрома МЭН1 используются пациент-специфические клеточные линии на основе ИПСК. Однако, дифференцировка полученных клеточных линий в другие типы клеток не описана. Модель Yoshida S. и соавт. [97], состоящая из 6 клеточных линий, включает 3 линии с мутацией в гене *MEN1* и 3 линии контроля, полученных от здоровых родственников пациентов с

синдромом МЭН1. В ряде работ в качестве контроля используются искомые клеточные, в которых при помощи технологии CRISPR-CAS9 проводят редактирование мутации в гене *MEN1* [98], таким образом создается идентичный «изогенный» контроль. Иногда количество компонентов в клеточной системе не ограничивается только изогенной парой [99], что особенно актуально при изучении сложных генетических заболеваний, при которых отсутствует корреляция между генотипом и фенотипом, а молекулярные механизмы патогенеза неизвестны.

Как было описано ранее, одним из звеньев патогенеза при МЭН1 считается потеря гетерозиготности в соматических клетках опухоли, приводящая к полной инактивации гена *MEN1*. Соответственно, выключение второй аллели гена *MEN1* может имитировать «второй удар» Кнудсона и стать дополнительным контролем в клеточной модели при проведении различных экспериментов. Впервые данные генетические манипуляции были выполнены в Liu Y. и соавт. [100] на ЭСК человека без мутации в гене *MEN1*. При помощи технологии CRISPR-CAS9 было создано две линии: WAe001-A-4 (в 2-й экзоне проведена трехнуклеотидная делеция на одном из аллелей с.53-56del и однонуклеотидная вставка в другом с.53Gins) и WAe001-A-5 (в 9-м экзоне проведена делеция двадцати одного нуклеотида в одном аллеле с.1273-1294del и однонуклеотидная вставка в другом с.1282Tins). Аналогичная работа проведена Even-Zohar N. и соавт. [101], где нонсенс мутация в пациент-специфических ИПСК (*MEN1* с.1273C> T; p. Arg465*; rs104894267) была отредактирована для создания изогенного контроля, а «второй удар» Кнудсона воссоздан методом сайт направленного мутагенеза — нонсенс мутации в другом аллеле. Однозначно утверждать, что именно в этой точке возникнет спонтанная мутация у пациента, которая приведет к опухолевой трансформации, — нельзя. Однако наличие двух изогенных контролей по отношению к исходной мутации является важным преимуществом данной модели, которое позволяет максимально релевантно воспроизводить патогенез МЭН1.

После получения пациент-специфических ИПСК выбирается тип клеток для дифференцировки ИПСК и уровень моделирования патологического процесса *in vitro*. На молекулярном уровне изучают транскриптом, протеом, особенности активации сигнальных путей и эпигенетическую регуляцию (метилование ДНК и модификацию гистонов). На клеточном — оценивают видимые изменения в морфологии, скорости пролиферации и экспрессии специфических маркеров. Физиологический уровень используется для оценки функции клеток, например, мышечного сокращения или скорости передачи нервного импульса, что актуально для изучения заболеваний нервной и сердечно-сосудистой систем, особенно при патологии ионных каналов или нарушении проводимости. Клеточные линии могут быть

использованы для высокопроизводительного скрининга потенциальных лекарственных субстанций на множестве линий или для тестирования персонализированной терапии в контексте пациент-специфических ИПСК [102].

Использование ИПСК для изучения синдрома МЭН1 является перспективным направлением, поскольку позволяет моделировать патофизиологические процессы при данном заболевании на различных типах клеток, а также проводить редактирование генома. Однако, результаты, полученные с использованием клеточных культур, будут репрезентативны только в отношении изучаемого варианта мутации в гене *MEN1*, поскольку при данном заболевании отсутствует корреляция между генотипом и фенотипическими проявлениями у пациента.

1.8 Заключение

Костные нарушения относятся к одним из наиболее частых осложнений ПППТ как при sporadic, так и при наследственной форме заболевания. Согласно данным, представленным выше, есть основание полагать, что характер поражения костной ткани при мПППТ отличается от sporadic заболевания. При этом достоверно неизвестно, какой из множества факторов, влияющих на костную ткань при мПППТ, обуславливает тяжесть костных нарушений. Неблагоприятно могут влиять ранняя манифестация заболевания, приводящая к нарушению формирования пика костной массы, наличие других эндокринопатий, объем хирургического вмешательства. Нельзя исключить дополнительный вклад мутации в гене *MEN1* в нарушение остеогенеза. Достоверно неизвестно, какой тип костной ткани преимущественно поражается при мПППТ, что не позволяет персонализировано подходить к терапии костных нарушений при данной форме заболевания. Единого мнения о предпочтительном типе хирургического вмешательства для минимизации костных осложнений при мПППТ нет ввиду отсутствия проспективных исследований в данном направлении. Отдельным неосвещенным в литературе вопросом остается применение антирезорбтивной терапии при персистенции костных нарушений у пациентов с мПППТ. Все эти факторы обуславливают актуальность выбранной темы и необходимость проведения дальнейших клинических и фундаментальных исследований по проблеме.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Общий дизайн исследования

Согласно поставленным задачам, исследование было разделено на этапы, на каждом из которых применялся различный дизайн исследования. Этапы 1–2 использовались для решения клинических задач 1–3, на 3-м этапе проводилось фундаментальное исследование (задача 4).

На первом этапе для изучения особенностей костных нарушений, а также клинико-лабораторных характеристик пациентов с генетически верифицированным мППТ проводилось одномоментное исследование с использованием Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга ППТ на территории РФ.

На втором этапе проводился сравнительный анализ костно-метаболических нарушений между группами мППТ и сППТ, а также оценка динамики выявленных костно-метаболических нарушений через 1 год после ПТЭ. Исследование проводилось в условиях специализированного стационара — отделения патологии ОЦЖ и нарушений минерального обмена ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ Эндокринологии» Минздрава РФ.

На третьем этапе было проведено фундаментальное исследование по изучению влияния одного из вариантов мутации в гене *MEN1* на остеогенез. Для этого использовалась пациент-специфическая линия остеобластов с герминальной мутацией в гене *MEN1* и линия контроля, полученного от здорового донора.

Иллюстрации для главы материалы и методы созданы при помощи онлайн-ресурса BioRender: <https://www.biorender.com/>.

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)

2.2 Этап 1. Одномоментное исследование

В соответствии с **задачей 1** с использованием Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга ППТ на территории РФ было проведено несколько исследований в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России, директор — член корр. РАН, д.м.н., профессор Н.Г. Мокрышева.

Источник случаев: База данных клинико-эпидемиологического мониторинга ПГПТ на территории РФ (далее База данных), пополняющаяся путем заполнения анкет при обращении пациентов в медицинские учреждения РФ. Техническая разработка Базы данных и запуск регистрации с онлайн-вводом данных были осуществлены в 2016 году (доступна на сайте <https://pgpt.clin-reg.ru/>). На момент анализа к Базе данных был подключен 81 регион РФ. Включению в Базу данных подлежат пациенты с подтвержденным диагнозом ПГПТ (Код по МКБ-10 E21.0). На момент выгрузки общее количество зарегистрированных пациентов составило 6 480 человек различных возрастов. Все пациенты подписали информированное согласие в соответствии с разрешением на обработку персональных данных в целях научных исследований. 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. Проводилось многоцентровое, наблюдательное, одномоментное, несравнительное исследование.

Исследуемая группа: пациенты с подозрением на наследственную причину ПГПТ.

Критерии включения:

1. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0).
2. Наличие одного или сочетание нескольких признаков, разработанных для диагностического поиска наследственной причины ПГПТ в рамках синдрома МЭН1 [63].
 - Множественное поражение ОЦЖ
 - Рецидив/персистенция ПГПТ
 - Возраст манифестации ПГПТ <40 лет
 - Наличие сопутствующей эндокринной патологии: НЭН поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта, опухоли гипофиза, надпочечников, карциноиды легкого или тимуса
 - Подтверждение генетической природы ПГПТ у родственников первой линии родства

Второе исследование включало сравнительный анализ клинико-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 согласно действующим клиническим рекомендациям по ПГПТ [63], результатам клинико-лабораторных и инструментальных методов обследования, внесенных в Базу данных.

Тип исследования: многоцентровое, наблюдательное, одномоментное, сравнительное, неконтролируемое.

Исследуемая группа (мППТ)

Критерии включения:

1. Пациенты обоих полов.
2. Возраст старше 18 лет.
3. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе на момент первого визита.
4. Наличие мутации в гене *MEN1*, подтвержденное результатами генетического исследования.

Критерии исключения: отсутствуют

Группа сравнения (сППТ)

Критерии включения:

1. Пациенты обоих полов.
2. Возраст старше 18 лет.
3. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе на момент первого визита
4. Отсутствие сведений о наличии мутации в гене *MEN1* или отсутствие мутации в гене *MEN1* по результатам генетического исследования.

Критерии исключения: отсутствуют

Способ формирования выборок: сплошной

Третье исследование заключалось в оценке особенностей костного фенотипа. Для этого в искомых группах были выделены подгруппы пациентов молодого возраста, что позволило оценить именно влияние ПГПТ на снижение МПК, исключив возраст-ассоциированный фактор.

Тип исследования: многоцентровое, наблюдательное, одномоментное, сравнительное, неконтролируемое

Исследуемая группа: мППТ молодой возраст

Критерии включения:

1. Пациенты обоих полов.
2. Возраст старше 18 лет.
3. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе на момент первого визита.
4. Наличие мутации в гене *MEN1*, подтвержденной результатами генетического исследования.

Критерии исключения

1. Возраст для мужчин старше 50 лет.
2. Наличие менопаузы у женщин.

Группа сравнения сПГПТ молодой возраст

Критерии включения:

1. Пациенты обоих полов.
2. Возраст старше 18 лет.
3. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе на момент первого визита.
4. Отсутствие сведений о наличии мутации в гене *MEN1* или отсутствие мутации в

гене *MEN1* по результатам генетического исследования.

Критерии исключения:

1. Возраст для мужчин старше 50 лет.
2. Наличие менопаузы у женщин.

Способ формирования выборок: сплошной

Подробно дизайн исследования представлен на рисунке 2.

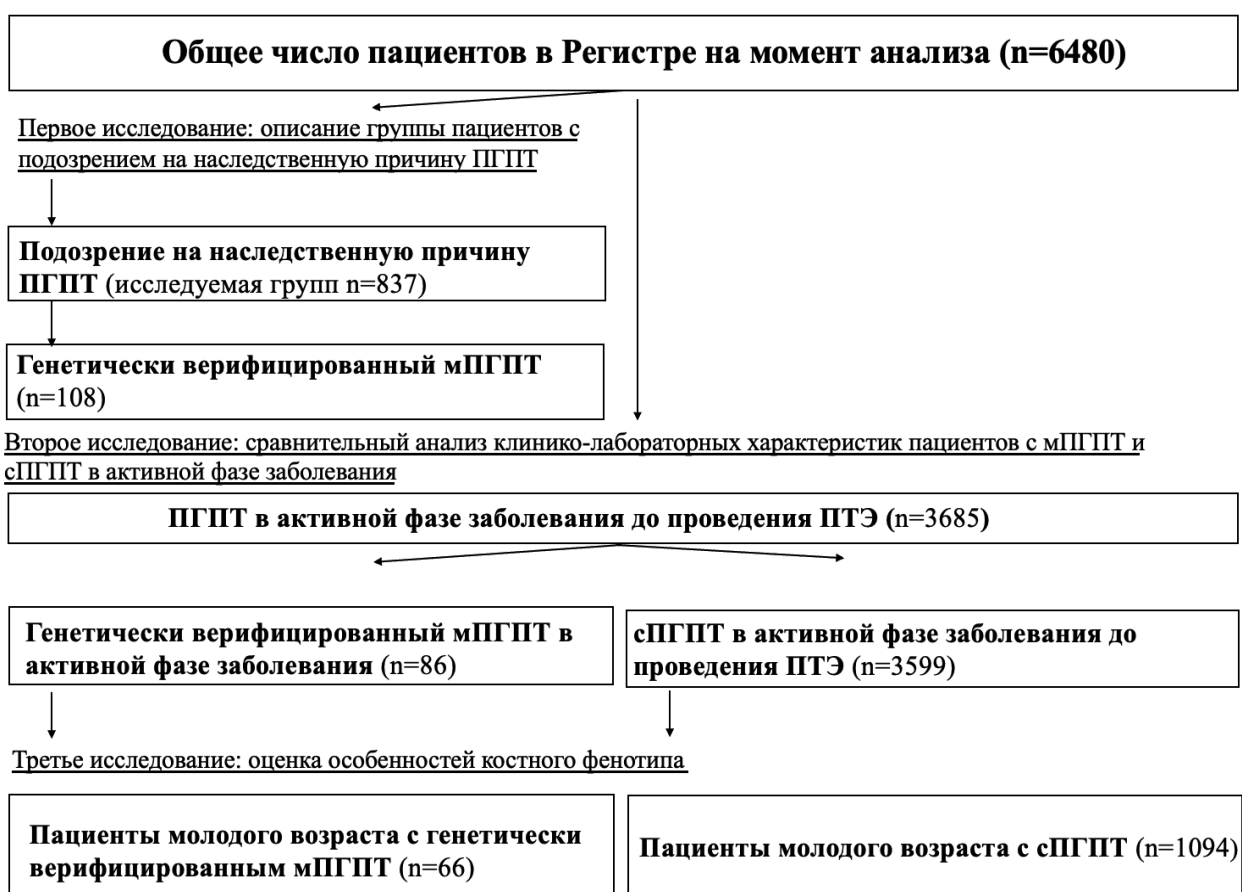


Рисунок 2 — Дизайн первого этапа исследования

Клинические методы

Верификация диагноза ПГПТ проводилась согласно действующим Национальным клиническим рекомендациям [63]. Для сравнительного анализа использовались данные пациентов в активной фазе заболевания (до проведения ПТЭ), внесенные на момент первого визита. Первый визит — первое заполнение карты 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 СКD-EPI <60 мл/мин/1,73м² и/или подтверждении нефролитиаза/нефрокальциноза по данным 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 СКD-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.

Статистический анализ

Статистический анализ исследуемых групп 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. 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). Уровень значимости (p-value) при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05. Для нивелирования проблемы множественных сравнений применялась поправка Бенджамини-Хохберга (p_0 -value). Значения p-value интерпретировались как статистически значимые при $p < p_0$ -value. Значения p-value меньше 0,05, но выше уровня статистической значимости интерпретировались как статистическая тенденция. Пропуски данных не заполнялись, чтобы исключить смещение в выборках, а также оценить ограничения, связанные с использованием крупных баз данных при изучении клинико-лабораторных особенностей и костных нарушений при мПППТ.

Этическая экспертиза

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

2.3 Этап 2. Динамическое исследование

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 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.). Хирургическое лечение ПГПТ проводилось в отделе хирургии (зав. отделом, советник директора по хирургии — проф., д.м.н. Кузнецов Н. С.).

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 костно-метаболических нарушений между группами пациентов с генетически верифицированным МЭН1-ассоциированным гиперпаратиреозом и спорадической формой заболевания было сформировано две группы. Группа 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. Формирование групп производилось согласно критериям включения и исключения. Через 1 год после ПТЭ проводился повторный анализ костно-метаболических нарушений между исследуемой группой и группой сравнения.

Группа мПГПТ подгруппа А

Критерии включения:

1. Возраст старше 18 лет.
2. Лица обоих полов.
3. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе в соответствии с действующими клиническими рекомендациями от 2020 г. [63].
4. Наличие мутации в гене *MEN1*, подтвержденное результатами генетического исследования.
5. Отсутствие ПТЭ в анамнезе.

Критерии исключения:

1. Наличие других гормонально-активных образований за исключением ПГПТ.
2. Беременность и лактация.
3. Менопауза у женщин, возраст старше 50 лет для мужчин.
4. Отсутствие достаточных данных о клиническом течении ПГПТ (в том числе его костных осложнений, результатов двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии).

5. Нарушение функции щитовидной железы (тиреотоксикоз/гипотиреоз); синдром гиперкортицизма.

6. Сахарный диабет 1-го и 2-го типов.

7. $\text{pСКФ} < 60 \text{ мл/мин./1,73м}^2$.

8. Тяжелые хронические заболевания (цереброваскулярная болезнь, ишемическая болезнь сердца, сердечная, дыхательная или печеночная недостаточность, онкологические заболевания).

9. Прием препаратов, влияющих на минеральный обмен (препараты кальция, активные метаболиты витамина D, тиазидные диуретики, деносумаб, бисфосфонаты, цинакальцет), по данным анамнеза.

Группа мППТ подгруппа Б

Критерии включения:

3. Возраст старше 18 лет.

4. Лица обоих полов.

5. Диагноз ППТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе в соответствии с действующими клиническими рекомендациями от 2020 г. [63].

6. Наличие мутации в гене *MEN1*, подтвержденное результатами генетического исследования.

7. Отсутствие ПТЭ в анамнезе.

Критерии исключения:

1. Беременность и лактация.

2. Менопауза у женщин, возраст старше 50 лет для мужчин.

3. Отсутствие достаточных данных о клиническом течении ППТ (в том числе его костных осложнений, результатов двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии).

4. Нарушение функции щитовидной железы (тиреотоксикоз/гипотиреоз); синдром гиперкортицизма.

5. Сахарный диабет 1-го и 2-го типов.

6. $\text{pСКФ} < 60 \text{ мл/мин./1,73м}^2$.

7. Тяжелые хронические заболевания (цереброваскулярная болезнь, ишемическая болезнь сердца, сердечная, дыхательная или печеночная недостаточность, онкологические заболевания).

8. Прием препаратов, влияющих на минеральный обмен (препараты кальция, активные метаболиты витамина D, тиазидные диуретики, деносумаб, бисфосфонаты, цинакальцет), по данным анамнеза.

Группа сравнения: сППТ

Критерии включения:

1. Возраст старше 18 лет.
2. Лица обоих полов.
3. Диагноз ПГПТ (код МКБ-10 – E21.0) в активной фазе в соответствии с действующими клиническими рекомендациями от 2020 г. [63].

4. Отсутствие мутации в гене *MEN1*, подтвержденное результатами генетического исследования.

5. Отсутствие ПТЭ в анамнезе.

Критерии исключения:

1. Беременность и лактация.
2. Менопауза у женщин, возраст старше 50 лет для мужчин.
3. Отсутствие достаточных данных о клиническом течении ПГПТ (в том числе его костных осложнений, результатов двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии).
4. Нарушение функции щитовидной железы (тиреотоксикоз/гипотиреоз); синдром гиперкортицизма.
5. Сахарный диабет 1-го и 2-го типов.
6. $\text{pСКФ} < 60 \text{ мл/мин/1,73м}^2$.
7. Тяжелые хронические заболевания (цереброваскулярная болезнь, ишемическая болезнь сердца, сердечная, дыхательная или печеночная недостаточность, онкологические заболевания).

8. Прием препаратов, влияющих на минеральный обмен (препараты кальция, активные метаболиты витамина D, тиазидные диуретики, деносумаб, бисфосфонаты, цинакальцет), по данным анамнеза.

Способ формирования выборок: произвольный

Повторный вызов пациентов для динамического исследования проводился через 1 год после проведения ПТЭ. Выбывание из исследования происходило вследствие отказа пациента от динамического исследования, при диагностировании рецидива 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 3.

Инструментальные методы исследования

МРТ, КТ, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия были выполнены в отделении компьютерной и магнитно-резонансной терапии ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ (руководитель — к. м. н. Тарбаева Н. В.). Морфологические исследования на базе референс-центра патоморфологических и иммуногистохимических методов исследования ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ (руководитель — д. м. н. Урусова Л. С.).

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 оценки морфологического варианта опухоли применялась биопсия слизистой желудка. 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 iNsight версии 3.0.2.0) и Lunar iDXA encore (GE Healthcare версия 15; США — трабекулярный костный индекс был измерен при помощи программного обеспечения iNsight версии 3.0.0.0). МПК измерялось 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 использовалось новое программное обеспечение 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 [103]. На практике с использованием модели можно создавать трехмерные изображения (3D) проксимального отдела бедренной кости пациента на основе двумерных снимков (2D), получаемых при рентгеновской денситометрии. Данное исследование получило название 3D-DXA. В отличие от 2D-исследования, 3D-визуализация позволяет выявить преимущественное поражение кортикального или трабекулярного компонента костной ткани, а также локальные повреждения, являющиеся потенциальным источником низкоэнергетических переломов в будущем. Сравнительный анализ между группами проводился как в бедре в целом, так и шейке бедренной кости 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 . Визуализация различий между группами по объемной плотности кортикальной и трабекулярной кости проводилась в двух плоскостях: фронтальной и поперечной. В поперечной плоскости оценка проводилась по трем сечениям: поперечном сечении шейки бедренной кости, межвертельном поперечном сечении и нижнем поперечном сечении проксимальной части диафиза бедренной кости. Визуализация основных поперечных сечений показана на рисунке 4.

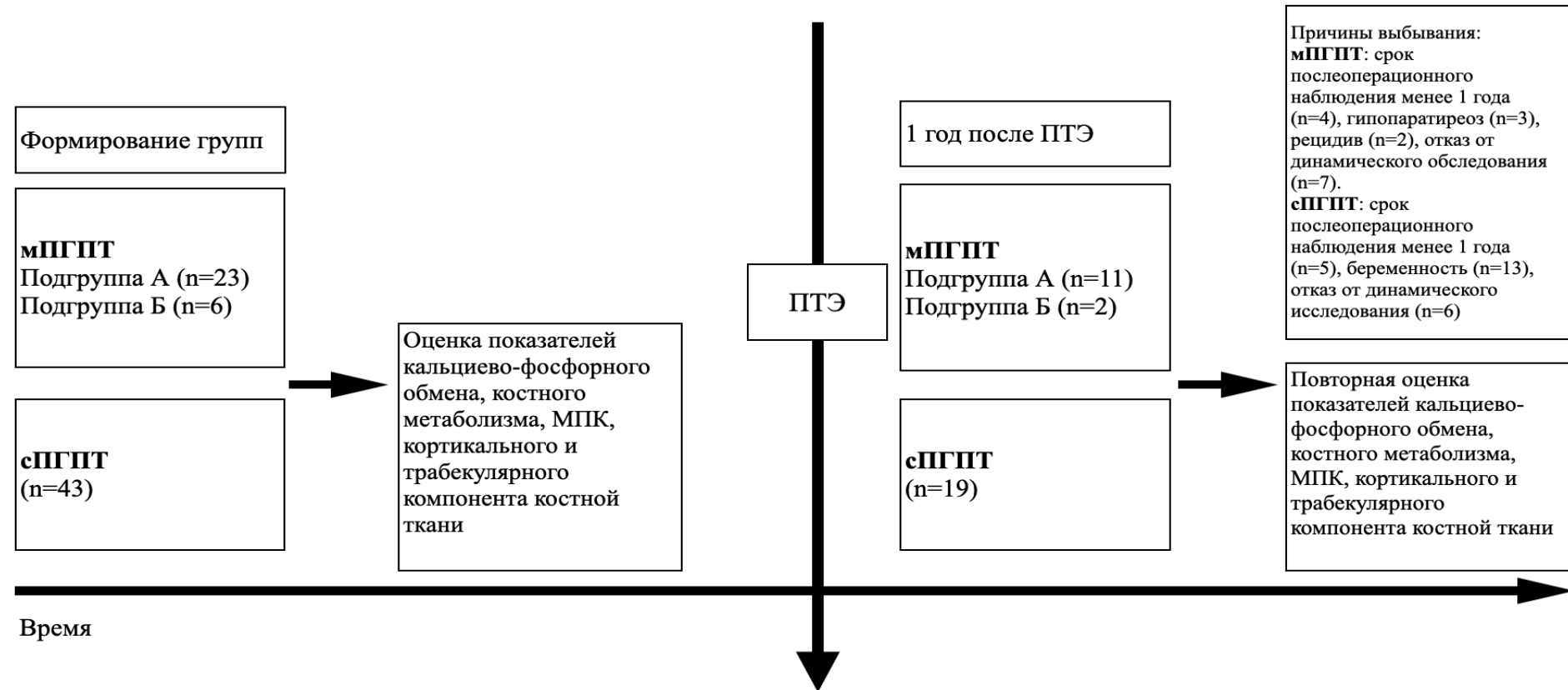


Рисунок 3 — Дизайн второго этапа исследования. Обозначения: мПППТ (МЭН1-ассоциированный первичный гиперпаратиреоз с мутацией в гене *MEN1*); сПППТ (спорадическая форма первичного гиперпаратиреоза с отсутствием мутации в гене *MEN1*); МПК (минеральная плотность кости); ПТЭ (паратиреоидэктомия)

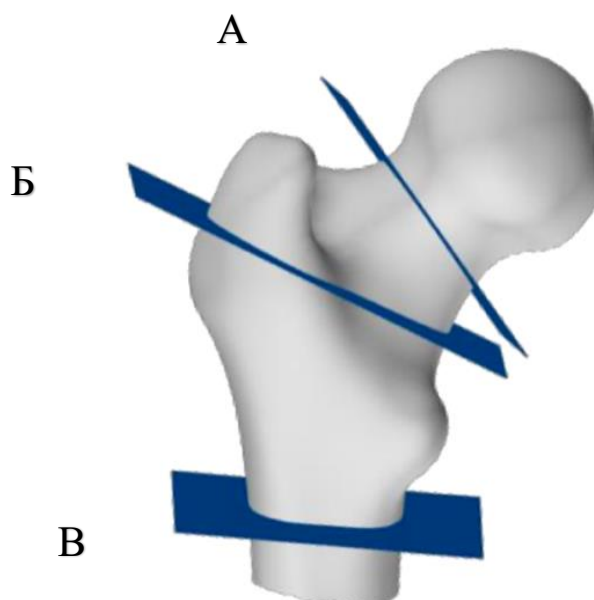


Рисунок 4 — Основные сечения, выполненные в поперечной плоскости для оценки объемной плотности кортикальной и трабекулярной кости (мг/см^3) в проксимальном отделе бедренной кости. А — Поперечное сечение узкой части шейки бедренной кости, проведенное перпендикулярно оси шейки бедра и имеющего минимальную площадь; Б — Межвертельное срединное поперечное сечение; В — Нижнее поперечное сечение проксимальной части диафиза бедренной кости

3D-моделирование проксимального отдела бедренной кости было доступно для 22 пациентов группы мПППТ (подгруппа А+Б) и 37 пациентов группы сПППТ, что было связано с техническими проблемами в интеграции данных DXA в новое программное обеспечение 3D-shaper medical, особенно для сканов пациентов, набранных из архива отделения.

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 ПППТ 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 x (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 расчетной скорости клубочковой фильтрации (pСКФ) 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 выполнялся ночной подавляющий тест с 1 мг дексаметазона (включение в исследование при подавлении сывороточного 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 мПППТ подгрупп А+Б (n = 29) и сПППТ (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 Сенгера на приборе Genetic Analyzer 3500 (Thermo Scientific, США). Выбор метода генетического исследования был обусловлен согласием пациента. Детализация представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Методы верификации мутации в гене *MEN1* в группах мПППТ (А+Б) и сПППТ

Параметр		мПППТ (А+Б)		сПППТ	
		N	n (%)	N	n (%)
1	Секвенирование панели генов	29	9 (31%)	43	16 (37%)
2	Секвенирование гена <i>MEN1</i> по методу Сенгера	29	20 (69%)	43	27 (63%)

Все выявленные варианты были унифицированы и описаны согласно референсной последовательности NM_001370259.2, с присвоением SNP — the single nucleotide polymorphism при наличии. Данные секвенирования были обработаны с помощью автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание чтений в референсной последовательности генома человека (hg38). Клиническая значимость определена на основании рекомендаций Американского колледжа медицинской генетики и геномики — American College of medicine Genetic and Genomics (ACMG) [104] и руководства по интерпретации данных последовательности ДНК человека Медико-генетического научного центра имени академика Н. П. Бочкова [105].

Статистический анализ

Статистический анализ исследуемых групп проводился с использованием пакета прикладных программ Statistica 13 (Tibco, США). Описательная статистика количественных

переменных представлена медианами, первым и третьим квартилем $Me [Q1, Q3]$, 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 коррекции проблемы множественных сравнений использовалась поправка Бенджамини-Хохберга (p_0 -value). Значения p -value интерпретировались как статистически значимые при $p < p_0$ -value. Значения p -value меньше 0,05, но выше уровня статистической значимости интерпретировались как статистическая тенденция. Заполнение пропусков данных не производилось, чтобы исключить смещение выборки.

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.

2.4 Этап 3. Фундаментальное исследование

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 фундаментального исследования использовалась первичная культура фибробластов, полученная методом панч-биопсии у пациента с верифицированной мутацией в гене *MEN1*.

Источник случаев: госпитализация в отделение патологии отделения патологии ОЩЖ и нарушений минерального обмена ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ.

Целевая клеточная линия:

Критерии включения:

1. Наличие верифицированной мутации в гене *MEN1*.
2. Согласие пациента на проведение панч-биопсии.

Критерии исключения:

1. Отказ пациента от проведения панч-биопсии дермы.

Клеточная линия сравнения:

1. Отсутствие мутации в гене *MEN1*.
2. Согласие пациента на проведение панч-биопсии.
3. Сопоставимость по полу с исследуемой линией.

Критерии исключения:

1. Отказ пациента от проведения панч-биопсии дермы.

В качестве сравнения для проведения параллельных дифференцировок в МСК-подобные клетки и остеобласты использовалась линия ИПСК (без мутации в гене *MEN1*), полученная коллективом лаборатории клеточных технологий ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ от здорового донора и используемая как референсная для изучения редких генетических заболеваний в экспериментах с использованием ИПСК. Контроль отсутствия мутации в линии сравнения проводился методом Сенгера на приборе Genetic Analyzer 3500, Thermo Scientific, США.

Для решения **задачи 4** у пациента с синдромом МЭН1 методом панч-биопсии дермы была получена первичная культура фибробластов. Подтверждение наличия мутации в гене *MEN1* было выполнено путем полного секвенирования гена *MEN1* методом Сенгера на приборе Genetic Analyzer 3500, Thermo Scientific, США. Далее клетки были репрограммированы в ИПСК 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).

