

*На правах рукописи*



**ТУРКУНОВА  
Мария Евгеньевна**

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
ОСОБЕННОСТИ МОНОГЕННЫХ ФОРМ САХАРНОГО ДИАБЕТА У  
ДЕТЕЙ**

3.1.21. – Педиатрия

3.1.19. – Эндокринология

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

Санкт-Петербург – 2021 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научные руководители:**

**Желенина Людмила Александровна** – доктор медицинских наук, профессор  
**Дитковская Лилия Викторовна** – кандидат медицинских наук, доцент

**Официальные оппоненты:**

**Никитина Ирина Леоровна** – доктор медицинских наук, доцент, федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра детских болезней лечебного факультета Института медицинского образования, заведующая

**Баранов Виталий Леонидович** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра эндокринологии им. акад. В.Г. Баранова, профессор

**Ведущая организация** – федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации.

Защита состоится «14» февраля 2022г. в 10-00 часов на заседании диссертационного совета 21.2.062.02 на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (194100, Санкт-Петербург, ул. Литовская, д. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России (194223, Санкт-Петербург, пр. Мориса Тореза, д.39) и на сайте ФГБОУ ВО СПбГПМУ Минздрава России <http://gpmu.org>.

Автореферат разослан «\_\_\_\_» 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета  
доктор медицинских наук, доцент

Тыртова Людмила Викторовна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Актуальность темы исследования**

Сахарный диабет (СД) является самым распространенным заболеванием в структуре эндокринной патологии у детей и представляет группу метаболических заболеваний, включающую в себя как полигенные (СД1 и СД2), так и моногенные формы (American Diabetes Association, 2014). Моногенный сахарный диабет (МСД) – генетически гетерогенная группа нарушений углеводного обмена (НУО) по диабетическому типу, причиной возникновения которых являются изменения в одном гене. К данной группе заболеваний относятся неонатальный сахарный диабет (НСД), MODY (акроним названия Maturity Onset Diabetes of the Young или диабет взрослого типа у молодых) и сахарный диабет в структуре генетических синдромов (Antosik K. et al., 2016).

По данным ISPAD (2018), вероятная частота МСД составляет 1-6%. Распространенность НСД варьирует от 1/300 000 до 1/500 000 живых новорожденных и существенно отличается в различных популяциях (Kylat R.I. et al., 2017; Polak M. et al., 2007).

Истинная частота МСД в настоящее время не определена и существует вероятность ошибочной диагностики СД 1 или 2 типа у пациентов с МСД, либо вовсе не диагностированных случаев при неклассической клинической картине заболевания или бессимптомной гипергликемии (Shields B.M. et al., 2010-2012).

Основной целью клиницистов является идентификация типа диабета, которая в последующем определит выбор тактики ведения, в том числе использование лекарств на основе доказанной патогенетической эффективности и позволит прогнозировать течение заболевания. Кроме того, более ранняя диагностика приводит к снижению темпов прогрессирования заболевания, позволяет избежать опасных для жизни острых и хронических осложнений и сформировать персонализированный алгоритм ведения пациента.

### **Степень разработанности темы исследования**

В России ДНК-диагностика пациентов с НСД, MODY и синдромальным СД малодоступна, в то время как результат исследования позволит более точно понимать патогенетические механизмы развития хронической гипергликемии, что важно для постановки диагноза, прогнозирования течения заболевания и выбора оптимальной тактики ведения в зависимости от генетической основы. Как правило, в литературе описаны причины развития МСД, но данные об особенностях манифестации и течения заболевания, терапевтических подходах немногочисленны.

В отечественной литературе имеются работы, посвященные MODY, НСД и синдромальным формам СД. Однако на сегодня, нет единых унифицированных алгоритмов выбора кандидатов для проведения молекулярно-генетического исследования.

### **Цель исследования**

Установить частоту и оптимизировать диагностику различных форм моногенного сахарного диабета у детей на основании полученных комплексных данных клинико-анамнестического, лабораторного и молекулярно-генетического обследования.

### **Задачи исследования**

1. Изучить частоту и структуру моногенного сахарного диабета у детей Санкт-Петербурга.
2. Исследовать клинико-анамнестические и гормонально-метаболические особенности моногенного сахарного диабета у детей.
3. Определить молекулярно-генетические варианты заболевания.
4. Выявить наиболее характерные диагностические признаки MODY у детей.
5. Предложить алгоритм диагностики различных форм моногенного сахарного диабета в детском возрасте.

### **Научная новизна**

В настоящем исследовании впервые проведено изучение частоты встречаемости МСД у детей в Санкт-Петербурге с использованием методов секвенирования нового поколения.

Изучение молекулярно-генетических характеристик СД методами секвенирования нового поколения, включая полноэкзонное секвенирование, позволило выявить 59 вариантов у пациентов с МСД, 20 из которых ранее не описаны.

Впервые в отечественной практике было проведено исследование промоторной области гена *GCK*, позволяющее дополнить представления о патогенезе MODY2.

Впервые в России описаны редкие варианты НСД у детей, обусловленные вариантами генов *GATA6*, *GCK* и СД, ассоциированный с вариантами в *SLC19A2*.

Разработана прогностическая модель для определения вероятности MODY у детей с различными вариантами НУО.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Полученные результаты исследования позволили разработать алгоритм диагностики МСД для пациентов детского возраста с целью раннего выявления и назначения своевременного адекватного, патогенетически обоснованного лечения. Кроме того, был разработан онлайн-калькулятор на основе прогностической модели, построенной с использованием метода бинарной логистической регрессии, для определения вероятности MODY у детей с НУО.

Показано, что у пациентов с НСД или подозрением на СД в структуре генетического синдрома полноэкзонное секвенирование, в случае отсутствия

вариантов в таргетной панели генов-кандидатов, является информативным методом диагностики заболевания.

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

1. Моногенный сахарный диабет является второй по частоте, после аутоиммунного инсулита, причиной хронической гипергликемии у детей с сахарным диабетом в Санкт-Петербурге. Среди пациентов с MODY в 80% случаев установлен MODY2, в 15% – MODY3, вероятно, данные подтипы являются наиболее распространенными вариантами моногенного сахарного диабета.
2. Сахарный диабет у детей первых 6 месяцев жизни (неонатальный сахарный диабет) проявляется тяжелой гипергликемией и типичными клинико-метаболическими нарушениями, требующими инсулинотерапии. В ряде случаев гипергликемия у детей первого года может выявляться случайно и быть связана с гетерозиготными инактивирующими вариантами в гене *GCK*.
3. У большинства пациентов с MODY отмечался отягощенный семейный анамнез по нарушениям углеводного обмена у родственников 1 степени родства, медленно прогрессирующее снижение секреции инсулина  $\beta$ -клетками в течение более 2 лет, отсутствие потребности в экзогенном инсулине. Данные критерии целесообразно использовать как показания для проведения молекулярно-генетического исследования.
4. Целесообразно внесение генов *GATA6* и *SLC19A2* в таргетную панель генов-кандидатов моногенного сахарного диабета. Если варианты в таргетных панелях генов не выявляются, возможно проведение полноэкзонного секвенирования.

