

Клиническая и молекулярно-генетическая характеристика случаев MODY с дигенным и олигогенным наследованием, выявленных по результатам высокопроизводительного параллельного секвенирования

О.А. ГИОЕВА¹, к.м.н. Н.А. ЗУБКОВА¹, к.м.н. Ю.В. ТИХОНОВИЧ¹, к.х.н. В.М. ПЕТРОВ¹, к.б.н. Е.В. ВАСИЛЬЕВ¹, д.м.н. А.В. КИЯЕВ², Л.Г. ЧЕРНЫХ³, О.Ю. ПОЛЛЯК³, А.Р. ЮСУПОВА³, д.м.н. А.Н. ТЮЛЬПАКОВ¹

¹ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия; ²ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет», Екатеринбург, Россия; ³ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница №1», Екатеринбург, Россия

Диагноз MODY должен быть подтвержден молекулярно-генетическим исследованием. В последние годы внедрение технологии секвенирования нового поколения, позволяющей проводить одновременный анализ нескольких генов-кандидатов, значительно упрощает диагностику моногенных заболеваний и, в частности, MODY. Кроме того, одновременный анализ нескольких генов-кандидатов позволяет выявлять случаи с дигенным и олигогенным наследованием. В данной работе мы приводим первое в нашей стране описание случаев MODY с дигенным и олигогенным наследованием. Цель исследования — изучить клинические и молекулярно-генетические характеристики случаев MODY с дигенным и олигогенным наследованием, выявленных по результатам высокопроизводительного параллельного секвенирования. Материал и методы. В исследование включены 256 пациентов (149 мальчиков, 107 девочек) в возрасте от 3 мес до 25 лет. Критерии включения: нарушения углеводного обмена различной степени, отрицательный титр аутоантител к ICA, GAD, IA2, IAA, сохранная секреция эндогенного инсулина. Молекулярно-генетическое исследование выполнено с помощью высокопроизводительного параллельного секвенирования с применением авторской панели праймеров и полупроводникового секвенатора PGM (Ion Torrent). Все мутации подтверждены методом Сэнгера. Результаты. У 10 пациентов (8 пробандов, 1 сибс, 1 родитель) выявлен дигенный характер наследования MODY: у 3 пациентов — сочетание мутаций в двух генах-кандидатах MODY, у 7 — в гене-кандидате MODY и другом гене, ассоциированном с сахарным диабетом. В 1 случае (сибс) выявлен олигогенный характер наследования (мутации в генах *GCK*, *HNF4A* и *INSR*). Семь выявленных мутаций ранее описаны не были. Выводы. Метод высокопроизводительного параллельного секвенирования позволяет активно выявлять случаи дигенного и олигогенного наследования MODY, что крайне важно с позиций возможного влияния сочетанных мутаций на фенотип.

Ключевые слова: сахарный диабет типа MODY, высокопроизводительное параллельное секвенирование, гены-кандидаты MODY, дигенное наследование, олигогенное наследование.

Clinical and molecular genetic characteristics of MODY cases with digenic and oligogenic inheritance as defined by targeted next-generation sequencing

О.А. ГИОЕВА¹, N.A. ZUBKOVA¹, YU.V. TIKHONOVICH¹, V.M. PETROV¹, E.V. VASILYEV¹, A.V. KIYAEV², L.G. CHERNICH³, O.YU. POLLYAK³, A.P. YUSUPOVA³, A.N. TIULPAKOV¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia; ²Ural State Medical University, Yekaterinburg, Russia; ³Regional children's clinical hospital №1, Yekaterinburg, Russia

The diagnosis of MODY should be verified by molecular genetic analysis. Recently the introduction of next-generation sequencing, allowing simultaneous analysis of several candidate genes, greatly facilitates the diagnosis of monogenic diseases including MODY. In addition, the simultaneous analysis of several candidate genes allows to identify cases with digenic and oligogenic inheritance. In this work we present the first description of MODY cases with digenic and oligogenic inheritance in our country. Aim — to characterize MODY cases with digenic and oligogenic inheritance as defined by targeted next-generation sequencing. Material and methods. 256 subjects (age range, 0.3—25 yrs; males, $n=149$, females, $n=107$) were included in the study. The patients fulfilled the following MODY criteria: diabetes or intermediate hyperglycemia, absence of β -cell autoimmunity (ICA, GAD, IA2, IAA antibodies), preserved C-peptide secretion. Molecular genetic analysis was performed by next-generation sequencing using custom Ion Ampliseq gene panel and PGM semiconductor sequencer (Ion Torrent). All mutations were confirmed by Sanger sequencing. Results. 10 patients (8 probands, 1 sibling and 1 parent) showed digenic inheritance of MODY: 3 patients with combination of mutations in 2 candidate genes of MODY, 7 — in a candidate genes of MODY and another gene, associated with diabetes mellitus. In 1 case (sibling) showed oligogenic inheritance (mutations in *GCK*, *HNF4A* and *INSR* genes). Seven of the identified mutations were not previously described. Conclusion. Next-generation sequencing is useful in identifying of MODY cases with digenic and oligogenic inheritance, which is extremely important with potentially modifying effect on the phenotype.