Культивирование ИПСК осуществлялось в среде для поддержания плюрипотентности (mTeSR™ Plus Basal Medium, Stem cell technology, # 100–0276, Канада). В качестве матрикса использовался (Matrigel hESC-qualified; Corning #354277; США). 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 эмбрионидные тельца — трехмерные агрегаты, состоящие из трех зародышевых листков: эктодермы, энтодермы и мезодермы. Для иммуноцитохимического окрашивания на маркеры плюрипотентности использовались следующие антитела: Anti-(TRA-1–60), DyLight™ 488, MA1-023-D488X, # MA1-023-D488X, Thermo scientific, США; Anti-SOX2 ab97959, Abcam, США; Anti-OCT4 ab19857, Abcam, США.

Для получения эмбрионидных телец применялось культивирование на низкоадгезивном 6-луночном планшете Cell culture plate, non-treated; # 30720016, Eppendorf; Германия с использованием среды для ИПСК (mTeSR™ Plus Basal Medium, Stem cell technology, # 100–0276, Канада). Через 3 дня культивирования проводилась пересадка клеточных агрегатов на матрикс Animal Component-Free Cell Attachment Substrate, #07130, Stem cell technology, Канада; с заменой среды для культивирования на базовую (DMEM/F-12 — смесь минимальной необходимой среды Игла, модифицированной по способу Дульбекко, и питательной смеси F-12 Хэма в соотношении 1:1, FBS — фетальная бычья сыворотка и глюкоза 1 г/л) На 7-й день культивирования проводилась фиксация эмбрионидных телец с использованием 4%-го параформальдегида (Formaldehyde Solution, #28908, Thermo Scientific, США). Для иммуноцитохимического окрашивания использовались следующие антитела: Anti-CXCR4 ab124824, Abcam, США; Anti-FOXA1 ab237338, Abcam, США; Anti-Cytokeratine 19, ab52625, Abcam, США (маркеры энтодермы); Anti-Brachyury, ab 20680, Abcam, США (маркер мезодермы); Anti-NeuroD1 ab60704, Abcam, США; Anti-beta III Tubulin antibody, G7121, Promega, США (маркеры эктодермы). В качестве вторичных антител для иммуноцитохимического окрашивания применялись: Alexa Fluor 488 goat anti-mouse IgG (H+L) Cross-absorbed Secondary Antibody, #A11001; Thermo scientific, США; Alexa Fluor 594 goat anti-mouse IgG (H+L) Cross-absorbed Secondary Antibody, #A11037; Thermo scientific, США.

Для получения остеобластов на первом этапе осуществлялось получение их предшественников — МСК-подобных клеток. В качестве контроля на каждом из этапов дифференцировки использовались клетки, полученные из линии ИПСК здорового донора

женского пола (с отсутствием мутации в гене *MEN1*). Дифференцировка обеих линий на различных этапах осуществлялась параллельно при одинаковых условиях культивирования в трех повторностях.

Индукция ИПСК в МСК-подобные клетки осуществлялась на 3-й день с использованием коммерческого набора STEMdiff™ Mesenchymal Progenitor Kit; # 05250, Stem cell technology, Канада). До начала фазы индукции культивирование ИПСК осуществлялось с использованием среды TeSR™ Pluripotent Stem Cell Culture Media, Stem cell technology, Канада; в качестве матрикса использовался Matrigel® hESC-Qualified Matrix, Corning. Смена среды осуществлялась каждые 2 дня в полном объеме. Далее экспансия клеточной массы проводилась при помощи MesenCult™ MSC Basal Medium, Stem cell technology, Канада. Начиная с 2-го пассажа матрикс заменялся на Animal Component-Free Cell Attachment Substrate; #07130; Stem cell technology, Канада. Для подготовки к высокоточному сортированию проводилось последовательное увеличение площади культивирования (до 75 см² и более). После снижения пролиферативной способности клеток (начиная с 10–14-го дня культивирования), пассирование проводилось в пропорции 15 000 тыс. клеток/см². Начиная с третьего пассажа использовался энзиматический реагент ввиду повышения адгезии клеток: ACF Enzymatic Dissociation Solution, Stem cell technology, Канада. Начиная с 16-го дня дифференцировки осуществлялась последовательная замена коммерческой среды культивирования на базовую (DMEM/F-12 — смесь минимальной необходимой среды Игла, модифицированной по способу Дульбекко, и питательной смеси F-12 Хэма в соотношении 1:1, FBS — фетальная бычья сыворотка и глюкоза 1 г/л) Пропорция среды была пошагово увеличена по отношению к коммерческой (10% базовая среда: 90% коммерческая). Шаг в 10% применяется при каждой новой смене среды.

На 25-й день протокола проводился анализ эффективности дифференцировки МСК-подобных клеток и их сортировка на цитометр-сортере (Sony MA900; Sony, Япония) с использованием набора антител (Stemflow™ Human MSC Analysis Kit, BD, # 562245, США). Целевая популяция МСК-подобных клеток была отсортирована по ключевым маркерам МСК — CD90/CD105/CD73. Дополнительно исключались клетки, экспрессирующие эндотелиальные и гемопоэтические маркеры CD45/CD34/CD11b/CD19/HLA-DR. Полученная гомогенная популяция МСК-подобных клеток была использована для дальнейшей дифференцировки 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. Для детекции депозитов кальция в полученных культурах использовалась качественная реакция с использованием Alizarin Red Staining, # A5533-25G, Sigma-Aldrich, США. Этапы фундаментального исследования представлены на рисунке 5.

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. Выделение РНК осуществлялось согласно протоколу производителя для набора AllPrep DNA/RNA Kit, Qiagen, Германия. 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. Контроль качества образцов РНК осуществлялся путем измерения чистоты РНК методом спектрофотометрии на приборе BioSpectrometer basic, Eppendorf, Германия и флуориметрии на приборе Qubit 4 Fluorometer, ThermoFisher Scientific, США с использованием набора Qubit™ RNA High Sensitivity (HS), ThermoFisher Scientific, США. Целостность РНК была оценена путем определения RNA Integrity Number (RIN) с помощью прибора 5200 Fragment Analyzer, Agilent, США и набора HS RNA 1–6000 nt, Agilent, США. Для обогащения образцов матричной РНК и подготовки библиотек использовался набор NEBNext® Ultra II Directional RNA Library Kit, Illumina, США. В состав данного набора входят магнитные частицы с иммобилизованными на них поли(Т) олигонуклеотидами, которые по принципу комплементарности связываются с полиаденилированными 5' концами матричной РНК. После связывания мРНК с магнитными частицами проводилась реакция синтеза кДНК (комплементарной ДНК). Очистка кДНК производилась с помощью магнитных частиц SPRIselect Beads, Beckman Coulter, США. Полученная и очищенная кДНК использовалась для дальнейших этапов приготовления библиотек: репарации концов, лигирования адапторов и полимеразной цепной реакции с баркодированием. Далее библиотеки очищали с помощью магнитных частиц SPRIselect Beads, Beckman Coulter, США. Оценка качества библиотек проводилась на приборе Qubit 4 Fluorometer, ThermoFisher Scientific, США с помощью набора dsDNA Quantitation, High Sensitivity, BioDynamid, США. Определение состава готовых библиотек проводилось с помощью прибора 5200 Fragment Analyzer, Agilent Technology, США с

использованием набора Agilent DNF-474 HS NGS Fragment Kit, Aligent Technology, США. Средняя длина фрагментов составила — 310 пар нуклеотидов.

Статистический и биоинформатический анализ результатов транскриптного анализа

Статистический и биоинформатический анализ результатов транскриптного анализа выполнен совместно с биоинформатиком группы функциональной транскриптомики на базе ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава РФ Девятяровым Р. М. (руководитель группы — к.б.н. Гусев О. А.).

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. Качество секвенирования библиотек оценивалось с помощью программы FastQC (версия 0.11.5, <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>, Институт Бабрахама, Великобритания). Удаление последовательностей комплементарных адаптеров и рибосомальной РНК выполнено с помощью программного обеспечения Trimmomatic (версия 0.38, <http://www.usadellab.org/cms/?page=trimmomatic>, Рейнско-Вестфальский технический университет Ахена, Германия). Далее прочтения были выравнены на референсную последовательность генома человека (hg38) с помощью STAR (версия 2.7.10a, <https://github.com/alexdobin/STAR>, Лаборатория Колд-Спринг-Харбор, США). Подсчет выравненных прочтений осуществлялся с помощью HTSeq (версия 2.0.1, https://htseq.readthedocs.io/en/release_0.11.1/count.html, Европейская молекулярно-биологическая лаборатория, Германия) по генным моделям Gencode (базовая версия 43). 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).

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*».

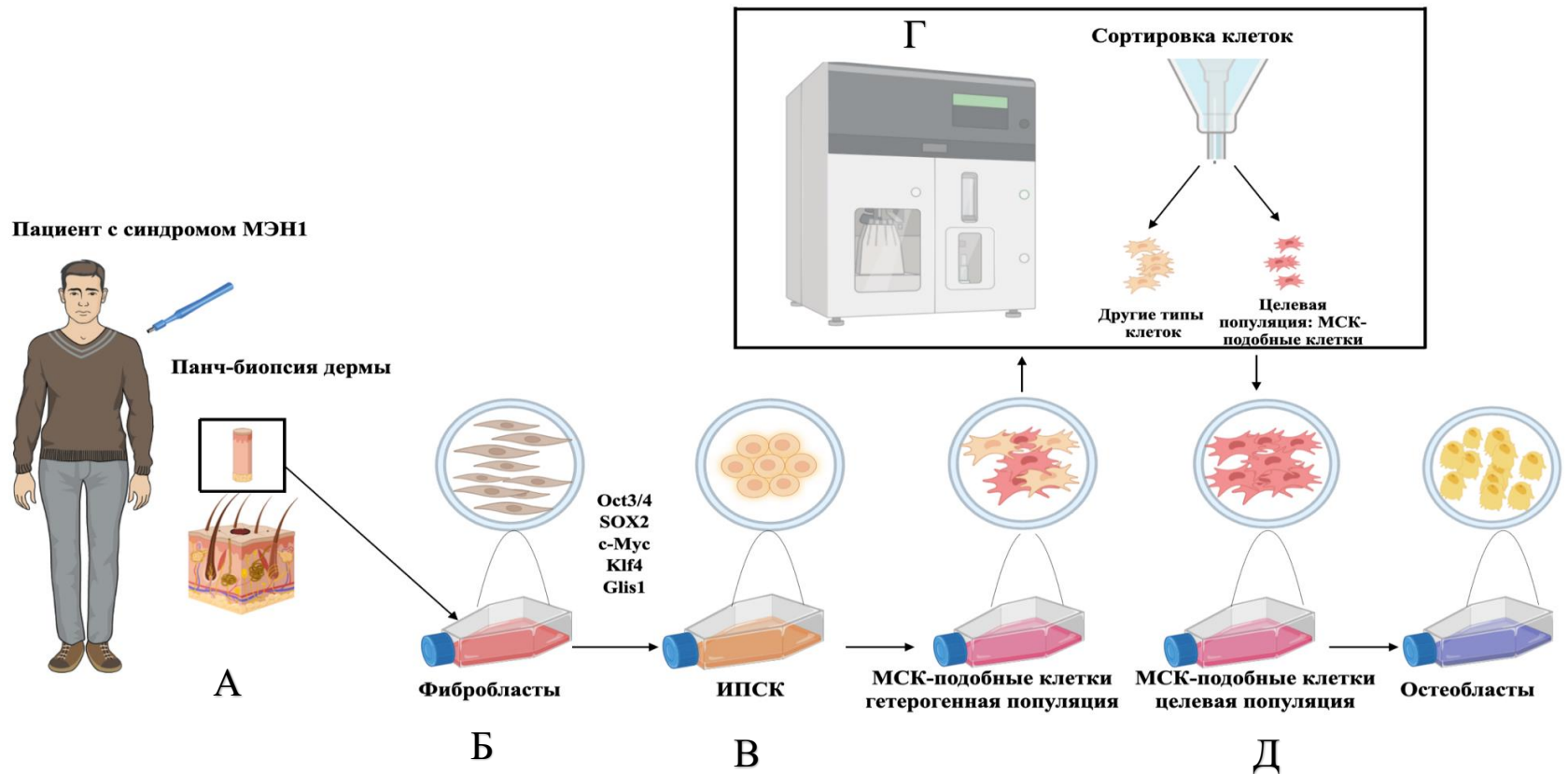


Рисунок 5 — Этапы фундаментального исследования. А — Получение и культивирование панч-биопсии дермы донора; Б — Репрограммирование фибробластов человека в ИПСК методом трансфекции факторов плюрипотентности (Oct3/4;SOX2;c-Myc;Klf4;Glis1); В — Дифференцировка ИПСК в МСК-подобные клетки; Г — Сортировка полученной популяции МСК-подобных клеток, получение «чистой популяции» экспрессирующей CD90/CD105/CD73 и неэкспрессирующей CD45/CD34/CD11b/CD19/HLA-DR; Д — Дифференцировка МСК-подобных клеток в остеобласты

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Клинико-лабораторные характеристики и особенности костных нарушений у пациентов с МЭН1-ассоциированным ПГПТ по результатам клинико-эпидемиологического мониторинга ПГПТ на территории РФ

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). Распределение пациентов по возрастным группам представлено на рисунке 6.

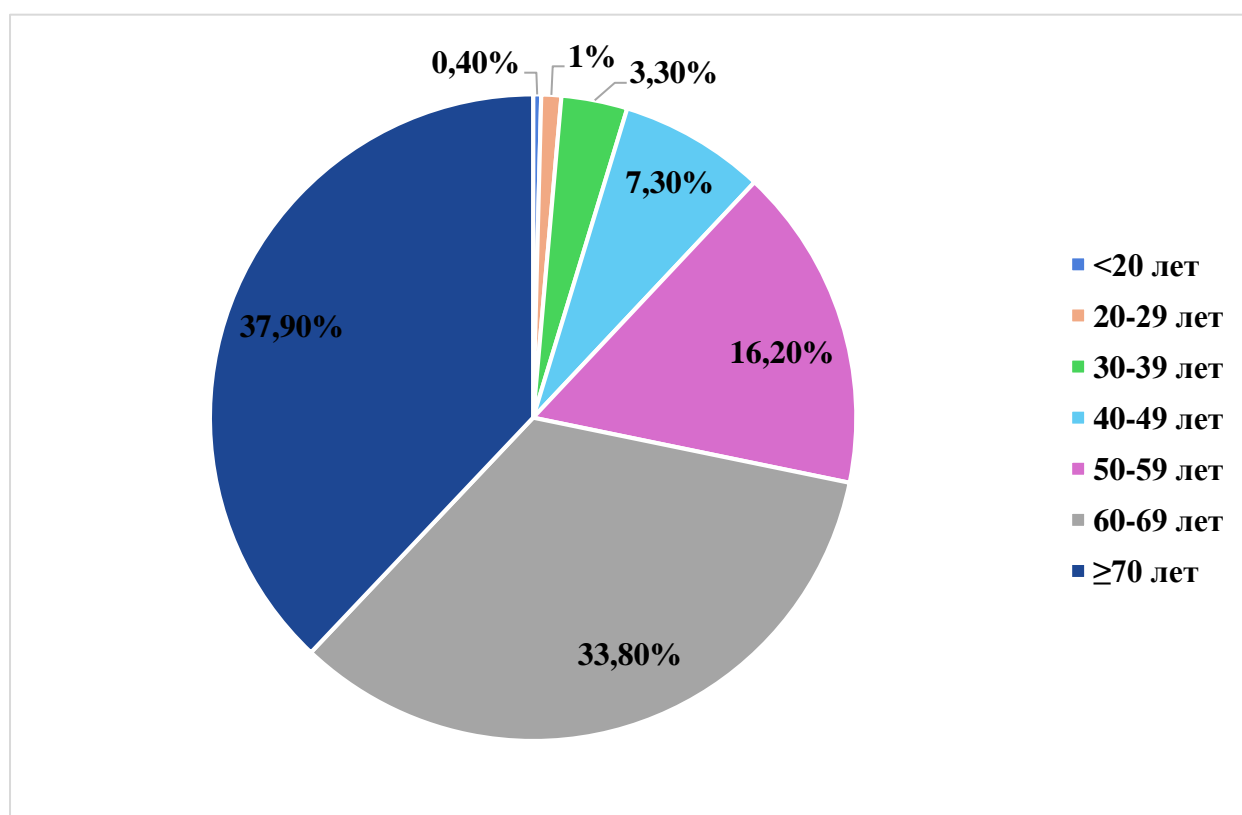


Рисунок 6 — Распределение пациентов с ПГПТ по возрастным группам (n=6 480).

Из общего числа пациентов подозрение на наследственную причину ПГПТ было установлено в 13% случаев ($n = 837/6480$). Описательная статистика данной группы представлена в таблице 2. Случаи генетически верифицированного мПГПТ ($n = 108$) ПГПТ в активной фазе заболевания на момент первого визита были подтверждены у 86 пациентов. Описательная статистика данной группы представлена в таблице 3. Исследуемая выборка репрезентативна,

поскольку распространенность мПГПТ среди спорадических форм заболевания составила 2% (108/6480), что согласуется с зарубежными исследованиями по данной нозологии [10].

Таблица 2 — Описательная статистика пациентов с подозрением на наследственную причину ПГПТ (n = 837)

Параметр		Пациенты с подозрением на наследственную причину ПГПТ	
		N	n (%)
1	Наличие двух и более МЭН1-ассоциированных образований	837	346 (41%)
2	Обследование на предмет аденомы гипофиза	837	471 (56%)
3	Подтвержденные случаи аденомы гипофиза	471	183 (39%)
4	Обследование на предмет НЭН ПЖ	837	449 (54%)
5	Подтвержденные случаи НЭН ПЖ	449	105 (23%)
6	Обследование на предмет новообразований надпочечников	837	467 (56%)
7	Подтвержденные случаи новообразования надпочечников	467	179 (38%)
8	Изолированный ПГПТ	837	449 (54%)
9	Проведение генетического анализа на наличие мутации в гене <i>MEN1</i>	837	161 (19%)
10	Подтверждение наличие мутации в гене <i>MEN1</i> по результатам генетического исследования	161	108 (67%)
11	Отягощенный семейный анамнез у лиц с верифицированной мутацией в гене <i>MEN1</i>	108	27 (25%)

Таблица 3 — 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 (%)
1	Множественное поражение ОЩЖ	86	28 (33%)
2	Сочетание ПГПТ с аденомой гипофиза	86	55 (64%)

Продолжение таблицы 3

3	Сочетание ПГПТ с НЭН ПЖ	86	41 (48%)
4	Сочетание ПГПТ с опухолями надпочечников	86	39 (45%)
5	Сочетание ПГПТ с НЭН тимуса	86	2 (2%)
6	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. рСКФ была выше у пациентов с мПГПТ по сравнению с ПГПТ ($p \leq 0,001$), что наиболее вероятно связано с более старшим возрастом пациентов со спорадическим заболеванием. 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 4.

Таблица 4 — Сравнительный анализ основных клинико-лабораторных характеристик пациентов с мПГПТ и сПГПТ

Параметр		мПГПТ		ПГПТ		p-value p ₀ -value
		N	Me [Q ₁ ; Q ₃] или n (%)	N	Me [Q ₁ ; Q ₃] или n (%)	
1	Мужской пол	86	24 (28%)	3599	234 (7%)	p<0,001 ² p ₀ =0,004
2	Возраст при манифестации, лет	86	32 [25; 47]	3599	61 [53; 67]	p<0,001 ¹ p ₀ =0,007
3	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
4	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

Продолжение таблицы 4

5	Альбумин-скорр. кальций, ммоль/л	11	2,80 [2,67; 2,97]	3451	2,68 [2,58; 2,83]	$p=0,382^1$ $p_0=0,039$
6	Фосфор, ммоль/л	58	0,90 [0,77; 1,04]	2505	0,89 [0,77; 1,01]	$p=0,565^1$ $p_0=0,043$
7	ПТГ, пг/мл	86	144,6 [97,8; 221,5]	3570	135,0 [93,0; 210,8]	$p=0,364^1$ $p_0=0,036$
8	Суточная кальциурия, ммоль/сут.	26	8,25 [5,83; 10,08]	1662	7,50 [4,91; 10,09]	$p=0,636^1$ $p_0=0,046$
9	СКФ-ЕРІ мл/мин./1,73м ²	63	103 [83; 119]	2528	77 [62; 90]	$p<0,001^1$ $p_0=0,011$
10	Симптомная форма	86	58 (67%)	3599	2928 (81%)	$p=0,002^2$ $p_0=0,021$
11	Изолированные костные нарушения	61	23 (38%)	2846	773 (27%)	$p=0,081^2$ $p_0=0,032$
12	Изолированная патология почек	86	14 (16%)	3599	641 (18%)	$p=0,886^2$ $p_0=0,050$
13	Сочетание костных и почечных осложнений	76	10 (13%)	3327	1037 (31%)	$p=0,001^2$ $p_0=0,018$
14	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).						

Для исключения возраст-ассоциированного влияния на состояние костной ткани, являющееся значимым ограничением при сравнении групп, последующая оценка результатов денситометрии проводилась только у пациентов молодого возраста. В сформированных группах пациентов с мПГПТ и сПГПТ молодого возраста также оценивалась рСКФ, являющаяся независимым фактором, влияющим на МПК. Согласно полученным результатам, 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 со сПГПТ. По другим отделам статистически значимых различий между группами выявлено не было. Детализация результатов представлена в таблицах 5.

Таблица 5 — Оценка МПК по Z-критерию в группах пациентов молодого возраста с мПГПТ и сПГПТ

Параметр		мПГПТ молодой возраст		ПГПТ молодой возраст		p-value p ₀ -value
		N	Me [Q1; Q3] или n (%)	N	Me [Q1; Q3] или n (%)	
1	Возраст при манифестации, лет	66	28 [19; 35]	1094	42 [35; 47]	p<0,001¹ p ₀ =0,004
2	СКФ-ЕРІ мл/мин./1,73м ²	45	111 [95;123]	744	94 [78; 106]	p <0,001¹ p ₀ =0,008
3	Z-критерий $\leq -2,0$ SD (FN)	29	14 (48%)	402	100 (25%)	p=0,009² p ₀ =0,013
4	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
5	Z-критерий $\leq -2,0$ SD (TH)	23	6 (26%)	241	48 (20%)	p=0,587 ² p ₀ =0,046
6	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
7	Z-критерий $\leq -2,0$ SD (LS)	33	14 (42%)	464	135 (29%)	p=0,241 ² p ₀ =0,029
8	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
9	Z-критерий $\leq -2,0$ SD (R33%)	18	8 (44%)	289	100 (35%)	p=0,449 ² p ₀ =0,042
10	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
11	Z-критерий $\leq -2,0$ SD (RT)	18	6 (33%)	231	67 (29%)	p=0,789 ² p ₀ =0,050
12	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
<p><i>Примечание:</i> сравнение показателей с использованием критерия Манна-Уитни (¹U-тест) и точного двустороннего критерия Фишера (²ТФК₂). Статистически значимые параметры выделены полужирным шрифтом (при p<p₀-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).</p>						

Результаты раздела 3.1 опубликованы в статье Пылина С. В. и соавт [106].

Выборки пациентов Базы данных с мПГПТ и сПГПТ, используемые для оценки клинико-лабораторных характеристик и костного фенотипа, репрезентативны, поскольку включают данные о пациентах из медицинских учреждений 81 региона РФ различных уровней (от I–IV), что исключает смещение выборки в сторону более тяжелых случаев. Возрастные характеристики групп соответствуют среднему возрасту манифестации заболевания при обеих нозологических формах (мПГПТ 20–35 лет против сПГПТ 55–70 лет) [1,2]. Противоречивые данные о распространенности мПГПТ среди мужчин и женщин не позволяют в полной мере оценить выборку по половому признаку. Классическое описание о равной распространенности мПГПТ среди мужчин и женщин (1:1) [1] подтверждено в результатах Испанского регистра [8], а по данным других зарубежных регистров по изучению синдрома МЭН1, мПГПТ преобладает среди женщин в различных соотношениях по сравнению с мужчинами [107–109]. Спорадическая форма заболевания преимущественно встречается у женщин (соотношение 1:3) [1], при этом с наступлением менопаузы число женщин в структуре заболеваемости увеличивается, и соотношение может составить 1:4 и более [110]. В ранее опубликованных результатах используемой Базы данных в возрасте 50 лет и более число женщин с сПГПТ превосходило мужчин в 16 раз [55], что согласуется с результатами нашего исследования.

Обобщая вышеизложенное, можно сделать вывод: 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 бóльшей частотой снижения МПК относительно возрастных значений в шейке бедренной кости.

3.2 Обсуждение результатов сравнительного анализа групп с использованием Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга ПГПТ на территории РФ

В настоящее время в мире имеется несколько баз данных пациентов с МЭН1-ассоциированным ПГПТ, в том числе в Испании, Италии, Франции, Бельгии и Японии [8, 57, 107, 109]. Все упомянутые реестры были многоцентровыми и включали достаточно большое

количество пациентов — от 89 в испанском и до 506 пациентов в японском исследованиях. Возраст постановки диагноза ПГПТ в нашей группе был сопоставим с данными Флорентийской базы данных и исследования GENEM ($39,5 \pm 13,3$ лет), в японской популяции заболевание манифестировало значительно позже ($46,8 \pm 13,1$ лет). При этом не все регистры включают результаты оценки МПК (в частности, DXA). Только в работе Marini F. и соавт. [56] проведено детальное описание особенностей костного фенотипа при мПГПТ в разных возрастных группах. Однако, сравнительный анализ клинико-лабораторного профиля и тяжести костных нарушений при мПГПТ/сПГПТ в данном исследовании не проводился.

Более мягкие отклонения в показателях минерального обмена, описанные ранее как более характерные для группы мПГПТ [9, 11, 12], не находят подтверждения в наших результатах наряду с высокой частотой симптомной формы заболевания 58 (67%). Не исключено, что выявленные изменения могут быть особенностью манифестации мПГПТ в российской популяции, а также являться результатом отсутствия систематического скрининга патологии минерального обмена, в том числе в группах риска. В проведенном нами исследовании пациенты с мПГПТ были моложе пациентов со спорадической формой заболевания (32 против 61 года; $p \leq 0,001$), что сопоставимо со средним возрастом манифестации мПГПТ в итальянском регистре и исследовании GENEM ($39,5 \pm 13,3$ лет) [107, 109]. В японской популяции мПГПТ манифестировал значительно позже ($46,8 \pm 13,1$ лет), однако в случае семейных форм возраст постановки диагноза составил $39,8 \pm 14,6$ лет [57], что может быть связано с более прицельным диспансерным наблюдением за данной категорией пациентов.

В общей выборке пациентов с ПГПТ и в когорте мПГПТ женский пол преобладал над мужским (1:12 и 1:2,7 соответственно), что соотносится с данными Итальянского регистра по изучению МЭН1 [108], включавшего 64% женщин (259/405) и 36% мужчин (146/405). Преобладание женщин в изучаемой нами группе мПГПТ может быть связано с их большей обращаемостью за медицинской помощью. Также может сказываться и большая настороженность среди женского пола в отношении костных нарушений, что часто и служит поводом для первичного обращения к эндокринологу с последующей постановкой диагноза мПГПТ.

При оценке распространенности осложнений в когорте пациентов с мПГПТ изолированные костные нарушения (38%, 23/61) преобладали над почечными (16%, 14/86) и сочетанными осложнениями (13%, 10/76), что отличается от структуры ПГПТ-ассоциированных осложнений при мПГПТ по данным Итальянского регистра [107], где на первом месте по

распространенности был нефролитиаз (25,9%, 36/139), а частота изолированной костной и сочетанной патологии не различалась (6,5%, 9/139). Данные по сравнительному анализу распространенности ПГПТ-ассоциированных осложнений при мПГПТ и сПГПТ противоречивы, что, прежде всего, обусловлено малыми выборками и различным дизайном исследований. В ряде работ [9, 11, 12] отмечена более высокая частота нефролитиаза/нефрокальциноза в группе мПГПТ по сравнению с сПГПТ. Однако в исследовании Eller-Vainicher С. и соавт. [10] различий по частоте осложнений со стороны почек между группами не было выявлено (61,1% при мПГПТ против 53,6% при сПГПТ, $p = 0,615$), что соотносится с полученными нами результатами: группы были сопоставимы по частоте изолированных костных нарушений ($p = 0,081$) и патологии почек ($p = 0,086$). Несмотря на то что различия не достигли статистической значимости, можно отметить высокий процент поражения костной ткани в исследуемой группе мПГПТ (38%).

В отличие от ранее проведенных пилотных исследований [9, 10, 11, 12, 72, 74] сравнительный анализ костных нарушений между группами МЭН1-ассоциированного и спорадического ПГПТ в нашей работе проводился только для лиц молодого возраста, что позволило исключить возраст-ассоциированное влияние на костную ткань, а оценка МПК по Z-критерию была выполнена не только в поясничном отделе позвоночника и бедренной кости, но и в лучевой кости. При более детальном анализе результатов рентгеновской денситометрии нами была выявлена более высокая частота снижения МПК относительно возрастных значений в шейке бедренной кости ($p = 0,009$). Полученные результаты свидетельствуют о том, что костный фенотип при мПГПТ значимо отличается от спорадической формы заболевания.

Отдельно стоит остановиться на ограничениях, связанных с оценкой крупных баз данных при изучении мПГПТ ассоциированных костных нарушений на данном этапе исследования. Во-первых, низкий охват генетическим скринингом 2,48% (161/6480) не позволяет проводить корректное сравнение между группами мПГПТ и сПГПТ, особенно у пациентов молодого возраста, если мПГПТ является единственным проявлением МЭН1. Во-вторых, доступность данных денситометрического исследования на момент манифестации заболевания ограничена, при этом для анализа были доступны только суррогатные показатели МПК (Z- и T-критерий), а не абсолютные значения. Еще одним значимым ограничением является отсутствие информации о гормональной активности других компонентов синдрома, а также ассоциированной с ними терапии (не входит в карту Базы данных).

3.3 Результаты сравнительного анализа костно-метаболических нарушений между группами МЭН1-ассоциированного ПГПТ и спорадической формой заболевания

Возможности получения качественной и полной информации из крупных баз данных (в том числе регистров) ограничены такими существенными факторами, как отсутствие единых электронных карт, являющихся необходимой основой для качественного заполнения полей Базы данных, ограничение лабораторных и инструментальных, генетических возможностей в различных медицинских организациях, пропуски данных и др. Учитывая выявленные на предыдущем этапе ограничения, для оценки особенностей костного фенотипа при мПГПТ по сравнению со спорадической формой заболевания набор пациентов в специализированном отделении осуществлялся только при соответствии жестким критериям включения/исключения в исследование. Оценка МПК производилась по абсолютным показателям, кроме того, анализировался тип костной ткани, наиболее вовлеченный в патологический процесс. Согласно разработанному дизайну исследования, в группу мПГПТ было включено 29 пациентов, в группу сПГПТ — 43 пациента. Обе группы были сопоставимы по полу и возрасту, длительности течения ПГПТ, а также распространенности основных осложнений ПГПТ. У 19 из 29 (66%) пациентов мПГПТ был первым и единственным гормонально-активным компонентом синдрома МЭН1. Количество низкоэнергетических переломов также не различалось в обеих группах (таблица 6). У двух пациентов из подгруппы А был подтвержден фиброзно-кистозный остеит.

