

На правах рукописи

Меликян Мария Арменаковна

**Генетические варианты и клинический полиморфизм
органического гиперинсулинизма у детей**

(14.01.02 - Эндокринология)

**Автореферат диссертации
на соискание степени кандидата медицинских наук**

Москва 2012

Работа выполнена в ФГБУ «Эндокринологический научный центр»
Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации
(Директор – академик РАН и РАМН, профессор, д.м.н. И.И. Дедов)

Научный руководитель:

Дедов Иван Иванович
Академик РАН и РАМН, профессор

Официальные оппоненты

Тюльпаков Анатолий Николаевич
профессор, д.м.н.,

Яцык Галина Викторовна
профессор, д.м.н.

Ведущая организация:

Российский Национальный
Исследовательский Медицинский Университет
им Н.И. Пирогова

Защита диссертации состоится 01 июня 2012 года в 14.00
на заседании диссертационного совета Д.208.126.01
в ФГБУ Эндокринологический Научный Центр
по адресу: 117036, Москва, ул Дмитрия Ульянова, 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ ЭНЦ

Автореферат разослан 7 апреля 2012 г

Ученый секретарь Диссертационного Совета,
профессор, доктор медицинских наук, Е.А. Трошина

Актуальность темы

Гиперинсулинемические гипогликемии (ГГ) являются следствием неадекватной гиперпродукции инсулина (органического гиперинсулинизма). ГГ могут быть как персистирующими (при врожденном гиперинсулизме, инсулиномах), так и транзиторными (при синдроме Бэквита–Видемана, диабетической фетопатии, затяжном неонатальном гиперинсулизме).

Наиболее частой причиной персистирующих гипогликемий у детей является врожденный гиперинсулинизм (ВГИ). ВГИ - это наследственное заболевание, гетерогенное в отношении, как клинических проявлений и гистологических форм, так и молекулярно-генетических дефектов, лежащих в основе данной патологии. Частота встречаемости ВГИ составляет 1:30000 - 1:50000 в общей популяции и 1:2500 в закрытых популяциях с высоким процентом близкородственных браков. В России частота встречаемости данного заболевания не определена.

За последние 15 лет был совершен прорыв в области изучения этиопатогенетических механизмов ВГИ. В настоящий момент в литературе описано 9 генов, участвующих в развитии ВГИ. Большинство случаев ВГИ (от 40 до 60%) связано с дефектами генов *KCNJ11* и *ABCC8*, кодирующих белки, участвующие в работе АТФ-зависимых K^+ каналов бета-клеток поджелудочной железы. Около 15-20% случаев связано с активирующими мутациями в генах *GCK* и *GLUD1*, участвующих в регуляции внутриклеточного метаболизма глюкозы. В литературе также имеются единичные описания случаев ВГИ, связанных с дефектами генов *HADH*, *HNF4 α* , *INSR*, *UCP2*, *SLC16A1*. В 30-40% всех случаев ВГИ не удастся выявить молекулярно-генетические дефекты в перечисленных выше генах. В России молекулярно-генетические исследования указанных генов проводились лишь у единичных пациентов с ВГИ.

По данным литературы, консервативная терапия эффективна у 50-60% пациентов с ВГИ. Среди препаратов на первое место выходит Диазоксид (селективный агонист АТФ-зависимых K^+ каналов бета-клеток). В случае резистентности к Диазоксиду, используются аналоги Соматостатина. Возможно также использование Глюкагона посредством непрерывной подкожной инфузии. В случае отсутствия эффекта от консервативной терапии, проводится оперативное лечение. Объем оперативного вмешательства зависит от формы заболевания.

Выделяют три основные морфологические формы заболевания:

- Диффузную, когда поражен весь островковый аппарат поджелудочной железы (встречается в ~ 50-60% всех случаев ВГИ).
- Фокальную, при которой поражен отдельный участок ткани размером ~ не более 15 мм в диаметре (встречается в ~ 40-50% случаев). Данная форма развивается при наследовании отцовской мутации в генах *KCNJ11* или *ABCC8* и потери материнской аллели на 11p15.
- Атипичную (< 5% случаев), когда отмечается сочетание гистологических признаков диффузной и фокальной форм.