### **Достоверность и обоснованность результатов исследования**

Достоверность полученных результатов обусловлена тщательным подходом к формированию выборки включенных в исследование пациентов, использованием новейших методов обследования для диагностики моногенных форм сахарного диабета, применением современных методов статистической обработки информации и углубленным анализом научно-исследовательских работ по данной тематике.

### **Апробация результатов работы**

Результаты исследования были доложены (в виде тезисов и трех устных докладов): на III Российском конгрессе с международным участием «Молекулярные основы клинической медицины – возможное и реальное» (Санкт-Петербург, март 2015 г.); «Ежегодная школа неонатологов» (Санкт-Петербург, март 2016 г.); XI международный научный конгресс «Рациональная фармакотерапия» (Санкт-Петербург, октябрь 2016 г.); Национальный конгресс с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, май 2018 г.); 57-м Съезде Европейского Общества Детских Эндокринологов ESPE 2018 (Афины, сентябрь 2018 г.); 12-ой международной конференции

Современные Технологии и Лечение Диабета АТТД (Берлин, февраль 2019 г.); Национальный конгресс с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, май 2019 г.); 9-м международном конгрессе Europaediatrics (Дублин, июнь 2019 г.); в рамках цикла повышения квалификации врачей-детских эндокринологов СЗГМУ им. И.И. Мечникова (Санкт-Петербург, ноябрь 2019 г.).

### **Внедрение в практику**

Научные положения и практические рекомендации, изложенные в диссертации, внедрены в учебный процесс на кафедре детских болезней им. профессора И.М. Воронцова ФП и ДПО и повседневную работу врачей-детских эндокринологов амбулаторного звена, эндокринологических отделений СПбГПМУ и ДГМКЦ ВМТ им. А.К. Раухфуса (Санкт-Петербург).

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 12 печатных работ, из них 3 в научных рецензируемых журналах, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени кандидата наук, из них 1 публикация, включенная в международную реферативную базу данных Скопус (Scopus).

### **Личное участие автора в проведении исследования**

Автор лично осуществлял все этапы подготовки и проведения научной работы, включавшие определение основной цели, дизайна исследования. Автором самостоятельно проведен глубокий анализ отечественной и зарубежной научной литературы, осуществлено клиническое ведение больных, анализ проведенного молекулярно-генетического исследования. Создана электронная база данных, выполнен статистический анализ, произведена оценка результатов обследования.

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация состоит из оглавления, введения, обзора литературы, результатов собственных данных, обсуждения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа изложена на 164 страницах машинописного текста, иллюстративный материал представлен 21 рисунком и 21 таблицей. Список литературы включает 257 источников из них 22 отечественных и 235 зарубежных источников.

## **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Методология и методы исследования**

Работа выполнена в дизайне сравнительного открытого проспективного исследования, включающего в себя аналитический метод – изучение литературных источников по данной проблеме, эмпирические методы – наблюдение, сравнение, логический анализ. Методы исследования одобрены

этическим комитетом ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол заседания этического комитета № 3/18 от 05 марта 2014 г.).

Исследовано 143 человека – 117 пробандов, 3 сибса и 23 родителя. МГИ родителям и сибсам проводили после получения результатов пробанда, с целью подтверждения или опровержения патогенности выявленного варианта. Среди 117 пациентов детского возраста с подозрением на моногенный сахарный диабет: 97 пациентов с «СД не 1 и 2 типа» (подозрением на MODY), 13 пациентов с НСД (диагностированным в первые 6 месяцев жизни), 7 пациентов с подозрением на СД в структуре генетического синдрома (сочетание СД с экстрапанкреатическими аномалиями/заболеваниями).

Для отбора пациентов-кандидатов для проведения МГИ были оценены критерии MODY согласно ISPAD 2018 и рекомендации отечественных и зарубежных авторов. Критерии были адаптированы к условиям диссертационного исследования: после формирования целевой группы, молекулярно-генетическому исследованию подлежали пациенты с наличием двух или более основных критериев включения:

1. Возраст диагностики НУО по диабетическому типу до 18 лет.
2. Неклассическое («мягкое») течение заболевания (отсутствие манифестных симптомов СД, признаков ДКА).
3. Длительность НУО по диабетическому типу 2 года и более.
4. Сохранный уровень инсулина (в случае отсутствия инсулиновтерапии) или с-пептида при включении в исследование.
5. Отрицательный титр основных аутоантител к  $\beta$ -клеткам.
6. Отсутствие признаков инсулинерезистентности (клинические проявления, прогрессирующее ожирение, лабораторные показатели).
7. Минимальная потребность в инсулине, в случае назначения инсулиновтерапии, через 2-3 года после манифестации заболевания.
8. Отягощенная наследственность по НУО.

Критерием исключения являлось значимое повышение титра основных панкреатических аутоантител.

Всем пробандам было проведено МГИ на наличие вариантов в таргетной панели 28 генов генов-кандидатов MODY, НСД и синдромальных форм СД (*GCG, GLUD1, WFS1, HNF1A, GCK, INS, HNF1B, ABCC8, HNF4A, RFX6, PTF1A, NEUROD1, AKT2, ZFP57, INSR, EIF2AK3, PPARG, PAX4, PDX1, GLIS3, KCNJ11, SLC16A1, FOXP3, BLK, CEL, KLF11, SCHAD, GCGR*). Пациентам с НСД и подозрением на синдромальные формы СД, в случае отсутствия мутаций в генах-кандидатах таргетной панели, было дополнительно проведено полноэкзонное секвенирование и установлены варианты в генах, не включенных в данную панель: *GATA6, SLC19A2*. Диагноз считался генетически подтвержденным в случае выявления варианта в генах-кандидатах МСД. Обнаруженный вариант расценивался как причастный к развитию заболевания в следующих случаях: а) изменение нуклеотидной

последовательности по умолчанию оказывает сильное влияние на функцию белка (стоп-кодон de novo, сдвиг рамки считывания, дефект сплайсинга); б) вариант описан в литературе у пациентов с МСД и не описан у здоровых индивидуумов; в) в обследованных семьях наблюдается сегрегация варианта с заболеванием. Оценка патогенности мутаций производилась согласно международным рекомендациям ACMG (2015). ДНК выделяли из цельной крови, готовые библиотеки секвенировали на системе высокопроизводительного секвенирования Illumina HiSeq 2500 в режиме парноконцевого секвенирования 2×100 (набор TruSeq SBS Kit v3 – HS (200-cycles)), или 2×125 (набор HiSeq® SBS Kit v4 (250 cycles). Верификация результатов WES была выполнена с использованием прямого секвенирования по Сэнгеру GA3130x1 Genetic Analyzer (AppliedBiosystems, USA). Анализ промотора GCK мутации с.-71G>C проводили методом ПЦР-ПДРФ эндонуклеазы Hae III и следующих праймеров: F 5'GCATGGCAGCTCTAATGACAGG 3' и R5'CATTCTAGCCTGCTTCCCTGG 3'. Для оценки результатов использовался электрофорез с полиакриламидным гелем.

Работа выполнена при содействии Фонда поддержки и развития филантропии «КАФ» и частичной финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках темы фундаментальных научных исследований 2019-2021 гг. (AAAA-A19-119021290033-1).