Оцениваемые выборки нельзя считать репрезентативными, поскольку набор пациентов осуществлялся только в ГНЦ РФ ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» — медицинской организации IV уровня, что может приводить к набору пациентов с более тяжелыми формами заболевания. В полученных выборках выявлено равное распределение пациентов по полу и возрасту, что повышает репрезентативность результатов исследования в отношении костной патологии, однако не может в полной мере отражать генеральную совокупность по обеим нозологиям.

Таблица 6 — 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 (%)	
1	Возраст на момент включения в исследование, лет	29	35 [25;39]	43	34 [30;38]	p=0,721 ¹ p ₀ =0,017
2	Длительность ПГПТ, лет	29	1 [0;2]	43	1 [0;1]	p=0,907 ¹ p ₀ =0,033

Продолжение таблицы 6

3	Мужской пол	29	6 (21%)	43	5 (12%)	$p=1,000^2$ $p_0=0,050$
4	Наличие переломов	29	2 (7%)	43	4 (9%)	$p=0,366^2$ $p_0=0,008$
5	Нефролитиаз	29	15 (52%)	43	26 (60%)	$p=0,737^2$ $p_0=0,025$
6	Суммарная частота костных нарушений	29	13 (30%)	43	12 (41%)	$p=0,974^2$ $p_0=0,042$
Примечание: 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 мППТ была разделена на 2 подгруппы: подгруппу А, где единственным гормонально-активным компонентом синдрома МЭН1 был мППТ, но при этом наблюдались гормонально-неактивные образования: НЭН ПЖ ($n = 12$), аденомы гипофиза ($n = 3$) и узелковая гиперплазия надпочечников ($n = 1$); подгруппу Б, где помимо мППТ 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 ПЖ ($n = 3$), карциноид легкого ($n = 1$), узелковая гиперплазия надпочечников ($n = 1$) и НЭН двенадцатиперстной кишки ($n = 1$). В группе сППТ за исключением ПППТ определялись гормонально-неактивные инциденталомы гипофиза ($n = 3$). Различий по основным показателям кальциево-фосфорного обмена, а также маркерам костного метаболизма между группами мППТ и сППТ не выявлено. Статистически значимые различия были получены как по абсолютным значениям МПК, так и по Z-критерию в поясничном отделе позвоночника, шейке бедренной кости, бедре в целом и дистальной трети лучевой кости. Выявленные различия сохраняли свою значимость при отдельном сопоставлении подгруппы А со спорадической формой заболевания. Значения ТКИ, отражающего состояние микроархитектоники в поясничном отделе позвоночника, были сопоставимы. При анализе результатов 3D-DXA проксимального отдела бедренной кости было получено, что в группе мППТ по сравнению со сППТ как поверхностные, так и объемные показатели плотности кортикальной кости в шейке бедра и бедре в целом были статистически значимо ниже. Данное различие сохраняло свою значимость и после дополнительного сопоставления сППТ с мППТ 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. Детализация описанных результатов представлена в таблице 7.

По результатам 3D-визуализации процентной разницы по основным показателям кортикальной кости между группами мПГПТ характеризуется преимущественным снижением толщины и поверхностной плотности кортикальной кости по сравнению с сПГПТ (рисунок 7). При сравнении групп по объемной плотности кортикальной и трабекулярной кости у пациентов с мПГПТ выявлена более выраженная деминерализация костной ткани в периферических отделах бедренной кости во всех оцениваемых плоскостях и сечениях (рисунок 8).

Таким образом, костный фенотип при мПГПТ значительно отличается от такового при сПГПТ: 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; снижение объемной плотности трабекулярной кости отмечено только в шейке бедра.

Таблица 7 — 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]	p-value p ₀ -value U-тест	p-value p ₀ -value U-тест
1	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
2	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
3	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
4	pСКФ, 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
5	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
6	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
7	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

Продолжение таблицы 7

8	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
9	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
10	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 =0,013	p=0,002 p ₀ =0,015
11	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=0,007 p ₀ =0,023	p=0,019 p ₀ =0,023
12	МПК TH, 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 =0,002	p <0,001 p ₀ =0,002
13	Z-критерий TH	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 =0,003	p=0,001 p ₀ =0,010
14	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 <0,001 p ₀ =0,006	p <0,001 p ₀ =0,003
15	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=0,001 p ₀ =0,015	p=0,001 p ₀ =0,012
16	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=0,037 p ₀ =0,033	p=0,071 p ₀ =0,033
17	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
18	ТКИ (ПИ>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
19	Поверхностная плотность кортикальной кости TH, 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

Продолжение таблицы 7

20	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
21	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
22	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
23	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
24	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
25	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
26	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: pСКФ — 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).

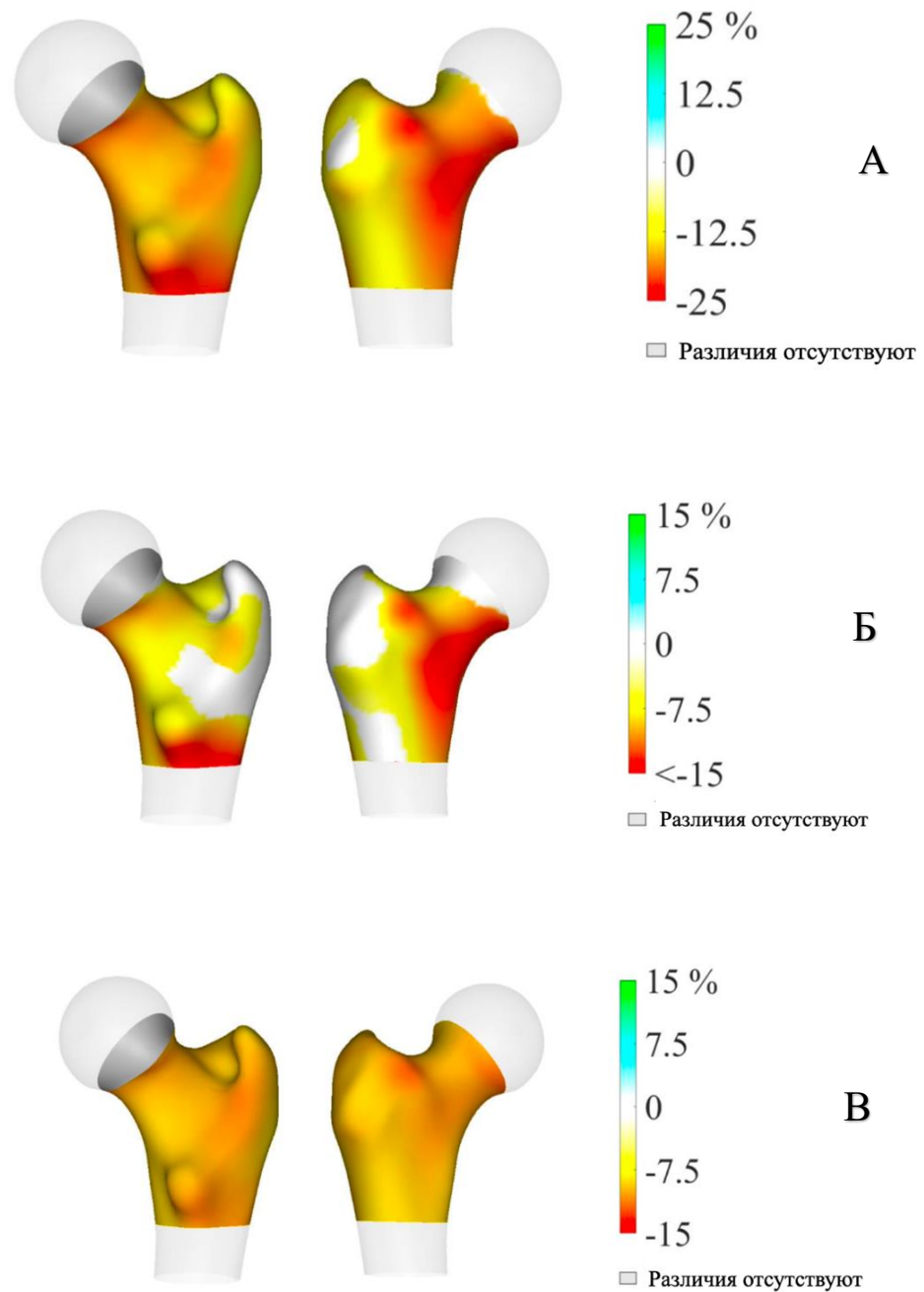


Рисунок 7 — 3D-визуализация процентной разницы по основным показателям кортикального компонента проксимального отдела бедренной кости между мПППТ (подгруппы А+Б)/сПППТ до проведения ПТЭ. А — Поверхностная плотность кортикальной кости (mg/cm^2); Б — Толщина кортикальной кости (мм); В — Объемная плотность кортикальной кости (mg/cm^3). Наиболее низкие значения в группе мПППТ по сравнению с сПППТ представлены в желто-красном цветовом диапазоне. В сером диапазоне представлены значения, не отличающиеся в обеих группах

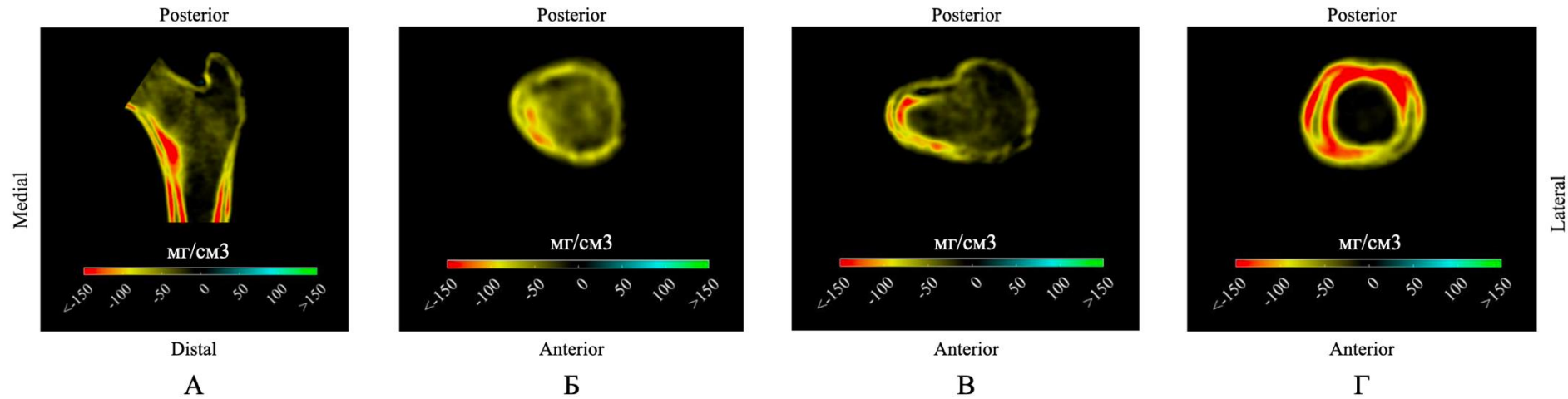


Рисунок 8 — Визуализация различий в объемной плотности кортикальной и трабекулярной кости (мг/см^3) между группами мПППТ (подгруппы А+Б)/сПППТ до ПТЭ в различных плоскостях. А — Бедренная кость во фронтальной плоскости; Б — Поперечное сечение узкой части шейки бедренной кости, проведенное перпендикулярно оси шейки бедра и имеющего минимальную площадь; В — Межвертельное срединное поперечное сечение; Г — Нижнее поперечное сечение проксимальной части диафиза бедренной кости. Наиболее низкие значения в группе мПППТ по сравнению с сПППТ представлены в желто-красном цветовом диапазоне. В черном диапазоне представлены значения, не отличающиеся в обеих группах

3.4 Обсуждение результатов сравнительного анализа костно-метаболических нарушений между группами пациентов мПГПТ/сПГПТ

При анализе пациентов, набранных в условиях специализированного отделения, различий по уровню ПТГ, кальция и фосфора в группах мПГПТ и сПГПТ не выявлено. Возможным объяснением полученных результатов является сравнительно небольшая продолжительность ПГПТ в обеих группах: мПГПТ 1 [0;2] год против сПГПТ 1 [0;1] год соответственно, ($p = 0,907$; U-тест), а также отсутствие приема препаратов, влияющих на костно-минеральный обмен. Также стоит отметить, что сравнительный анализ выполнен у молодых пациентов, сопоставимых по возрасту. Поскольку у 19 из 29 (66%) пациентов мПГПТ был первым и единственным гормонально-активным компонентом синдрома МЭН1, использование только генетического критерия диагноза позволило нам не только корректно стратифицировать пациентов, но и подтвердить важность применения генетического скрининга при ПГПТ у пациентов молодого возраста для дальнейшей эффективной маршрутизации.

Обращает на себя внимание отсутствие различий между группами по маркерам костного метаболизма: остеокальцину и С-концевому телопептиду коллагена I типа. Первый является основным маркером костеобразования, так как преимущественно секретируется остеобластами и способствует минерализации костного матрикса [111]. Второй — продукт расщепления коллагена I типа, концентрация которого увеличивается при резорбции костной ткани. Основной проблемой при интерпретации показателей костных маркеров в рамках клинических исследований, по данным Schini M. и соавт. [112], является отсутствие глобальной унификации референсных значений, а также широкая их вариабельность, зависящая от возраста, расы, пола и фазы менструального цикла. Возможно, поэтому ни один из известных костных маркеров до сих пор не включен в модель 10-летней вероятности переломов FRAX [113].

При оценке частоты «классических» осложнений ПГПТ в обеих группах статически значимых различий ни по одному из параметров получено не было. Как для мПГПТ, так и сПГПТ подтверждена высокая частота нефролитиаза: мПГПТ 52% против сПГПТ 60%, соответственно ($p = 0,737$, $^2\text{ТФК}_2$), что расходится с результатами Kong J. и соавт. [11], (мПГПТ 60,0% против сПГПТ 40,2 %, соответственно $p = 0,024$). Результаты более поздних работ также остаются противоречивыми [9, 10, 58, 61]. Вероятно, это связано со значимыми различиями в исходном дизайне исследования. Сравнительный анализ распространенности переломов при мПГПТ и сПГПТ не позволяет сделать однозначные выводы. Так, Song и соавт. [12] показали, что мПГПТ характеризуется более низкой частотой переломов (мПГПТ 10,8% против сПГПТ 22,4%,

соответственно $p = 0,002$) и случаев фиброзно-кистозного остеита (мППТ 3,3% против сППТ 10,0%, соответственно $p = 0,04$) по сравнению с сППТ, несмотря на то что длительность течения заболевания статистически значимо различалась в обеих группах: мППТ 6,0 [3,0; 13,5] против сППТ 2,0 [0,4; 6,0] лет $p < 0,001$). В нашем исследовании при отсутствии различий в частоте переломов, а также суммарной частоте костных осложнений, фиброзно-кистозный остеит был выявлен только в группе мППТ ($n = 2$). Возможность сопоставления наших результатов с крупными ретроспективными исследованиями ограничена, поскольку крупные базы по МЭН1 [8, 56, 109] имеют неполные сведения о частоте переломов, а данные денситометрического исследования часто отсутствуют.

ППТ в рамках МЭН1 является гетерогенным заболеванием, костный фенотип которого может значительно отличаться при различных комбинациях с другими компонентами синдрома, что подтверждается работой Kann P. H. и соавт. [114]. С учетом орфанности заболевания мы исключали основные факторы, негативно воздействующие на процесс ремоделирования костной ткани: нарушение функций щитовидной железы, сахарный диабет, эндогенный гиперкортицизм и снижение СКФ < 60 мл/мин./1,73 см^2 . Тем не менее дополнительно выделялась подгруппа А, исключаящую любую другую гормональную активность остальных компонентов МЭН1. И даже разделив целевую популяцию на подгруппы, мы не подтвердили значимого дополнительного влияния других гормонально активных компонентов МЭН1 на МПК. В обеих подгруппах (А и А+Б) при сравнении с сППТ подтверждены статистически значимо более низкие показатели МПК при мППТ в поясничном отделе позвоночника, шейке бедренной кости, бедре суммарно и дистальной трети лучевой кости. Наиболее часто в исследуемой группе среди других гормонально-активных образований отмечалась пролактинома ($n = 5$), и только один пациент имел инсулиному. Во всех случаях гиперпролактинемия контролировалась назначением агонистов дофаминовых рецепторов, что могло сказаться на отсутствии различий. Имеются данные, что пролактинома прежде всего негативно влияет на кости с преобладанием трабекулярного компонента. Согласно метаанализу Nagendra L. и соавт. [115], пациенты с пролактиномами по сравнению со здоровыми добровольцами демонстрируют более низкие показатели Z-критерия в LS -1,08 (95 % ДИ: -1,57 – -0,59); $p \leq 0,0001$; $I^2 = 54$ % (средняя степень гетерогенности), более высокую частоту переломов ОШ 3,21 (95 % ДИ: 1,64–6,26) $p = 0,0006$, при этом по Z-критерию FN различия между группами отсутствовали -1,31 (95 % ДИ: -3,07– 0,45); $p = 0,15$; $I^2 = 98$ % (высокая степень гетерогенности). С другой стороны, в исследовании Wang L. и соавт. [116], где использовалась периферическая количественная компьютерная томография высокого

разрешения, были выявлены значимые изменения как в кортикальном, так и трабекулярном компоненте большеберцовой и лучевой костей у пациентов с пролактиномами по сравнению с контролем. Аналогичных исследований при инсулиномах не проводилось. В нашем исследовании влияние других гормонально-активных образований, ассоциированных с МЭН1, может быть связано со снижением объемной плотности трабекулярного компонента в бедре в целом, поскольку при сопоставлении «чистой» группы мППТ (без других гормонально-активных образований) со спорадической формой заболевания различий по данному параметру не выявлено.

На фоне статистически значимых различий по МПК в поясничном отделе позвоночника (МПК LS, мППТ против сППТ, г/см^2 $p = 0,001$), сопоставимость групп по ТКИ (ТКИ мППТ против сППТ, $\text{РИ} > 1,310$; $p = 0,069$) выглядит неоднозначно. Согласно традиционным представлениям, при ППТ преимущественно снижается прочность и масса кортикальной кости [117], однако использование ТКИ, а также периферической количественной компьютерной томографии высокого разрешения подтвердило поражение как кортикального, так и трабекулярного компонента при ППТ [118, 119], что также подтверждается результатами 3D-DXA в нашем исследовании. Потенциально отсутствие различий по ТКИ между мППТ и сППТ в нашем исследовании может быть связано с недостаточной выборкой по данному параметру (у ряда пациентов данный параметр был недоступен), а также различиями в костной структуре позвонков и бедра.

В соответствии с доступными литературными источниками [9, 10, 11, 72] основными отделами для сравнения мППТ и сППТ были поясничный отдел позвоночника и бедренная кость. Сравнительный анализ показателей МПК в лучевой кости при мППТ и сППТ не проводился. Только в исследовании Lourenço D. M. и соавт. [61] было показано статистически значимое снижение МПК не только в поясничном отделе позвоночника (МПК LS г/см^2 $p = 0,003$), но и в дистальной трети лучевой кости (МПК R33% г/см^2 $p = 0,053$) у пациентов с мППТ старше 50 лет, по сравнению с пациентами молодого возраста. Статистически значимые различия между мППТ и спорадической формой заболевания в основном определялись по Z-критерию в поясничном отделе позвоночника и шейке бедренной кости, но не по абсолютным значениям МПК [9, 10]. Наше исследование является первым, где статистически значимые различия между группами получены не только по Z-критерию, но и абсолютным значениям МПК. Возможно дальнейшее расширение выборок увеличит мощность исследования, вследствие чего различия по лучевой кости в целом будут статистически значимы.

Применение 3D-DXA для оценки различных параметров кортикального и трабекулярного компонента проксимального отдела бедренной кости, безусловно, является новым шагом в понимании и оценке костных нарушений при мПГПТ, однако это требует дальнейших исследований для валидации результатов [120, 121]. Исследований с применением данной технологии при мПГПТ ранее в мире не проводилось. В нашей работе наиболее выраженные изменения костной ткани при мПГПТ связаны со снижением толщины кортикальной кости (мПГПТ против сПГПТ, $p \leq 0,001$) и снижением поверхностной плотности кортикальной кости (мПГПТ против сПГПТ, мг/см^2 $p = 0,001$), что может быть связано с преимущественной активацией эндокортикального и интеркортикального ремоделирования, приводящего к истончению и пористости поверхности кортикальной кости [122]. При этом объяснить различия между группами по объемным показателям трабекулярной кости (мПГПТ против сПГПТ, мг/см^3 $p = 0,029$) довольно сложно. Возможно, данное различие обусловлено особенностями костного фенотипа при мПГПТ или влиянием других МЭН1-ассоциированных гормональных образований у пациентов из подгруппы Б, так как в целом влияние ПГПТ на костную ткань по результатам 3D-DXA характеризуется преимущественным снижением толщины, объемной и поверхностной плотности кортикальной кости ($p < 0,05$ для всех), а не объемной плотности трабекулярного компонента ($p = 0,055$) [123].

3.5 Сравнительный анализ костно-метаболических нарушений между группами МЭН1-ассоциированного ПГПТ и спорадической формой заболевания через 1 год после паратиреоидэктомии

Согласно используемым критериям включения и исключения из исследования, динамическое обследование проведено 13 пациентам из группы мПГПТ (А+Б) и 19 пациентам из группы сПГПТ, вследствие малых выборок отдельный анализ по подгруппам не проводился. Результаты хирургического лечения представлены на рисунке 9.

Группы были сопоставимы по времени динамического контроля после ПТЭ. 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 (таблица 8). 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.

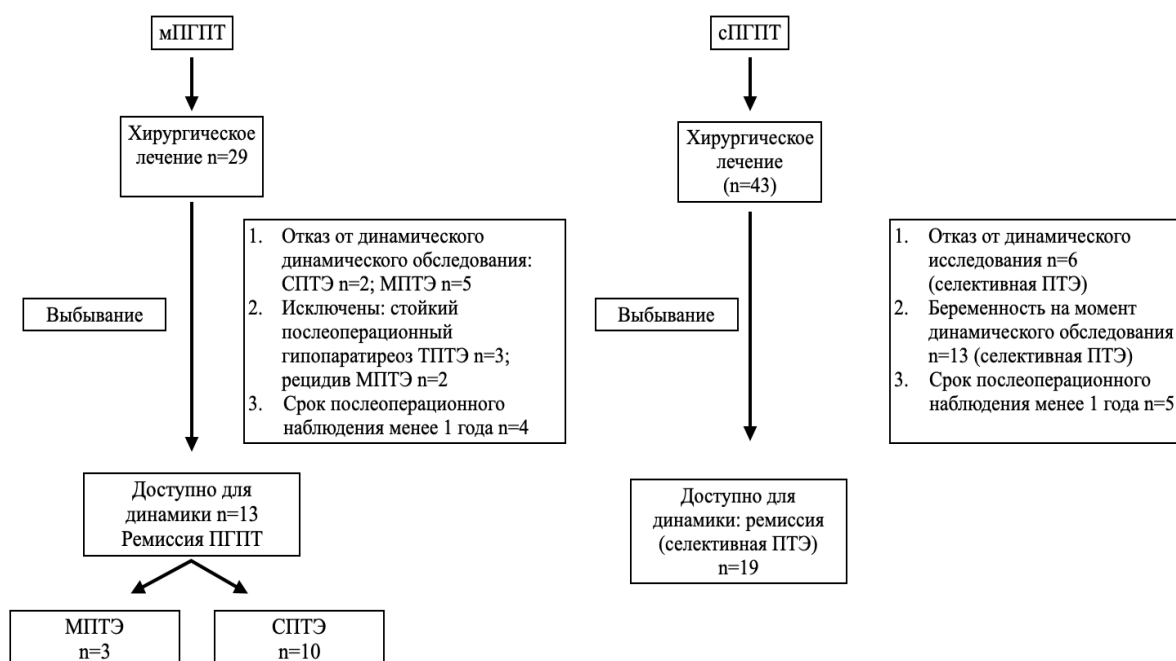


Рисунок 9 — Результаты хирургического лечения ПГПТ в группах мПГПТ и сПГПТ.
Примечание: СПТЭ — субтотальная ПТЭ с сохранением 0,5 или 1 наименее измененной ОЩЖ, ТПТЭ — тотальная ПТЭ с гетеротопической трансплантацией, МПТЭ — субтотальная ПТЭ с удалением любого, но меньшего количества ОЩЖ, по сравнению с субтотальной ПТЭ.
Селективная ПТЭ — удаление одной ОЩЖ

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 (таблицы 9, 10). По данным 3D-визуализации, позволяющей сопоставить различия между группами по процентному приросту основных показателей кортикального компонента проксимального отдела бедренной кости, выявлено, что у пациентов с мПГПТ через 1 год после ПТЭ преимущественно увеличивается толщина и поверхность кортикальной кости (рисунок 10). При оценке восстановления объема кортикальной и трабекулярной кости в четырех плоскостях различий между группами не выявлено (рисунок 11).

На основе проведенного анализа можно сделать вывод, что при ремиссии ПГПТ через 1 год после ПТЭ как при мПГПТ, так и сПГПТ выявлен статистически значимый прирост МПК в

поясничном отделе позвоночника, шейке бедренной кости и бедре в целом. Для обеих групп характерен прирост МПК 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.

Результат разделов 3.3 и 3.5 опубликованы в статьях: Пылина С. В. и соавт. [59] и Eremkina A. K. и соавт. [124].

Таблица 8 — Сравнительный анализ показателей кальциево-фосфорного обмена, костного метаболизма и результатов DXA и 3D-DXA между мПППТ/сПППТ через 1 год после ПТЭ

Показатель		мПППТ (А+Б) до ПТЭ		сПППТ		p-value p ₀ -value U-тест
		N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
1	Время после ПТЭ, год	13	1,06 [1,00; 1,15]	19	1,06 [0,99; 1,19]	p=0,700 p ₀ =0,046
2	ПТГ, пг/мл	13	32,52 [24,09; 58,96]	19	44,88 [36,22; 57,49]	p=0,116 p ₀ =0,019
3	Кальций скорр., ммоль/л	13	2,32 [2,17; 2,40]	19	2,25 [2,18; 2,30]	p=0,526 p ₀ =0,040
4	Фосфор, ммоль/л	13	1,04 [0,87; 1,17]	19	1,07 [1,01; 1,15]	p=0,526 p ₀ =0,043
5	pСКФ, мл/мин./1,73 м ²	13	104 [95; 106]	19	103 [94; 110]	p=0,893 p ₀ =0,050
6	Кальций суточной мочи, ммоль/л	13	4,93 [3,72; 7,30]	19	4,5 [3,30; 5,47]	p=0,263 p ₀ =0,026
7	Остеокальцин, нг/мл	13	15,62 [14,42; 20,67]	17	21,58 [15,36; 26,11]	p=0,295 p ₀ =0,030
8	С-концевой телопептид коллагена 1-типа, нг/мл	13	0,29 [0,24; 0,44]	17	0,39 [0,19; 0,57]	p=0,464 p ₀ =0,037
9	МПК LS, г/см ²	12	1,169 [1,038; 1,238]	19	1,189 [1,148; 1,306]	p=0,174 p ₀ =0,020
10	Z-критерий LS	12	-0,45 [-1,05; 0,30]	19	0,10 [-0,90; 0,80]	p=0,394 p ₀ =0,031
11	МПК FN, г/см ²	13	0,868 [0,748; 1,050]	19	1,006 [0,904; 1,087]	p=0,066 p ₀ =0,017
12	Z-критерий FN	13	-1,0 [-1,30; -0,60]	19	-0,20 [-0,50; 0,20]	p=0,016 0,004
13	МПК TH, г/см ²	13	0,930 [0,741; 1,063]	19	1,078 [0,946; 1,147]	p=0,040 p ₀ =0,011
14	Z-критерий TH	13	-0,40 [-1,70; -0,30]	19	0,10 [-0,30; 0,80]	p=0,021 p ₀ =0,006
15	МПК RT, г/см ²	13	0,620 [0,572; 0,713]	19	0,671 [0,615; 0,689]	p=0,502 p ₀ =0,039

Таблица 9 — 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]	
1	МПК 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
2	Z-критерий LS	11	-1,50 [-1,70; -0,80]	11	-0,60 [-1,10; 0,20]	p=0,005 p ₀ =0,017
3	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
4	Z-критерий FN	12	-1,25[-1,75; -0,65]	12	-0,90 [-1,55; -0,45]	p=0,005 p ₀ =0,014
5	МПК TH, г/см ²	12	0,934 [0,740; 1,087]	12	1,000 [0,696; 1,052]	p=0,003 p ₀ =0,008
6	Z-критерий TH	12	-1,00 [-2,15; -0,45]	12	-0,40 [-1,80; 0,00]	p=0,005 p ₀ =0,017
7	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
8	Z-критерий RT	13	-1,10 [-2,00; 0,00]	13	-1,10 [-2,20; 0,60]	p=0,083 p ₀ =0,042
9	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
10	Z-критерий R33%	13	-1,60 [-2,10; -0,20]	13	-1,35 [-2,20; -0,10]	p=0,388 p ₀ =0,050
11	Поверхностная плотность кортикальной кости TH, мг/см ²	11	135,704 [100,651; 153,832]	11	147,712 [106,213; 168,081]	p=0,001 p ₀ =0,003
12	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
13	Толщина кортикальной кости TH, мм	11	1,789 [1,683; 1,964]	11	1,878 [1,729; 2,012]	p=0,005 p ₀ =0,022
14	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
15	Объемная плотность трабекулярной кости TH, мг/см ³	11	157,17 [113,95; 177,26]	11	172,62 [120,75; 226,64]	p=0,019 p ₀ =0,033
16	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

Продолжение таблицы 9

17	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
18	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 10 — 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]	
1	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
2	Z-критерий LS	16	-0,40 [-1,10; -0,15]	16	0,05 [-0,90; 0,30]	p=0,004 p ₀ =0,011
3	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
4	Z-критерий FN	16	-0,50 [-0,75; 0,20]	16	-0,20 [-0,45; 0,20]	p=0,028 p ₀ =0,031
5	МПК ТН, г/см ²	16	0,991 [0,897; 1,132]	16	1,063 [0,969; 1,163]	p=0,001 p ₀ =0,003
6	Z-критерий ТН	16	-0,40 [-0,65; 0,65]	16	0,05 [-0,30; 0,75]	p=0,005 p ₀ =0,014
7	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
8	Z-критерий RT	19	-0,60 [-1,20; 0,00]	19	-0,30 [-1,10; 0,10]	p=0,088 p ₀ =0,042
9	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
10	Z-критерий R33%	19	0,81[0,20; 0,87]	19	-0,30 [-0,70; 0,40]	p=0,012 p ₀ =0,022

Продолжение таблицы 10

11	Поверхностная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ²	14	157,059 [140,407; 178,586]	14	174,108 [147,501; 186,591]	p=0,005 p ₀ =0,017
12	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
13	Толщина кортикальной кости ТН, мм	14	1,930 [1,846; 2,110]	14	1,977 [1,872; 2,104]	p=0,502 p ₀ =0,044
14	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
15	Объемная плотность трабекулярной кости ТН, мг/см ³	14	166,931 [144,940; 232,276]	14	203,192 [151,754; 229,457]	p=0,035 p ₀ =0,036
16	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
17	Объемная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ³	14	816,767 [766,933; 935,135]	14	843,293 [834,995; 925,188]	p=0,013 p ₀ =0,025
18	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); 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).