При диффузных формах ВГИ проводится субтотальная панкреатэктомия, тогда как при фокальных формах достаточной оказывается частичная резекция. Субтотальная панкреатэктомия в большом проценте случаев приводит к развитию инсулинзависимого сахарного диабета, тогда как резекция фокуса заканчивается полным выздоровлением пациентов с сохранением нормальной активности инсулинового аппарата поджелудочной железы.

Такие методики, как УЗИ, КТ и МРТ не позволяют визуализировать фокус в поджелудочной железе. Выявить и локализовать фокальную форму возможно при помощи ПЭТ с ^{18}F -флюоро-ЛеводоПА. Это наиболее достоверный и безопасный метод дифференциальной диагностики форм ВГИ, существующий в настоящий момент в мире. Данное исследование не проводится на территории РФ в связи с отсутствием указанного изотопа. Помимо этого, существует методика селективной Са-стимулированной ангиографии с забором крови на инсулин. Данная процедура является инвазивной и опасной и редко используется у детей грудного возраста.

В настоящий момент в мире существуют стандартизированные протоколы диагностики и ведения пациентов с ВГИ. В России эти протоколы не утверждены и не применяются. В РФ отсутствует стандартизированный протокол гистологического исследования ткани у пациентов, прооперированных по поводу ВГИ.

Инсулинпродуцирующие опухоли поджелудочной железы (инсулиномы) являются крайне редкой патологией в детском возрасте и их точная частота в детской популяции не определена. Существуют единичные описания злокачественных инсулином у детей. Нередко эти опухоли являются составляющим синдрома множественной эндокринной неоплазии 1 типа (МЭН1), однако, как правило, не

первым его проявлением. По международным рекомендациям молекулярно-генетические исследования *MEN1* у пациентов с инсулиномами, рекомендованы только в случае наличия отягощенного семейного анамнеза, наличия множественных опухолей или сопутствующих иных проявлений синдрома МЭН1. Ранее молекулярно-генетические исследования *MEN1* у детей с изолированными инсулиномами в России не проводились.

Цель и задачи исследования

Цель: *изучение клинических и генетических вариантов гиперинсулинизма у детей.*

Задачи:

- Оценить клинические, биохимические и гормональные характеристики пациентов с ГГ
- Изучить гистологические, иммуногистохимические и морфологические особенностей ткани удаленной поджелудочной железы у пациентов с ГГ
- Исследовать молекулярно-генетические дефекты у пациентов данной группы в российской популяции
- Провести анализ корреляционных взаимосвязей генотип-фенотип
- Разработать алгоритмы диагностики и лечения пациентов с ГГ

Научная новизна.

В данной работе впервые в России изучались клинические, гормональные, молекулярно-генетические и морфологические особенности органического гиперинсулинизма в большой группе пациентов. Анализ репрезентативной выборки позволил установить корреляционные взаимосвязи генотип-фенотип у пациентов с ВГИ, а также разработать и внедрить в практику оптимизированные схемы диагностики и лечения данной группы больных. Был оценен процент развития синдрома МЭН1 в группе пациентов с изолированными инсулиномами в детском возрасте. Проанализированы результаты отдаленных наблюдений пациентов с ГГ.

Практическая значимость

На основании проведенных исследований были сформированы алгоритмы диагностики и лечения пациентов с ГГ. Выявлены клинические и биохимические характеристики ВГИ, являющиеся прогностическими факторами эффективности консервативной терапии. Доказана необходимость проведения молекулярно-

генетических и гистологических исследований, результаты которых определяют тактику лечения у пациентов с ГГ.