Keywords: maturity-onset diabetes of the young (MODY), next-generation sequencing, candidate genes of MODY, digenic inheritance, oligogenic inheritance.

doi: 10.14341/probl201662620-27

Список сокращений

СД — сахарный диабет
ПЖ — поджелудочная железа
HbA_{1c} — гликированный гемоглобин

Среди моногенных форм сахарного диабета (СД) лидирующее место занимает тип MODY (maturity-onset diabetes of the young, «диабет взрослого типа у молодых»), в основе которого лежат генетические дефекты β-клеток поджелудочной железы (ПЖ). Впервые термин «maturity-onset diabetes of the young» и аббревиатуру «MODY» предложили R. Tattersall и S. Fajans [1, 2] в 1975 г. для обозначения наследственного непрогрессирующего или малопргрессирующего инсулиннезависимого СД у молодых лиц. MODY характеризуется аутосомно-доминантным наследованием, манифестацией в молодом возрасте (до 25 лет) на фоне отсутствия специфических аутоантител (маркеров разрушения β-клеток) и выраженной вариабельностью клинических проявлений (от непрогрессирующей гипергликемии натощак до тяжелого диабета с сосудистыми осложнениями). К настоящему времени известно 13 генов-кандидатов MODY (*HNFA4A*, *GCK*, *HNFA1A*, *PDX1*, *HNFB1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *ABCC8*, *KCNJ11*) и, соответственно, 13 его подтипов. «Золотым стандартом» диагностики MODY является молекулярно-генетическое исследование. Ограниченный доступ к молекулярно-генетическим исследованиям, обусловленный длительностью, трудоемкостью и высокой стоимостью метода прямого секвенирования, часто является причиной ошибочной диагностики СД 1-го или 2-го типа у пациентов с MODY и приводит к назначению неадекватной терапии. Кроме того, генетическая верификация диагноза крайне важна для медико-генетического консультирования семьи. В последние годы для установления генетической природы моногенных заболеваний активно применяется технология секвенирования нового поколения, которая позволяет проводить одновременный анализ нескольких генов-кандидатов моногенных заболеваний. К настоящему времени в мире проведено несколько исследований структуры MODY с использованием технологии секвенирования нового поколения [3–7]. Важным преимуществом данного метода перед методом прямого секвенирования является возможность активного выявления случаев дигенного и олигогенного наследования. На сегодняшний момент в литературе имеются описания случаев дигенного наследования MODY, однако они единичные. Случаи олигогенного наследования MODY не описаны. Одно из первых сообщений о дигенном насле-

ОГТТ — пероральный глюкозотолерантный тест
ГСД — гестационный сахарный диабет
ПГГН — пограничная гипергликемия натощак

довании MODY опубликовано в 2007 г. В. Karges и соавт. [8], которые описали семью с сочетанием мутаций в генах *HNFA1A* и *HNFB1B*. В 2009 г. Н. Beijers и соавт. [9] описали первый случай сочетания мутаций в генах *HNFA1A* и *HNFA4A* у пробанда и его матери. Аналогичное сочетание мутаций в последующие годы описали G. Forlani и соавт. [10] и R. Shankar и соавт. [11]. В литературе имеется несколько описаний сочетания мутаций и в других генах-кандидатах MODY. Во всех этих исследованиях для молекулярно-генетического исследования применялся метод секвенирования по Сэнгеру, что требовало длительного пошагового секвенирования каждого исследуемого гена. С внедрением технологии секвенирования нового поколения, позволяющей проводить одновременный анализ нескольких генов, диагностика подобных случаев стала более активной. Так, в 2014 г. в Индии среди 56 неродственных пробандов, клинически отнесенных к MODY, дигенный характер наследования обнаружен у 2 пациентов (сочетание мутаций в генах *NEUROD1* и *PDX1*) [3].

Сведения об авторах:

Гиюева Олеся Анатольевна — асп. ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия
e-mail: olesyasogma@mail.ru
Зубкова Наталья Анатольевна — к.м.н., ст.н.с. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия
Тихонович Юлия Викторовна — к.м.н., ст.н.с. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия
Петров Василий Михайлович — к.х.н., ст.н.с. лаб. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия
Васильев Евгений Витальевич — к.б.н., ст.н.с. лаб. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия
Кияев Алексей Васильевич — д.м.н., доц. каф. поликлинической педиатрии и педиатрии ФПК и ПП ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; гл. внештатный специалист Министерства здравоохранения Свердловской области — детский эндокринолог, Екатеринбург, Россия
Черных Людмила Геннадьевна — зав. эндокрин. отд. ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница №1», Екатеринбург, Россия
Поляк Ольга Юрьевна — сотр. эндокрин. отд. ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница №1», Екатеринбург, Россия
Юсупова Альбина Рашитовна — сотр. эндокрин. отд. ГБУЗ Свердловской области «Областная детская клиническая больница №1», Екатеринбург, Россия
Тюльняков Анатолий Николаевич — д.м.н., зав. отд. наследственных эндокринопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр», Москва, Россия

В 2015 г. М. Szora и соавт. [7] среди 54 неродственных пробандов выявили дигенное наследование у 3 пациентов, причем в одном случае мутация в гене-кандидате *MODY* сочеталась с мутацией в другом гене, ассоциированном с СД (*HNF4A/NEUROD1*, *HNF1B/HNF4A*, *HNF4A/PTF1A*).

В нашей стране к настоящему времени опубликован ряд описаний случаев *MODY*, подтвержденных методом прямого секвенирования [12–17]. Случаи *MODY* с дигенным или олигогенным наследованием среди них отсутствуют. Нами впервые в отечественной практике применена технология секвенирования нового поколения для генетической диагностики наследственных нарушений углеводного обмена, что позволило впервые выявить случай редкого наследственного варианта СД, обусловленного дефектом гена *NEUROD1* (*MODY6*) [18]. В данной работе мы приводим описания впервые диагностированных в нашей стране случаев *MODY* с дигенным и олигогенным наследованием, выявленных с помощью методики высокопроизводительного параллельного секвенирования.

