

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА
САХАРНОГО ДИАБЕТА ТИПА MODY У ДЕТЕЙ И ВЗРОСЛЫХ
МОЛОДОГО ВОЗРАСТА В РЕСПУБЛИКЕ БЕЛАРУСЬ**

**MOLECULAR GENETIC DIAGNOSIS OF MODY TYPE DIABETES MELLITUS
IN CHILDREN AND YOUNG ADULTS IN THE REPUBLIC OF BELARUS**

Д. Н. Велеменчук^{1,2}, Т. В. Савицкая^{1,2}
D. N. Velemenchuk^{1,2}, T. V. Savitskaya^{1,2}

¹Учреждение образования «Международный государственный экологический институт имени А. Д. Сахарова» Белорусского государственного университета, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ, г. Минск, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии, г. Минск, Республика Беларусь
Velemenchuk_DN@rambler.ru

¹International Sakharov Environmental Institute of Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

²Republican Scientific and Practical Center of Children's Oncology, Hematology and Immunology Minsk, Republic of Belarus

В данной работе представлены результаты молекулярно-генетического исследования пациентов с фенотипом сахарного диабета типа MODY в Республике Беларусь. У 9 (37,5%) пробандов выявлены патогенные и вероятно патогенные мутации, ассоциированных с развитием GCK MODY. У 3 (12,5%) пациентов выявлены гетерозиготные однонуклеотидные замены с неопределенным клиническим значением. В исследованной выборке в 5 случаях (20,8%) выявлены новые, неописанные ранее варианты с неясным влиянием на структуру и функцию изучаемого белка.

This article presents the results of a molecular genetic study of patients with the MODY type diabetes mellitus phenotype in Belarus. In 9 (37.5%) probands, pathogenic and probably pathogenic mutations associated with the development of GCK MODY were identified. In 3 (12.5%) patients, heterozygous single-nucleotide substitutions of uncertain clinical significance were identified. In the studied sample, in 5 cases (20.8%), new, previously undescribed variants with an unclear effect on the structure and function of the protein under study were identified.

Ключевые слова: сахарный диабет, MODY, мутация, молекулярно-генетические исследования, секвенирование по Сэнгеру, дети

Keywords: diabetes mellitus, MODY, mutation, molecular genetic research, Sanger sequencing, children

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2024-1-280-282>

Сахарный диабет (СД) – группа заболеваний, характеризующаяся хронической гипергликемией, возникающей в результате нарушения секреции или действия инсулина либо обоих факторов [1].

СД является одним из самых распространенных заболеваний человека. Во всём мире наблюдается тенденция к увеличению количества молодых пациентов с сахарным диабетом. У большинства пациентов заболевание представлено СД 1 типа и СД 2 типа, которые являются мультифакторными формами [4].

Верификация типа сахарного диабета остается крайне важным вопросом в эндокринологии, так как наряду с 1-м и 2-м типами СД существуют более редкие наследственные формы СД, в том числе MODY [2]. MODY (maturity onset diabetes of the young) является моногенным заболеванием, которое обычно проявляется в возрасте <25 лет и имеет аутосомно-доминантный тип наследования [1]. При данном заболевании отсутствуют аутоантитела, специфичные для сахарного диабета 1 типа, отсутствует метаболический синдром, а также остается сохранной секреция эндогенного инсулина [2].

MODY является наиболее распространенной формой моногенного диабета в Европе и составляет 2 % от всех случаев СД. В настоящее время описано 16 подтипов MODY. Каждый тип связан с мутацией в определенном гене. Список генов ассоциированных с развитием данного заболевания постоянно увеличивается за счет вновь выявленных мутаций. Наиболее распространенными подтипами являются GCK-MODY2, HNF1A-MODY3, HNF4A-MODY1, HNF1β-MODY5. Недавние исследования в Великобритании показали, что на долю данных вариантов MODY приходится 32%, 52%, 10% и 6%, соответственно. Однако, во Франции, Испании и Италии наиболее частой причиной развития моногенного диабета являются мутации в гене GCK. В норвежской когорте GCK-MODY был верифицирован лишь у 12% пациентов. По данным большинства авторов, в детском возрасте наиболее часто встречается GCK-MODY (MODY2), обусловленный инактивирующими гетерозиготными мутациями в гене GCK [1].