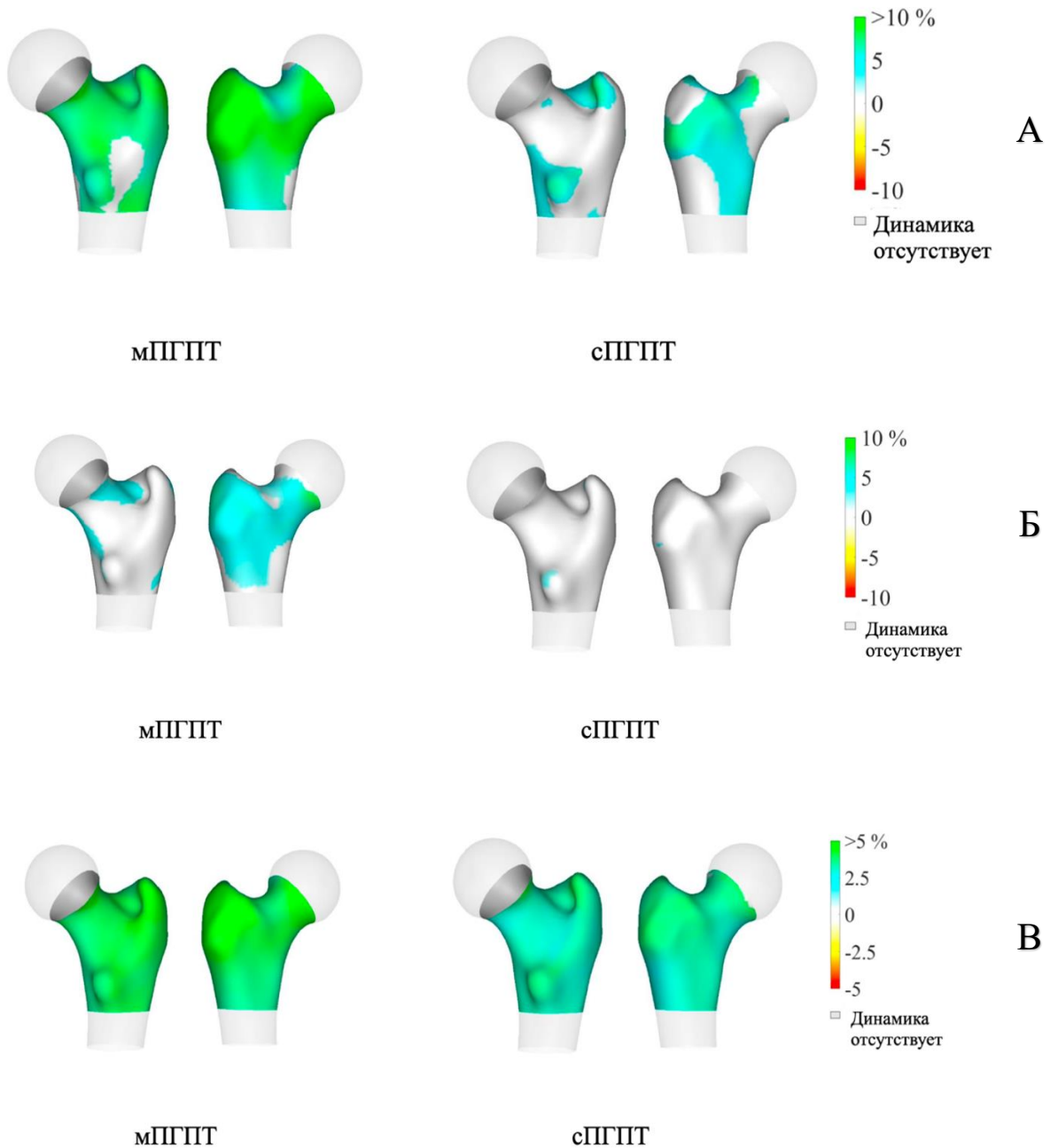


Рисунок 10 — 3D-визуализация процентного прироста кортикального компонента проксимального отдела бедренной кости в группах мПГПТ (подгруппы А+Б) и сПГПТ через 1 год после ПТЭ. А — Прирост поверхностной плотности кортикальной кости ($\text{мг}/\text{см}^2$); Б — Прирост толщины кортикальной кости (мм); В — Прирост объемной плотности кортикальной кости ($\text{мг}/\text{см}^3$). Положительная динамика показана в сине-зеленом цветовом диапазоне.

Отсутствие динамики показано в сером цветовом диапазоне

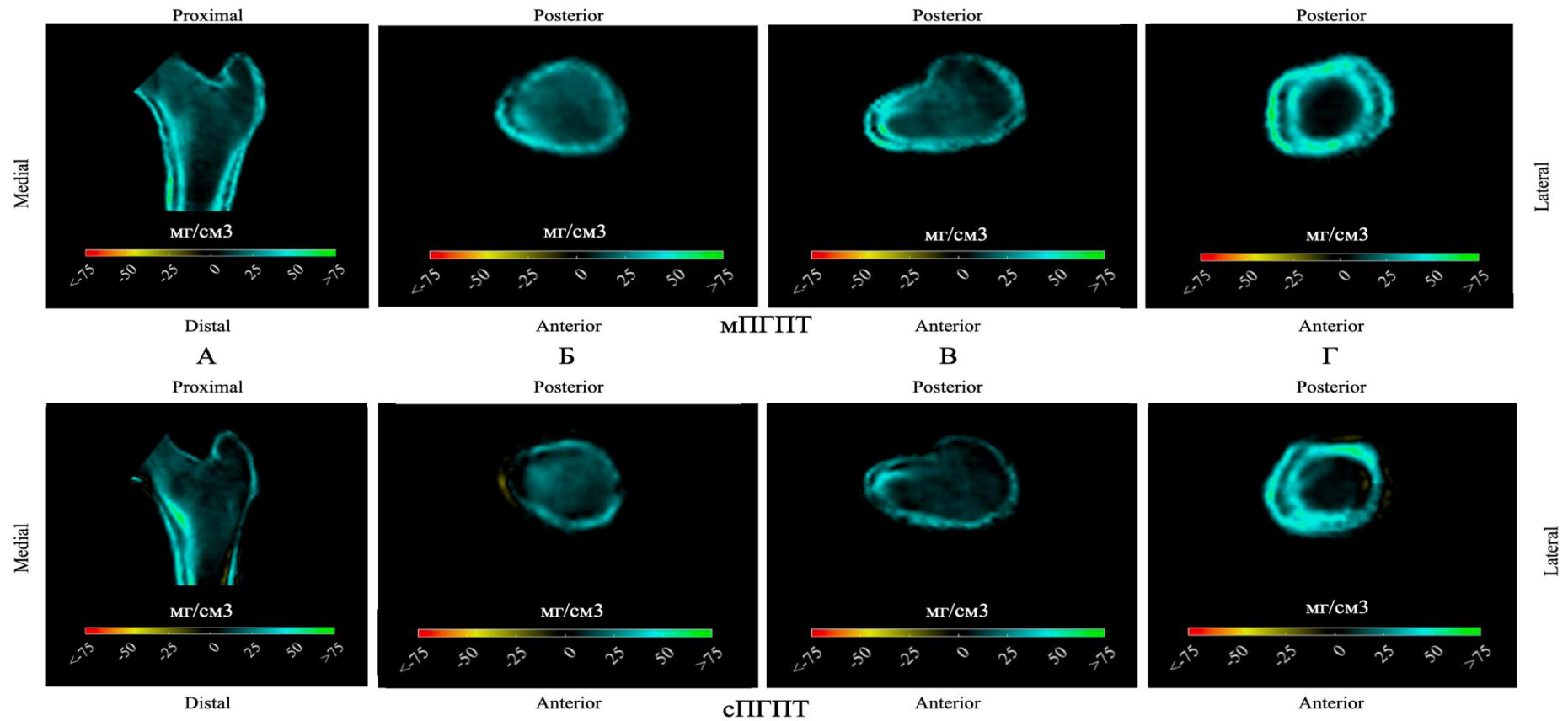


Рисунок 11 — Визуализация прироста объемной плотности кортикальной и трабекулярной кости (мг/см^3) через 1 год после ПТЭ между группами мПГПТ (подгруппы А+Б) и сПГПТ в различных плоскостях. А — Бедренная кость во фронтальной плоскости; Б — Поперечное сечение узкой части шейки бедренной кости, проведенное перпендикулярно оси шейки бедра и имеющего минимальную площадь; В — Межвертельное срединное поперечное сечение; Г — Нижнее поперечное сечение проксимальной части диафиза бедренной кости. Положительная динамика показана в сине-зеленом цветовом диапазоне. Отсутствие динамики показано в черном цветовом диапазоне

Для оценки качества полученных результатов в связи с выбыванием из обеих групп более 50% пациентов дополнительно проводился сравнительный анализ МПК по результатам DXA и 3D-DXA до ПТЭ между выбывшими пациентами и включенными в динамику в обеих группах (таблицы 11, 12). Статистически значимых различий не получено ни по одному из параметров. Таким образом, можно сделать вывод, что выбывание пациентов из исследования не повлияло на результаты восстановления МПК после ПТЭ. Как в группе мПППТ, так и сПППТ изначально пациенты, включенные в динамику и выбывшие из исследования, не отличались по плотности костной ткани по результатам DXA и 3D-DXA.

Таблица 11 — Сравнительный анализ показателей DXA и 3D-DXA в группах пациентов с мПППТ, включенных в динамическое обследование и выбывших из исследования

Показатель		мПППТ (А+Б) до ПТЭ, включенные в динамическое исследование		мПППТ (А+Б) до ПТЭ (выбывшие из динамического исследования)		p-value p ₀ -value U-тест
		N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
1	МПК LS, г/см ²	11	1,073 [0,931; 1,128]	16	0,993 [0,903;1,064]	p=0,312 p ₀ =0,006
2	Z-критерий LS	11	-1,50 [-2,00; -0,80]	16	-1,45 [-2,05; -0,85]	p=0,730 p ₀ =0,036
3	МПК FN, г/см ²	12	0,825 [0,682; 0,986]	16	0,807 [0,702; 0,878]	p=0,501 p ₀ =0,022
4	Z-критерий FN	12	-1,45 [-1,80; -0,65]	16	-1,45 [-2,10; -0,85]	p=0,816 p ₀ =0,042
5	МПК TH, г/см ²	12	0,910 [0,663; 1,052]	16	0,833 [0,727; 0,901]	p=0,472 p ₀ =0,017
6	Z-критерий TH	12	-1,1 [-2,50; -0,45]	16	-1,15 [-1,80; -0,50]	p=0,944 p ₀ =0,050
7	МПК RT, г/см ²	13	0,605 [0,511; 0,674]	13	0,572 [0,542; 0,613]	p=0,412 p ₀ =0,008
8	Z-критерий RT	13	-1,10 [-2,70; 0,00]	12	-1,55 [-2,30; -0,70]	p=0,480 p ₀ =0,019
9	МПК R33%, г/см ²	13	0,781 [0,696; 0,857]	13	0,742[0,675;0,797]	p=0,442 p ₀ =0,011
10	Z-критерий R33%	13	-1,6 [-2,1; -0,20]	12	-1,35 [-2,30; -0,80]	p=0,703 p ₀ =0,033
11	Поверхностная плотность кортикальной кости TH, мг/см ²	11	134,415 [93,506; 153,826]	11	128,694 [113,922; 146,969]	p=0,767 p ₀ =0,039

Продолжение таблицы 11

12	Поверхностная плотность кортикальной кости FN, мг/см ²	11	110,592 [92,231; 123,617]	11	100,439 [92,117;113,688]	p=0,575 p ₀ =0,025
13	Толщина кортикальной кости ТН, мм	11	1,778 [1,591; 1,964]	11	1,756 [1,650;1,798]	p=0,621 p ₀ =0,028
14	Толщина кортикальной кости FN, мм	11	1,572 [1,440; 1,705]	11	1,435 [1,347; 1,478]	p=0,023 p ₀ =0,003
15	Объемная плотность трабекулярной кости ТН, мг/см ³	11	153,697 [97,116; 177,262]	11	132,857 [113,007; 187,021]	p=0,817 p ₀ =0,044
16	Объемная плотность трабекулярной кости FN (мг/см ³)	11	194,953 [157,216; 226,748]	11	175,535 [152,130;244,200]	p=0,921 p ₀ =0,047
17	Объемная плотность кортикальной кости ТН, мг/см ³	11	722,499 [597,693; 776,260]	11	724,789 [689,353; 822,129]	p=0,448 p ₀ =0,014
18	Объемная плотность кортикальной кости FN, мг/см ³	11	715,014 [636,249; 781,545]	11	713,812 [711,380; 779,039]	p=0,621 p ₀ =0,031
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).						

Таблица 12 — Сравнительный анализ показателей DXA и 3D-DXA в группах пациентов с сПППТ, включенных в динамическое обследование и выбывших из исследования

Показатель		сПППТ до ПТЭ включенные в динамическое исследование		сПППТ до ПТЭ выбывшие из динамического исследования		p-value p ₀ -value U-тест
		N	Me [Q1; Q3]	N	Me [Q1; Q3]	
1	МПК LS, г/см ²	16	1,162 [1,052; 1,209]	24	1,095 [1,032;1,226]	p=0,415 p ₀ =0,022
2	Z-критерий LS	16	-0,40 [-1,10; -0,15]	24	-0,80 [-1,35; -0,05]	p=0,472 p ₀ =0,028

Продолжение таблицы 12

3	МПК FN, г/см ²	16	0,961 [0,886; 1,083]	24	0,964 [1,032; 1,226]	p=0,793 p ₀ =0,050
4	Z-критерий FN	16	-0,50 [-0,75; 0,20]	24	-0,40 [-1,1; 0,00]	p=0,506 p ₀ =0,033
5	МПК TH, г/см ²	16	0,991 [0,897; 1,132]	24	0,967 [0,903; 1,057]	p=0,562 p ₀ =0,039
6	Z-критерий TH	16	-0,40 [-0,65; 0,65]	24	-0,40 [-0,95; 0,30]	p=0,319 0,019
7	МПК RT, г/см ²	19	0,652 [0,600; 0,683]	24	0,613 [0,571; 0,736]	p=0,780 p ₀ =0,047
8	Z-критерий RT	19	-0,60 [-1,2; 0,00]	24	-1,00 [-1,75; 0,30]	p=0,560 p ₀ =0,036
9	МПК R33%, г/см ²	19	0,853 [0,800; 0,889]	24	0,794 [0,749; 0,899]	p=0,269 p ₀ =0,017
10	Z-критерий R33%	19	0,81 [0,20; 0,87]	24	0,67 [-1,10; 0,84]	p=0,144 p ₀ =0,006
11	Поверхностная плотность кортикальной кости TH, мг/см ²	14	157,059 [138,036; 180,371]	23	150,726 [141,885; 159,538]	p=0,253 p ₀ =0,014
12	Поверхностная плотность кортикальной кости FN, мг/см ²	14	133,070 [122; 814; 151,458]	23	127,695 [111,506; 134,559]	p=0,154 p ₀ =0,008
13	Толщина кортикальной кости TH, мм	14	1,930 [1,832; 2,112]	23	1,907 [1,858; 1,953]	p=0,425 p ₀ =0,025
14	Толщина кортикальной кости FN, мм	14	1,700 [1,562; 1,861]	23	1,630 [1,483; 1,804]	p=0,584 p ₀ =0,042
15	Объемная плотность трабекулярной кости TH, мг/см ³	14	166,932 [143,734; 233,203]	23	171,535 [153,242; 196,946]	p=0,481 p ₀ =0,031
16	Объемная плотность трабекулярной кости (мг/см ³)	14	232,960 [212,915; 300,177]	23	237,740 [210,779; 265,665]	p=0,695 p ₀ =0,044
17	Объемная плотность кортикальной кости TH, мг/см ³	14	816,767 [764,128; 945,404]	23	795,494; [716,075; 838,751]	p=0,173 p ₀ =0,011
18	Объемная плотность кортикальной кости FN, мг/см ³	14	826,035 [785,206; 921,372]	23	769,771 [750,199; 857,183]	p=0,129 p ₀ =0,003

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).

3.6 Обсуждение результатов хирургического лечения, особенностей восстановления МПК через 1 год после паратиреоидэктомии в группах мПГПТ и сПГПТ

Хирургический метод лечения является основным при мПГПТ. Однако, в контексте данной нозологии остается ряд принципиальных вопросов: выбор оптимального времени для проведения хирургического лечения, объем оперативного вмешательства и послеоперационное качество жизни пациента. Согласно клиническим рекомендациям по ПГПТ [63, 125, 126], показания к хирургическому лечению мПГПТ аналогичны спорадической форме заболевания, за исключением возраста пациента [127]. Отдельным фактором в пользу хирургического лечения выступает сочетание мПГПТ и гастриномы, поскольку гиперкальциемия потенциально способствует увеличению секреции гастрина, что приводит к образованию пептических язв [128]. Принимая во внимание тот факт, что ПТЭ значительно улучшает качество жизни пациента с ПГПТ, а также приводит к статистически значимому приросту МПК в поясничном отделе позвоночника и бедренной кости [129, 130], в нашем исследовании в отношении лечения мПГПТ применялась активная хирургическая тактика при наличии соответствующих показаний.

Радикальный подход в виде ТПТЭ был ассоциирован со стойким послеоперационным гипопаратиреозом во всех случаях проведения данного типа вмешательства ($n = 3$). При этом рецидив мПГПТ через 1 год после первичной ПТЭ был выявлен только при менее радикальной тактике: в 2 из 5 случаев МПТЭ. Ремиссия заболевания на момент динамического обследования через 1 год после ПТЭ была выявлена во всех доступных для динамики случаях ($n = 10$), при которых выполнялась СПТЭ. Результаты нашего исследования подтверждаются исследованием Choi H. R. и соавт. [131], в котором стойкий ($n = 6/17$, 35,3%, $p = 0,031$) и транзиторный ($n = 4/17$, 23,5%, $p = 0,154$) гипопаратиреоз был выявлен только у пациентов, которым была проведена ТПТЭ. В метаанализе Nastos C. и соавт. [4] с включением 1 131 пациента с мПГПТ ТПТЭ также была ассоциирована с более высоким риском послеоперационного гипопаратиреоза (ОР 1,61; 95% ДИ, 1,12–2,31; $p = 0,009$) по сравнению СПТЭ и МПТЭ, а МПТЭ была ассоциирована с высоким риском рецидива мПГПТ (ОР 1,37; 95% ДИ, 1,05–1,79; $p = 0,02$), персистенции мПГПТ (ОР 2,26; 95% ДИ, 1,49–3,41; $p = 0,0001$) и повторного оперативного лечения (ОР 2,48; 95% ДИ, 1,65–3,73; $p \leq 0,0001$).

Обобщая вышесказанное можно сделать вывод, что радикальные методы лечения мПГПТ, такие как ТПТЭ, имеют высокий риск развития послеоперационного гипопаратиреоза по сравнению с СПТЭ и МПТЭ. Преимущества малоинвазивных методик, таких как МПТЭ нивелируются высокой частотой рецидива и персистенции заболевания, а также связаны с

высоким риском повторного хирургического вмешательства. Хирургическое лечение мПГПТ должно выполняться только хирургом высокой квалификации, специализирующемся на хирургическом лечении эндокринных опухолей [125]. Важен мультидисциплинарный и комплексный подход к пациенту для обеспечения своевременной диагностики заболевания, так как отсроченный диагноз и несвоевременное лечение мПГПТ ассоциировано со снижением качества жизни пациента [7].

Влияние ПТЭ на восстановление МПК при мПГПТ изучалось в нескольких пилотных исследованиях с различным дизайном [13, 14, 15, 72]. В нашей работе внутри каждой из групп был выявлен схожий паттерн восстановления МПК как по абсолютным величинам, так и по Z-критерию во всех исследуемых точках за исключением лучевой кости, что согласуется с работой Coutinho F. L. и соавт. [14], выполненной на 16 пациентах с мПГПТ. Статистически значимый прирост через 15 месяцев после ПТЭ был также выявлен в поясничном отделе позвоночника (LS 0,843 против 0,909 г/см²; +8,4%; $p = 0,001$); шейке бедренной кости (FN 0,745 против 0,798 г/см²; +7,7%, $p = 0,0001$) и бедре в целом (TH 0,818 против 0,874 г/см²; +6,9%, $p < 0,0001$), а по лучевой кости статистически значимых различий получено не было. В то же время, по данным Silva A. M. и соавт. [15], статистически значимое восстановление МПК у пациентов с мПГПТ через 1 год после ПТЭ ограничивалось только Z-критерием поясничного отдела позвоночника.

Отсутствие значимого прироста МПК в лучевой кости в обеих группах потенциально может быть связано с особенностями ее строения и выполняемой функцией. Лучевая кость, как любая длинная кость, функционирующая в качестве рычага, обладает высокой резистентностью к скручиванию и низкой скоростью ремоделирования, что обеспечивается преобладанием кортикального костного компонента над трабекулярным [132]. В отличие от бедренной кости, лучевая кость в полной мере лишена важнейшего фактора ремоделирования — механической нагрузки, действующей в тоническом режиме на кости нижних конечностей для поддержания прямохождения, что потенциально негативно влияет на скорость восстановления МПК. Избирательность влияния ПТЭ на восстановление МПК также подтверждается результатами метаанализа Zhang L. и соавт. [133], где высокий уровень доказательности, согласно системе GRADE, был показан только в отношении МПК (г/см²) поясничного отдела позвоночника и шейки бедренной кости. Принимая во внимание тот факт, что пациенты с мПГПТ в нашем исследовании имели более низкие показатели МПК в поясничном отделе позвоночника, бедренной кости и дистальной трети лучевой кости на дооперационном этапе, сопоставимость групп через 1 год после ПТЭ по основным показателям DXA может свидетельствовать о более

быстром восстановлении костной ткани при мПГПТ по сравнению со спорадической формой заболевания.

Результаты 3D-DXA выявили статистически значимый прирост как по поверхностным, так и объемным показателям кортикальной и трабекулярной кости у пациентов обеих групп, при этом увеличение толщины кортикальной кости выявлено только в группе мПГПТ. Отсутствие статистически значимых различий между группами по параметрам 3D-DXA через 1 год после ПТЭ может свидетельствовать о том, что ПТЭ оказывает схожее положительное влияние на восстановление кортикального и трабекулярного компонента проксимального отдела бедренной кости в обеих группах, а также о достаточном «восстановительном» резерве организма при достижении ремиссии ПГПТ независимо от этиологии заболевания. Различия, выявленные внутри каждой группы, могут быть связаны с изначально различающимся паттерном повреждения трабекулярного и кортикального компонента на дооперационном этапе.

Особенности восстановления трабекулярного и кортикального компонента проксимального отдела бедренной кости после ПТЭ при мПГПТ по сравнению со спорадической формой заболевания не описаны. Одной из последних работ, где для оценки восстановления МПК после ПТЭ применяется технология 3D-DXA, является исследование Arboiro-Pinel R. и соавт. [134]. Авторы подтверждают статистически значимый прирост МПК в поясничном отделе позвоночника; шейке бедренной кости; бедре в целом, а также поверхности кортикальной кости и объеме трабекулярной кости через 12, 24 и 36 месяцев после ПТЭ ($p < 0,001$), при этом в дистальной трети лучевой кости статистически значимые различия не выявлены. Экстраполировать полученные данные в полной мере на результаты нашего исследования не представляется возможным ввиду отсутствия группы сравнения, а также более старшего возраста участников исследования ($60,4 \pm 12,5$ лет).

Выявленные различия в кортикальном и трабекулярном компоненте проксимального отдела бедренной кости в группах мПГПТ/сПГПТ могут быть использованы для персонализированного подхода в лечении костных нарушений при мПГПТ, особенно в случаях отказа от хирургического вмешательства. На сегодняшний день сравнение эффективности терапии двух основных групп антиостеопоротических препаратов (бисфосфонатов и деносумаба) в отношении восстановления кортикального и трабекулярного компонента костной ткани в основном проведены в контексте изучения постменопаузального остеопороза [135-139]. Для кортикального компонента костной ткани предпочтительным является деносумаб, в то время как бисфосфонаты в большей степени воздействуют на трабекулярную кость [139]. Можно

предположить, что для пациентов с мПППТ преимуществом будет обладать именно деносуаб, однако это требует проведения дальнейших исследований [86-88].

Отдельно следует обозначить ограничения нашего исследования. Для исключения многофакторного влияния на костную ткань при МЭН1 были применены различные критерии исключения, что, с одной стороны, позволило выделить относительно «чистую» группу мПППТ, но с другой — привело к уменьшению числа пациентов, включенных в исследование. Отдельно стоит отметить выбывание из исследования по причине беременности в группе сПППТ ($n = 13$). Не всем пациентам было проведено секвенирование панели генов, ассоциированных с наследственными формами ППТ, в ряде случаев было использовано секвенирование гена *MEN1* по Сенгеру. Анализ уровня 25(OH)D не проводился, поскольку не входит в стандарт обследования при ППТ. Также проведение 3D-моделирования проксимального отдела бедренной кости не было доступно для всех пациентов. Ввиду отсутствия аналогичных работ с применением технологии 3D-DXA при мПППТ требуется проведение проспективного исследования с расширением выборок и проведением комплексного генетического исследования панели генов, ассоциированных с наследственными формами ППТ, всем включенным пациентам.

Мы предполагаем, что результаты нашего исследования станут важным этапом на пути персонализации диагностики и лечения костных нарушений при мПППТ. ПТЭ значимо улучшает прирост МПК у данной категории пациентов, нивелируя более выраженные повреждения кортикального компонента костной ткани, выявленные при сравнении со спорадической формой заболевания на дооперационном этапе, а также приводит к восстановлению объема трабекулярной кости. Однако, хирургическое лечение по-прежнему сопряжено с риском возникновения персистенции и рецидива заболевания, а также послеоперационного гипопаратиреоза, что потенциально может привести к более выраженному снижению МПК.

3.7 Результаты генетического исследования в группе мПППТ

При анализе мутаций в гене *MEN1* у 17 пациентов (59%) выявлены патогенные, у 8 (27%) вероятно патогенные и у 4 (14%) варианты с неизвестной клинической значимостью. Ранее не описаны 9 вариантов, среди которых 3 имеют неизвестную клиническую значимость. Детализация процентного соотношения типов вариантов представлена на рисунке 12. По результатам массового параллельного секвенирования панели генов мутации в генах *AIP*, *AP2S1*, *CASR*, *CDC73*, *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN1C*, *CDKN2A*, *CDKN2C*, *CDKN2D*, *DICER1*, *FAM111A*,

GATA3, GCM2, GNAI1, GNAS, POU1F1, PRKARIA, PRKCA, PTEN, PTTG2, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, TBCE не были выявлены ни у одного пациента. Детальное описание выявленных вариантов в гене *MEN1* приведено в приложении.



Рисунок 12 — Процентное соотношение вариантов мутаций, выявленных в гене *MEN1* в группе мПППТ (А+В) n=29.

Два варианта мутаций в гене *MEN1* были ассоциированы со множественными низкоэнергетическими переломами и фиброзно-кистозным остеитом. В первом случае бурные опухоли были локализованы в костях правой голени, левой плечевой кости, левой ключице и левой бедренной кости, с максимальным снижением МПК в шейке бедренной кости до -3,0 SD по Z-критерию (*MEN1*: с.1594G>T p.Gly537Cys, rs587780843). В анамнезе у пациента

патологические переломы костей правой голени (2015 г.), левой плечевой кости (2018 г.), левой ключицы (2019 г.), левой бедренной кости (2020 г.), костей кисти и левой локтевой кости (2021 г.). Во-втором случае (*MEN1*: c.467G>A, p.Gly156Asp, rs794728648) отмечались множественные «бурые» опухоли костей таза, ребер и большеберцовых костей с максимальным снижением МПК в лучевой кости до -4,4 SD по Z-критерию, патологический перелом правой большеберцовой кости (2019 г.). Клинически данный вариант ранее был описан Luo Y. и соавт. [140] у пациента с мПГПТ и пролактиномой. Одним из потенциальных объяснений тяжелой костной патологии при варианте (*MEN1*: c.467G>A, p.Gly156Asp, rs794728648) является локализация мутации в 156-м кодоне, что, согласно Lemos и соавт. [32], связано с нарушением взаимодействия измененной структуры менина с транскрипционным фактором JUND и суперсемейством белков SMAD, регулирующих дифференцировку остеобластов [16]. Остальные варианты мутаций в гене *MEN1* описаны только в контексте пенетрантности компонентов синдрома, без указания на особенности течения мПГПТ.

3.8 Фундаментальный блок: получение линии ИПСК с мутацией в гене *MEN1*

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, делеция 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 ПЖ (G2; T3N0M0, стадия IIА, Ki-67=6,5%). Далее в лабораторных условиях выполнялось культивирование биопсии под покровным стеклом в среде для роста фибробластов (DMEM/F-12 — смесь минимальной необходимой среды Игла, модифицированной по способу Дульбеко, и питательной смеси F-12 Хэма в соотношении 1:1, FBS — фетальная бычья сыворотка и глюкоза 1 г/л с добавлением антибиотиков и антимикотических препаратов (рисунок 13). Первое пассирование фибробластов было проведено через 2 месяца культивирования после достижения 100%-й конfluence.