Цель исследования — изучить клинические и молекулярно-генетические характеристики случаев *MODY* с дигенным и олигогенным наследованием, выявленных по результатам высокопроизводительного параллельного секвенирования.

Материал и методы

Молекулярно-генетическое исследование проведено 256 пациентам (149 мальчиков, 107 девочек) в возрасте от 3 мес до 25 лет. Медиана возраста пациентов на момент исследования составила 11,7 года.

Критерии включения: нарушения углеводного обмена различной степени; отрицательный титр аутоантител к *ICA*, *GAD*, *IA2*, *IAA*; сохранная секреция эндогенного инсулина. Молекулярно-генетическое исследование проведено с использованием метода высокопроизводительного параллельного секвенирования. Методика подробно описана в работе, посвященной первому описанию в России случая *MODY6* [18].

Результаты

По результатам молекулярно-генетического исследования у 10 пациентов (8 пробандов, 1 sibс, 1 родитель) выявлено сочетание патогенных или «возможно патогенных» мутаций в двух генах (у 3 — сочетание мутаций в двух генах-кандидатах *MODY*, у 7 — в гене-кандидате *MODY* и другом гене, ассоциированном с СД), в 1 случае выявлено олигогенное наследование (мутации в генах *GCK*, *HNF4A* и *INSR*) (табл. 1). В одном из случаев отмечалось сочетание двух мутаций в гене *GCK* с мутацией в гене

INSR. Все мутации найдены в гетерозиготном положении. Среди мутаций выявлена одна дупликация со сдвигом рамки считывания, одна мутация, затрагивающая 5'-нетранслируемую область, одна патогенная сеймсенс-мутация, остальные — миссенс-мутации. Среди выявленных мутаций восемь — новые, а мутации в генах *HNF4A*, *HNF1B* и *ABCC8* (характерные для *MODY1*, *MODY5* и *MODY12*, соответственно) впервые описаны в отечественной литературе. Методом прямого секвенирования аналогичные мутации найдены у 7 родителей.

Клинические случаи

Клинический случай 1. У пациента 2,9 года отмечено сочетание мутаций в двух генах-кандидатах *MODY* — *GCK* (*MODY2*) и *HNF1B* (*MODY5*). Подтип *MODY5*, обусловленный гетерозиготными мутациями в гене *HNF1B*, в РФ до настоящего времени описан не был. У нашего пациента гипергликемия натощак (6,7 ммоль/л) зафиксирована в возрасте 2,5 года при случайном обследовании. Уровень гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) составил 6,0% (норма 4–6%). В течение 4 мес на фоне диеты с ограничением легкоусвояемых углеводов гликемия в течение суток колебалась в пределах 5,3–9,0 ммоль/л. В возрасте 2,9 года в ходе стандартного перорального глюкозотолерантного теста (ОГТТ) выявлена нарушенная толерантность к углеводам на фоне нормоинсулинемии (гликемия натощак — 5,6 ммоль/л, через 2 ч — 10 ммоль/л; базальный инсулин — 2,05 мкМЕ/мл, через 2 ч — 19,78 мкМЕ/мл), а уровень HbA_{1c} составил 6,95%, что позволило подтвердить диагноз СД. Учитывая течение заболевания, отягощенную по нарушениям углеводного обмена наследственность (гестационный СД (ГСД) в анамнезе у матери), пробанду было проведено молекулярно-генетическое исследование и выявлена ранее описанная гетерозиготная миссенс-мутация с.767A>G р.Е256G в 7-м экзоне гена *GCK*, а также ранее описанная гетерозиготная миссенс-мутация с.1006C>G р.Н336D в 4-м экзоне гена *HNF1B* [19], ассоциированная с гиподисплазией почек. Необходимо отметить, что ни у пробанда, ни у матери, у которой также обнаружена аналогичная мутация в гене *HNF1B* (мутация в *GCK* не обнаружена), почечная патология не выявлена. На момент исследования пациент не нуждался в сахароснижающей терапии; компенсировать углеводный обмен удалось диетой с ограничением легкоусвояемых углеводов. Данная клиническая картина рассматривается нами как проявление *MODY2*. Однако у пациента имеется также дефект гена *HNF1B*, при котором возможно развитие инсулинопотребности. Выявленное сочетание мутаций требует проспективного наблюдения за пациентом с учетом возможного последующего влияния дигенного характера наследования на клиническое течение заболевания.