Всем пациентам определяли уровень глюкозы в плазме венозной крови, в том числе в ходе ОГТ, уровень инсулина и/или С-пептида натощак, уровень HbA1C. Исследованы титры антител к островковым клеткам, инсулину, глутаматдекарбоксилазе (GAD) и тирозинфосфатазе (IA2).

Статистическая обработка данных производилась с использованием программного пакета Microsoft Office Excel, MedCalc Software Ltd, IBM SPSS Statistics 23 и StatTech v. 1.2.0 (разработчик – ООО «Статтех», Россия). Работа выполнена в виде проспективного когортного исследования. Для определения наиболее значимых критериев MODY с целью создания прогностической модели был проведен анализ анамнестических, генеалогических антропометрических и клинико-лабораторных данных пациентов с подтвержденным MODY (группа 1) и пациентов без установленных вариантов в генах, обуславливающих развитие MODY (группа 2). Данные о количестве детей наблюдающихся с СД в Санкт-Петербурге были взяты из электронного федерального регистра больных сахарным диабетом. Для сравнения независимых совокупностей количественных данных использован U-критерий Манна-Уитни. Номинальные/бинарные показатели выражали в абсолютных числах с указанием процентных долей (%), для сравнения использован критерий  $\chi^2$  Пирсона. Статистически значимыми различия считали при уровне критического значения величины  $p<0,05$ , на основании которого принимали решения о справедливости проверяемой гипотезы. Для создания прогностической модели использован метод бинарной логистической регрессии с отбором независимых переменных методом пошагового исключения Вальда. Для оценки качества модели использовались значения коэффициента детерминации  $R^2$  Найджелкерка, анализ ROC-кривой и уровень статистической значимости.

## **Результаты молекулярно-генетического исследования**

Диагноз генетически подтвержден 63 пробандам, что составило 53,85% (95% ДИ: 45,23-63,92%; 63/117). В группе пациентов с НСД и синдромальными формами СД варианты в генах, обуславливающих развитие заболевания, были обнаружены у 10 пациентов (50% случаев), в группе MODY – у 53 детей (54,64%). Среди пациентов с MODY MODY2 выявлен в 83,02% случаев (95% ДИ: 70,20-91,93%, 44/53), MODY3 – в 15,09% (95% ДИ: 6,75-27,59%, 8/53), MODY9 у 1 пробанда – 1,89%.

Согласно полученным данным, предполагаемая (минимальная) частота МСД среди детей и подростков с СД в Санкт-Петербурге составила порядка 3,12%. Для расчета данного показателя мы использовали число пациентов с МСД (n=63) и общее число пациентов детского возраста в Санкт-Петербурге наблюдающихся с диагнозом СД на начало 2020 г (n=2020: 2008 с СД1 и 12 с СД2). Кроме того, по результатам данного исследования MODY был установлен 53 пробандам, из чего следует, что на момент проведения исследования MODY встречался чаще, чем СД 2 типа.

### **Характеристика пациентов с MODY**

Обследовано 97 детей с подозрением на MODY (54 мальчика и 43 девочки). Медиана возраста диагностики НУО составила 10 лет [4,0; 13,20] (0,08÷17,41); медиана длительности заболевания 2,17 лет [0,67; 4,0] (0,08÷12,83).

Пациенты в группах 1 и 2 имели сопоставимые показатели массы и длины тела при рождении, возраст диагностики заболевания и SDS ИМТ на момент включения в исследование.

Пациенты группы 1 статистически значимо дольше наблюдались по поводу гипергликемии: медиана 2,6 года [0,9; 4,3] против 1,1 года [0,4; 2,8] среди пациентов группы 2 ( $p=0,009$ ). Особенности манифестации заболевания пациентов обеих групп представлены в таблице 1.

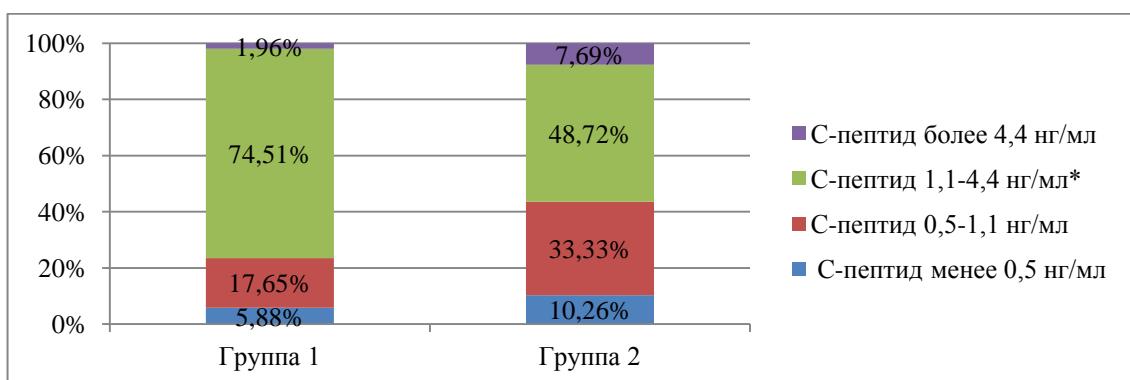
**Таблица 1 – Особенности манифестации заболевания у пациентов группы 1 и 2**

	Группа 1 (n=53)	Группа 2 (n=43**)	p
Большие симптомы СД	12 (22,64%)	14 (32,56%)	0,196
Признаки кетоза на момент диагностики (кетонурия)	7 (13,21%)	14 (32,56)	0,021*

Примечание – \* – различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ); \*\* – особенности манифестации были не известны для одного пациента из группы 2.

Лабораторные признаки кетоза в дебюте заболевания у пациентов 1 группы встречались статистически значимо реже – в 13,21% случаев (n=7), против 32,56% (n=14) среди пациентов 2 группы ( $p=0,021$ ).

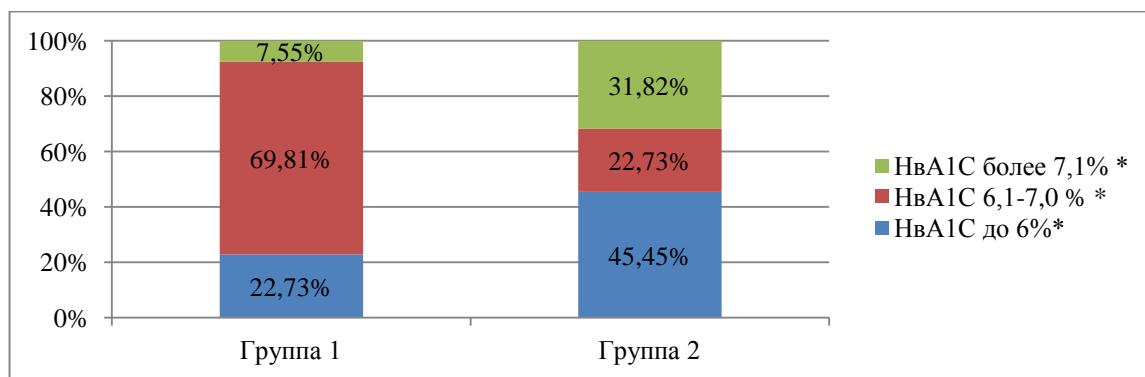
Для оценки секреторной активности  $\beta$ -клеток у части пациентов был определен уровень инсулина крови, данные о С-пептиде были доступны для 51 пациента из группы 1 и 39 человек из группы 2. Уровни С-пептида были сопоставимы в обеих группах: в группе 1 медиана составила 1,3 нг/мл [1,1; 2,5], в группе 2 – 1,3 нг/мл [0,7; 2,1] ( $p=0,243$ ). При проведении частотного анализа показателей С-пептида отмечалась неоднородность распределения значений, на основании чего, были определены диапазоны для уровня С-пептида. У пациентов группы 1 в 74,51% ( $n=38$ ) данный показатель находился в пределах от 1,1-4,4 нг/мл, в то время как у пациентов группы 2 лишь в 48,72% ( $n=19$ ) ( $p=0,010$ ) (рисунок 1).