На следующем этапе фибробласты были репрограммированы в ИПСК. Данный шаг был необходим, поскольку потенциал деления фибробластов как терминально дифференцированных клеточных культур ограничен, что не позволяет проводить длительное культивирование и дифференцировку в другие типы клеток. Появление колоний ИПСК было детектировано на 17-й день эксперимента (рисунок 14). Скалывание колоний осуществлялось стерильным

наконечником для последующей экспансии. Подтверждение наличия мутации в гене *MEN1* было выполнено методом Сенгера (рисунок 15).

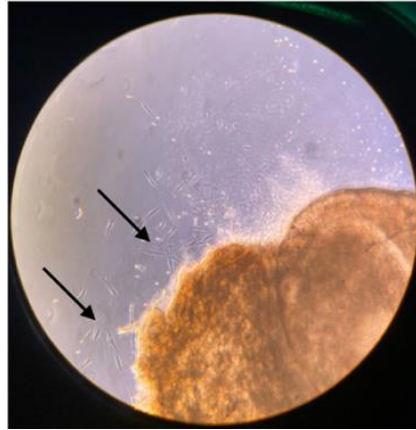
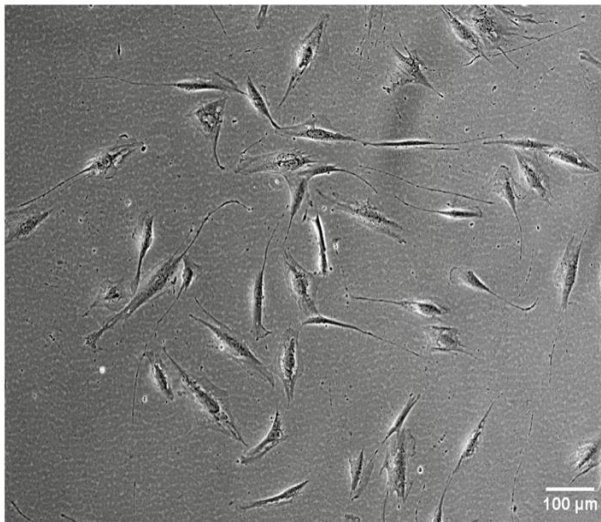
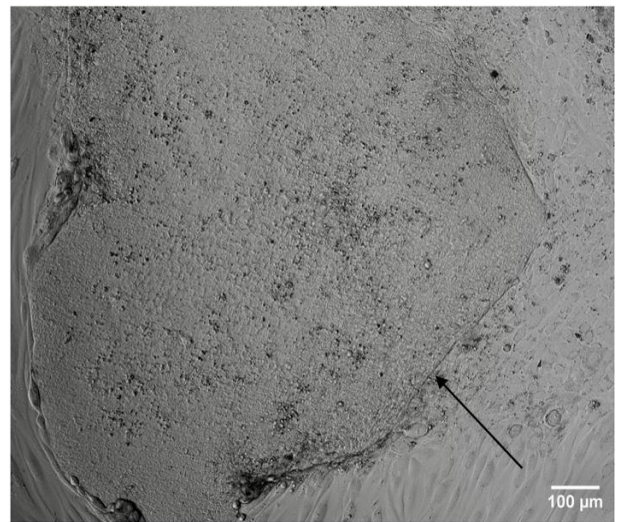


Рисунок 13 — Панч-биопсия дермы пациента с мутацией в гене *MEN1*: *c.1230dupC*. Появление единичных фибробластов на 7-й день культивирования (обозначено стрелками)



А



Б

Рисунок 14 — А. Фибробласты человека линии с мутацией *MEN1*: *c.1230dupC*; Б — Внешний вид колонии ИПСК, 20-й день репрограммирования фибробластов (коллония обозначена стрелкой)

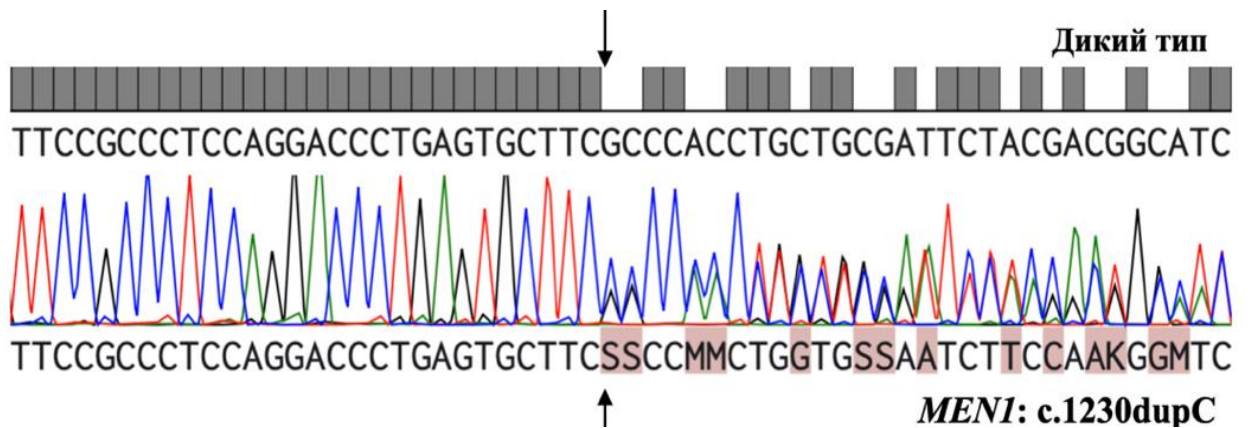


Рисунок 15 — Результаты секвенирования препарат ДНК из ИПСК для подтверждения наличия мутации в гене *MEN1*: c.1230dupC — точка мутации обозначена стрелкой

Далее, согласно общепринятым стандартам, полученная линия ИПСК была охарактеризована. Для подтверждения происхождения линии ИПСК из фибробластов проводился анализа аутомных Short Tandem Repeat локусов (результаты представлены в приложении). Хромосомных нарушений в полученной линии не выявлено — подтвержден эуплоидный хромосомный набор 46XX, а также способность к формированию эмбрионных тел, экспрессия ключевых маркеров плюрипотентности и маркеров трех зародышевых листков. Результаты характеристики представлены на рисунках 16–18.

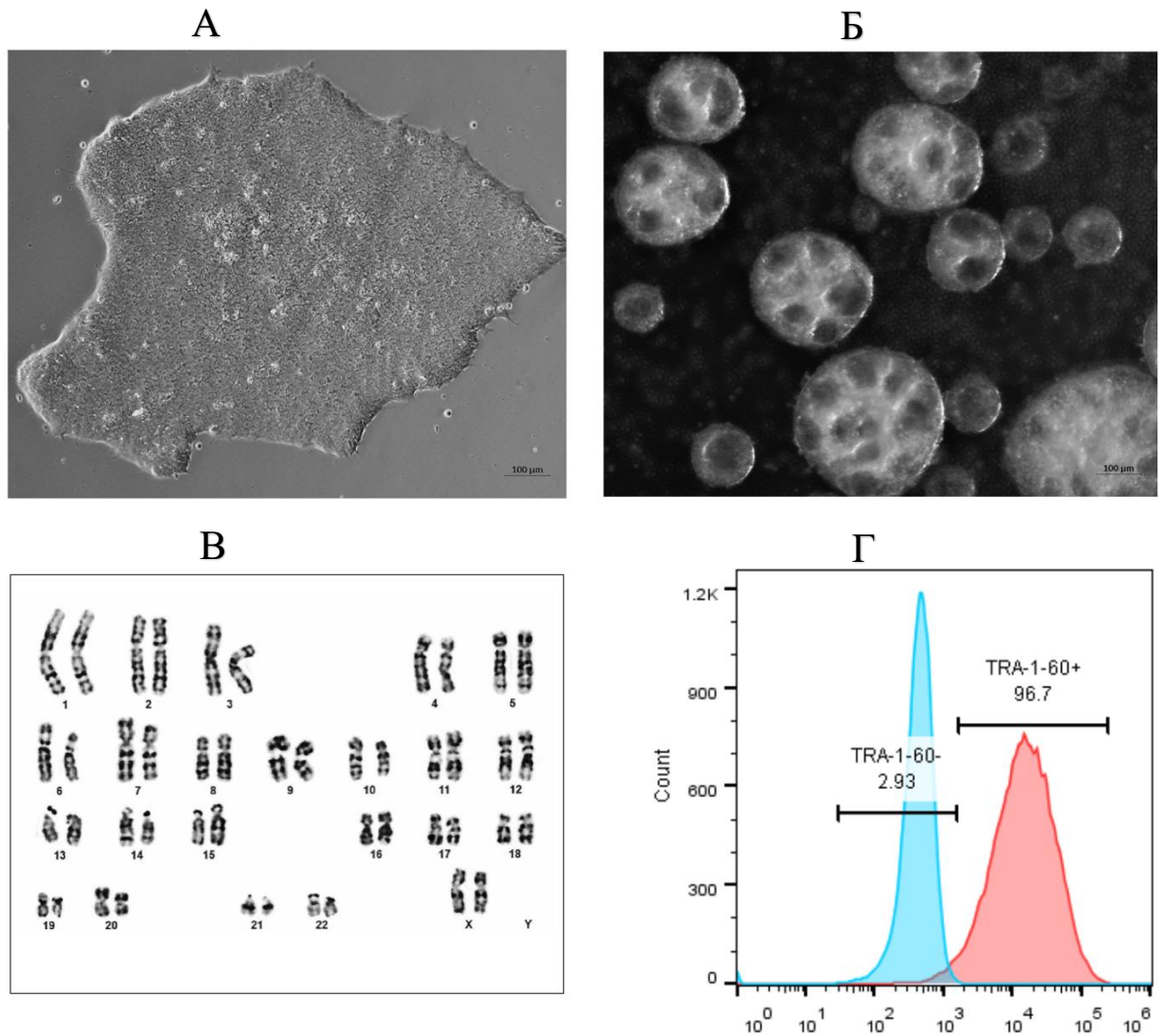


Рисунок 16 — Характеристика линии ИПСК (*MEN1*: c.1230dupC). А — Морфология колонии ИПСК; Б — Эмбрионидные тельца. В. Результаты хромосомного анализа линии ИПСК: эуплоидный набор хромосом с XX-гомосомным генотипом (женский кариотип 46XX); Г — Количественная оценка поверхностного маркера плюрипотентности TRA 1–60 методом проточной цитометрии (TRA 1–60 положительная клеточная популяция 96,7%; TRA 1–60 отрицательная клеточная популяция 2,93%)

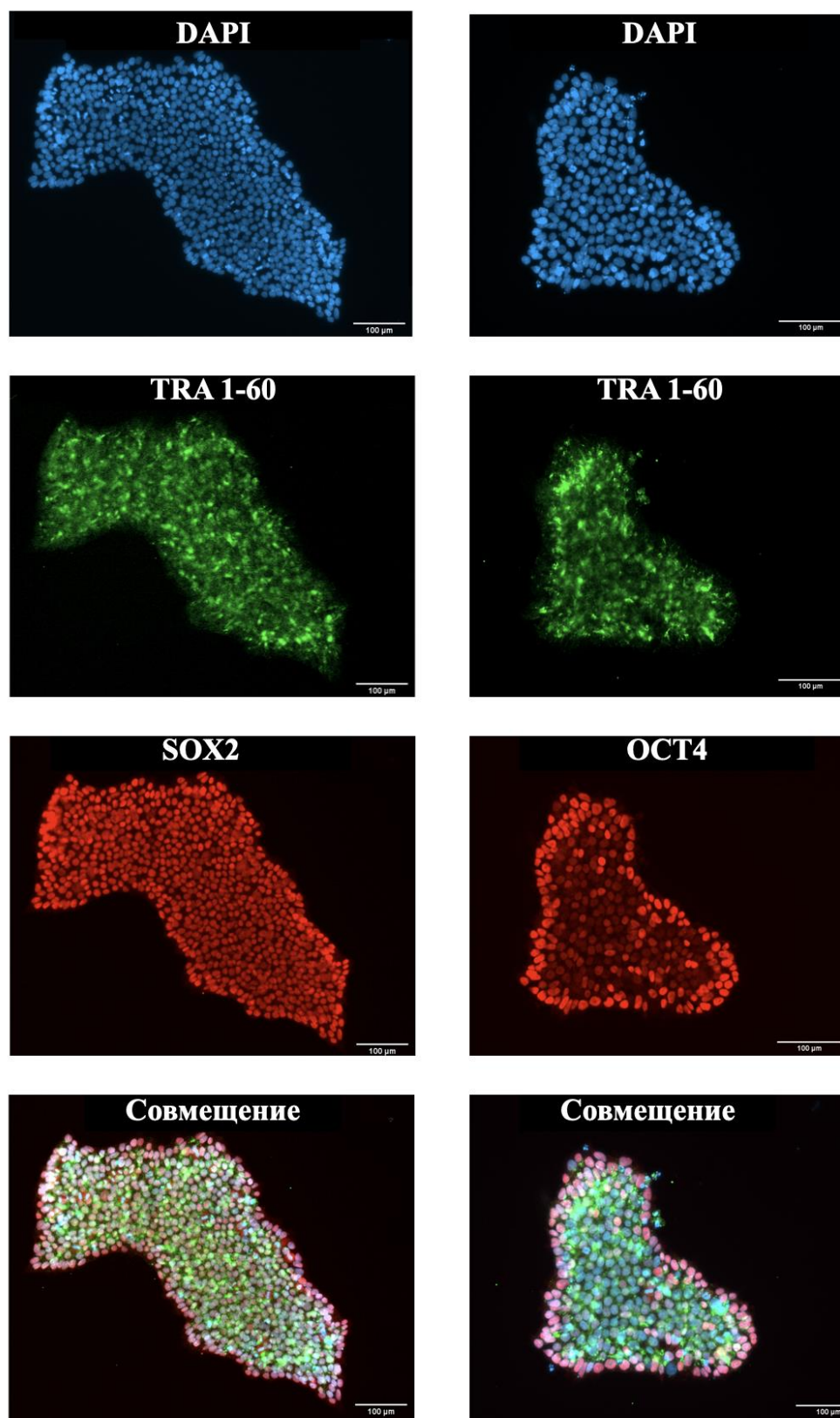


Рисунок 17 — Экспрессия маркеров плюрипотентности OCT4, TRA 1–60 и SOX2, окраска клеточных ядер DAPI в линии ИПСК с мутацией в гене *MEN1* с.1230dupC

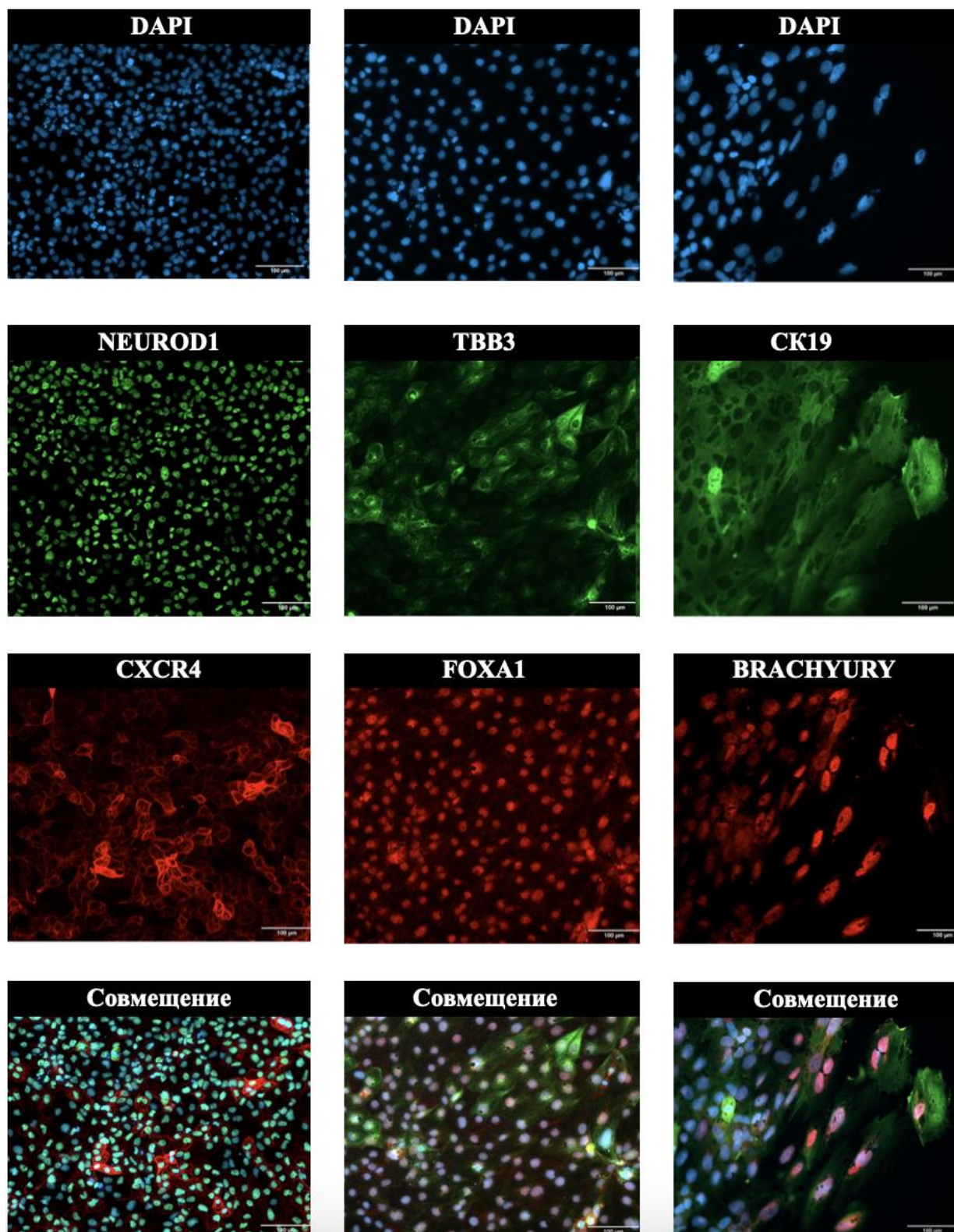


Рисунок 18 — Экспрессия маркеров трех зародышевых листков в линии ИПСК с мутацией в гене *MEN1* с.1230dupC. CXCR4, FOXA1, CK19 — маркеры энтодермы; BRACHYURY — маркер мезодермы; NEUROD1, TBB3 — маркер эктодермы; окраска клеточных ядер DAPI

На следующем этапе 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. Оцениваемые выборки клеточных линий нельзя считать репрезентативными, поскольку на сегодняшний день известно 1 600 герминальных в гене *MEN1* [32, 33], каждая из которых оказывает различное влияние на транскрипцию и трансляцию белка менина. В нашем эксперименте изучается влияние только одного варианта мутации на остеогенез.

Оценка эффективности дифференцировки проводилась на 25-й день протокола методом проточной цитометрии, результаты которой представлены на рисунках 19–21. Из анализа исключались агрегаты клеток (рисунок 19, А), обладающие более высоким сигналом по FSC-A и мертвые апоптотические клетки (рисунок 19, Б), которые определялись как мелкие события с высокой гранулярностью, т.е. с низким значением по FSC и высоким значением по SSC. В линии с мутацией в гене *MEN1* эффективность дифференцировки в МСК-подобные клетки была ниже, чем в контрольной линии по CD105; по остальным маркерам эффективность была сопоставима (рисунок 20).

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 (рисунок 20). Выбор указанных маркеров осуществлялся согласно критериям по характеристике МСК и МСК-подобных клеток, одобренных международным комитетом по мезенхимальным и тканевым стволовым клеткам Международного общества клеточной и генной терапии (ISCT) [141]. После проведенной сортировки клеток для трех образцов каждой и линий был проведен транскриптомный анализ типа Bulk-RNA-seq.

Полученные на предыдущем этапе МСК-подобные клетки обеих линий были параллельно дифференцированы в остеобласты. Дифференцировка осуществлялась 4 повторностях: по одному образцу из каждой линии было использовано для постановки качественной реакции на накопление депозитов кальция с использованием Alizarin Red Staining, три оставшихся образца из каждой линии были проанализированы при помощи транскриптомного анализа типа Bulk-

RNA-seq. На этапе качественного анализа визуальных различий между линиями по накоплению депозитов кальция не выявлено (рисунок 22).

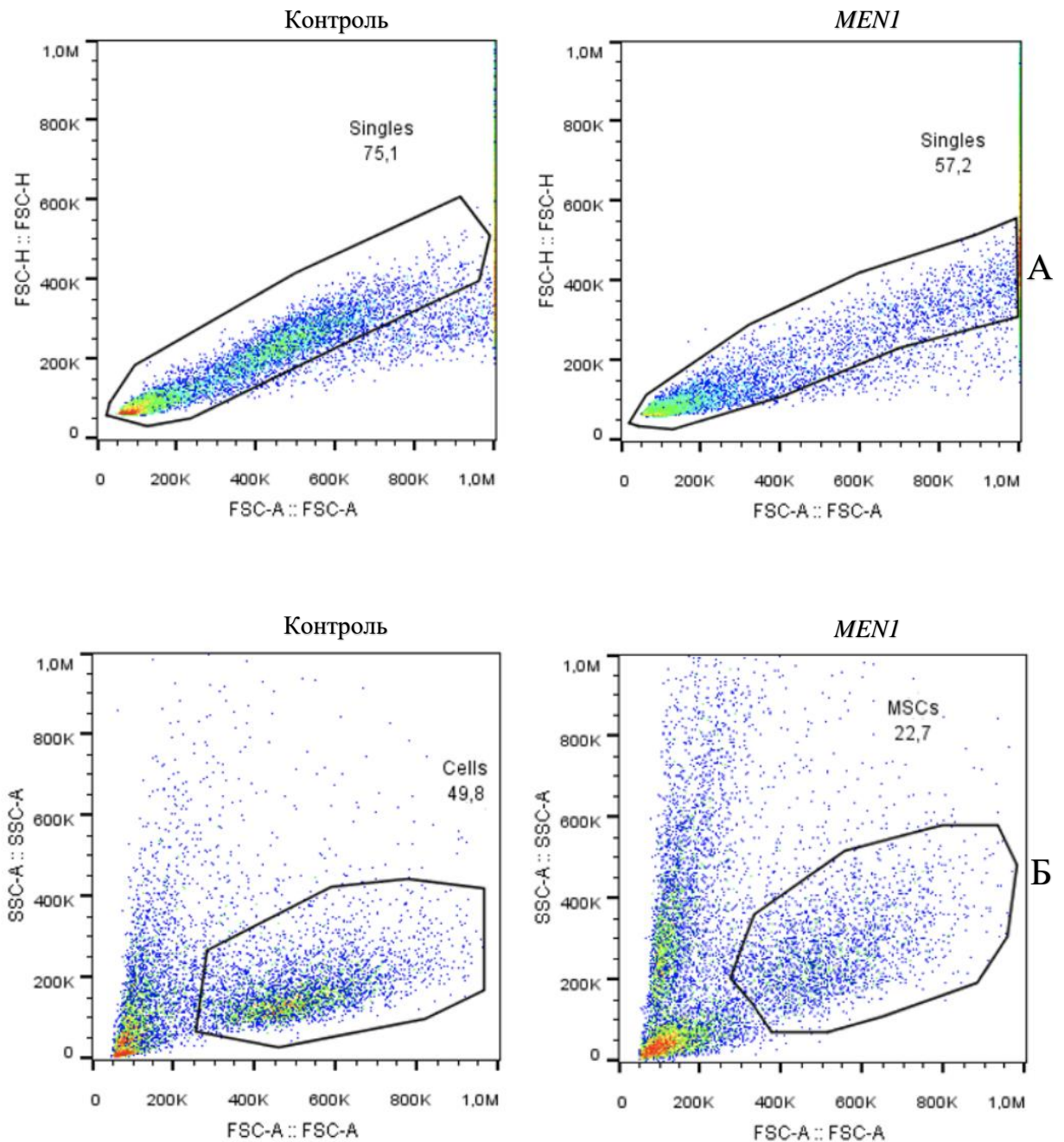


Рисунок 19 — Проточная цитометрия, МСК-подобные клетки. Стратегия гейтирования, исключающая анализ агрегатов и мёртвых клеток. А — Выделение единичных клеток, удаление агрегатов в контрольной линии, без мутации в гене *MEN1* и линии с мутацией *MEN1*: с.1230dupC. Б — Выделение живых клеток в контрольной линии, без мутации в гене *MEN1* и линии *MEN1*: с.1230dupC

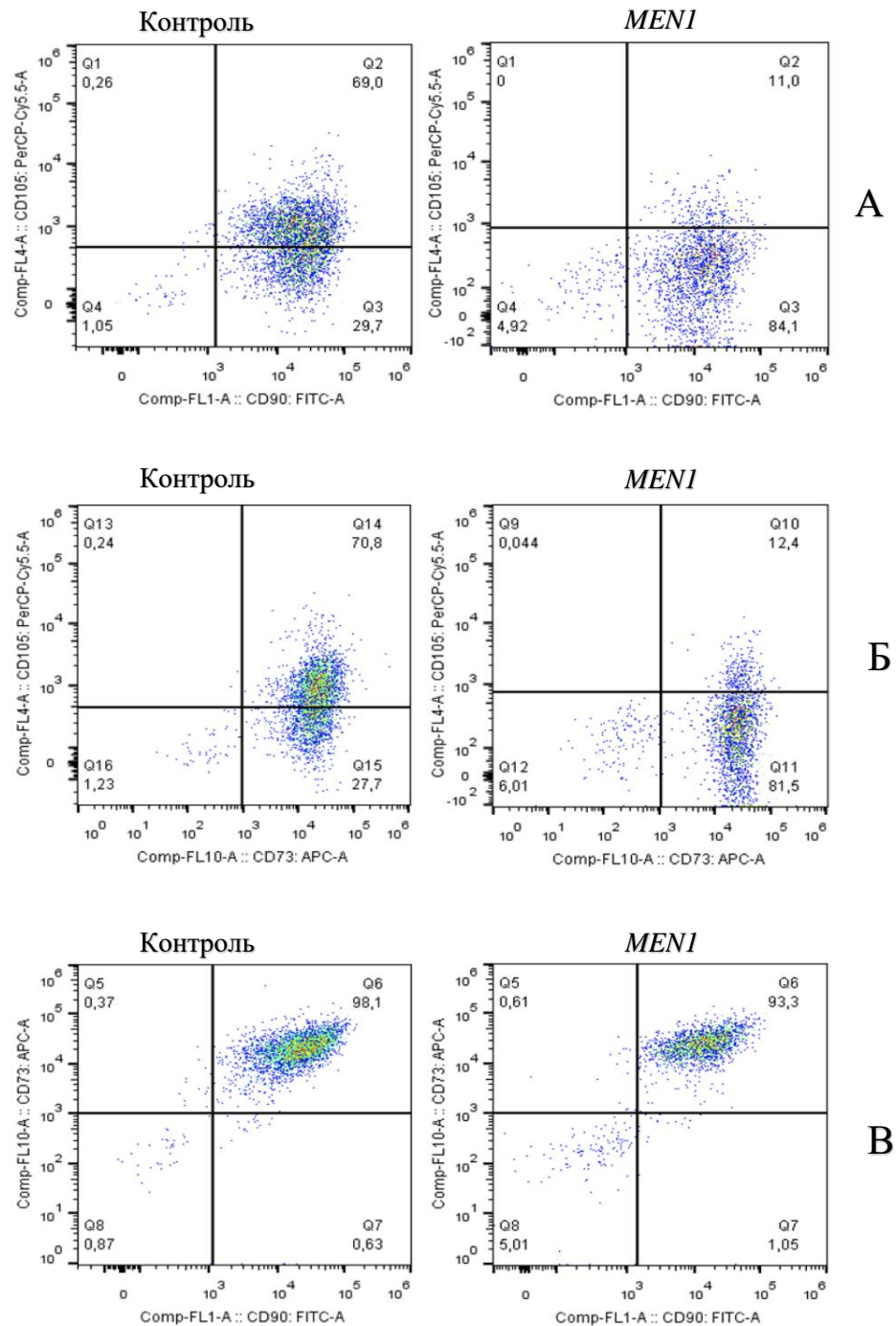


Рисунок 20 — Анализ клеток на экспрессию маркеров специфических для МСК-подобных клеток в линии контроля и линии с мутацией *MEN1*: с.1230dupC. Таргетная популяция клеток на каждом дот-плоте расположена в правом верхнем квадранте. А Экспрессия CD105⁺CD90⁺ (Контроль 69%; *MEN1* 11%); Б. CD105⁺CD73⁺ (Контроль 70,8%; *MEN1* 12,4%); В. CD73⁺CD90⁺ (Контроль 98,1%; *MEN1* 93,3%)

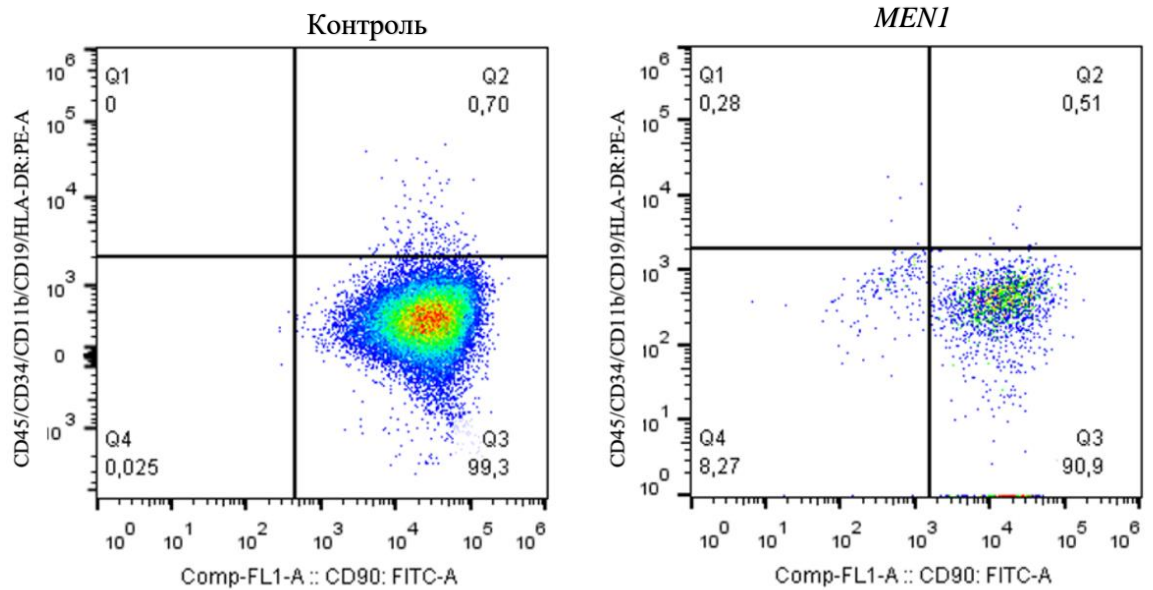
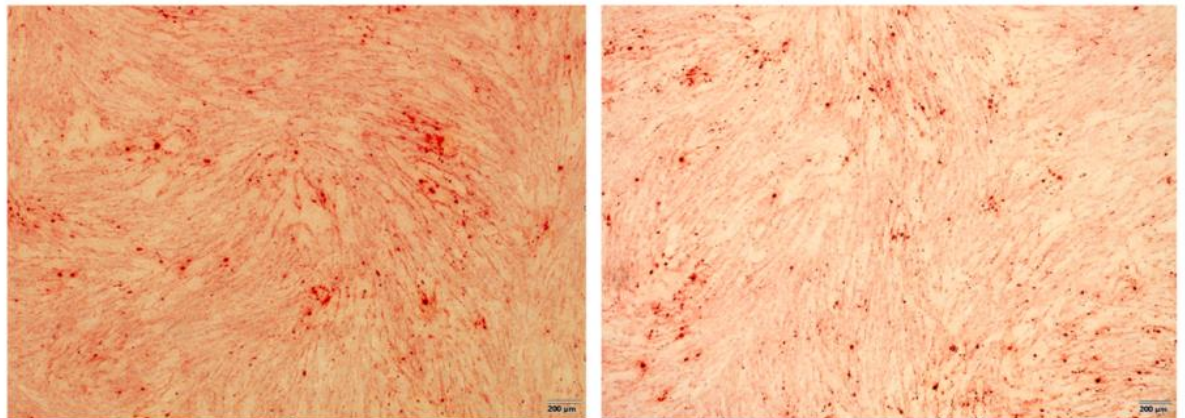


Рисунок 21 — Сортировка МСК-подобных клеток (таргетная клеточная популяция, не экспрессирующая гемопоэтические и эндотелиальные факторы CD45/CD34/CD11b/CD19/HLA-DR расположена в правом нижнем квадранте в каждой из линий)



А

Б

Рисунок 22 — Качественная реакция на детекцию депозитов кальция в остеобластах с использованием Alizarin Red Staining (окрашены красно-оранжевым цветом). А. Контрольная линия остеобластов человека без мутации в гене *MEN1*. Б. Линия остеобластов *MEN1*:

c.1230dupC

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 (транскриптомный анализ). 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 в остеобластах, а также идентичности выбранных условий при проведении дифференцировки клеточных культур (рисунок 23). Следовательно, все 12 образцов валидны для дальнейшего анализа.