Таблица 1. Случаи MODY с дигенным и олигогенным наследованием

Па-циент	Ген	Эк-зон	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Н/О	Ген	Экзон	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Н/О
1	<i>GCK</i>	7	c.767A>G	p.E256G	O	<i>HNF1B</i>	4	c.1006C>G	p.H336D	O
2	<i>GCK</i>	3	c.234C>G	p.D78E	O	<i>WFS1</i>	8	c.1124G>A	p.R375H	O
3	<i>GCK</i>	6	c.637T>C;	p.C213R;	O	<i>INSR</i>	10	c.2122G>A	p.E708K	H
		7	c.795G>C	p.E265D	H					
4	<i>HNFL1A</i>	3	c.693G>A	p.T231T	O	<i>RFX6</i>	18	c.2412C>A	p.S804R	H
5	<i>HNFL1A</i>	5	c.1012dupG	p.G339RfsX80	H	<i>INSR</i>	22	c.3919G>A	p.E1307K	O
6	<i>HNFL1A</i>	10	c.1813A>C	p.N605H	H	<i>GLIS3</i>	2	c.82A>G	p.I28V	O
7	<i>ABCC8</i>	10	c.1531C>G	p.L511V	H	<i>INSR</i>	18	c.3296C>T	p.T1099M	H
8	<i>GCK</i>	5	c.C571T	p.R191W	O	<i>INSR</i>	10	c.A2084G	p.Q695R	H
9	<i>GCK</i>	5	c.C571T	p.R191W	O	<i>HNF4A</i>	5'UTR	—	chr.20:43029938_43029944delGGAGGC	O
10	<i>GCK</i>	5	c.C571T	p.R191W	O	<i>HNF4A</i>	5'UTR	—	chr.20:43029938_43029944delGGAGGC	O
11	<i>GCK</i>	5	c.C571T	p.R191W	O	<i>HNF4A</i>	5'UTR	—	chr.20:43029938_43029944delGGAGGC	O
	<i>INSR</i>	10	c.A2084G	p.Q695R	H	—	—	—	29944delGGAGGC	-

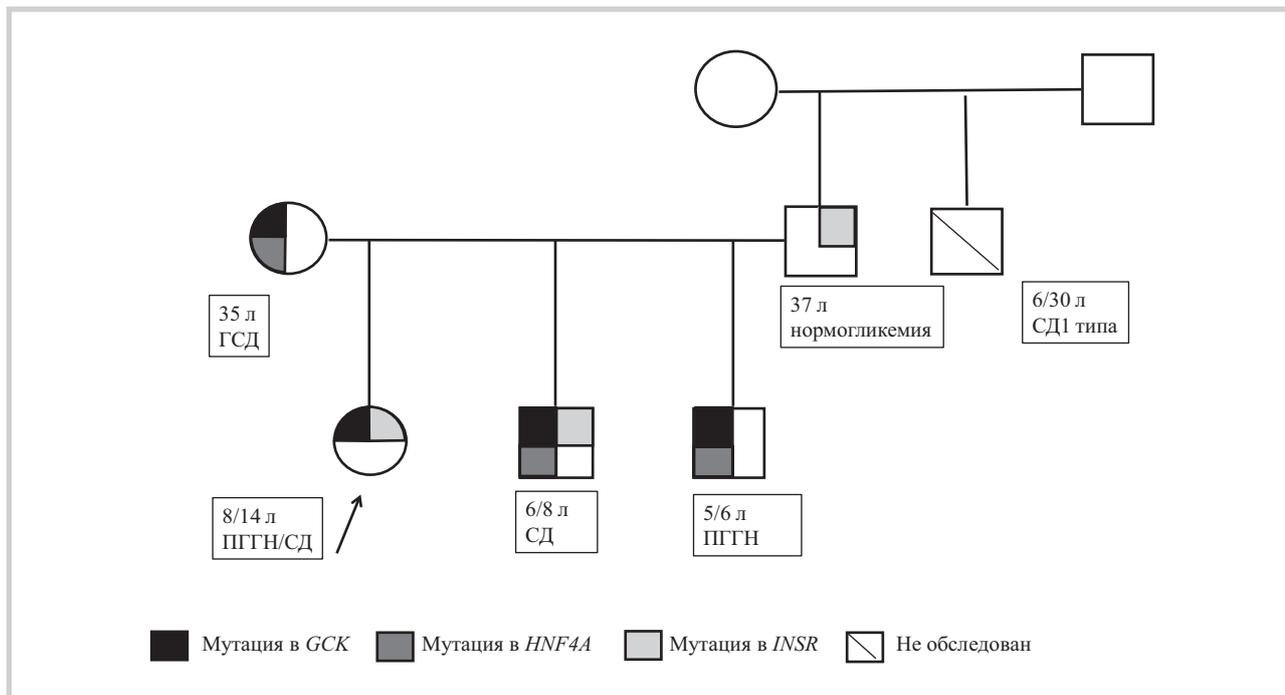
Примечание. Пациенты 8–11 из одной семьи П. (8 — пробанд, 9 — сибс, 10 — родитель, 11 — сибс с олигогенным наследованием). Н — новая мутация, О — ранее описанная мутация.

Клинический случай 2. Ранее не описанная дупликация со сдвигом рамки считывания p.G339RfsX80 c.1012dupG в 5-м экзоне гена *HNFL1A* и описанная мутация c.3919G>A p.E1307K в 22-м экзоне гена *INSR* обнаружены у пробанда 16 лет с отягощенной наследственностью по СД в 4 поколениях. Гипергликемия (6,8 ммоль/л) выявлена случайно при обследовании по поводу ожирения (SDS ИМТ +2,34). При ОГТТ выявлен СД (13,4 ммоль/л на 120 мин), HbA_{1c} — 6,3%, однако специфические аутоантитела обнаружены не были. Заподозрен моногенный характер СД и методом прямого секвенирования проведено молекулярно-генетическое исследование гена *HNFL1A*, но мутаций обнаружено не было. Учитывая наличие ожирения и гипергликемии, назначена терапия метформином в дозе 1000 мг/сут с положительным эффектом (HbA_{1c} на фоне терапии — 5,11%). Через полгода отмечено нарастание уровня HbA_{1c} до 7,2%, гликемия натощак достигала 9,2 ммоль/л, в течение дня — 13,7 ммоль/л, что потребовало увеличения дозы метформина до 2000 мг/сут без видимого эффекта. Пациент повторно направлен на молекулярно-генетическое исследование (панель генов «Сахарный диабет»); использование метода высокопроизводительного параллельного секвенирования позволило установить дигенное наследование СД. Метформин был отменен и с патогенетической целью назначен гликлазид (диабетон МВ 60 мг). На фоне диабетона МВ в дозе 60 мг/сут в течение недели отмечен выраженный положительный эффект (гликемия натощак 4,8–6,6 ммоль/л, в течение дня — до 8,8 ммоль/л). Модификация терапии способствовала не только нормализации гликемии, но и значительному приросту как базального, так и стимулированного уровня инсулина: 5,5–16,5

мкЕ/мл в точках 0 и 120 мин на гликлазиде и 0,9–4,1 мкЕ/мл в соответствующих точках на фоне метформина.