Изучение ВГИ и инсулинпродуцирующих опухолей на примере российской популяции представляется нам актуальным и практически значимым, т.к. увеличивает объем накопленных мировых знаний об этих редких и сложных заболеваниях и дает возможность оптимизировать схемы диагностики и лечения таких больных.

Материалы и методы

В исследование включались пациенты с персистирующими и/или рецидивирующими гипогликемиями. Набор пациентов проводился на базе Эндокринологического отделения Морозовской ДГКБ (г Москва), зав. отд. Петрайкина Е.Е; Эндокринологического отделения Тушинской ДГКБ (г Москва), зав. отд. Коломина И.Г.; отделения диабетологии РДКБ (г Москва), зав. отд. Волков И.Э.; отделения абдоминальной хирургии РДКБ (г Москва), зав. отд. Степанов А.Э.; отделения для недоношенных детей НЦЗД РАМН (г Москва), зав. отд. Беляева И.А.; НИИ ДЭ ФГБУ ЭНЦ (г Москва), директор Петеркова В.А.; эндокринологического отделения СПбГПМА (Санкт Петербург), зав. отд. Тыртова Л.В. Обследовались дети с впервые возникшими жалобами (в возрасте от 0 до 18 лет) и пациенты с ранее установленным диагнозом Гипогликемического синдрома.

Всего в исследование было включено 90 пациентов: 70 впервые обратившихся и 20 с ранее установленным диагнозом.

Впервые обратившимся пациентам проводился комплекс диагностических процедур, включавших в себя:

- ✓ Анализ анамнестических данных (возраст манифестации заболевания, спектр первых симптомов, антропометрия при рождении, наследственный анамнез)
- ✓ Клинический осмотр по стандартной методике
- ✓ Биохимический анализ крови (глюкоза, АЛТ, АСТ, триглицериды, ЛПВП, ЛПНП, общий белок, лактат)
- ✓ Анализ мочи на кетонурию
- ✓ УЗИ/МСКТ брюшной полости

- ✓ Мониторинг гликемии (системами суточного мониторирования и/или портативными глюкометрами)
- ✓ Проба с голоданием с оценкой уровня кетонов мочи и/или крови, инсулина, С-пептида и кортизола в плазме крови в момент гипогликемии
- ✓ Гормональный анализ крови: инсулин, С-пептид, кортизол, АКТГ, ИФР1

По результатам первичного обследования было сформировано три группы (таб 1):

Таблица 1. Количество пациентов в обследованных группах

	ВГИ, n	Инсулиномы, n	Иные формы гипогликемии, n
Впервые обратившиеся	36	4	35
С ранее установленным диагнозом	10	5	5

Пациенты с иными формами гипогликемий были исключены из исследования.

Впервые обратившимся пациентам с ВГИ проводился поэтапный подбор консервативной терапии с оценкой ее эффективности:

- ✓ Диазоксид в стартовой дозе 5 мг/кг/сут с постепенным повышением до максимально разрешенной дозы 20 мг/кг/сут
- ✓ Аналоги Соматостатина в стартовой дозе 3 мкг/кг/сут с повышением до 15 мкг/кг/сут

Основным критерием эффективности являлось достижение стойкой эугликемии на фоне нормального режима питания. Фармакорезистентное течение ВГИ констатировалась в случае сохраняющейся потребности во в/в инфузии раствора глюкозы после 3-х дней применения максимально разрешенных доз Диазоксид/Соматостатина.

Пациентам, резистентным к терапии, выполнялось хирургическое лечение (субтотальная панкреатэктомия/ частичная резекция поджелудочной железы) с последующим гистологическим и иммуногистохимическим исследованием удаленной ткани.

Оценка отдаленных наблюдений включала в себя анализ эффективности терапии, наличие неврологических осложнений, наличие послеоперационных осложнений и тяжесть течения заболевания. Контрольные обследования проводились каждые 6 месяцев от момента постановки диагноза.