Сравнительный анализ экспрессии генов в полученных клеточных культурах МСК-подобных клеток и остеобластов проводился на основании экспериментальных данных Sowa H. и соавт. [92], 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. и соавт. [16]. В исследовании было показано, что транскрипционный фактор *JUND* относящегося к семейству белка-активатора 1 (AP1) [142,143] 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 24. Анализ дифференциальной экспрессии был дополнен генами, кодирующими неколлагеновые белки костного матрикса, связывающие кальций: *SPARC* (остеонектин), *BGLAP* (остеокальцин), *SPP1* (остеопонтин), *IBSP* (костный сиалопротеин II), *MGP* (матриксный Gla-протеин) [144, 145]. В качестве специфических маркеров, регулирующих дифференцировку остеобластов, использовались гены, кодирующие транскрипционные факторы *RUNX2*, *ATF4*, *SP7* и *DLX5* [146, 147].

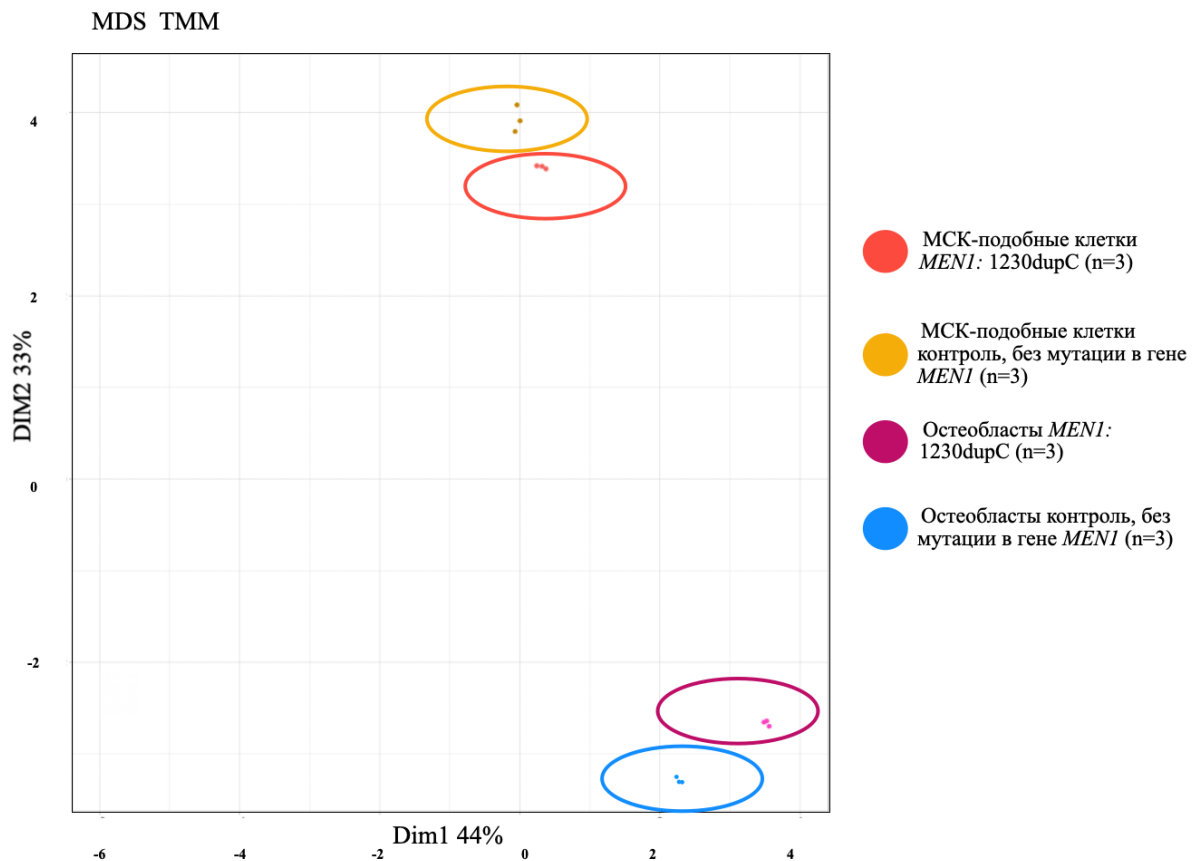


Рисунок 23 — График MDS (Multidimensional scaling plot, график многомерного масштабирования). На графике изображены кластеры клеточных образцов на разных этапах дифференцировки. Эксперимент для каждой из линий выполнялся в трех повторностях (n = 3)

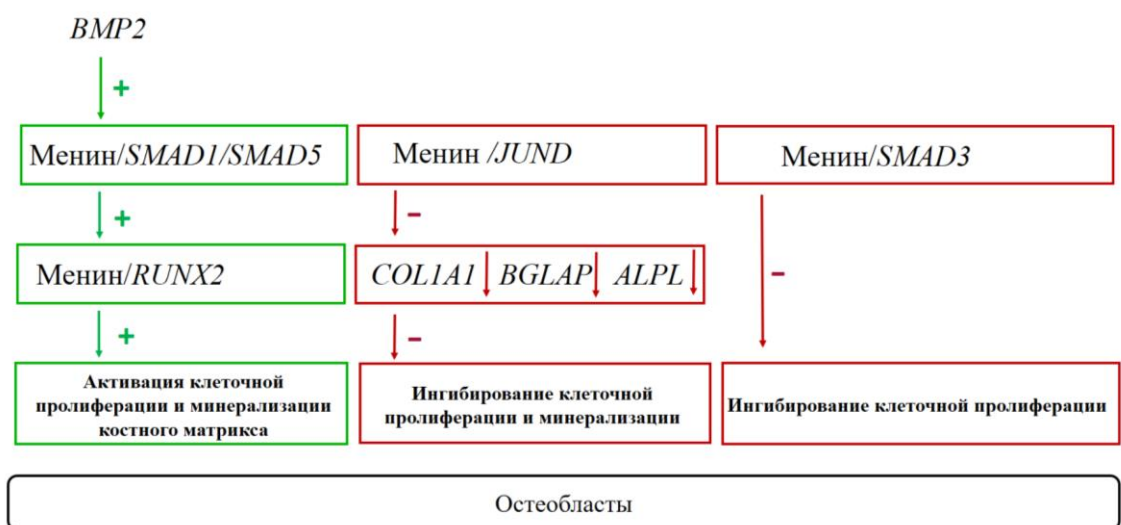


Рисунок 24 — Схематическая модель регуляции менином дифференцировки остеобластов и минерализации костного матрикса путем взаимодействия с различными транскрипционными факторами предложенная Sowa H. и соавт. [92] и Naito J. и соавт. [16]

В ходе анализа экспрессии выбранных генов на уровне МСК-подобных клеток в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем дифференциально экспрессируемые гены не выявлены (рисунок 25). На уровне остеобластов в линии с мутацией в гене *MEN1* была выявлена высокая экспрессия гена *SMAD3*, отвечающего за ингибирование клеточной пролиферации. В отличие от ранее проведенных исследований при высокой экспрессии гена *JUND* выявлено снижение экспрессии генов, регулирующих минерализацию костного матрикса, таких как *SPP1*, *ALPL*, *SPARC*, *IBSP*, *MGP*. При сравнительном анализе генов, регулирующих дифференцировку остеобластов, выявлено снижение экспрессии *BMP2*, *RUNX2* (рисунок 26). Аннотация функции дифференциально экспрессируемых генов приведена в таблицах 13–14.

Таким образом, мутация в гене *MEN1:1230dupC* ассоциирована с увеличением экспрессии генов *JUND* и *SMAD3*, ингибирующих клеточную пролиферацию и снижением экспрессии генов *SPP1*, *ALPL*, *IBSP*, *SPARC*, *MGP*, *BMP2* и *RUNX2*, отражающих остеобластогенез и минерализацию костного матрикса.

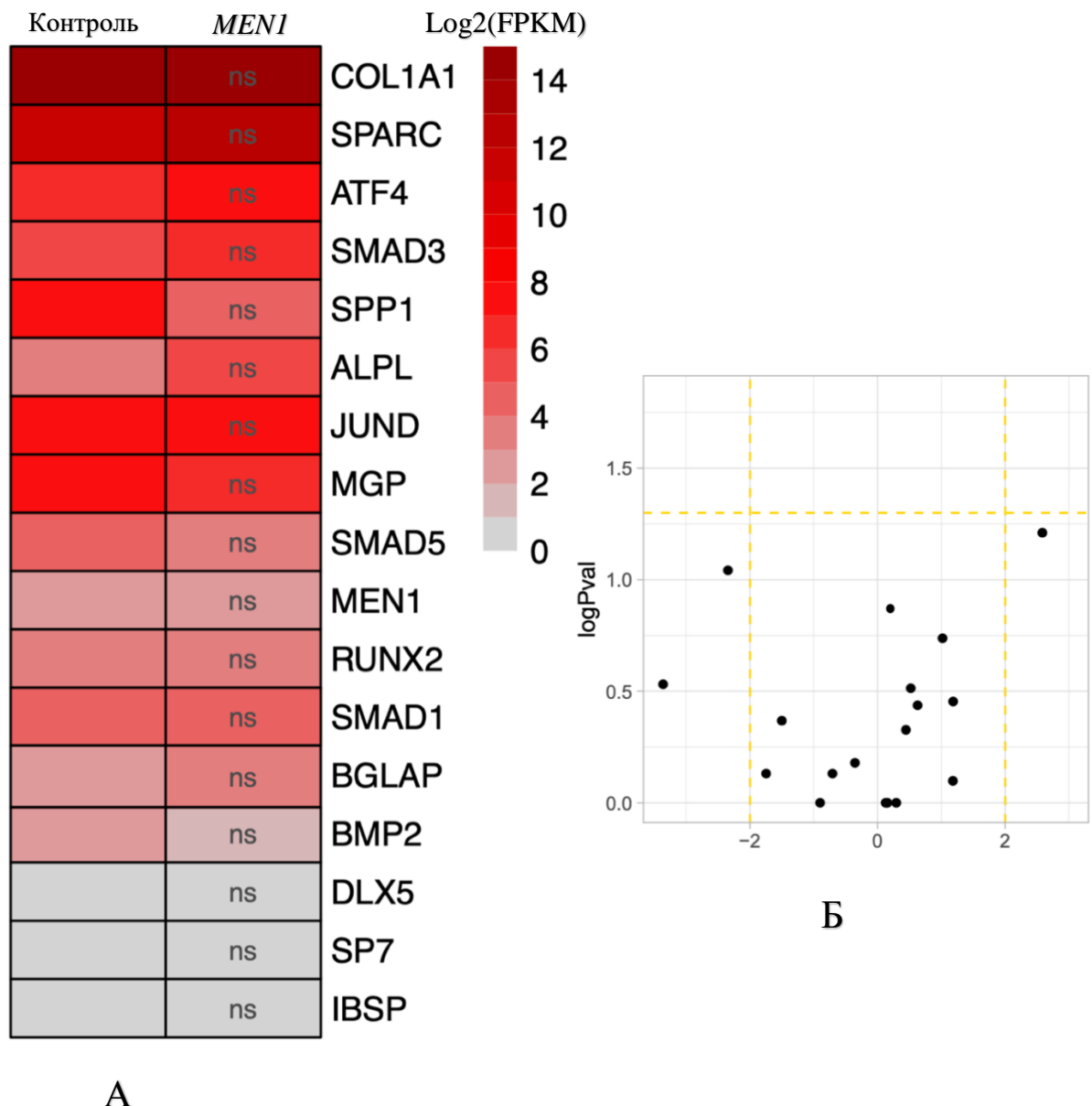


Рисунок 25 — А. Тепловая карта уровней экспрессии выбранных генов в МСК-подобных клетках в линии с мутацией в гене *MEN1:1230dupC* в сравнении с контрольной линией (без мутации в гене *MEN1*). Обозначения: Цифрами в ячейках обозначены значения FDR, в соответствующих сравнениях между контрольной и экспериментальной линиями; ns — статистически не значимо при $FDR \geq 0,05$; Log2(FPKM) — значения по модулю от логарифма экспрессии гена выраженное в FPKM (от англ. fragments per kilobase per million).

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

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 $FDR \geq 0,05$

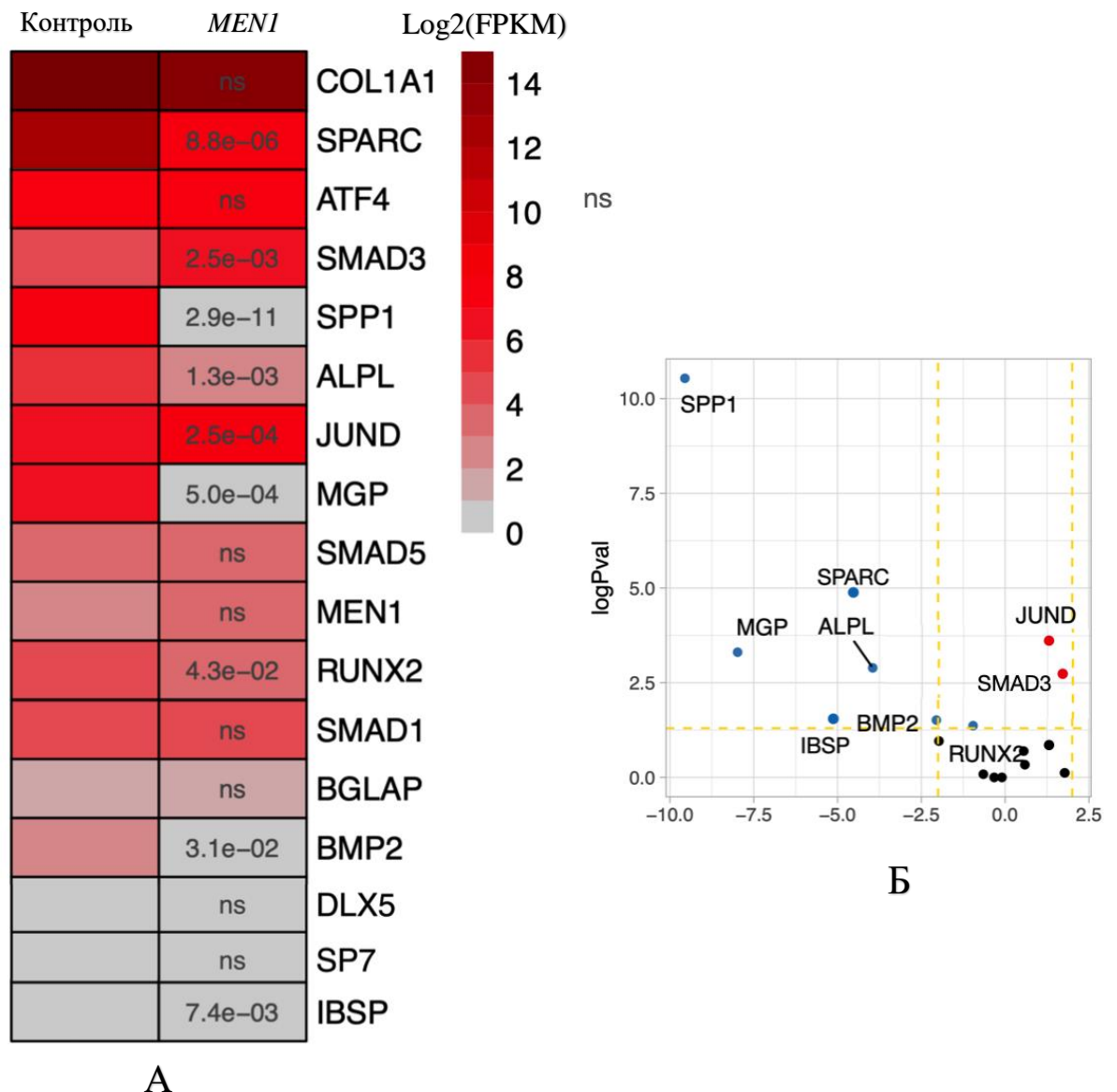


Рисунок 26 — А. Тепловая карта уровней экспрессии выбранных генов в остеобластах линии с мутацией в гене *MEN1:1230dupC* в сравнении с контрольной линией (без мутации в гене *MEN1*). Цифрами в ячейках обозначены значения FDR, в соответствующих сравнениях между контрольной и экспериментальной линиями; 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 13 — Функциональная аннотация выбранных генов, экспрессия которых значительно снижена в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем

Название гена	Описание	Описание в литературе
<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.	[148]
<i>ALPL</i>	Ген, кодирующий печеночную, почечную и костную изоформы щелочной фосфатазы. Костная изоформа фермента синтезируется преимущественно остеобластами и является маркером костеобразования: дефосфорилирует пиррофосфат — ингибитор костной минерализации, в результате продукт реакции — фосфат — включается в состав гидроксиапатита	[112, 149]
<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.	[150]
<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	[144]
<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	[151]
<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	[152, 153]
<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>	[146]

Таблица 14 — Функциональная аннотация выбранных генов, экспрессия которых значительно повышена в линии с мутацией в гене *MEN1* по сравнению с контролем

Название гена	Описание	Описание в литературе
<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	[154]
<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	[155, 156]

3.9 Обсуждение результатов фундаментального исследования

Оценить влияние мутации в гене *MEN1* на остеогенез довольно сложно, поскольку менин вовлечен во множество молекулярных взаимодействий в различных типах клеток. Несмотря на то что основной функцией менина является поддержание генетической стабильности генома, данный белок участвует в различных сигнальных путях, а также регулирует экспрессию генов через эпигенетические механизмы [157]. Принимая во внимание тот факт, что работы, касающиеся влияния менина на клетки остеогенного ряда, лимитированы, наше исследование было нацелено на проверку существующих гипотез, свидетельствующих о регуляции менином пролиферации остеобластов и минерализации костного матрикса.

При сравнительном анализе эффективности дифференцировки ИПСК в предшественники остеобластов — МСК-подобные клетки — в линии с мутацией в гене *MEN1*: *1230dupC* экспрессия CD105 была снижена по сравнению с контролем. Данный маркер является мембранным гликопротеином — рецептором TGF- β III типа, известным как эндоглин [158]. На сегодняшний день эндоглин рассматривается в качестве потенциального маркера эндотелиальной дисфункции, в том числе при ПГПТ [159], однако вопрос о потенциальном влиянии CD105 на остеогенез остается открытым. Так в исследовании Levi B. и соавт. [160] МСК, не экспрессирующие CD105⁻, обладали более высоким потенциалом к остеогенной дифференцировке по сравнению с субпопуляцией МСК, положительной по CD105⁺. При этом в работе Jiang T. [161] МСК CD105⁺ имели более высокую экспрессию генов остеогенной дифференцировки *RUNX2* и *SPARC* ($p < 0,01$) в сравнении с популяцией МСК CD105⁻. По результатам нашего исследования различий в экспрессии генов в МСК-подобных клетках не

выявлено, что может указывать на то, что влияние мутации в гене *MEN1* на остеогенез проявляется на уровне дифференцированных костных клеток, в частности остеобластах.

Согласно анализу предшествующих работ по изучению влияния менина на остеогенез [18, 92], экспрессия ключевых генов, регулирующих дифференцировку остеобластов, таких как *BMP2* и *RUNX2*, была снижена только при нокауте гена *MEN1* в остеобластах, однако в нашем исследовании аналогичный результат был получен в отношении герминальной мутации в гене *MEN1*. Низкая экспрессия *BMP2* и *RUNX2* может быть ассоциирована со снижением потенциала дифференцировки МСК-подобных клеток в остеобласты, что в конечном итоге приводит к снижению эффективности костного синтеза. В клинических исследованиях было показано, что экспрессия *RUNX2* положительно коррелирует с МПК у пациентов независимо от пола и возраста, при этом максимальная экспрессия гена регистрируется на завершающих этапах формирования пика костной массы [162]. Более того, стабильная экспрессия *RUNX2* необходима для регуляции других генов, регулирующих дифференцировку остеобластов и минерализацию костного матрикса, таких как *ALPL*, *IBSP*, *SPP1* и *COL1A1* [146], что подтверждается результатами нашего исследования в отношении *ALPL*, *IBSP*, *SPP1*. Следовательно, для пациентов с синдромом МЭН1 низкая экспрессия гена *RUNX2* может рассматриваться в качестве дополнительного фактора, негативно влияющего на формирования пика костной массы, наряду с ранней манифестацией мПГПТ.

Наряду с низкой экспрессией генов, отвечающих за дифференцировку остеобластов, в нашем исследовании при мутации в гене *MEN1:1230dupC* выявлено значительное повышение уровня экспрессии генов *JUND* и *SMAD3*, ингибирующих клеточную пролиферацию, в том числе остеобластов. При этом в отличие от работы Naito J. и соавт. [16], где высокая экспрессия гена *JUND* положительно коррелировала с уровнем экспрессии *RUNX2*, *BGLAP*, *ALPL*, *COL1A1*, в нашем исследовании экспрессия генов, отвечающих за регуляцию минерализации костного матрикса, была значительно понижена в линии с мутацией в гене *MEN1:1230dupC*. Потенциальным объяснением данного противоречия может являться нарушение взаимодействия менина с транскрипционным фактором *JUND*, поскольку точка мутации в 410-м кодоне может изменять пространственную конформацию менина и приводить к нарушению формирования *JUND*-связывающего мотива [32, 163]. В результате ингибирующее влияние менина на активность транскрипционного фактора *JUND* снижается, что приводит к сверхэкспрессии *JUND*, подавлению клеточной пролиферации и снижению эффективности минерализации костного матрикса. Таким образом, мутация в гене *MEN1* приводит к изменению профиля

экспрессии генов, вследствие чего снижается пролиферативная активность клеток остеобластов, а также снижается эффективность минерализации костного матрикса. Данные молекулярно-генетические особенности могут рассматриваться в качестве дополнительного фактора, обуславливающего тяжесть костных нарушений при мПГПТ.

Отдельно хотелось бы остановиться на ограничениях нашего исследования, связанных прежде всего с изучением лишь одного типа мутации в гене *MEN1* с использованием клеточных технологий. Безусловно, в будущем пациент-специфическая система должна быть дополнена новыми клеточными линиями с другими типами мутаций в гене *MEN1*, а также контролем в виде полного нокаута гена *MEN1* для комплексного изучения активации сигнальных путей, регулирующих остеогенез при отсутствии трансляции менина.

В завершении хотелось бы подчеркнуть, что использование клеточных систем на основе ИПСК для изучения патогенеза таких сложных заболеваний, как МЭН1, является перспективным направлением, поскольку позволяет учитывать особенности индивидуального генома, а также моделировать патологический процесс в различных типах клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПГПТ — наиболее частый компонент МЭН1, с которым в большинстве случаев ассоциирована манифестация синдрома. Как наследственные, так и спорадические формы ПГПТ сопровождаются развитием полиорганных осложнений, в том числе со значимым снижением МПК и развитием низкоэнергетических переломов. Опухолевая трансформация ОЩЖ непосредственно выступает в качестве мощного этиологического фактора развития костных нарушений, однако в литературе активно обсуждается непосредственная роль менина в регуляции костного ремоделирования. В то же время, в отличие от спорадической формы заболевания, данные об особенностях костных нарушений при мПГПТ лимитированы и противоречивы, что и послужило поводом для проведения данной работы.

В первой части исследования сравнительный анализ костно-метаболических нарушений в группах мПГПТ и сПГПТ проводился с использованием Базы данных клинико-эпидемиологического мониторинга ПГПТ на территории РФ. Пациенты с мПГПТ не отличались от группы сравнения по основным показателям кальциево-фосфорного обмена, за исключением общего и ионизированного кальция. Различий между группами по частоте изолированной почечной патологии и костных нарушений выявлено не было. При этом среди особенностей костного фенотипа при мПГПТ была выявлена бóльшая частота снижения МПК относительно ожидаемых возрастных значений в шейке бедренной кости ($p = 0,009$). Основными ограничениями при изучении мПГПТ ассоциированных костных нарушений на данном этапе исследования являлись: низкий охват генетическим скринингом 2,48% (161/6480) в исследуемой популяции, низкий процент доступности результатов денситометрического исследования на момент манифестации заболевания, возможность оценки МПК только по суррогатным критериям (Z- и T-критерий), а также отсутствие информации о гормональной активности других компонентов синдрома и терапии, ассоциированной с ними.

С учетом выявленных ограничений в первой части исследования во втором блоке работы набор пациентов для сравнительного анализа костно-метаболических нарушений осуществлялся только при соответствии жестким критериям включения/исключения. Для повышения качества и полноты данных оценка МПК производилась по абсолютным показателям, оценка кортикального и трабекулярного слоя бедренной кости впервые осуществлялась с помощью технологии 3D-моделирования. Разработанный дизайн исследования, а также новые технологии позволили выявить достоверные различия в костном фенотипе между группами с мПГПТ и сПГПТ на момент манифестации заболевания до проведения какой-либо специфической терапии

и ПТЭ. В соответствии с полученными результатами мПГПТ сопряжен с более выраженным снижением МПК в поясничном отделе позвоночника ($p = 0,001$), бедренной кости в целом ($p < 0,001$), шейке бедра ($p < 0,001$) и дистальной трети лучевой кости ($p = 0,019$). По данным 3D-DXA мПГПТ характеризуется преимущественным уменьшением толщины (FN $p = 0,002$; ТН $p < 0,001$), поверхностной (FN $p < 0,001$; ТН $p = 0,001$) и объемной плотности кортикальной кости (FN $p = 0,002$; ТН $p = 0,007$) в шейке бедренной кости и бедре в целом по сравнению со спорадической формой заболевания. Данные различия сохраняли свою значимость при отдельном сопоставлении сПГПТ с подгруппой А, в которой мПГПТ был единственным гормонально-активным компонентом МЭН1. Различия по объемной плотности трабекулярной кости были выявлены только в шейке бедренной кости (FN $p = 0,008$).

Оценка особенностей восстановления МПК, а также кортикального и трабекулярного компонента костной ткани проводилась через 1 год после хирургического лечения для пациентов групп мПГПТ и сПГПТ, достигших ремиссии заболевания. Статически значимый прирост МПК внутри каждой из групп был выявлен в поясничном отделе позвоночника (мПГПТ $p = 0,005$ / сПГПТ $p = 0,003$); шейке бедренной кости (мПГПТ $p = 0,004$ / сПГПТ $p = 0,003$) и бедренной кости в целом (мПГПТ $p = 0,003$ / сПГПТ $p = 0,001$). Использование 3D-моделирования проксимального отдела бедренной кости позволило вывить прирост как кортикальной, так и трабекулярной костной ткани в обеих группах, однако прирост толщины кортикальной кости был характерен только для группы МЭН1-ассоциированного гиперпаратиреоза (мПГПТ $p = 0,005$ / сПГПТ $p = 0,502$). При сравнительном анализе групп различий по МПК и показателям 3D-DXA не выявлено, что может свидетельствовать о схожем влиянии ПТЭ на восстановление костной ткани как при спорадической, так и МЭН1-ассоциированной форме заболевания. В то же время, принимая во внимание тот факт, что пациенты с мПГПТ в нашем исследовании имели более низкие исходные показатели МПК в поясничном отделе позвоночника, бедренной кости и дистальной трети лучевой кости на дооперационном этапе, сопоставимость групп после ПТЭ может указывать на более быстрое восстановление костной ткани при мПГПТ по сравнению со спорадической формой заболевания, что подчеркивает важность своевременного хирургического лечения в отношении минимизации костных нарушений в дальнейшем.