\*– различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ).

Рисунок 1 – Диапазоны уровней С-пептида (нг/мл) у пациентов группы 1 и 2

Уровень гликированного HbA1C сопоставим у пациентов обеих группах. Медиана HbA1C в группе 1 6,3% [6,1; 6,7], в группе 2 – 6,3% [5,6; 7,3] ( $p=0,733$ ). При проведении частотного анализа уровня HbA1C отмечалась неоднородность распределения значений, на основании чего, были определены диапазоны для уровня HbA1C. У пациентов группы 1 статистически значимо чаще встречался HbA1C в диапазоне от 6,1 до 7% в 69,87% случаев ( $n=37$ ) против 22,73% ( $n=10$ ) ( $p=0,000$ ) (рисунок 2).



\*– различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ).

Рисунок 2 – Диапазон уровней HbA1C (%) у пациентов группы 1 и группы 2

По результатам оценки углеводного обмена: уровни глюкозы крови натощак и в ходе проведения ОГТ через 2 часа, были сопоставимыми в обеих группах – медиана 6,6 ммоль/л [5,9; 7,0] в группе 1 и 6,5 ммоль/л [5,59; 7,9] в группе 2 ( $p=0,533$ ); медиана 9,5 ммоль/л [7,7; 10,5] в группе 1 против 9,7 ммоль/л [7,7; 12,0] в группе 2 соответственно ( $p=0,268$ ).

Пациенты группы 1 с умеренно повышенным, как правило одного вида, титром специфических АТ встречались в 12,5% ( $n=6$ ), что почти в 2 раза реже чем в группе 2 – 20,59% ( $n=7$ ). Кроме того, в группе 1 у половины серопозитивных пациентов ( $n=3$ ) обнаружены антитела IAA. По одному пациенту с повышением изолированно ICA и GAD, в одном случае было выявлено сочетание GAD+ICA. У пациентов группы 1 не было выявлено повышения IA2. Напротив, среди 7 серопозитивных пациентов 2 группы у 3 человек обнаружены аутоантитела к GAD, у одного пациента IA2 и у одного пациента сочетание GAD и IA2, считающиеся наиболее чувствительными при СД 1 типа.

Генеалогические данные пациентов обеих групп представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Генеалогические данные пациентов группы 1 и группы 2

	Группа 1 (n=51**)	Группа 2 (n=44)	p
Отягощенная наследственность у родственников 1 степени родства	39 (76,47%)	20 (45,5%)	0,002*
Отягощенная наследственность у родственников 2 степени родства	8 (15,69%)	16 (36,36%)	0,019*
Наследственность не отягощена	3 (5,88%)	7 (15,91)	0,105
Примечание – * – различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ); ** – наследственность не известна для 2 пациентов из группы MODY.			

В группе 1 отягощенная наследственность у родственников 1 степени родства встречалась значимо чаще, чем в группе 2 – 76,47% ( $n=39$  из 51 probanda, для которых данные были доступны) против 45,45% ( $n=20$ ) среди пациентов группы 2 ( $p=0,002$ ). Методы лечения пациентов представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Методы лечения пациентов группы 1 и группы 2

	Группа 1 (n=53)	Группа 2 (n=44)	p
Диетотерапия	41 (77,36%)	23 (52,27%)	0,009*
Лечение ПСС	5 (9,43%)	4 (9,09%)	0,618
Инсулинотерапия	7 (13,21%)	17 (38,64%)	0,004*
Доза инсулина менее 0,2 ед/кг/сут	6 (85,71%)	3 (17,65%)	0,004
Примечание – * – различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ).			

Пациенты группы 1 чаще находились на диетотерапии, чем пациенты группы 2 – 77,36% (n=41) против 52,27% (n=23) ( $p=0,009$ ). Напротив, инсулинотерапию в 3 раза чаще получали пациенты группы 2 – в 38,64% случаев (n=17) в сравнении с группой 1, пациенты которой лечились инсулином в 13,21% случаев (n=5) ( $p=0,004$ ). К тому же, пациентам 2 группы требовались более высокие дозы инсулина: медиана 0,36 ед/кг/сут [0,21; 0,77] против пациентов 1 группы медиана дозы инсулина у которых составляла 0,12 ед/кг/сут [0,07; 0,19] ( $p=0,010$ ).

В течение 5-и лет наблюдения у 14 пациентов заключительный диагноз был СД1 типа. У 3 пациентов гипергликемия не возобновлялась и имела транзиторный характер. У 1 пациента диагностирован СД2 типа.

### **Разработка прогностической модели вероятности MODY у детей с сахарным диабетом**

При анализе зависимости вероятности выявления MODY у пациентов с СД в зависимости от анамнестических, генеалогических, клинико-лабораторных факторов с помощью метода бинарной логистической регрессии была получена следующая модель:

$$P = 1 / (1 + e^{-z}), \\ z = 1,77 \times X_{C\text{-пепт}} + 2,22 \times X_{HbA1C} + 1,51 \times X_{насл_1} + 1,46 \times X_{длит} - 3,5, \quad (2)$$

где  $P$  – вероятность выявления MODY в долях единицы;

$X_{C\text{-пепт}}$  – уровень С-пептида в диапазоне от 1,1 до 4,4 нг/мл (0 – нет, 1 – да);

$X_{HbA1C}$  – диапазон уровня HbA1C от 6,1 до 7,0% (0 – нет, 1 – да);

$X_{насл_1}$  – наличие родственников 1 степени родства с отягощенной по НУО наследственностью (0 – отсутствует, 1 – наличие);

$X_{длит}$  – длительность заболевания более 2 лет 3 месяцев (0 – нет, 1 – да).

Характеристики влияния каждого фактора на шансы выявления MODY сопоставлены в таблице 4.

Таблица 4 – Характеристики влияния факторов, включенных в прогностическую модель, на вероятность выявления MODY

Наименование фактора	ОШ (AOR)	95% ДИ	p
Уровень HbA1C от 6,1 до 7%	8,0	2,44-26,14	0,000*
Уровень С-пептида в диапазоне 1,1-4,4 нг/мл	5,86	1,73-19,89	0,005*
Наличие родственников 1 степени родства	4,52	1,42-14,37	0,011*
Длительность заболевания 2 года 3 месяца и более	4,31	1,40-13,33	0,011*
Примечание – * – различия показателей статистически значимы ( $p<0,05$ ).			