Обследование пациентов из ретроспективной группы включало в себя:

- ✓ анализ анамнестических данных отдаленные наблюдения: эффективность терапии (препарат, доза), наличие неврологических осложнений, наличие ИЗСД (в случае проведения оперативного лечения), степень тяжести гипогликемии на момент обследования

Всем пациентам с ВГИ проводилось последовательное молекулярно-генетическое исследование генов *KCNJ11*, *ABCC8*, *GCK*, *GLUD1*

Пациентам с инсулиномами проводилось следующее обследование:

- ✓ Гормональный анализ крови на предмет скрининга составляющих синдрома МЭН1: инсулин, С-пептид, кортизол, АКТГ, ПРЛ, ИФР1, ПТГ,
- ✓ инструментальные исследования: УЗИ/МСКТ/Эндо-УЗИ брюшной полости, МРТ головного мозга
- ✓ гистологическое и иммуно-гистохимическое исследование удаленной ткани
- ✓ молекулярно-генетическое исследование гена *MEN1*

Общеклиническое обследование по стандартной методике проводилось по месту госпитализации ребенка

Гормональные исследования выполнены в лаборатории ФГБУ ЭНЦ (зав. отд., д.б.н. Гончаров Н.П.)

Молекулярно-генетические исследования проводились в генетической лаборатории Университетского Госпиталя в г Оденс (Дания) (зав. отд., KlausBrusgaard, MD, PhD). Методом ПЦР и прямого секвенирования исследовались все экзоны и прилегающие участки интронов генов *KCNJ11*, *ABCC8*, *GCK*, *GLUD1* (у пациентов с ВГИ) и гена *MEN1* (у пациентов с инсулиномами) с использованием набора BigDyeTerminatorv3.1 CycleSequencingKit (AppliedBiosystems, Carlsbad, Calif) на анализаторе ABIPRISM 3100 (AppliedBiosystems). Анализ полученных результатов секвенирования выполнен с помощью SeqManv. 7.2 из программного пакета DNASTAR (DNASTAR, Inc., WI, USA). Анализ на крупные делеции и инсерции генов *ABCC8* и *MEN1* проводился методом мультиплексной амплификации (SALSAMLPA, MRCHolland).

Морфологические и иммуно-гистохимические исследования проводились на базе патоморфологической лаборатории МОНИКИ (зав. отд., проф., д.м.н. Казанцева ИА)

Статистическая обработка данных проводилась с использованием прикладных программ Statistica (StatSoftInc., USA, version 8.0). Для показателей с нормальным распределением указывалось среднее значение $\pm SD$. При отсутствии нормального распределения данные представлены в виде $Me [X1/4; X3/4]$. Статистическая обработка полученных результатов проводилась с помощью t -теста для данных с приближенно-нормальным распределением и непараметрическими критериями при ненормальном распределении признака. Для сравнения двух независимых выборок по количественным признакам использовался критерий Манна-Уитни, по качественным признакам – критерий χ^2 (хи-квадрат). Для сравнения более двух независимых выборок – ранговый анализ вариаций по методу Краскела-Уоллеса с последующим сравнением групп. Критический уровень значимости различий принимался равным 0,05.

Научное исследование финансировано Европейской Ассоциацией Педиатров Эндокринологов (ESPE ResearchUnitGrant 2009-2011). Руководитель проекта Dr Henrik Thybo Christesen, MD, PhD, associate professor.

Апробация работы и публикации

Основные результаты исследования по материалам диссертации были доложены на межотделенческой научной конференции ФГБУ ЭНЦ (14.11.2011).

Публикации

По результатам диссертации опубликовано 11 работ, 3 статьи в журналах, рецензируемых ВАК РФ.

Объем и структура работы

Диссертация изложена на 135 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания собственных результатов исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя списка литературы, который содержит 8 отечественных и 125 иностранных источников. Диссертация иллюстрирована 27 таблицами и 22 рисунками.