Клинический случай 3 (семья П). Уникальный случай сочетания дигенного и олигогенного характера наследования выявлен в семье с большой концентрацией СД (см. рисунок). Поводом для поиска моногенного СД в данной семье послужило выявление нарушений углеводного обмена разной степени у 3 сибсов и отягощенная по СД наследственность по обеим линиям.

У пробанда в течение 6 лет фиксировалась пограничная гипергликемия натощак (ПГН), а в 14 лет был диагностирован СД (гликемия натощак до 10,2 ммоль/л, HbA_{1c} до 6,9%), однако в ходе ОГТТ отмечена достаточная секреция инсулина (12,4–33,8 мЕд/л в точках 0 и 120 мин, соответственно). Назначен метформин в дозе 1000 мг/сут, на фоне приема которого в течение последующих 2 лет уровень HbA_{1c} колебался в пределах 6,2–7,7%. Из-за отсутствия стабильного положительного эффекта (последний год HbA_{1c} 7,4–7,6%) рассматривался вопрос о назначении инсулинотерапии. Однако учитывая мягкое течение СД и отягощенную наследственность, пациент был направлен на молекулярно-генетическое исследование, которое обнаружило дигенный характер заболевания: выявлены гетерозиготные мутации в генах *GCK* (c.C571T p.R191W) и *INSR* (c.A2084G p.Q695R), последняя — новая. У матери, в анамнезе которой имел место ГСД, проведен поиск данных мутаций методом Сэнгера: найдена только аналогичная мутация в гене *GCK*. Мутация в гене *INSR* у пробанда могла быть спорадической, однако отягощенная наследственность по отцовской линии послужила поводом для поиска дан-



Родословная семьи П.

ной мутации у клинически здорового отца. У него была найдена мутация в гене *INSR*, что в данном случае свидетельствует о здоровом носительстве. Учитывая полученные данные, был обследован сибс 6 лет, у которого в течение года фиксировалась ПГГН, колебания HbA_{1c} в пределах 6,2–7%. У него была найдена аналогичная мутация в гене *GSK*. Также был обследован сибс 8 лет, у которого 2 года назад был диагностирован СД 1-го типа, дебютировавший с классических жалоб, но на фоне отсутствия аутоантител. Течение СД у данного пациента потребовало лечения инсулином по интенсифицированной схеме, на фоне чего отмечалась субкомпенсация заболевания (HbA_{1c} 8–8,1%). По результатам секвенирования по Сэнгеру у данного сибса были найдены аналогичные мутации в генах *GSK* и *INSR*, однако это не объясняло столь тяжелого течения СД. С целью исключения мутаций в других генах-кандидатах MODY пациенту было проведено исследование панели генов «Сахарный диабет», по результатам которого найдена ранее описанная мутация, затрагивающая 5'UTR в гене *HNF4A* (*MODY1*). У остальных членов семьи также был проведен поиск данной мутаций методом прямого секвенирования, и мутация обнаружена у матери и у сибса 6 лет. Таким образом, нам удалось установить дигенное наследование СД у 3 членов семьи и олигогенный характер наследования у 1 из сибсов.

Обсуждение

Молекулярно-генетическое исследование, выполненное методом высокопроизводительного па-

раллельного секвенирования, установило факт дигенного наследования MODY у 8 пробандов, 1 сибса и 1 родителя, а также факт олигогенного наследования заболевания у 1 сибса. В ряде случаев проведена модификация терапии, а некоторые пациенты были приглашены для повторного обследования с целью рассмотрения вопроса о модификации терапии. Так, у пациента с установленной мутацией в гене *HNF1A* (*MODY3*) метформин был заменен патогенетически обоснованным препаратом из группы сульфонилмочевины, что обеспечило выраженный клинический эффект. Кроме того, у одного из родителей с установленной мутацией в гене *GSK* была отменена инсулинотерапия, сопровождавшаяся гипогликемиями. Пациент с сочетанной мутацией в гене *WFS1* направлен на консультацию оториноларинголога в связи с имеющимися жалобами на снижение слуха. Полученные данные позволили провести медико-генетическое консультирование обследованных семей и дать соответствующие рекомендации. Все пациенты находятся под динамическим наблюдением, что в дальнейшем позволит оценить влияние сочетанных мутаций на фенотип.

На примере семьи П., имеющей столь разнообразные генетические и клинические характеристики, показана значимость правильной диагностики для разработки индивидуальной тактики наблюдения и терапии.

Использование методики высокопроизводительного параллельного секвенирования позволило выявить не только случаи MODY с дигенным и олигогенным наследованием, но и редкие подтипы MODY (*MODY1*, *MODY5* и *MODY12*, обусловлен-

ные мутациями в генах *HNF4A*, *HNF1B* и *ABCC8*, соответственно), ранее не описанные в отечественной литературе. Кроме того, у ряда пациентов мутации в генах *MODY* сочетались с мутациями в генах *INSR*, *GLIS3* и *RFX6*, мутации в которых также ранее не описаны в отечественной литературе.