Фенотипические проявления при разных формах моногенного диабета различны. Например, при GCK-MODY сохраняется пожизненная легкая гипергликемия натощак, с незначительным повышением уровня гликированного гемоглобина HbA1c с редким развитием осложнений. В свою очередь, самая распространенная форма HNF1A-MODY, наоборот, приводит к выраженной глюкозурии и прогрессирующей гипергликемии с высоким риском микрососудистых и макрососудистых осложнений. Для HNF1β-MODY характерно развитие прогрессирующей недиабетической нефропатии, атрофии поджелудочной железы, аномалии развития половых органов. HNF4A-MODY характеризуется макросомией плода за счет увеличения секреции инсулина, гипогликемией в неонатальном периоде, отсутствием глюкозурии, низкими аполипотеинами, склонностью к микроваскулярным осложнениям [3].

Из-за различий в патогенезе и клинических проявлениях данных форм моногенного диабета назначение сахароснижающей терапии имеет ряд особенностей. При GCK-MODY в большинстве случаев не требуется фармакотерапия, достаточно соблюдения рекомендаций по режиму питания. Для HNF1A-MODY и HNF4A-MODY характерно сохранение высокой чувствительности к пероральным сахароснижающим препаратам, среди которых эффективны производные сульфонилмочевины и ингибиторы дипептилпептидазы-4. Однако, при HNF1β-MODY вследствие резистентности к инсулину в сочетании с дефектом его секреции, как правило, необходима инсулинотерапия [4].

Определение таких вариантов диабета, как MODY, возможно лишь при проведении молекулярно-генетического исследования.

Актуальность данного исследования обусловлена тем, что молекулярно-генетическое исследование при подозрении на MODY проводится не только с целью верификации диагноза и определения подтипа MODY, но и для определения врачебной тактики ведения пациента, прогнозирования исхода заболевания и его осложнений в зависимости от выявленного подтипа MODY, а также для ранней диагностики MODY у ближайших родственников пробанда и проведения соответствующей терапии.

Научная значимость проекта определяется тем, что впервые в Республике Беларусь разработана молекулярно-генетическая методика лабораторной диагностики сахарного диабета типа MODY у детей и молодых взрослых, а также оценены спектр и частота встречаемости мутаций в генах ответственных за фенотип MODY.

В ходе исследования пациентам с фенотипом MODY был проведен молекулярно-генетический анализ (МГА) с определением мутаций в наиболее часто встречаемых генах ответственных за развитие данного заболевания, а именно *GCK*, *HNF-1A*, *HNF-4A*, *HNF-1β*. МГА проведен 24 пробандам в клинко-диагностической лаборатории РНПЦ Детской онкологии, гематологии и иммунологии. Из них мужского пола 16 (66,7%) человек, женского 8 (33,3%) (рисунок 1). Возраст пациентов на момент исследования составил от 1 до 18 лет (Медиана - 12).

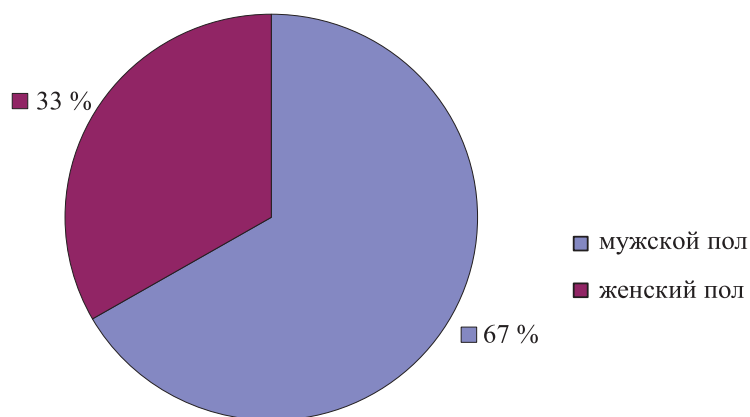


Рисунок 1 – Процентное соотношение пациентов по половому признаку

Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом секвенирования по Сэнгеру. Геномная ДНК выделялась из периферической крови с помощью фенольно-хлороформной экстракции. С ПЦР амплифицированными последовательностями экзонов после очистки проводилась реакция терминирования элонгации (Big Dye Terminator Cycle Sequencing kits V3.1 Applied Biosystems, USA), продукт реакции очищался и анализировался при помощи капиллярного электрофореза (ABI 3500 Applied Biosystems, USA). Биоинформационный анализ результатов электрофореза проводился с помощью программного обеспечения Sequencing Analysis 7.0 (Applied Biosystems, США), BioEdit, баз данных NCBI и Ensembl. Кроме того, каждая электрофореграмма визуально просматривалась с целью выявления любых гетерозиготных вариантов ДНК не обнаруженных с помощью программного обеспечения.