Результаты

В ходе данной работы было обследовано 90 пациентов в возрасте от 11 дней до 21 г. По результатам диагностического обследования было сформировано три группы (таб 2):

Таблица 2. Группы обследованных пациентов

		ВГИ	Инсулиномы	Иные формы гипогликемии
Перспективная группа	Количество пациентов	36	4	35
	Возраст на момент обследования (г) Me [25%-75%]	0,3 [0,16-0,6]	11,5 [11-14]	1 [0,7-1,5]
Ретроспективная группа	Количество пациентов	10	5	5
	Возраст на момент обследования (г) Me [25%-75%]	2 [0,7-4]	19 [18-21]	4,5 [2,8-5]

Результаты обследования пациентов с ВГИ

Клинические и анамнестические данные

Анализ анамнестических данных показал, что медиана **возраста манифестации** гипогликемического синдрома составила 0,5 мес [0,03-4], тогда как медиана **возраста постановки диагноза** 3,0 мес [0,5-7]. При сравнении этих показателей была выявлена статистически достоверная разница.

При анализе **клинических особенностей** течения ВГИ, было отмечено, что наиболее распространенными симптомами манифестации заболевания были слабость, вялость (78,6%), набор избыточной массы тела (78,2%) и судорожный синдром (61,9%). Реже ВГИ дебютировало угнетением сознания (14,3%), нарушениями сна (9,5%) и эпизодами остановки дыхания (7,14%). В единичных случаях развивалась гипогликемическая кома (4,76%)

Распространенность судорожного синдрома при ВГИ часто приводит к ложной диагностике эпилепсии и тормозит выявление гипогликемии. В нашей группе пациентов 30% детей исходно наблюдались именно с этим диагнозом и длительно получали противосудорожную терапию. Подобные наблюдения в очередной раз свидетельствуют о необходимости исследования гликемии у всех детей с судорожным синдромом.

Анализ наследственности

В подавляющем большинстве случаев (72%) наследственный анамнез был не отягощен.

В отдельных семьях были выявлены следующие особенности:

- Близкородственный брак – в 2-х семьях
- Наличие клинических/лабораторных гипогликемий у родственников – в 4-х семьях
- Ранняя младенческая смертность в роду - в 2-х семьях
- Гестационный диабет у матери – в 3-х случаях
- Неясный тип Сахарного Диабета у родственников в 2-х семьях

Отсутствие отягощенного наследственного анамнеза может свидетельствовать о высоком проценте спорадических случаев ВГИ.

Несмотря на то, что внутриутробное влияние инсулина часто приводит к развитию макросомии при рождении, в нашей группе пациентов лишь в 31% случаев вес при рождении составил $\geq +2$ SD (таб 3)

Таб 3. Данные антропометрии при рождении (своевременные роды с 38 по 40 нед)

	Мальчики (n=29)	SDS	Девочки (n=15)	SDS
Вес (г)	3726 \pm 620,8	0,426	3449 \pm 480	-0,03
Рост (см)	53 \pm 2,63	1,27	51,8 \pm 1,84	1,06

Известно, что тяжесть течения гипогликемии при ВГИ может сильно варьировать от практически бессимптомных форм до тяжелых, не поддающихся терапевтическому лечению случаев. **Степень тяжести гипогликемического синдрома** оценивалась по уровню потребности во внутривенной инфузии глюкозы. Легкая степень выставлялась при отсутствии потребности во внутривенном вливании глюкозы, средняя при потребности в пределах 8 мг/кг/мин, тяжелая при потребности более 8 мг/кг/мин. На основании такой градации было сформировано 3 группы пациентов (таб 4).

Таб 4. Степень тяжести гипогликемического синдрома при ВГИ

Группа	Степень потребности во внутривенной инфузии раствора глюкозы до начала терапии (мг/кг/мин)	Количество пациентов	Процент
1. Легкая степень	0	18	39%
2. Средняя	4,24 ±0,8	10	22%
3. Тяжелая	12,1±3,7	18	39%

Из представленных данных видно, что 39% пациентов имели мягкое течение. Несмотря на это, у трети из них отмечалось развитие генерализованных судорог и потеря сознания.