Полученная прогностическая модель была статистически значимой ( $p<0,001$ ). Исходя из значения коэффициента детерминации  $R^2$  Найджелкерка, в модели были учтены 51,2% факторов, оказывающих влияние на вероятность MODY у пациентов.

Пороговое значение логистической функции Р составило 0,5 (рисунок 3). Площадь под ROC-кривой составила  $0,87\pm0,04$  (95% ДИ: 0,79-0,94). При значениях  $p<0,5$  прогнозировался низкий риск выявления MODY. При значениях  $p\geq0,5$  – высокий риск выявления MODY. При заданном пороговом значении чувствительность модели составила 79,6% (39 верных прогнозов среди 49 пациентов с MODY), специфичность составила 79,5% (31 верных прогнозов среди 39 пациентов без установленных вариантов в генах обуславливающих MODY).

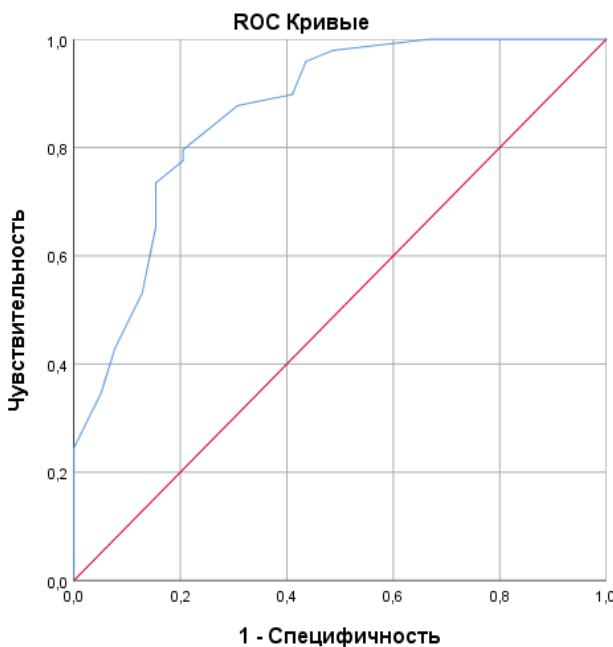


Рисунок 3 – ROC-кривая, характеризующая зависимость вероятности выявления MODY от значений логистической функции р

Для более доступного и рутинного использования предложен онлайн-калькулятор (<https://medstatistic.ru/calcs/mody1.html>).

Для оценки модели были использованы данные пациентов с СД 1 типа ( $n=17$ ) и установленным MODY (не вошедших в настоящее исследование) ( $n=13$ ). Вероятность диагноза MODY выражалась в долях %, менее 50% – низкая вероятность, более – высокая. Прогностическая ценность положительного результата (PPV) составила – 68,8% (95% ДИ: 50,4-82,6%), прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) – 85,7% (95% ДИ: 61,8-95,7%); чувствительность 84,6% (95% ДИ: 54,6-98,1) и специфичность 70,6 (95% ДИ: 44,0-89,7%). Безусловно, для апробации модели требуется большее количество наблюдений в будущем.

## Клинико-лабораторная и молекулярно-генетическая характеристика пациентов с GCK-MODY

Данный подтипа MODY был установлен на основании наличия мутации в гене *GCK* в гетерозиготном состоянии. MODY2 диагностирован 44 пациентам в настоящем исследовании, из них 24 мальчика и 20 девочек. Медиана длительности заболевания 2,67 года [0,88; 4,29]. С ожирением было включено 3 пациента, медиана SDS ИМТ составила 0,19 [-0,19; 1,21].

При манифестации заболевания «большие симптомы СД» отмечались у 11,36% пациентов (n=5), признаки кетоза (кетонурия) были выявлены у 4,55% пациентов (n=2).

Среди 44 пациентов с вариантами в гене *GCK* 37 человек получали диету (84,1%), 7 пациентов медикаментозное лечение (15,9%), в том числе 3 инсулин и 4 метформин. Коррекция терапии после получения результатов МГИ была проведена 7 пациентам и не привела к ухудшению компенсации СД, что было оценено по уровню HbA1C.

Всего было выявлено 40 мутаций в гене: 14 патогенных, 20 вероятно патогенных и 6 мутаций с неизвестным клиническим значением; 10 из них ранее не описаны.

Типы выявленных мутаций представлены на рисунке 4.

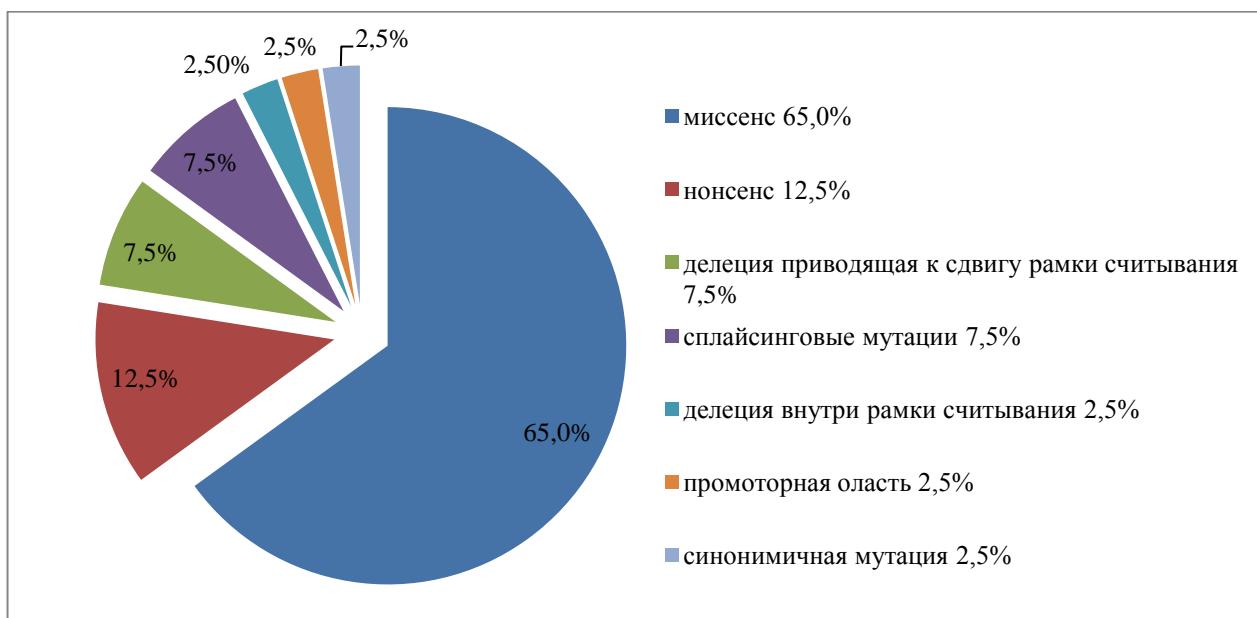


Рисунок 4 – Типы выявленных вариантов в гене *GCK*

Локализация мутаций представлена на рисунке 5.