В ходе исследования было выявлено у 9 (37,5%) пробандов наличие мутаций в гетерозиготном состоянии верифицированных как патогенные и вероятно патогенные, ассоциированные с развитием GCK-MODY (таблица 1).

У 3 (12,5%) пациентов выявлены гетерозиготные одонуклеотидные замены с неопределенным клиническим значением (таблица 2).

Таблица 1

Спектр патогенных и вероятно патогенных мутаций в гене GCK

Пробанд, №	Экзон	Мутация	Тип мутации	Статус мутации
1	7	CM1412352 G>A	миссенс	патогенная
2	5	rs587780345 C>T	миссенс	патогенная
3	6	rs1441649062 G>A	миссенс	патогенная
4	6	rs1441649062 G>A	миссенс	патогенная
5	7	rs1583596378 G>T	миссенс	патогенная
6	7	rs769268803 C>T	миссенс	патогенная
7	8	rs193922336 C>A	миссенс	вероятно патогенная
8	2	rs193922261 G>C	миссенс	вероятно патогенная
9	5	rs587780345 C>T	миссенс	патогенная

Таблица 2

Характеристика гетерозиготных однонуклеотидных замен с неопределенным клиническим значением

Пробанд, №	Ген	Экзон	SNP
1	HNF-1A	4	rs539507291
2	HNF-1A	1	rs561269721
3	HNF-1A	8	rs55834942

В исследованной выборке в 5 случаях (20,8%) выявлены новые, неописанные ранее варианты с неясным влиянием на структуру и функцию изучаемого белка (таблица 3).

Таблица 3

Характеристика неописанных генетических вариантов

Пробанд, №	Ген	Экзон	Генетический вариант	Описание
1	GCK	5	c.521 C>A	Гетерозиготная замена в кодоне ТСА (кодирующая аминокислоту серин) на ТАА, ведущая к образованию стоп-кодона и прекращению (терминации) синтеза полипептидной цепи.
2	GCK	8	c.1499 T>A	Гетерозиготная замена
3	GCK	6	7:44149802 T>C	Гетерозиготная замена
4	GCK	5	c.554 T>C	Гетерозиготная замена аминокислоты лейцин на аминокислоту пролин
5	GCK	5	c.554 T>C	Гетерозиготная замена аминокислоты лейцин на аминокислоту пролин

Стоит отметить, что в таблице 3 под номером 4 и 5 описаны генетические варианты у двух братьев. В данном случае происходит замена аминокислоты лейцин на аминокислоту пролин, что приводит к изменению структуры белка. Данная замена обнаружена также у их матери, что может указывать на связь данного гетерозиготного варианта замены с развитием GCK-MODY. Для подтверждения статуса патогенности необходимо дальнейшее исследование с помощью биоинформационных ресурсов.

Таким образом, в результате проведенного исследования у 9 (37,5%) пациентов был подтвержден диагноз GCK-MODY с помощью молекулярно-генетической диагностики, в 5 (20,8%) случаях выявлены новые неописанные ранее гетерозиготные однонуклеотидные замены.

ЛИТЕРАТУРА

1. Shazhan Amed. Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY): Making the Right Diagnosis to Optimize Treatment// Canadian Journal of Diabetes. – 2016. – 40(5):449-454.
2. Молекулярная генетика MODY / М.И. Воевода, А.А. Иванова, Е.В. Шахтштейнер и др.; // Терапевтический архив. – 2016. – Т. 88, № 4. – С. 117–124.
3. Сахарный диабет: обновление классификации и особенности диагностики различных типов: учебно-методическое пособие / Т. В. Мохорт, А. П. Шепелькевич, Е. И. Шишко и др. – Минск: БГМУ, 2021. – с.31.
4. Сечко Е.А., Кураева Т.Л., Андрианова Е.А., Зильберман Л.И., Емельянов А.О., Лаптев Д.Н., Безлепкина О.Б. Сахарный диабет MODY, обусловленный мутацией в гене инсулина // Сахарный диабет. – 2022. – Т. 25. – № 1. – С. 89-94.