Впервые яркий и разнообразный по своей клинической картине подтип *MODY5* был описан в 1997 г. У. Nogikawa и соавт. [20]. В настоящее время обнаружено 116 мутаций в гене *HNF1B*. Ген локализован на длинном плече хромосомы 17 (17q21.3), экспрессируется в ПЖ, печени, почках, кишечнике, желудке, легких, яичниках и влияет на эмбриогенез этих органов [21]. Мутации в гене *HNF1B*, помимо СД, могут проявляться патологией почек (поликистоз, почечная дисфункция), врожденными аномалиями внутренних гениталий у девочек (аплазия влагалища, рудиментарная или двурогая матка) и патологией других органов, однако эти признаки не облигатны для *MODY5*. Так, в литературе есть описания пациентов с *MODY5* без патологии мочеполовой системы [22]. У нашего пациента, как и у его матери с мутацией в данном гене, отсутствовали нарушения мочеполовой системы и другие аномалии развития. Пациенты с *MODY5* нечувствительны к препаратам сульфонилмочевины и обычно нуждаются в инсулинотерапии [23]. Наш пациент и его мать в настоящее время инсулиннезависимы, что требует динамического наблюдения.

Впервые в РФ мы выявили пациента с *MODY12*. Данный подтип обусловлен инактивирующими гетерозиготными мутациями в гене *ABCC8*, кодирующим SUR1 субъединицу АТФ-зависимых К-каналов. Активирующие же гомо- или гетерозиготные, а также компаунд-гетерозиготные мутации (в данном случае мутантный ген может содержать как активирующую, так и инактивирующую аллели [24]) являются причиной неонатального СД. Клинически *MODY12* сопоставим с *MODY1* и 3; пациенты чувствительны к препаратам сульфонилмочевины [25]. Наш пациент на момент молекулярно-генетического исследования получал терапию метформином, в связи с чем ему была рекомендована госпитализация для решения вопроса о модификации терапии.

На долю *MODY1*, обусловленного гетерозиготными мутациями в гене ядерного фактора гепатоцитов *HNF4A*, приходится менее 10% всех случаев *MODY*. Впервые данный подтип был описан в 1996 г. К. Yamagata и соавт. [26]. К настоящему времени среди 173 семей описано более 103 мутаций в гене *HNF4A* [27]. По клинической картине данный подтип сходен с *MODY3*, однако заболевание протекает без глюкозурии. Интересно отметить, что у новорожденных с мутациями в гене *HNF4A* возможны транзиторные гипогликемии в сочетании с фетальной макросомией, которые обусловлены внутри-

утробным увеличением инсулиновой секреции, причины которого до конца неясны [28]. Среди взрослых пациентов с мутациями в данном гене отмечено снижение уровня триглицеридов и некоторых аполипопротеинов [29]. Среди наших пациентов мутация в *HNF4A* выявлена в семье П., причем в 2 случаях — в рамках дигенного, а в 1 — олигогенного наследования.

У 5 наших пациентов выявлены мутации в гене *INSR*, ассоциированные с инсулинорезистентностью. К настоящему времени описано 128 мутаций в этом гене. У наших пациентов трудно охарактеризовать влияние таких мутаций на фенотип, так как они сочетались с мутациями в разных генах-кандидатах *MODY*.

Следует отметить, что у пациента с сочетанием мутаций в генах *HNF1A* и *RFX6* (на ранних стадиях органогенеза кодируемый геном *RFX6* транскрипционный фактор *RFX6* участвует в регуляции дифференцировки эндодермальных клеток ПЖ в β -клетки) в дебюте заболевания выявлен кетоз, наличие которого считается нехарактерным для *MODY*. Однако при первом описании *MODY3* в России было установлено, что кетоз в анамнезе не исключает моногенный СД при нетипичной клинической картине [13]. Поэтому данный пациент был включен в исследование, что позволило выявить у него дигенный характер наследования. Течение заболевания в этом случае не позволило отменить инсулинотерапию, однако полученные данные были использованы для медико-генетического консультирования семьи.

Описанные нами случаи дигенного и олигогенного наследования *MODY* требуют дальнейшего наблюдения, что позволит в будущем оценить влияние выявленных генетических дефектов на фенотип.

Заключение

В последние годы активное внедрение технологии секвенирования нового поколения открыло новые перспективы в диагностике моногенных заболеваний. Методика высокопроизводительного параллельного секвенирования позволяет проводить одновременный анализ нескольких генов-кандидатов *MODY* без их пошагового исследования методом прямого секвенирования. Важным преимуществом данного метода является возможность активного выявления случаев с дигенным и олигогенным наследованием, что отчетливо продемонстрировано нашим исследованием. Необходимо учитывать, что сочетание мутаций в разных генах может непосредственно отражаться на фенотипе и терапевтической тактике. Кроме того, правильный генетический диагноз служит основой для проведения медико-генетического консультирования семьи. Также необходимо отметить, что данная методика является высо-

коэффициентной в диагностике MODY. Так, у одного из пациентов с подозрением на MODY3 мутации гена *HNF1A* не были выявлены методом прямого секвенирования. Лишь использование секвенирования нового поколения позволило обнаружить мутацию в этом гене и, кроме того, установить дигенное наследование MODY. Это дало возможность назначить патогенетически обоснованную терапию, что привело к выраженному положительному клиническому эффекту, что крайне важно с учетом возможных сосудистых осложнений при мутациях в гене *HNF1A*.