Анализ гормональных показателей

Оценивались показатели уровня **инсулина**, **С-пептида** и **кортизола** плазмы в момент гипогликемии (глюкоза крови < 2,0 ммоль/л), а также базальный уровень инсулина крови натощак (Таб 5). Все исследования проводились на фоне полной отмены терапии (Соматостатином/Диазоксидом) в течение не менее 3-х дней. Пациентам, получавшим лечение глюкокортикоидами исследование кортизола не проводилось (таб 5).

Таб 5. Гормональные исследования у пациентов с ВГИ

	Инсулин (мкЕд/мл) в момент гипогликемии (n=46)	Кортизол (нмоль/л) крови в момент гипогликемии (n=30)	С-пептид в момент гипогликемии (нг/мл) (n=35)	Базальный инсулин (мкЕд/мл) (n=30)
Me [25%-75%] (мин-макс)	20,5 [7,7-37,2] (2,7-194)	253 [102-414] (24,6-678,3)	3,27 [1,3-4,5] (0,33-7,93)	9,06 [6,25-18,5] (3,7-83,7)

В нашем исследовании разброс показателей инсулина на пробе с голоданием был крайне высок: от 2,7 до 194 мкЕд/мл, медиана составила 20,5 мкЕд/мл. Стоит отметить, что базальный (случайно взятый) уровень инсулина в среднем составил 9,06 мкЕд/мл, что формально не выходит за рамки лабораторных референсных значений. Данные наблюдения демонстрирует информативность гормонального обследования (инсулин, С-пептид) только на фоне индуцированной (проба с голоданием) или спонтанной гипогликемии.

Также обращает на себя внимание «низкий» уровень кортизола крови в момент гипогликемии. По стандартам диагностики надпочечниковой недостаточности, на

фоне индуцированной инсулином гипогликемии, уровень кортизола менее 500 нмоль/л, рассматривается как недостаточный глюкокортикоидный ответ. Подобный результат часто ложно рассматривается как признак гипокортицизма. Так, среди группы обследованных нами пациентов с ВГИ, вторичная НН исходно ошибочно была заподозрена у 5 детей (12% случаев). Однако, для детей с персистирующими гиперинсулинемическими гипогликемиями характерно отсутствие гиперергического выброса кортизола и АКТГ на фоне гипогликемии. Подобное наблюдение наглядно продемонстрировано в нашем исследовании и соотносится с данными литературы.

Лечение пациентов с ВГИ

Подбор терапии при ВГИ носит поэтапный характер. Препаратом выбора во всем мире считается Диазоксид (Прогликем). В связи с отсутствием данного препарата в аптечной сети на территории РФ, в нашем исследовании чаще исходно пациентам назначалась терапия аналогами Соматостатина. Было выявлено, что эффективность Соматостатина была значительно ниже, чем Диазоксид: среди обследованных нами больных проспективной группы, Соматостатин оказался эффективным только в 26,9% случаев, тогда как компенсация на фоне Диазоксид была возможна в 55% случаев ($p=0,03$) (таб 6).

Таблица 6. Подбор консервативной терапии.

	Пациенты с ВГИ (n=36)					
Первая линия терапии	Аналоги Соматостатина n=21			Диазоксид n=15		
Эффект	+		-	+		-
n (%)	7 (33,3%)		14 (66,7%)	10 (66,7%)		5 (33,3%)
Вторая линия терапии	Диазоксид			Соматостатин		
Эффект			+	-		
n (%)			8 (57%)	6 (43%)	0	5 (100%)

В дальнейшем, в ходе наблюдения, 2 ребенка, исходно ответивших на терапию Соматостатином, учитывая высокий риск развития побочных эффектов, были переведены на лечение Диазоксидом.