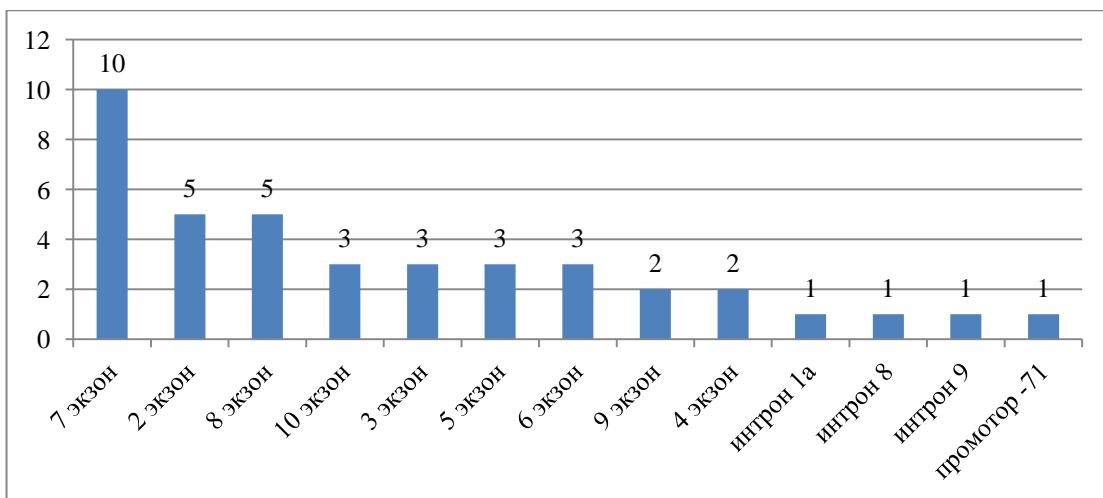


Рисунок 5 – Локализация мутаций в гене *GCK*

Кроме того, у 29 пациентов с установленным MODY (из них 16 пациентов с MODY2) была исследована промоторная область гена *GCK* на наличие варианта c.-71G>C. Генетическое изменение в данном регионе было выявлено у одного пациента в сочетании с ранее описанной мутацией в *GCK* c.754T>C (p.Cys252Arg). За время 5 лет наблюдения у пациента отмечалось классическое течение MODY2.

#### Клинико-лабораторная и молекулярино-генетическая характеристика пациентов с *HNF1A* –MODY

Данный подтипа MODY был установлен на основании наличия мутации в гене *HNF1A* в гетерозиготном состоянии, диагностирован у 8 пациентов, из них 2 мальчика и 6 девочек. Медиана длительности заболевания 1,91 года [0,88; 3,63]. Медиана SDS ИМТ 0,06 [-0,92; 1,04].

В дебюте заболевания большие симптомы СД и лабораторные признаки кетоза (кетонурия) отмечались у 75,0% пациентов (n=6) и 50,0% (n=4) соответственно. Глюкозурия в дебюте заболевания была выявлена у 62,5% (n=5) пациентов с MODY3.

Среди 8 пациентов с вариантами в *HNF1A* 4 человек получали диету (50,0%), 4 пациентов медикаментозное лечение, в том числе 3 инсулин и 1 метформин. Согласно многочисленным литературным данным, пациентам с вариантами в указанном гене возможен перевод на препараты СМ. Одной пациентке была проведена коррекция лечения в связи с нежеланием соблюдать режим инсулиновой терапии и отсутствием компенсации на фоне нерегулярных подкожных инъекций. Компенсации СД удалось достичь на дозе глибенкламида 4,375 мг/сут. Попытка перевода пациентки получавшей метформин на СМ оказалась неуспешной в связи с развитием нежелательных явлений – легких гипогликемий.

Всего было выявлено 6 мутаций в гене: 1 патогенная, 3 вероятно патогенных и 2 мутации с неизвестным клиническим значением; 1 из них ранее не описана. Преобладали миссенс мутации (n=5), у двух пациентов выявлена дупликация гена. Варианты были локализованы в 1, 2, 3, 4 и 7 экзонах.

## Особенности возрастной структуры у пациентов с MODY2 и MODY3

При анализе возраста манифестации заболевания в 13,95% случаев (n=7) гипергликемия у пациентов с MODY2 была выявлена в возрасте до года, медиана возраста диагностики составила 7,7 года [2; 12], в то время как при MODY3 нарушения углеводного обмена диагностировали чаще в подростковом возрасте – медиана возраста диагностики 14,83 года [13,58; 15,62], данные различия были статистически значимы ( $p=0,002$ ). (рисунок 6).

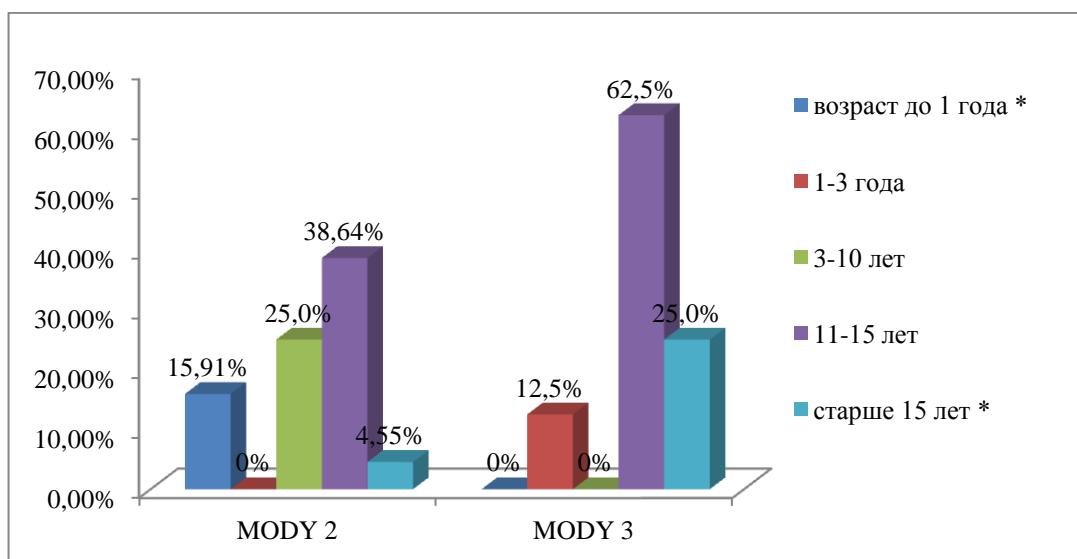


Рисунок 6 – Возрастная структура пациентов с MODY2 и MODY3

## Характеристика пациентов с неонатальным сахарным диабетом и с сахарным диабетом в структуре генетических синдромов

В группу пациентов НСД были включены случаи СД манифестирующегося в первые 6 месяцев жизни (n=13) и подозрением на СД в структуре генетических синдромов (n=7). Основные данные пациентов с подтвержденной генетической этиологией представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Характеристика пациентов с НСД и СД в структуре генетических синдромов