Выделяя две стратегии секвенирования генов-кандидатов MODY — последовательное прямое секвенирование генов *GCK* и *HNF1A* (как наиболее часто встречающиеся подтипы MODY) и в отсутствие мутаций — панельное секвенирование или первоначальное панельное секвенирование — нужно отметить, что последний метод является экономически оправданным.

Клиническая картина неиммунного диабета зачастую не укладывается в классические критерии MODY, и бывает трудно обозначить ген-кандидат для проведения молекулярно-генетического исследования. Четкая корреляция генотип-фенотип проявляется, пожалуй, только в случае MODY2. Иссле-

дования редких подтипов MODY в нашей стране ранее не проводились, а единичные описания в мировой литературе не позволяют в настоящее время установить четкую корреляцию генотип-фенотип для всех подтипов MODY. Методика высокопроизводительного параллельного секвенирования расширяет возможности диагностики редких подтипов MODY и случаев с дигенным и олигогенным наследованием. Приведенное описание случаев MODY с сочетанным наследованием является наиболее крупным среди подобных сообщений и первым в отечественной литературе. Случай же олигогенного наследования MODY описан впервые в мире.

Финансирование исследования. Исследование частично выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №16-15-10408) <http://xn--mlafn.xn--plai/>.

Конфликт интересов отсутствует.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования, сбор материала, анализ полученных данных, написание текста: О.А. Гюева, А.Н. Тюльпаков.

Сбор материала, анализ полученных данных — Н.А. Зубкова, Ю.В. Тихонович, А.В. Кияев, Л.Г. Черных, О.Ю. Поляк, А.Р. Юсупова.

Проведение молекулярно-генетического исследования — В.М. Петров, Е.В. Васильев, А.Н. Тюльпаков.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Tattersall RB. Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q J Med.* 1974;43(170):339-357.
2. Tattersall RB, Fajans SS, Arbor A. A Difference Between the Inheritance of Classical Juvenile-onset and Maturity-onset Type Diabetes of Young People. *Diabetes.* 1975;24(1):44-53.
doi: 10.2337/diab.24.1.44
3. Chapla A, Mruthyunjaya MD, Asha HS, et al. Maturity onset diabetes of the young in India - a distinctive mutation pattern identified through targeted next-generation sequencing. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2015;82(4):533-542.
doi: 10.1111/cen.12541
4. Ellard S, Lango Allen H, De Franco E, et al. Improved genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing. *Diabetologia.* 2013;56(9):1958-1963.
doi: 10.1007/s00125-013-2962-5
5. Anik A, Çatlı G, Abacı A, et al. Molecular diagnosis of maturity-onset diabetes of the young (MODY) in Turkish children by using targeted next-generation sequencing. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2015;28(11-12).
doi: 10.1515/jpem-2014-0430
6. Alkorta-Aranburu G, Carmody D, Cheng YW, et al. Phenotypic heterogeneity in monogenic diabetes: The clinical and diagnostic utility of a gene panel-based next-generation sequencing approach. *Mol Genet Metab.* 2014;113(4):315-320.
doi: 10.1016/j.ymgme.2014.09.007
7. Szopa M, Ludwig-Gałęzowska A, Radkowski P, et al. Genetic testing for monogenic diabetes using targeted next-generation sequencing in patients with maturity-onset diabetes of the young. *Pol Arch Med Wewn.* 2015;125(11):845-851.
8. Karges B, Bergmann C, Scholl K, et al. Digenic inheritance of hepatocyte nuclear factor-1alpha and -1beta with maturity-onset diabetes of the young, polycystic thyroid, and urogenital malformations. *Diabetes Care.* 2007;30(6):1613-1614.
doi: 10.2337/dc06-2618
9. Beijers HJ, Losekoot M, Odink RJ, Bravenboer B. Hepatocyte nuclear factor (HNF)1A and HNF4A substitution occurring simultaneously in a family with maturity-onset diabetes of the young. *Diabet Med.* 2009;26(11):1172-1174.
doi: 10.1111/j.1464-5491.2009.02855.x
10. Forlani G, Zucchini S, Di Rocco A, et al. Double heterozygous mutations involving both HNF1A/MODY3 and HNF4A/MODY1 genes: a case report. *Diabetes Care.* 2010;33(11):2336-2338.
doi: 10.2337/dc10-0561
11. Shankar RK, Ellard S, Standiford D, et al. Digenic heterozygous HNF1A and HNF4A mutations in two siblings with childhood-onset diabetes. *Pediatr Diabetes.* 2013;14(7):535-538.
doi: 10.1111/pedi.12018
12. Дедов И.И., Зубкова Н.А., Арбатская Н.Ю., и др. MODY тип 2: клинические и молекулярно-генетические характеристики 13 случаев заболевания. Первое описание MODY в России // Проблемы Эндокринологии. — 2009. — Т. 55. — №3. — С. 3-7. [Dedov II, Zubkova NA, Arbatskaya NY, Akopova AG, Tyul'pakov AN, Dedov II, et al. MODY2: Clinical and molecular genetic characteristics of 13 cases of the disease. The first description of MODY in Russia. *Probl Endocrinol. (Mosk.).* 2009;55(3):3-7. (In Russ.)].
doi: 10.14341/probl20095533-7