Использование пациент-специфических клеточных систем различных направлений дифференцировки, полученных из ИПСК человека, предполагает принципиально новые подходы к изучению молекулярных механизмов генетически детерминированных заболеваний. В рамках фундаментального блока нами изучалось влияние мутации в гене *MEN1:1230dupC* на остеогенез.

Мутация в гене *MEN1* ассоциирована с высокой экспрессией генов *JUND* и *SMAD3*, ингибирующих клеточную пролиферацию, и низкой экспрессией генов *SPP1*, *ALPL*, *IBSP*, *SPARC*, *MGP*, *BMP2* и *RUNX2*, отражающих остеобластогенез и минерализацию костного матрикса, что может выступать дополнительным фактором, обуславливающим тяжесть костных нарушений при мПГПТ.

Результаты нашего пилотного исследования вносят дополнительную информацию в патогенетический механизм, лежащий в основе более тяжелого течения костных нарушений у пациентов с мутациями в гене *MEN1*. В дальнейшем выявление молекулярных механизмов костной патологии при МЭН1 и их сопоставление с клинической картиной заболевания позволит пересмотреть подходы к терапии костных нарушений у пациентов с данным заболеванием и, вероятно, создать новые мишени для разработки новых лекарственных препаратов.

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 бóльшей 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- ИПСК — индуцированные плюрипотентные столовые клетки человека
- кДНК — комплементарная дезоксирибонуклеиновая кислота, синтезированная на матрице зрелой матричной РНК.
- 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
- ПЖ — поджелудочная железа
- 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
- ЭСК — эмбриональные стволовые клетки человека
- CRISPR-CAS9 — технология редактирования генома, состоящая из коротких палиндромных кластерных повторов (CRISPR — cluster regulatory interspaced short palindromic repeats) и CAS9белка (CRISPR ассоциированный белок 9)

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)

TH — оценка минеральной плотности кости в бедре в целом (total hip)

U-тест — статистический критерий Манна-Уитни

W-тест — статистический критерий Вилкоксона

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Thakker, R. V. Clinical practice guidelines for multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) / R. V. Thakker, P. J. Newey, G. V. Walls [et al.]. – DOI 10.1210/jc.2012-1230 // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – № 9 (97). – P. 2990–3011.
2. Maraghehli, D. Bone tissue and mineral metabolism in hereditary endocrine tumors: clinical manifestations and genetic bases / D. Maraghehli, F. Giusti, F. Marini, M. L. Brandi. – DOI 10.1186/s13023-020-01380-1 // *Orphanet J. Rare Dis.* – 2020. – № 1 (15). – P. 102.
3. Santucci, N. Recurrence After Surgery for Primary Hyperparathyroidism in 517 Patients With Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: An Association Francophone de Chirurgie Endocrinienne and Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines study / N. Santucci, E. Ksiazek, F. Pattou [et al.]. – DOI 10.1097/SLA.0000000000005980 // *Ann. Surg.* – 2024. – № 2 (279). – P. 340–345.
4. Nastos, C. Optimal extent of initial parathyroid resection in patients with multiple endocrine neoplasia syndrome type 1: A meta-analysis / C. Nastos, D. Papaconstantinou, E. Kofopoulos-Lymperis [et al.]. – DOI 10.1016/j.surg.2020.08.021 // *Surgery.* – 2021. – № 2 (169). – P. 302–310.
5. Nilubol, N. Limited Parathyroidectomy in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1-Associated Primary Hyperparathyroidism: A Setup for Failure / N. Nilubol, L. S. Weinstein, W. F. Simonds [et al.]. – DOI 10.1245/s10434-015-4865-9 // *Ann. Surg. Oncol.* – 2016. – № 2 (23). – P. 416–423.
6. Keutgen, X. M. Reoperative Surgery in Patients with Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 Associated Primary Hyperparathyroidism / X. M. Keutgen, N. Nilubol, S. Agarwal [et al.]. – DOI 10.1245/s10434-016-5467-x // *Ann. Surg. Oncol.* – 2016. – № 23 (suppl. 5). – P. 701–707.
7. Brescia, M. D. G. Impact of parathyroidectomy on quality of life in multiple endocrine neoplasia type 1 / M. D. G. Brescia, K. C. Rodrigues, A. F. d'Alessandro [et al.]. – DOI 10.1530/EC-22-0021 // *Endocr. Connect.* – 2022. – № 6 (11). – P. e220021.
8. Lamas, C. MEN1-associated primary hyperparathyroidism in the Spanish Registry: clinical characteristics and surgical outcomes / C. Lamas, E. Navarro, A. Casterás [et al.]. – DOI 10.1530/EC-19-0321 // *Endocr. Connect.* – 2019. – № 8 (10). – P. 1416–1424.
9. Mathew, U. E. Clinical profile and treatment outcomes among patients with sporadic and multiple endocrine neoplasia syndrome-related primary hyperparathyroidism / U. E. Mathew, A. Goyal, A. D. Upadhyay [et al.]. – DOI 10.1111/cen.14945 // *Clin. Endocrinol. (Oxf.)*. – 2023. – № 5 (99). – P. 449–458.

10. Eller-Vainicher, C. Sporadic and MEN1-related primary hyperparathyroidism: differences in clinical expression and severity / C. Eller-Vainicher, I. Chiodini, C. Battista [et al.]. – DOI 10.1359/jbmr.090304 // *J. Bone Miner. Res.* – 2009. – № 8 (24). – P. 1404–1410.
11. Kong, J. Clinical and Genetic Analysis of Multiple Endocrine Neoplasia Type 1-Related Primary Hyperparathyroidism in Chinese / J. Kong, O. Wang, M. Nie [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0166634 // *PLoS One*. – 2016. – № 11 (11). – P. e0166634.
12. Song, A. Trabecular Bone Score as a More Sensitive Tool to Evaluate Bone Involvement in MEN1-related Primary Hyperparathyroidism / A. Song, R. Chen, W. Guan [et al.]. – DOI 10.1210/clinem/dgad460 // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2023. – № 1 (109). – P. 135–142.
13. Burgess, J. R. Osteoporosis in multiple endocrine neoplasia type 1: severity, clinical significance, relationship to primary hyperparathyroidism, and response to parathyroidectomy / J. R. Burgess, R. David, T. M. Greenaway [et al.]. – DOI 10.1001/archsurg.134.10.1119 // *Arch Surg.* – 1999. – № 10 (134). – P. 1119–1123.
14. Coutinho, F. L. Bone mineral density analysis in patients with primary hyperparathyroidism associated with multiple endocrine neoplasia type 1 after total parathyroidectomy / F. L. Coutinho, D. M. Lourenço Jr., R. A. Toledo [et al.]. – DOI 10.1111/j.1365-2265.2009.03672.x // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. – 2010. – № 4 (72). – P. 462–468.
15. Silva, A. M. Operative intervention for primary hyperparathyroidism offers greater bone recovery in patients with sporadic disease than in those with multiple endocrine neoplasia type 1-related hyperparathyroidism / A. M. Silva, D. Vodopivec, I. Christakis [et al.]. – DOI 10.1016/j.surg.2016.06.065 // *Surgery*. – 2017. – № 1 (161). – P. 107–115.
16. Naito, J. Menin suppresses osteoblast differentiation by antagonizing the AP-1 factor, JunD / J. Naito, H. Kaji, H. Sowa [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M408143200 // *J. Biol. Chem.* – 2005. – № 6 (280). – P. 4785–4791.
17. Kaji, H. Menin and bone metabolism / H. Kaji. – DOI 10.1007/s00774-012-0355-3 // *J. Bone Miner. Metab.* – 2012. – № 4 (30). – P. 381–387.
18. Kanazawa, I. Osteoblast menin regulates bone mass in vivo / I. Kanazawa, L. Canaff, Abi J. Rafeh [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M114.629899 // *J. Biol. Chem.* – 2015. – № 7 (290). – P. 3910–3924.
19. Sowa, H. Inactivation of menin, the product of the multiple endocrine neoplasia type 1 gene, inhibits the commitment of multipotential mesenchymal stem cells into the osteoblast lineage / H. Sowa, H. Kaji, L. Canaff [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M302044200 // *J. Biol. Chem.* – 2003. – № 23

(278). – P. 21058–21069. [Published correction appears in J. Biol. Chem. – 2004 Sep 10. – № 37 (279). – P. 39186]

20. Liu, P. Loss of menin in osteoblast lineage affects osteocyte-osteoclast crosstalk causing osteoporosis / P. Liu, S. Lee, J. Knoll [et al.]. – DOI 10.1038/cdd.2016.165 // *Cell. Death. Differ.* – 2017. – № 4 (24). – P. 672–682.

21. Brandi, M. L. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1: Latest Insights / M. L. Brandi, S. K. Agarwal, N. D. Perrier [et al.]. – DOI 10.1210/endrev/bnaa031 // *Endocr. Rev.* – 2021. – № 2 (42). – P. 133–170.

22. Tsukada, T. MEN1 gene and its mutations: basic and clinical implications / T. Tsukada, Y. Nagamura, N. Ohkura. – DOI 10.1111/j.1349-7006.2008.01034.x // *Cancer Sci.* – 2009. – № 2 (100). – P. 209–215.

23. Al-Salameh, A. Clinical aspects of multiple endocrine neoplasia type 1 / A. Al-Salameh, G. Cadiot, A. Calender [et al.]. – DOI 10.1038/s41574-021-00468-3 // *Nat. Rev. Endocrinol.* – 2021. – № 4 (17). – P. 207–224.

24. Doumith, R. Pituitary prolactinoma, adrenal aldosterone-producing adenomas, gastric schwannoma and colonic polyadenomas: a possible variant of multiple endocrine neoplasia (MEN) type I / R. Doumith, J. L. de Gennes, J. P. Cabane, N. Zygelman. – DOI 10.1530/acta.0.1000189 // *Acta Endocrinol. (Copenh)*. – 1982. – № 2 (100). – P. 189–195.

25. McKeeby, J. L. Multiple leiomyomas of the esophagus, lung, and uterus in multiple endocrine neoplasia type 1 / J. L. McKeeby, X. Li, Z. Zhuang [et al.]. – DOI 10.1016/S0002-9440(10)61788-9 // *Am. J. Pathol.* – 2001. – № 3 (159). – P. 1121–1127.

26. Sturiale, A. Massive intrathoracic lipoma in men1 syndrome / A. Sturiale, F. Giudici, G. Alemanno [et al.]. – DOI 10.1016/j.ijscr.2014.10.071 // *Int. J. Surg. Case Rep.* – 2015. – № 6. – P. 247–250.

27. Kato, H. Multiple endocrine neoplasia type 1 associated with spinal ependymoma / H. Kato, I. Uchimura, M. Morohoshi [et al.]. – DOI 10.2169/internalmedicine.35.285 // *Intern. Med.* – 1996. – № 4 (35). – P. 285–289.

28. Kim, S. H. Adrenal incidentaloma, breast cancer and unrecognized multiple endocrine neoplasia type 1 / S. H. Kim, J. H. Park. – DOI 10.4183/aeb.2019.513 // *Acta. Endocrinol. (Buchar)*. – 2019. – № 4 (15). – P. 513–517.

29. Wermer, P. Genetic aspects of adenomatosis of endocrine glands / P. Wermer. – DOI 10.1016/0002-9343(54)90353-8 // *Am. J. Med.* – 1954. – № 3 (16). – P. 363–371.

30. Chandrasekharappa, S. C. Positional cloning of the gene for multiple endocrine neoplasia-type 1 / S. C. Chandrasekharappa, S. C. Guru, P. Manickam [et al.] // *Science*. – 1997. – № 276 (5311). – P. 404–407.
31. Lemmens, I. Identification of the multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) gene. The European Consortium on MEN1 / I. Lemmens, W. J. Van de Ven, K. Kas [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 1997. – № 6 (7). – P. 1177–1183.
32. Lemos, M. C. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): analysis of 1336 mutations reported in the first decade following identification of the gene / M. C. Lemos, R. V. Thakker // *Hum. Mutat.* – 2008. – № 1 (29). – P. 22–32.
33. Concolino, P. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): An update of 208 new germline variants reported in the last nine years / P. Concolino, A. Costella, E. Capoluongo // *Cancer Genet.* – 2016. – № 209 (1–2). – P. 36–41.
34. Thevenon, J. Higher risk of death among MEN1 patients with mutations in the JunD interacting domain: a Groupe d'etude des Tumeurs Endocrines (GTE) cohort study / J. Thevenon, A. Bourredjem, L. Faivre [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 2013. – № 10 (22). – P. 1940–1948.
35. Skalniak, A. A novel in-frame deletion in MEN1 (p.Ala416del) causes familial multiple endocrine neoplasia type 1 with an aggressive phenotype and unexpected inheritance pattern / A. Skalniak, G. Sokołowski, A. Jabrocka-Hybel [et al.] // *Mol. Med. Rep.* – 2016. – № 3 (14). – P. 2061–2066.
36. Knudson, A. G. Jr. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma / A. G. Knudson Jr. // *Proc Natl Acad Sci USA*. – 1971. – № 4 (68). – P. 820–823.
37. Pannett, A. A. Somatic mutations in MEN type 1 tumors, consistent with the Knudson "two-hit" hypothesis / A. A. Pannett, R. V. Thakker // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – № 9 (86). – P. 4371–4374.
38. Thakker, R. V. Association of somatotrophinomas with loss of alleles on chromosome 11 and with gsp mutations / R. V. Thakker, M. A. Pook, C. Wooding [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 1993. – № 6 (91). – P. 2815–2821.
39. Bergman, L. Identification of somatic mutations of the MEN1 gene in sporadic endocrine tumours / L. Bergman, C. Boothroyd, J. Palmer [et al.] // *Br. J. Cancer*. – 2000. – № 8 (83). – P. 1003–1008.
40. Qi, C. Two nonsense somatic mutations in *MEN1* identified in sporadic insulinomas / C. Qi, J. Duan, Q. Shi [et al.] // *FEBS Open Bio*. – 2018. – № 2 (8). – P. 295–301.

41. Luzi, E. The negative feedback-loop between the oncomir Mir-24-1 and menin modulates the Men1 tumorigenesis by mimicking the "Knudson's second hit" / E. Luzi, F. Marini, F. Giusti [et al.] // *PLoS One*. – 2012. – № 6 (7). – P. e39767.
42. Yaguchi, H. Menin missense mutants associated with multiple endocrine neoplasia type 1 are rapidly degraded via the ubiquitin-proteasome pathway / H. Yaguchi, N. Ohkura, M. Takahashi [et al.] // *Mol. Cell. Biol.* – 2004. – № 15 (24). – P. 6569–6580.
43. Canaff, L. Menin missense mutants encoded by the MEN1 gene that are targeted to the proteasome: restoration of expression and activity by CHIP siRNA / L. Canaff, J. F. Vanbellinghen, I. Kanazawa [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – № 2 (97). – P. E282–E291.
44. Caswell, R. C. Using Structural Analysis *In Silico* to Assess the Impact of Missense Variants in MEN1 / R. C. Caswell, M. M. Owens, A. C. Gunning [et al.] // *J. Endocr. Soc.* – 2019. – № 3 (12). – P. 2258–2275.
45. Hughes, C. M. Menin associates with a trithorax family histone methyltransferase complex and with the hoxc8 locus / C. M. Hughes, O. Rozenblatt-Rosen, T. A. Milne [et al.] // *Mol. Cell.* – 2004. – № 4 (13). – P. 587–597.
46. Kim, H. Menin, a tumor suppressor, represses JunD-mediated transcriptional activity by association with an mSin3A-histone deacetylase complex / H. Kim, J. E. Lee, E. J. Cho [et al.] // *Cancer Res.* – 2003. – № 19 (63). – P. 6135–6139.
47. Jin, B. MEN1 is a regulator of alternative splicing and prevents R-loop-induced genome instability through suppression of RNA polymerase II elongation / B. Jin, J. Zhu, T. Pan [et al.] // *Nucleic. Acids Res.* – 2023. – № 15 (51). – P. 7951–7971.
48. Machens, A. Age-related penetrance of endocrine tumours in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1): a multicentre study of 258 gene carriers / A. Machens, L. Schaaf, W. Karges [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. – 2007. – № 4 (67). – P. 613–622.
49. Yamazaki, M. Delay in the diagnosis of multiple endocrine neoplasia type 1: typical symptoms are frequently overlooked / M. Yamazaki, S. Suzuki, S. Kosugi [et al.] // *Endocr. J.* – 2012. – № 9 (59). – P. 797–807.
50. Lassen, T. Primary hyperparathyroidism in young people. When should we perform genetic testing for multiple endocrine neoplasia 1 (MEN-1)? / T. Lassen, L. Friis-Hansen, A. K. Rasmussen [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* . – 2014. – № 11 (99). – P. 3983–3987.

51. Goudet, P. Risk factors and causes of death in MEN1 disease. A GTE (Groupe d'Etude des Tumeurs Endocrines) cohort study among 758 patients / P. Goudet, A. Murat, C. Binquet [et al.] // *World J. Surg.* – 2010. – № 2 (34). – P. 249–255.
52. Bilezikian, J. P. Primary hyperparathyroidism / J. P. Bilezikian, N. E. Cusano, A. A. Khan [et al.] // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2016. – № 2. – P. 16033.
53. Schaaf, L. Developing effective screening strategies in multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN 1) on the basis of clinical and sequencing data of German patients with MEN 1 / L. Schaaf, J. Pickel, K. Zinner [et al.] // *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* – 2007. – № 8 (115). – P. 509–517.
54. Мокрышева, Н. Г. Первичный гиперпаратиреоз. Эпидемиология, клиника, современные принципы диагностики и лечения : дис. ... д-ра. мед. наук : 14.01.02 / Мокрышева Наталья Георгиевна. – М., 2011.
55. Мокрышева, Н. Г. Первичный гиперпаратиреоз в России по данным регистра / Н. Г. Мокрышева, С. С. Мирная, Е. А. Добрева, и соавт. – DOI 10.14341/probl10126 // *Проблемы Эндокринологии.* – 2019. – № 5 (65). – P. 300–310.
56. Marini, F. Bone phenotypes in multiple endocrine neoplasia type 1: survey on the MEN1 Florentine database / F. Marini, F. Giusti, T. Iantomasi [et al.] // *Endocr. Connect.* – 2022. – № 5 (11). – P. e210456.
57. Sakurai, A. Multiple endocrine neoplasia type 1 in Japan: establishment and analysis of a multicentre database / A. Sakurai, S. Suzuki, S. Kosugi [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf.).* – 2012. – № 4 (76). – P. 533–539.
58. Twigt, B. A. Differences between sporadic and MEN related primary hyperparathyroidism; clinical expression, preoperative workup, operative strategy and follow-up / B. A. Twigt, A. Scholten, G. D. Valk [et al.] // *Orphanet J. Rare Dis.* – 2013. – № 8. – P. 50.
59. 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). – С. 81–90.
60. Weaver, C. M. Erratum to: The National Osteoporosis Foundation's position statement on peak bone mass development and lifestyle factors: a systematic review and implementation recommendations / C. M. Weaver, C. M. Gordon, K. F. Janz [et al.] // *Osteoporos Int.* – 2016. – № 4 (27). – P. 1387.
61. Lourenço Jr., D. M. Early-onset, progressive, frequent, extensive, and severe bone mineral and renal complications in multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary

hyperparathyroidism / D. M. Lourenço Jr., F. L. Coutinho, R. A. Toledo [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2010. – № 11 (25). – P. 2382–2391.

62. Altieri, B. Bone Metabolism and Vitamin D Implication in Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors / B. Altieri, C. Di Dato, R. Modica [et al.] // *Nutrients*. – 2020. – № 4 (12). – P. 1021.

63. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Первичный гиперпаратиреоз» 2020. – URL: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/88_4. (дата обращения: 31.08.2024).

64. Brandi, M. L. Guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2 / M. L. Brandi, R. F. Gagel, A. Angeli [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2001. – № 12 (86). – P. 5658–5671.

65. Мамедова, Е. О. Молекулярно-генетические особенности первичного гиперпаратиреоза у пациентов молодого возраста / Е. О. Мамедова, Н. Г. Мокрышева, Е. А. Пигарова [и др.] // *Проблемы Эндокринологии*. – 2016. – № 2 (62). – С. 4–11.

66. Mokrysheva, N. G. The Russian registry of primary hyperparathyroidism, latest update / N. G. Mokrysheva, A. K. Eremkina, A. R. Elfimova [et al.]. – DOI 10.3389/fendo.2023.1203437 // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. – 2023. – № 14. – P. 1203437.

67. Langer, P. Prevalence of multiple endocrine neoplasia type 1 in young patients with apparently sporadic primary hyperparathyroidism or pancreaticoduodenal endocrine tumours / P. Langer, A. Wild, A. Hall [et al.] // *Br. J. Surg.* – 2003. – № 12 (90). – P. 1599–1603.

68. Mariathasan, S. Genetic testing for hereditary hyperparathyroidism and familial hypocalciuric hypercalcaemia in a large UK cohort / S. Mariathasan, K. A. Andrews, E. Thompson [et al.] // *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. – 2020. – № 4 (93). – P. 409–418.

69. Skandarajah, A. Should routine analysis of the MEN1 gene be performed in all patients with primary hyperparathyroidism under 40 years of age? / A. Skandarajah, A. Barlier, N. Morlet-Barlat [et al.] // *World J. Surg.* – 2010. – № 6 (34). – P. 1294–1298.

70. de Laat, J. M. Predicting the risk of multiple endocrine neoplasia type 1 for patients with commonly occurring endocrine tumors / J. M. de Laat, E. Tham, C. R. Pieterman [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2012. – № 2 (167). – P. 181–187.

71. Мокрышева, Н. Г. Прогнозирование наличия мутации в гене *MEN1* на основании клинического фенотипа пациентов с первичным гиперпаратиреозом / Н. Г. Мокрышева,

А. К. Еремкина, А. П. Милютин [и др.] // *Проблемы Эндокринологии*. – 2023. – № 5 (69). – С. 4–15.

72. Marini, F. Bone and Mineral Metabolism Phenotypes in MEN1-Related and Sporadic Primary Hyperparathyroidism, before and after Parathyroidectomy / F. Marini, F. Giusti, F. Cioppi [et al.] // *Cells*. – 2021. – № 8 (10). – P. 1895.

73. Miao, Q. iPSC-derived human mesenchymal stem cells improve myocardial strain of infarcted myocardium / Q. Miao, W. Shim, N. Tee [et al.] // *J. Cell. Mol. Med.* – 2014. – № 8 (18). – P. 1644–1654.

74. Wang, W. Impaired geometry, volumetric density, and microstructure of cortical and trabecular bone assessed by HR-pQCT in both sporadic and MEN1-related primary hyperparathyroidism / W. Wang, M. Nie, Y. Jiang [et al.] // *Osteoporos Int.* – 2020. – № 1 (31). – P. 165–173.

75. Duan, K. Clinicopathological correlates of hyperparathyroidism / K. Duan, K. Gomez Hernandez, O. Mete // *J. Clin. Pathol.* – 2015. – № 10 (68). – P. 771–787.

76. Turchini, J. Hereditary Parathyroid Disease: Sometimes Pathologists Do Not Know What They Are Missing / J. Turchini, A. J. Gill. – DOI 10.1007/s12022-020-09631-4 // *Endocr. Pathol.* – 2020. – № 3 (31). – P. 218–230.

77. Ruda, J. M. A systematic review of the diagnosis and treatment of primary hyperparathyroidism from 1995 to 2003 / J. M. Ruda, C. S. Hollenbeak, B. C. Stack Jr. // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2005. – № 3 (132). – P. 359–372.

78. d'Alessandro, A. F. Supernumerary parathyroid glands in hyperparathyroidism associated with multiple endocrine neoplasia type 1 / A. F. d'Alessandro, F. L. Montenegro, L. G. Brandão [et al.] // *Rev. Assoc. Med. Bras (1992)*. – 2012. – № 3 (58). – P. 323–327.

79. Мокрышева, Н. Г. Околощитовидные железы. Первичный гиперпаратиреоз. – М.: Медицинское информационное агентство, 2019. – 448 с

80. Squires, M. H. Intraoperative Autofluorescence Parathyroid Identification in Patients With Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 / M. H. Squires, L. A. Shirley, C. Shen [et al.] // *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2019. – № 10 (145). – P. 897–902.

81. Wimmer, G. CT-MIBI-SPECT image fusion predicts multiglandular disease in hyperparathyroidism / G. Wimmer, C. Profanter, P. Kovacs [et al.] // *Langenbecks Arch. Surg.* – 2010. – № 1 (395). – P. 73–80.

82. Gauthé, M. ^{18}F -fluorocholine PET/CT in MEN1 Patients with Primary Hyperparathyroidism / M. Gauthé, A. Dierick-Gallet, T. Delbot [et al.] // *World J. Surg.* – 2020. – № 11 (44). – P. 3761–3769.
83. Buła, G. Parathormone concentration in the fluid of fine-needle parathyroid biopsy for assessing the effectiveness of surgical treatment of patients with primary hyperparathyroidism / G. Buła, G. Kowalski, A. Bednarczyk [et al.] // *Endokrynol. Pol.* – 2022. – № 4 (73). – P. 706–711.
84. Hirokawa, M. Histological alterations following fine-needle aspiration for parathyroid adenoma: Incidence and diagnostic problems / M. Hirokawa, A. Suzuki, M. Higuchi [et al.] // *Pathol. Int.* – 2021. – № 6 (71). – P. 400–405.
85. Nobecourt, P. F. Intraoperative Decision-Making and Technical Aspects of Parathyroidectomy in Young Patients With MEN1 Related Hyperparathyroidism / P. F. Nobecourt, J. Zagzag, E. A. Asare, N. D. Perrier // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. – 2018. – № 9. – P. 618.
86. Moyes, V. J. Clinical Use of Cinacalcet in MEN1 Hyperparathyroidism / V. J. Moyes, J. P. Monson, S. L. Chew, S. A. Akker // *Int. J. Endocrinol.* – 2010. – № 2010. – P. 906163.
87. Filopanti, M. MEN1-related hyperparathyroidism: response to cinacalcet and its relationship with the calcium-sensing receptor gene variant Arg990Gly / M. Filopanti, U. Verga, F. Ermetici [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2012. – № 2 (167). – P. 157–164.
88. Giusti, F. Cinacalcet therapy in patients affected by primary hyperparathyroidism associated to Multiple Endocrine Neoplasia Syndrome type 1 (MEN1) / F. Giusti, L. Cianferotti, G. Gronchi [et al.] // *Endocrine*. – 2016. – № 3 (52). – P. 495–506.
89. Crabtree, J. S. A mouse model of multiple endocrine neoplasia, type 1, develops multiple endocrine tumors / J. S. Crabtree, P. C. Scacheri, J. M. Ward [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* – 2001. – № 3 (98). – P. 1118–1123.
90. Андреева, Д. Д. Трансгенные модельные объекты нового поколения и их использование в персонализированной медицине / Д. Д. Андреева, А. А. Синегубов, Н. А. Бурзак [и др.] // *Российский журнал персонализированной медицины*. – 2021. – № 1 (1). – С. 95–117.
91. Troka, I. Effect of Menin Deletion in Early Osteoblast Lineage on the Mineralization of an In Vitro 3D Osteoid-like Dense Collagen Gel Matrix / I. Troka, G. Griffanti, L. Canaff [et al.] // *Biomimetics (Basel)*. – 2022. – № 3 (7). – P. 101.
92. Sowa, H. Menin is required for bone morphogenetic protein 2- and transforming growth factor beta-regulated osteoblastic differentiation through interaction with Smads and Runx2 / H. Sowa, H. Kaji, G. N. Hendy [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2004. – № 39 (279). – P. 40267–40275.

93. Jilka, R. L. The relevance of mouse models for investigating age-related bone loss in humans / R. L. Jilka // *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* – 2013. – № 10 (68). – P. 1209–1217.
94. Sternecker, J. L. Investigating human disease using stem cell models / J. L. Sternecker, P. Reinhardt, H. R. Schöler // *Nat. Rev. Genet.* – 2014. – № 9 (15). – P. 625–639.
95. Thomson, J. A. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [published correction appears in *Science* 1998 Dec 4. – № 282 (5395). – P. 1827] / J. A. Thomson, J. Itskovitz-Eldor, S. S. Shapiro [et al.] // *Science*. – 1998. – № 282 (5391). – P. 1145–1147.
96. Takahashi, K. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors / K. Takahashi, S. Yamanaka // *Cell*. – 2006. – № 4 (126). – P. 663–676.
97. Yoshida, S. Generation of three induced pluripotent stem cell (iPSC) lines from a multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) patient and three iPSC lines from an unaffected relative of the patient / S. Yoshida, H. Okura, H. Suga [et al.] // *Stem. Cell. Res.* – 2020. – № 46. – P. 101846.
98. Klementieva, N. A Novel Isogenic Human Cell-Based System for MEN1 Syndrome Generated by CRISPR/Cas9 Genome Editing / N. Klementieva, D. Goliusova, J. Krupinova [et al.] // *Int. J. Mol. Sci.* – 2021. – № 21 (22). – P. 12054.
99. Ohno, T. Development of an isogenic human cell trio that models polyglutamine disease / T. Ohno, T. Nakane, T. Akase [et al.] // *Genes Genet. Syst.* – 2023. – № 4 (98). – P. 179–189.
100. Liu, Y. Generation of two MEN1 knockout lines from a human embryonic stem cell line / Y. Liu, A. Ruzi, D. Guo [et al.] // *Stem. Cell. Res.* – 2017. – № 24. – P. 169–173.
101. Even-Zohar, N. Generation of isogenic and homozygous MEN1 mutant cell lines from patient-derived iPSCs using CRISPR/Cas9 / N. Even-Zohar, D. Metin-Armagan, Ben-A. Shlomo [et al.] // *Stem Cell Res.* – 2023. – № 69. – P. 103124.
102. Avior, Y. Pluripotent stem cells in disease modelling and drug discovery / Y. Avior, I. Sagi, N. Benvenisty // *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* – 2016. – № 3 (17). – P. 170–182.
103. Lewiecki, E. M. 3D-modeling from hip DXA shows improved bone structure with romosozumab followed by denosumab or alendronate / E. M. Lewiecki, D. Betah, L. Humbert [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2024. – № 4 (39). – P. 473–483. – DOI 10.1093/jbmr/zjae028.
104. den Dunnen, J. T. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update / J. T. den Dunnen, R. Dalgleish, D. R. Maglott [et al.]. – DOI 10.1002/humu.22981 // *Hum. Mutat.* – 2016. – № 6 (37). – P. 564–569.