Ген	Возраст манифестиации и НУО	НУО у родителей	Уровень С-пептида (нг/мл)	Сопутствующая патология	Лечение
<i>GATA6</i>	2 сутки жизни	нет	2,18	стеноз нисходящего отдела аорты, открытый артериальный проток 2,5 мм	инсулин
<i>GCK</i>	1 сутки жизни	СД	1,2	нет	инсулин
<i>KCNJ11</i>	2 месяца	нет	0,22	нет	инсулин

## Продолжение таблицы 6

Ген	Возраст манифестиации НУО	НУО у родителей	Уровень С-пептида (нг/мл)	Сопутствующая патология	Лечение
<i>KCNJ11</i>	4 месяца	нет	0,1	нет	инсулин
<i>ABCC8</i>	3,5 месяца, рецидив в 12 лет	нет	0,8	нет	инсулин
<i>FOXP3</i>	12 лет	нет	4,9	ювенильный полиартрит, РФ-, псориаз	диета
<i>SLC19A2</i>	4 года	нет	1,1	ацетонемические рвоты, альтернирующее расходящееся косоглазие, макулопатия (абиотрофия сетчатки OU?)	диета
<i>EIF2AK3</i>	3 месяца	нет	0,2	токсический гепатит, низкорослость тяжелой степени	инсулин
<i>ALMS1</i>	7 лет	нет	инсулин 35,6 мкЕд/мл	ожирение 3 степени двусторонний крипторхизм, гипоплазия дисков зрительных нервов обоих глаз, расходящееся косоглазие, слабовидение.	метформин 2000 мг/сут

Всего выявлено 12 мутаций, 7 из них патогенные, 3 вероятно патогенные, 2 с неизвестным клиническим значением; 9 вариантов в литературе не описаны.

Согласно многочисленным данным литературы, у пациентов с вариантами в *KCNJ11* отмечается чувствительность к препаратам СМ. В настоящем исследовании варианты в указанном гене выявлены у 2 человек. В первом случае (с.988T>C (р.Tyr330His)) перевод пациентки в возрасте 4 месяцев с инсулина на глибенкламид (максимальная используемая доза 1,3 мг/кг/сут) был неэффективен. Во втором случае (с.133\_135del (р.Ala45del)) подобная попытка перевода пациента 1 года на глибенкламид (максимальная используемая доза 0,7 мг/кг/сут), сопровождалась развитием аллергического дерматита в тяжелой форме,

потребовавшего отмены препарата. Инсулинотерапия была возобновлена; проводится углубленное аллергологическое обследование.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Проведение молекулярно-генетического исследования с использованием секвенирования нового поколения в группе пациентов с подозрением на МСД является новейшим и высоко эффективным методом диагностики в практике врачей-детских эндокринологов. Использование данного метода открывает новые возможности выявлять редкие и мало изученные варианты заболевания. Установка точного диагноза позволяет разработать схему патогенетически обоснованного лечения и сформировать персонифицированный алгоритм ведения для каждого конкретного пациента. Дальнейшее изучение особенностей пациентов с MODY и формирование более крупных баз данных позволит усовершенствовать алгоритмы дифференциальной диагностики и предложенной прогностической модели в будущем.

## **ВЫВОДЫ**

1. Установлено, что моногенный сахарный диабет составляет 3,12% от всех случаев сахарного диабета у детей в Санкт-Петербурге и является вторым по частоте специфическим типом данного заболевания. Самым распространенным вариантом моногенного сахарного диабета является MODY2 (83,0% случаев), реже встречается MODY3 (15,1%), очень редко – прочие типы (менее 2%).

2. Выявлено, что у детей первого года жизни причиной хронической гипергликемии являются такие формы моногенного сахарного диабета, как неонатальный сахарный диабет и MODY2, причем единственным проявлением MODY2 может быть повышение уровня глюкозы крови.

3. Определено, что наиболее чувствительными маркерами MODY являются: отягощенный семейный анамнез, сохранный уровень С-пептида (1,1-4,4 нг/мл), медленно прогрессирующее течение заболевания (НвА1С 6-7,1%) и отсутствие потребности в инсулинотерапии.

4. Показано, что такие симптомы сахарного диабета, как снижение массы тела, кетонурия, потребность в экзогенном инсулине не всегда исключают диагноз MODY.

5. Чувствительность и специфичность предложенной прогностической модели дифференциальной диагностики MODY составили более 75%.

6. Доказано, что при использовании предложенного алгоритма диагностики моногенных форм сахарного диабета у детей диагноз генетически подтвержден в 53,8% случаев.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. Пациентам с сахарным диабетом, манифестирувшим в первые 6 месяцев жизни, а так же тем детям, у которых гипергликемия выявлена случайно на 1 году жизни рекомендовано исключение МСД или рекомендовано проведение МГИ для исключения МСД.

2. Детям с MODY2 рекомендована монотерапия диетой. При вариантах в гене *HNF1A* (MODY3) и генах АТФ-зависимых калиевых каналов (*KCNJ11* и *ABCC8*) рекомендовано рассмотреть вопрос об изменении лекарственной терапии сахарного диабета – переводе на препараты сульфонилмочевины.

3. В случае отсутствия вариантов в таргетной панели генов, ассоциированных с моногенным сахарным диабетом, целесообразно проведение полноэкзомного секвенирования, расширяющего диагностические возможности. Алгоритм представлен на рисунке 7.

4. Рекомендовано использовать прогностическую модель для дифференциальной диагностики MODY, которая в виде онлайн-калькулятора доступна по ссылке <https://medstatistic.ru/calcs/mody1.html>