13. Зубкова Н.А., Арбатская Н.Ю., Петрайкина Е.Е., и др. Сахарный диабет типа MODY3: клиническая и молекулярно-генетическая характеристика 9 случаев заболевания // Проблемы Эндокринологии. — 2014. — Т. 60. — №1. — С. 51-56. [Zubkova NA, Arbatskaya NY, Patryaikina EE, et al. Type 3 form of MODY: the clinical and molecular-genetic characteristic. Nine cases of the disease. *Probl Endocrinol. (Mosk.)*. 2014;60(1):51-56. (In Russ.)].
doi: 10.14341/probl201460151-56
14. Сечко Е.А., Кураева Т.Л., Зильберман Л.И., и др. MODY3 у детей и подростков: молекулярно-генетическая основа и клинично-лабораторные проявления // Проблемы Эндокринологии. — 2015. — Т. 61. — №3. — С. 16-22. [Sechko EA, Kuraeva TL, Zil'berman LI, et al. MODY3 in children and adolescents: the molecular-genetic basis and clinico-laboratory manifestations. *Probl Endocrinol. (Mosk.)*. 2015;61(3):16-22. (In Russ.)].
doi: 10.14341/probl201561316-22
15. Кураева Т.Л., Сечко Е.А., Зильберман Л.И., и др. Молекулярно-генетические и клинические варианты MODY2 и MODY3 у детей в России. // Проблемы Эндокринологии. — 2015. — Т. 61. — №5. — С. 14-25. [Kuraeva TL, Sechko EA, Zil'berman LI, et al. Molecular genetic and clinical variants MODY2 and MODY3 in children in Russia. *Probl Endocrinol (Mosk.)*. 2014;60(1):51-56. (In Russ.)].
doi: 10.14341/probl201561514-25
16. Кураева Т.Л., Сечко Е.А., Еремина И.А., и др. Особенности течения MODY3 у ребенка с фенотипом сахарного диабета 2-го типа. // Сахарный диабет. 2013. — №2. — С. 88-93. [Kuraeva TL, Sechko EA, Eremina IA, et al. MODY3 in the child with type 2 diabetes mellitus phenotype: case report. *Diabetes mellitus*. 2013;2:88-93. (In Russ.)].
doi: 10.14341/2072-0351-3762
17. Емельянов А.О., Созаева Л.С. Сочетание двух моногенных заболеваний: врожденного ламеллярного ихтиоза и сахарного диабета MODY 2-го типа // Проблемы Эндокринологии. — 2013. — Т. 59. — №4. — С. 28-32. [Emel'ianov AO, Sozaeva LS. The combination of two monogenic diseases, congenital lamellar ichthyosis and type 2 MODY diabetes mellitus. *Probl Endocrinol. (Mosk.)*. 2013;59(4):28-32. (In Russ.)].
doi: 10.14341/probl201359428-32
18. Гиоева О.А., Колодкина А.А., Васильев Е.В., и др. Наследственный вариант сахарного диабета, обусловленного дефектом гена NEUROD1 (MODY6): первое описание в России. // Проблемы Эндокринологии. — 2016. — Т. 62. — №3. — С. 16-20. [Gioeva OA, Kolodkina AA, Vasilyev EV, Petrov VM, Tiulpakov AN. Hereditary variant of diabetes mellitus caused by a defect of the NEUROD1 gene (MODY6): the first description in Russia. *Probl Endocrinol. (Mosk.)*. 2016;62(3):16-20. (In Russ.)].
doi: 10.14341/probl201662316-20
19. Weber S, Moriniere V, Knuppel T, et al. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(10):2864-2870.
doi: 10.1681/ASN.2006030277
20. Horikawa Y, Iwasaki N, Hara M, et al. Mutation in hepatocyte nuclear factor-1 beta gene (TCF2) associated with MODY. *Nat Genet*. 1997;17(4):384-385.
doi: 10.1038/ng1297-384
21. Coffinier C, Thepot D, Babinet C, et al. Essential role for the homeoprotein vHNF1/HNF1beta in visceral endoderm differentiation. *Development*. 1999;126(21):4785-4794.
22. Edghill EL, Bingham C, Ellard S, et al. Mutations in hepatocyte nuclear factor-1 and their related phenotypes. *J Med Genet*. 2005;43(1):84-90.
doi: 10.1136/jmg.2005.032854
23. Bellanne-Chantelot C, Chauveau D, Gautier JF, et al. Clinical spectrum associated with hepatocyte nuclear factor-1beta mutations. *Ann Intern Med*. 2004;140(7):510-517.
24. Ellard S, Flanagan SE, Girard CA, et al. Permanent neonatal diabetes caused by dominant, recessive, or compound heterozygous SUR1 mutations with opposite functional effects. *Am J Hum Genet*. 2007;81(2):375-382.
doi: 10.1086/519174
25. Bowman P, Flanagan SE, Edghill EL, et al. Heterozygous ABCC8 mutations are a cause of MODY. *Diabetologia*. 2012;55(1):123-127.
doi: 10.1007/s00125-011-2319-x
26. Yamagata K, Furuta H, Oda N, et al. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature*. 1996;384(6608):458-460.
doi: 10.1038/384458a0
27. Colclough K, Bellanne-Chantelot C, Saint-Martin C, et al. Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha and 4 alpha in maturity-onset diabetes of the young and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat*. 2013;34(5):669-685.
doi: 10.1002/humu.22279
28. Pearson ER, Boj SF, Steele AM, et al. Macrosomia and hyperinsulinaemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. *PLoS Med*. 2007;4(4):e118.
doi: 10.1371/journal.pmed.0040118
29. Lehto M, Bitzen PO, Isomaa B, et al. Mutation in the HNF-4alpha gene affects insulin secretion and triglyceride metabolism. *Diabetes*. 1999;48(2):423-425.