105. Рыжкова, О. П. Руководство по интерпретации данных последовательности ДНК человека, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) / О. П. Рыжкова, О. Л. Кардымон, Е. Б. Прохорчук [и др.] // *Медицинская генетика*. – 2019. – № 2 (18). – С. 3–23.
106. 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.
107. Marini, F. Multiple endocrine neoplasia type 1: extensive analysis of a large database of Florentine patients / F. Marini, F. Giusti, M. L. Brandi // *Orphanet J. Rare Dis*. – 2018. – № 1 (13). – P. 205.
108. Goudet, P. Hyperparathyroidism in multiple endocrine neoplasia type I: surgical trends and results of a 256-patient series from Groupe D'etude des Néoplasies Endocriniennes Multiples Study Group / P. Goudet, P. Cougard, B. Vergès [et al.] // *World J. Surg*. – 2001. – № 7 (25). – P. 886–890.
109. Giusti, F. Multiple endocrine neoplasia syndrome type 1: institution, management, and data analysis of a nationwide multicenter patient database / F. Giusti, L. Cianferotti, F. Boaretto [et al.]. – DOI 10.1007/s12020-017-1234-4 // *Endocrine*. – 2017. – № 2 (58). – P. 349–359.
110. Castellano, E. Sex Difference in the Clinical Presentation of Primary Hyperparathyroidism: Influence of Menopausal Status / E. Castellano, R. Attanasio, A. Boriano [et al.]. – DOI 10.1210/jc.2017-01080 // *J Clin Endocrinol Metab*. – 2017. – №11 (102). – P. 4148–4152
111. Wang, J. S. Sclerostin and Osteocalcin: Candidate Bone-Produced Hormones / J. S. Wang, C. M. Mazur, M. N. Wein // *Front Endocrinol. (Lausanne)*. – 2021. – № 12. – P. 584147.
112. Schini, M. Bone Turnover Markers: Basic Biology to Clinical Applications / M. Schini, T. Vilaca, F. Gossiel [et al.] // *Endocr. Rev*. – 2023. – № 3 (44). – P. 417–473.
113. McCloskey, E. V. Official Positions for FRAX® clinical regarding biochemical markers from Joint Official Positions Development Conference of the International Society for Clinical Densitometry and International Osteoporosis Foundation on FRAX / E. V. McCloskey, S. Vasikaran, C. Cooper // *J. Clin. Densitom*. – 2011. – № 3 (14). – P. 220–222.
114. Kann, P. H. Peripheral bone mineral density in correlation to disease-related predisposing conditions in patients with multiple endocrine neoplasia type 1 / P. H. Kann, D. Bartsch, P. Langer [et al.] // *J. Endocrinol. Invest*. – 2012. – № 6 (35). – P. 573–579.

115. Nagendra, L. Hyperprolactinemia Due to Prolactinoma has an Adverse Impact on Bone Health with Predominant Impact on Trabecular Bone: A Systematic Review and Meta-Analysis / L. Nagendra, D. Dutta, S. Mondal [et al.] // *J. Clin. Densitom.* – 2024. – № 1 (27). – P. 101453.
116. Wang, L. Bone microarchitecture impairment in prolactinoma patients assessed by HR-Pqct / L. Wang, K. Chen, L. Duan [et al.] // *Osteoporos Int.* – 2022. – № 7 (33). – P. 1535–1544.
117. Silverberg, S. J. Skeletal disease in primary hyperparathyroidism / S. J. Silverberg, E. Shane, L. de la Cruz [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* 1989. – № 3 (4). – P. 283–291.
118. Eller-Vainicher, C. Bone quality, as measured by trabecular bone score, in patients with primary hyperparathyroidism / C. Eller-Vainicher, M. Filopanti, S. Palmieri [et al.] // *Eur. J. Endocrinol.* – 2013. – № 2 (169). – P. 155–162.
119. Vu, T. D. New insights into the effects of primary hyperparathyroidism on the cortical and trabecular compartments of bone / T. D. Vu, X. F. Wang, Q. Wang [et al.] // *Bone.* – 2013. – № 1 (55). – P. 57–63.
120. Humbert, L. 3D-DXA: Assessing the Femoral Shape, the Trabecular Macrostructure and the Cortex in 3D from DXA images / L. Humbert, Y. Martelli, R. Fonolla [et al.] // *IEEE Trans Med. Imaging.* – 2017. – № 1 (36). – P. 27–39.
121. Qasim, M. 3D-DXA Based Finite Element Modelling for Femur Strength Prediction: Evaluation Against QCT / M. Qasim, M. López Picazo, C. Ruiz Wills [et al.] // *J. Clin. Densitom.* – 2024. – № 2 (27). – P. 101471.
122. Zebaze, R. M. Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study / R. M. Zebaze, A. Ghasem-Zadeh, A. Bohte [et al.] // *Lancet.* – 2010. – № 375 (9727). – P. 1729–1736.
123. Gracia-Marco, L. Analysis of Bone Impairment by 3D DXA Hip Measures in Patients With Primary Hyperparathyroidism: A Pilot Study / L. Gracia-Marco, B. García-Fontana, E. Ubago-Guisado [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2020. – № 1 (105). – P. dgz060.
124. 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. – P. 6382.
125. Bilezikian, J. P. Guidelines for the management of asymptomatic primary hyperparathyroidism: summary statement from the Fourth International Workshop / J. P. Bilezikian, M. L. Brandi, R. Eastell [et al.] // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2014. – № 10 (99). – P. 3561–3569.

126. Дедов, И. И. Проект клинических рекомендаций по диагностике и лечению первичного гиперпаратиреоза у взрослых пациентов / И. И. Дедов, Г. А. Мельниченко, Н. Г. Мокрышева [и др.] // *Эндокринная хирургия*. – 2022. – № 4 (16). – С. 5–54.
127. Geslot, A. New therapies for patients with multiple endocrine neoplasia type 1 / A. Geslot, M. Vialon, P. Caron [et al.] // *Ann. Endocrinol. (Paris)*. – 2021. – № 2 (82). – P. 112–120.
128. Gibril, F. Multiple endocrine neoplasia type 1 and Zollinger-Ellison syndrome: a prospective study of 107 cases and comparison with 1009 cases from the literature [published correction appears in *Medicine (Baltimore)*. – 2004 May. – № 3 (83). – P. 175] / F. Gibril, M. Schumann, A. Pace, R. T. Jensen // *Medicine (Baltimore)*. – 2004. – № 1 (83). – P. 43–83.
129. Lundstam, K. Positive Effect of Parathyroidectomy Compared to Observation on BMD in a Randomized Controlled Trial of Mild Primary Hyperparathyroidism / K. Lundstam, M. Pretorius, J. Bollerslev [et al.] // *J. Bone Miner. Res.* – 2023. – № 3 (38). – P. 372–380.
130. Anagnostis, P. Efficacy of parathyroidectomy compared with active surveillance in patients with mild asymptomatic primary hyperparathyroidism: a systematic review and meta-analysis of randomized-controlled studies / P. Anagnostis, K. Vaitsi, S. Veneti [et al.] // *J. Endocrinol. Invest.* – 2021. – № 6 (44). – P. 1127–1137.
131. Choi, H. R. Benefit of diverse surgical approach on short-term outcomes of MEN1-related hyperparathyroidism / H. R. Choi, S. H. Choi, S. M. Choi [et al.] // *Sci. Rep.* – 2020. – № 1 (10). – P. 10634.
132. Kenkre, J. S. The bone remodelling cycle / J. S. Kenkre, J. Bassett // *Ann. Clin. Biochem.* – 2018. – № 3 (55). – P. 308–327.
133. Zhang, L. Long-Term Skeletal Outcomes of Primary Hyperparathyroidism Patients After Treatment with Parathyroidectomy: A Systematic Review and Meta-Analysis / L. Zhang, X. Liu, H. Li // *Horm. Metab. Res.* – 2018. – № 3 (50). – P. 242–249.
134. Arboiro-Pinel, R. Primary Hyperparathyroidism: Assessment of the Effects of Parathyroidectomy Using Dual X-Ray Absorptiometry, Trabecular Bone Score, and Dual X-Ray Absorptiometry-Based Three-Dimensional Modeling / R. Arboiro-Pinel, Mahillo- I. Fernández, M. Díaz-Curiel // *Endocr. Pract.* – 2024. – № 4 (30). – P. 340–347.
135. Kendler, D. L. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy / D. L. Kendler, C. Roux, C. L. Benhamou [et al.]. – DOI 10.1359/jbmr.090716 // *J. Bone Miner. Res.* – 2010. – № 1 (25). – P. 72–81.

136. Bilezikian, J. P. Long-term denosumab treatment restores cortical bone loss and reduces fracture risk at the forearm and humerus: analyses from the FREEDOM Extension cross-over group / J. P. Bilezikian, C. J. F. Lin, J. P. Brown [et al.]. – DOI 10.1007/s00198-019-05020-8 // *Osteoporos Int.* – 2019. – № 9 (30). – P. 1855–1864.
137. Roelofs, A. J. Influence of bone affinity on the skeletal distribution of fluorescently labeled bisphosphonates in vivo / A. J. Roelofs, C. A. Stewart, S. Sun [et al.]. – DOI 10.1002/jbmr.1543 // *J. Bone Miner. Res.* – 2012. – № 4 (27). – P. 835–847.
138. Zebaze, R. M. Differing effects of denosumab and alendronate on cortical and trabecular bone / R. M. Zebaze, C. Libanati, M. Austin [et al.]. – DOI 10.1016/j.bone.2013.11.016 // *Bone*. – 2014. – № 59. – P. 173–179.
139. Borggaard, X. G. Alendronate prolongs the reversal-resorption phase in human cortical bone remodeling / X. G. Borggaard, J. P. Roux, J. M. Delaisse [et al.]. – DOI 10.1016/j.bone.2022.116419 // *Bone*. – 2022. – № 160. – P. 116419.
140. Luo, Y. Analysis of MEN1 c.482G>A (p.Gly161Asp) mutation in a pedigree with familial multiple endocrine neoplasia type 1 / Y. Luo, Y. Sun, X. Zhu, X. Li // *Mol. Med. Rep.* – 2017. – № 6 (16). – P. 8973–8976.
141. Viswanathan, S. Mesenchymal stem versus stromal cells: International Society for Cell & Gene Therapy (ISCT®) Mesenchymal Stromal Cell committee position statement on nomenclature / S. Viswanathan, Y. Shi, J. Galipeau [et al.]. – DOI 10.1016/j.jcyst.2019.08.002 // *Cytotherapy*. – 2019. – № 10 (21). – P. 1019–1024.
142. Agarwal, S. K. Germline mutations of the MEN1 gene in familial multiple endocrine neoplasia type 1 and related states / S. K. Agarwal, M. B. Kester, L. V. Debelenko [et al.] // *Hum. Mol. Genet.* – 1997. – № 6 (7). – P. 1169–1175.
143. Karin, M. AP-1 function and regulation / M. Karin, Zg. Liu, E. Zandi. – DOI 10.1016/s0955-0674(97)80068-3 // *Curr. Opin Cell. Biol.* – 1997. – № 2 (9). – P. 240–246.
144. Rosset, E. M. SPARC/osteonectin in mineralized tissue / E. M. Rosset, A. D. Bradshaw. – DOI 10.1016/j.matbio.2016.02.001 // *Matrix Biol.* – 2016. – № 52–54. – P. 78–87.
145. Zainal Ariffin, S. H. Gene expression profiles for *in vitro* human stem cell differentiation into osteoblasts and osteoclasts: a systematic review / S. H. Zainal Ariffin, K. W. Lim, R. Megat Abdul Wahab [et al.]. – DOI 10.7717/peerj.14174 // *PeerJ*. – 2022. – № 10. – P. e14174.

146. Vimalraj, S. Runx2: Structure, function, and phosphorylation in osteoblast differentiation / S. Vimalraj, B. Arumugam, P. J. Miranda, N. Selvamurugan. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2015.04.008 // *Int. J. Biol. Macromol.* – 2015. – № 78. – P. 202–208.
147. Zhang, C. Transcriptional regulation of bone formation by the osteoblast-specific transcription factor Osx / C. Zhang. – DOI 10.1186/1749-799X-5-37 // *J. Orthop. Surg. Res.* – 2010. – № 5. – P. 37.
148. Si, J. Osteopontin in Bone Metabolism and Bone Diseases / J. Si, C. Wang, D. Zhang [et al.]. – DOI 10.12659/MSM.919159 // *Med. Sci. Monit.* – 2020. – № 26. – P. e919159.
149. Vimalraj, S. Alkaline phosphatase: Structure, expression and its function in bone mineralization / S. Vimalraj. – DOI 10.1016/j.gene.2020.144855 // *Gene.* – 2020. – № 754. – P. 144855.
150. Foster, B. L. The role of bone sialoprotein in bone healing / B. L. Foster. – DOI 10.1016/j.jsb.2024.108132 // *J. Struct. Biol.* – 2024 Oct 5.
151. Julien, M. Phosphate-dependent regulation of MGP in osteoblasts: role of ERK1/2 and Fra-1 / M. Julien, S. Khoshniat, A. Lacreusette [et al.]. – DOI 10.1359/jbmr.090508 // *J. Bone Miner. Res.* – 2009. – № 11 (24). – P. 1856–1868.
152. Lavery, K. BMP-2/4 and BMP-6/7 differentially utilize cell surface receptors to induce osteoblastic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stem cells / K. Lavery, P. Swain, D. Falb, M. H. Alaoui-Ismaili. – DOI 10.1074/jbc.M800850200 // *J. Biol. Chem.* – 2008. – № 30 (283). – P. 20948–20958.
153. Halloran, D. Bone Morphogenetic Protein-2 in Development and Bone Homeostasis / D. Halloran, H. W. Durbano, A. Nohe. – DOI 10.3390/jdb8030019 // *J. Dev. Biol.* – 2020. – № 3 (8). – P. 19.
154. Kawamata, A. JunD suppresses bone formation and contributes to low bone mass induced by estrogen depletion / A. Kawamata, Y. Izu, H. Yokoyama [et al.]. – DOI 10.1002/jcb.21660 // *J. Cell. Biochem.* – 2008. – № 4 (103). – P. 1037–1045.
155. Kaji, H. Smad3 differently affects osteoblast differentiation depending upon its differentiation stage / H. Kaji, J. Naito, H. Sowa [et al.]. – DOI 10.1055/s-2006-955085 // *Horm. Metab. Res.* – 2006. – № 11 (38). – P. 740–745.
156. Inoue, Y. Role of Smad3, acting independently of transforming growth factor-beta, in the early induction of Wnt-beta-catenin signaling by parathyroid hormone in mouse osteoblastic cells / Y. Inoue, L. Canaff, G. N. Hendy [et al.]. – DOI 10.1002/jcb.22252 // *J. Cell. Biochem.* – 2009. – № 1 (108). – P. 285–294.

157. Голиусова, Д. В. Молекулярные механизмы канцерогенеза, ассоциированного с мутацией в гене *MEN1* / Д. В. Голиусова, Н. В. Клементьева, Н. Г. Мокрышева, С. Л. Киселев. – DOI 10.1134/s0016675819080058 // *Генетика*. – 2019. – Т. 55, № 8. – С. 863–868.

158. López-Novoa, J. M. The physiological role of endoglin in the cardiovascular system / J. M. López-Novoa, C. Bernabeu. – DOI 10.1152/ajpheart.01251.2009 // *Am. J. Physiol. Heart Circ Physiol.* – 2010. – № 4 (299). – P. H959–H974.

159. Горбачева, А. М. Растворимый эндоглин — потенциальный маркер эндотелиальной дисфункции у пациентов с первичным гиперпаратиреозом: пилотное исследование / А. М. Горбачева, Е. Е. Бибик, Е. А. Добрева [и др.]. – DOI 10.14341/omet12923 // *Ожирение и метаболизм*. – 2022. – Т. 19, № 4. – С. 358–368.

160. Levi, B. CD105 protein depletion enhances human adipose-derived stromal cell osteogenesis through reduction of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) signaling / B. Levi, D. C. Wan, J. P. Glotzbach [et al.]. – DOI 10.1074/jbc.M111.256529 // *J. Biol. Chem.* – 2011. – № 45 (286). – P. 39497–39509.

161. Jiang, T. Potent in vitro chondrogenesis of CD105 enriched human adipose-derived stem cells / T. Jiang, W. Liu, X. Lv [et al.]. – DOI 10.1016/j.biomaterials.2010.01.050 // *Biomaterials*. – 2010. – № 31 (31). – P. 3564–3571.

162. Zanatta, M. Runx-2 gene expression is associated with age-related changes of bone mineral density in the healthy young-adult population / M. Zanatta, M. T. Valenti, L. Donatelli [et al.]. – DOI 10.1007/s00774-012-0373-1 // *J. Bone Miner. Metab.* – 2012. – № 6 (30). – P. 706–714.

163. Huang, J. The same pocket in menin binds both MLL and JUND but has opposite effects on transcription / J. Huang, B. Gurung, B. Wan [et al.]. – DOI 10.1038/nature10806 // *Nature*. – 2012. – № 482 (7386). – P. 542–546.

164. Xiong, H. Y. RNA splicing. The human splicing code reveals new insights into the genetic determinants of disease / H. Y. Xiong, B. Alipanahi, L. J. Lee [et al.]. – DOI 10.1126/science.1254806 // *Science*. – 2015. – № 347 (6218). – P. 1254806.

165. Agarwal, S. K. Germline mutations of the MEN1 gene in familial multiple endocrine neoplasia type 1 and related states / S. K. Agarwal, M. B. Kester, L. V. Debelenko [et al.]. – DOI 10.1093/hmg/6.7.1169 // *Hum. Mol. Genet.* – 1997. – № 6 (7). – P. 1169–1175.

166. Cho, Y. Y. A germline c.1546dupC MEN1 mutation in an MEN1 family: A case report / Y. Y. Cho, Y. J. Chung. – DOI 10.1097/MD.00000000000026382 // *Medicine (Baltimore)*. – 2021. – № 25 (100). – P. e26382.

167. Boguszewski, C. L. Application of genetic testing to define the surgical approach in a sporadic case of multiple endocrine neoplasia type 1 / C. L. Boguszewski, L. C. Bianchet, S. Raskin [et al.]. – DOI 10.1590/s0004-27302010000800007 // *Arq. Bras Endocrinol. Metabol.* – 2010. – № 8 (54). – P. 705–710.

168. Pieterman, C. R. Primary hyperparathyroidism in MEN1 patients: a cohort study with longterm follow-up on preferred surgical procedure and the relation with genotype / C. R. Pieterman, L. T. van Hulsteijn, M. den Heijer [et al.]. – DOI 10.1097/SLA.0b013e31824c5145 // *Ann. Surg.* – 2012. – № 6 (255). – P. 1171–1178.

169. Carvalho, R. A. Germline mutation landscape of multiple endocrine neoplasia type 1 using full gene next-generation sequencing / R. A. Carvalho, B. Urtremari, A. A. L. Jorge [et al.]. – DOI 10.1530/EJE-18-0430 // *Eur. J. Endocrinol.* – 2018. – № 6 (179). – P. 391–407.

170. Pardi, E. Mutational and large deletion study of genes implicated in hereditary forms of primary hyperparathyroidism and correlation with clinical features / E. Pardi, S. Borsari, F. Saponaro [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0186485 // *PLoS One*. – 2017. – № 10 (12). – P. e0186485.

171. Canaff, L. Menin missense mutants encoded by the MEN1 gene that are targeted to the proteasome: restoration of expression and activity by CHIP siRNA / L. Canaff, J. F. Vanbellinghen, I. Kanazawa [et al.]. – DOI 10.1210/jc.2011-0241 // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2012. – № 2 (97). – P. E282–E291.

172. Еремкина, А. К. Тяжелые костные осложнения первичного гиперпаратиреоза у молодого пациента с верифицированной мутацией в гене MEN1 / А. К. Еремкина, Д. В. Сазонова, Е. Е. Бибик [и др.]. – DOI 10.14341/probl12864 // *Проблемы эндокринологии*. – 2022. – Т. 68, № 1. – С. 81–93.

173. Marini, F. Multiple endocrine neoplasia type 1: analysis of germline MEN1 mutations in the Italian multicenter MEN1 patient database [published correction appears in *Endocrine*. – 2018 Oct. – № 1 (62). – P. 234–241. – DOI 10.1007/s12020-018-1668-3] / F. Marini, F. Giusti, C. Fossi [et al.]. – DOI 10.1007/s12020-018-1566-8 // *Endocrine*. – 2018. – № 1 (62). – P. 215–233.

174. Mamedova, E. Primary hyperparathyroidism in young patients in Russia: high frequency of hyperparathyroidism-jaw tumor syndrome / E. Mamedova, N. Mokrysheva, E. Vasilyev [et al.]. – DOI 10.1530/EC-17-0126 // *Endocr. Connect.* – 2017. – № 6 (8). – P. 557–565.

175. Hu, W. M. Identification of Novel Variants in MEN1: A Study Conducted with Four Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 Patients / W. M. Hu, Q. Zhang, L. H. Huang [et al.]. – DOI 10.1055/a-1147-1375 // *Horm. Metab. Res.* – 2020. – № 11 (52). – P. 788–795.

176. Kihara, M. MEN1 gene analysis in patients with primary hyperparathyroidism: 10-year experience of a single institution for thyroid and parathyroid care in Japan / M. Kihara, A. Miyauchi, Y. Ito [et al.]. – DOI 10.1507/endocrj.k08e-265 // *Endocr. J.* – 2009. – № 5 (56). – P. 649–656.
177. Klein, R. D. Clinical testing for multiple endocrine neoplasia type 1 in a DNA diagnostic laboratory / R. D. Klein, S. Salih, J. Bessoni, A. E. Bale. – DOI 10.1097/01.gim.0000153663.62300.f8 // *Genet. Med.* – 2005. – № 2 (7). – P. 131–138.
178. Romanet, P. Proposition of adjustments to the ACMG-AMP framework for the interpretation of MEN1 missense variants / P. Romanet, M. F. Odou, M. O. North [et al.]. – DOI 10.1002/humu.23746 // *Hum. Mutat.* – 2019. – № 6 (40). – P. 661–674.
179. Mutch, M. G. Germline mutations in the multiple endocrine neoplasia type 1 gene: evidence for frequent splicing defects / M. G. Mutch, W. G. Dilley, F. Sanjurjo [et al.] // *Hum. Mutat.* – 1999. – № 3 (13). – P. 175–185.
180. Cardinal, J. W. A report of a national mutation testing service for the MEN1 gene: clinical presentations and implications for mutation testing / J. W. Cardinal, L. Bergman, N. Hayward [et al.]. – DOI 10.1136/jmg.2003.017319 // *J. Med. Genet.* – 2005. – № 1 (42). – P. 69–74.
181. Poncin, J. Mutation analysis of the MEN1 gene in Belgian patients with multiple endocrine neoplasia type 1 and related diseases / J. Poncin, R. Abs, B. Velkeniers [et al.] // *Hum. Mutat.* – 1999. – № 1 (13). – P. 54–60.
182. Gan, H. W. Treatment-resistant pediatric giant prolactinoma and multiple endocrine neoplasia type 1 / H. W. Gan, C. Bulwer, O. Jeelani [et al.]. – DOI 10.1186/s13633-015-0011-5 // *Int. J. Pediatr. Endocrinol.* – 2015. – № 1 (2015). – P. 15.
183. Chen Cardenas, S. M. Unusual Combination of MEN-1 and the Contiguous Gene Deletion Syndrome of CAH and Ehlers-Danlos Syndrome (CAH-X) / S. M. Chen Cardenas, S. El-Kaissi, O. Jarad [et al.]. – DOI 10.1210/jendso/bvaa077 // *J. Endocr. Soc.* – 2020. – № 4 (8). – P. bvaa077.
184. Cardoso, L. Molecular genetics of syndromic and non-syndromic forms of parathyroid carcinoma / L. Cardoso, M. Stevenson, R. V. Thakker. – DOI 10.1002/humu.23337 // *Hum. Mutat.* – 2017. – № 12 (38). – P. 1621–1648.
185. Padidela, R. Insulinoma in childhood: clinical, radiological, molecular and histological aspects of nine patients / R. Padidela, M. Fiest, V. Arya [et al.]. – DOI 10.1530/EJE-13-1008 // *Eur. J. Endocrinol.* – 2014. – № 5 (170). – P. 741–747.
186. Ozveren, A. A puzzling case of phospho-soda-induced hypocalcemia in a patient with multiple endocrine neoplasia type 1-associated primary hyperparathyroidism / A. Ozveren, B. Akinci,

O. Makay [et al.]. – DOI 10.2169/internalmedicine.51.7475 // *Intern. Med.* – 2012. – № 22 (51). – P. 3145–3149.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(обязательное)

Таблица 15 — Результаты генетического исследования

Пол, возраст	Описание варианта согласно номенклатуре HGVS*	Белок	SNP	Тип варианта	Клиническая значимость	Описание в литературе
М, 20 лет	c.923C> A	p.Ser308Ter	rs1565644366	Нонсенс	Патогенный	[164-165]
Ж, 39 лет	c.830_831insGTAC	p.Ala279TyrfsTer39	-	Дупликация со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Вероятно-патогенный	Не описан
Ж, 18 лет	c.1716_1718del	p.Ser573del	-	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Неизвестная клиническая значимость	Не описан
Ж, 36 лет	c.87_96del	p.Glu30ThrfsTer86	-	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Вероятно-патогенный	Не описан
Ж, 29 лет	c.1546dup	p.Arg516ProfsTer15	rs767319284	Дупликация со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	[165-170]
М, 36 лет	c.1340T>C	p.Phe447Ser	rs1941604532	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Патогенный	[87, 165, 171]

Продолжение таблицы 15

Ж, 34 года	c.87_96del	p.Glu30ThrfsTer86	-	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	Не описан
М, 23 года	c.1594G>T	p.Gly537Cys	rs587780843	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Неизвестная клиническая значимость	[172]
Ж, 41 год	c.658T>C	p.Trp220Arg	rs1085307971	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Вероятно-патогенный	[173-174]
Ж, 37 лет	c.249_252del	p.Ile85Serfs*33	rs587776841	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	[175-176]
Ж, 36 лет	c.1252G>T	p.Asp418Tyr	rs104894264	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Патогенный	[98]
Ж, 35 лет	c.1546dup	p.Arg516Profs*15	rs767319284	Дупликация со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	[165-170]
Ж, 40 лет	c.-23-14G>A	-	rs886048479	Изменения в регионе сайта сплайсинга	Неизвестная клиническая значимость	Не описан
Ж, 28 лет	c.681C>T	p.Tyr227	rs778921501	Синонимичный вариант	Неизвестная клиническая значимость	Не описан

Продолжение таблицы 15

М, 21 год	c.1602_1618dup	p.Pro540ArgfsTer25	-	Дупликация со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	[177]
Ж, 40 лет	c.658T>C	p.Trp220Arg	rs1085307971	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Вероятно-патогенный	[173, 174]
Ж, 44 года	c.467G>A	p.Gly156Asp	rs794728648	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Патогенный	[140, 178, 179]
Ж, 39 лет	c.772C>T	p.Gln258Ter	rs886039416	Нонсенс	Патогенный	[164, 180, 181]
Ж, 32 года	c.658T>C	p.Trp220Arg	rs1085307971	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Вероятно-патогенный	[173, 174]
Ж, 30 лет	c.1252G>T	p.Asp418Tyr	rs104894264	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Вероятно-патогенный	[98]
М, 20 лет	c.784-9G>A	-	rs794728625	Изменения в регионе сайта сплайсинга	Патогенный	[52, 169, 170, 182, 183, 184]
Ж, 22 года	c.314del	p.Leu105ProfsTer14	-	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	Не описан
Ж, 43 года	c.446-2A>G	-	rs886042035	Изменения в регионе сплайсинга	Патогенный	Не описан

Продолжение таблицы 15

Ж, 20 лет	c.628_631del	p.Thr210Serfs*13	rs794728640	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	[32, 185, 186]
Ж, 44 года	c.628_631del	p.Thr210Serfs*13	rs794728640	Делеция со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	[32, 184, 185]
Ж, 39 лет	c.1252_1254delinsT	p.Asp418Tyr	-	Делинс	Патогенный	Не описан
Ж, 37 лет	c.398_436del	p.Tyr133_Ser145del	-	Делеция без сдвига рамки считывания	Вероятно-патогенный	Не описан
Ж, 32 года	c.784-9G>A	-	rs794728625	Изменения в регионе сайта сплайсинга	Патогенный	[52, 169, 170, 182, 183, 184]
Ж, 25 лет	c.658T>C	p.Trp220Arg	rs1085307971	Миссенс мутация в гетерозиготном состоянии	Вероятно-патогенный	[173, 174]
Ж, 31 год	c.1230dupC	p.Ala411ArgfsTer38	-	Дупликация со сдвигом рамки считывания и образованием преждевременного стоп-кодона	Патогенный	Не описан

Все варианты описаны согласно референсному последовательности NM_001370259.2; Номенклатура HGVS – The Human Genome Variation Society (сообщество по изучению генома человека) [104]; SNP – the single nucleotide polymorphism (база данных о полиморфизме нуклеотидной последовательности). Варианты 1–23 группа мПГПТ (подгруппа А); варианты 24–29 группа мПГПТ (подгруппа Б); вариант 30 – выявлен в рамках фундаментального исследования в клетках, полученных от пациента с синдромом МЭН1.

Таблица 16 — Идентификация клеточных линий с использованием STR-анализа

Гены	Фибробласты: <i>MEN1</i> : 1230dupC Генотип	ИПСК: <i>MEN1</i> : 1230dupC Генотип
<i>AMEL</i>	XX	XX
<i>D3S1358</i>	14,16	14,16
<i>TH01</i>	7,9	7,9
<i>D12S391</i>	19,20	19,20
<i>D1S1656</i>	16,19.3	16,19.3
<i>D10S1248</i>	13,16	13,16
<i>D22S1045</i>	15,16	15,16
<i>D2S441</i>	12,15	12,15
<i>D7S820</i>	9,10	9,10
<i>D13S317</i>	8,12	8,12
<i>FGA</i>	22,23	22,23
<i>TPOX</i>	8,8	8,8
<i>D18S51</i>	15,15	15,15
<i>D16S539</i>	11,12	11,12
<i>D8S1179</i>	12,13	12,13
<i>CSF1PO</i>	10,12	10,12
<i>D5S818</i>	12,13	12,13
<i>vWa</i>	15,19	15,19
<i>D21S11</i>	27,33.2	27,33.2
<i>SE33</i>	27.2, 27.2	27.2, 27.2