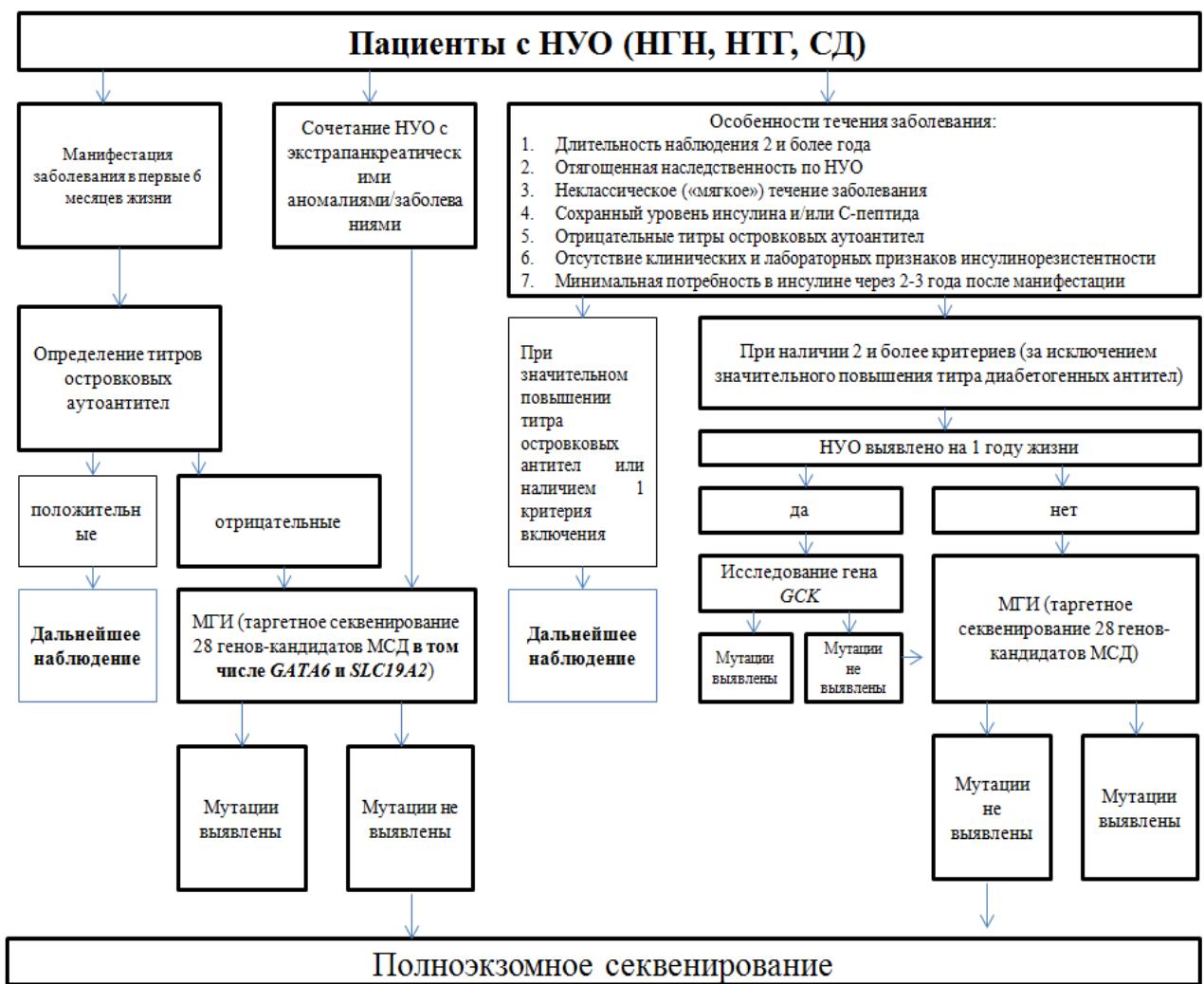


Рисунок 7 – Алгоритм дифференциальной диагностики различных вариантов моногенного сахарного диабета у детей

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дитковская, Л.В. Неонатальный сахарный диабет вследствие мутации в гене глюкокиназы (*GCK*) / Л.В. Дитковская, Ю.Л. Скородок, Л.В. Тыртова, Е.Н. Сусицын, Л.А. Желенина, М.Е. Туркунова // Педиатрия. Журнал им. Г.Н. Сперанского. – 2016. – Т. 95, № 1. – С. 82-85.
2. Глотов, О.С. Анализ экзомов у детей с MODY диабетом / О.С. Глотов, А.С. Глотов, Е.А. Серебрякова, Е.Б. Башнина, О.С. Берсенева, М.Е. Туркунова [и др.] // Молекулярная диагностика 2017 : сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – Москва, 2017. – С. 442-443.
3. Туркунова, М.Е. Молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм сахарного диабета у детей / М.Е. Туркунова, Е.Б. Башнина, Л.А. Желенина [и др.] // Генетика человека и патология : сборник научных трудов. Выпуск 11 / под редакцией В.А. Степанова. – Томск, 2017. – С. 216-217.
4. Туркунова, М.Е. Неонатальный сахарный диабет в структуре IPREХ-синдрома / М.Е. Туркунова, Л.В. Дитковская, Е.Н. Сусицын [и др.] // Педиатр. – 2017. – Т. 8, № 2. – С. 99-104.
5. Туркунова, М.Е. Полнозэкзомное секвенирование в алгоритме диагностики сахарного диабета типа MODY9. Описание клинического случая / М.Е. Туркунова, О.С. Глотов, Е.А. Серебрякова, А.С. Глотов [и др.] // Фундаментальные и прикладные проблемы здоровьесбережения человека на Севере: сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции, Сургут, 21 октября 2017 г. / Сургут. Гос. Ун-т, Медицинский институт. – Сургут, 2017. – С. 233-240.
6. Туркунова, М.Е. Частота встречаемости наследственных вариантов сахарного диабета (MODY) у детей в Санкт-Петербурге / М.Е. Туркунова, Е.Б. Башнина, Л.А. Желенина [и др.] // Сахарный диабет – пандемия XXI: сборник тезисов VIII (XXV) Всероссийского диабетологического конгресса с международным участием. ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России; ОО «Российская ассоциация эндокринологов». – Москва, 2018. – С. 153-154.
7. Туркунова, М.Е. Подтверждение патогенетической гетерогенности сахарного диабета у детей / М.Е. Туркунова, Л.В. Дитковская, Е.Б. Башнина [и др.] // Медицина: теория и практика. – 2019. – Т. 4, № 5. – С. 551-552.
8. Глотов, О.С. Применение NGS для повышения эффективности молекулярно-генетической диагностики моногенных форм сахарного диабета у детей / О.С. Глотов, Е.А. Серебрякова, М.Е. Туркунова [и др.] // Медицинская генетика. – 2020. – Т. 19, № 5 (214). – С. 86-88.
9. Glotov, O.S. Exome sequencing in infants with monogenic diabetes mellitus in Russia / O.S. Glotov, A.S. Glotov, E.A. Zukova, E.B. Bashnina, O.S. Beresneva, M.E. Turkunova [et al.] // European Journal of Human Genetics. – 2016. – Vol. 24, № S1. – P. 142.
10. Glotov, O.S. Whole-exome sequencing in Russian children with non-type 1 diabetes mellitus reveals a wide spectrum of genetic variants in MODY-related

- and unrelated genes / O.S. Glotov, E.A. Serebryakova, M.E. Turkunova [et al.] // Mol. Med Rep. – 2019. – Vol. 20, № 6. – P. 4905-4914.**
11. **Turkunova. M.E.** Confirmation of pathogenetic heterogeneity of diabetes mellitus in children using whole-exome sequencing / M.E. Turkunova, L.V. Ditkovskaya, E.B. Bashnina [et al.] // Archives of Disease in Childhood. – 2019. – Vol. 104, № S3. – C. A84-A85.
  12. **Turkunova. M.E.** Whole-exome sequencing for monogenic diabetes in Russian children reveals high frequency of genetic variants in MODY-related and unrelated genes / M.E. Turkunova, E.B. Bashnina, L.V. Ditkovskaya [et al.] // Diabetes Technology and Therapeutics. – 2019. – Vol. 21, № S1. – C. 335.

### СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ИМТ	– индекс массы тела
МГИ	– молекулярно-генетическое исследование
МСД	– моногенный сахарный диабет
НГН	– нарушенная гликемия натощак
НСД	– неонатальный сахарный диабет
НТГ	– нарушение толерантности к глюкозе
НУО	– нарушение углеводного обмена
ОГТ	– оральный глюкозотolerантный тест
ПСС	– пероральные сахароснижающие средства
СД	– сахарный диабет
СМ	– сульfonyлмочевина
GAD	– антитела к глутаматдекарбоксилазе
HbA1C	– гликированный гемоглобин А1С
IAA	– антитела к инсулину
IA2	– антитела к тирозинфосфатазе
ICA	– антитела к $\beta$ -клеткам