Таким образом, в результате обследования и подбора лечения, нами было выявлено, что: 28 пациентов (61%) ответили на **консервативную терапию**, из них 5 пациентов (17,9%) получают Соматостатин, 20 детей (71,4%) - Диазоксид, трем пациентам (10,7%) удалось поддерживать стабильную нормогликемию на фоне

диеты, обогащенной углеводами. 18 пациентов (39%) оказались резистентны к консервативной терапии и им потребовалось **оперативное лечение**: в 16 случаях (89%) была выполнена субтотальная панкреатэктомия, в 2-х случаях (11%) - частичная резекция поджелудочной железы (рис 1).

Средние дозы препаратов составили:

- Для Диазоксид (pergos, n=20) $12,7 \pm 4,2$ мг/кг/сут
- Для аналогов Соматостатина (в п/к инъекциях, n=2) $14,45 \pm 5,34$ мкг/кг/сут
- Для аналогов Соматостатина (в постоянной п/к инфузии, n=3) $6,5 \pm 1,85$ мкг/кг/сут

Обращает на себя внимание выраженное снижение дозы аналогов соматостатина при использовании помп. Длительный прием высоких доз аналогов соматостатина имеет большой спектр побочных эффектов, в том числе таких как развитие ЖКБ и задержка роста. При отсутствии возможности или неэффективности использования Диазоксид, мы рекомендуем пациентам с ВГИ терапию аналогами Соматостатина посредством систем непрерывной подкожной инфузии.

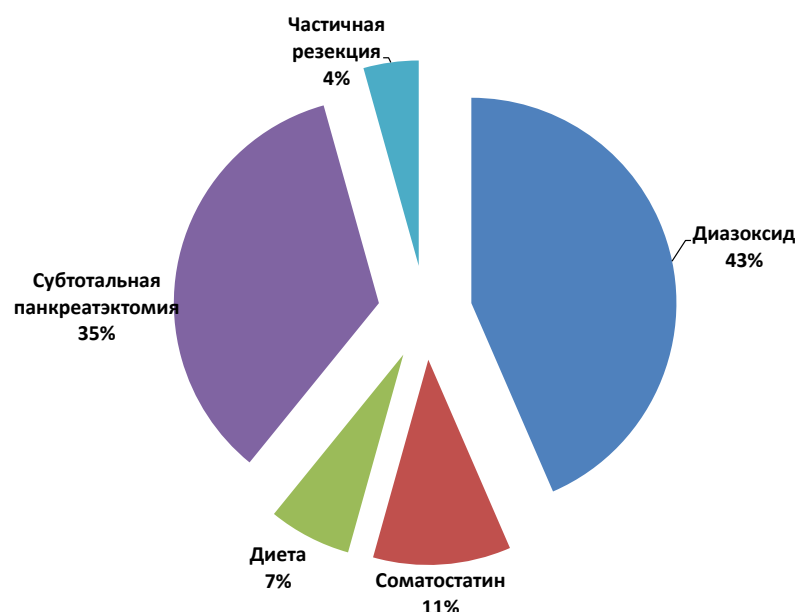


Рис 1. Лечение пациентов с ВГИ

С целью выявить характерные отличительные особенности тяжелых, фармакорезистентных форм ВГИ, проведено сравнение двух групп пациентов: ответивших на консервативную терапию (группа 1, n= 28) и резистентных к терапевтическому лечению (группа 2, n=18) (таб 7).

Таб 7. Клинические и гормональные характеристики пациентов, чувствительных (группа 1) и резистентных (группа 2) к консервативному лечению

	Группа 1	Группа 2	p
Возраст манифестации первых симптомов (мес) Me [25%-75%]	2 [0,03-5,5] n=28	0,06 [0,03-1,0] n=18	0,03
Инсулин плазмы (МкЕд/мл) в момент гипогликемии Me[25%-75%]	12,05 [6,17-28,1] n=28	58,06 [12,6-90] n=18	0,007
С-пептид плазмы (нг/мл) в момент гипогликемии Me [25%-75%]	2,29 [1,3-3,97] n=23	4,39 [2,97-6,29] n=12	0,01
Потребность во внутривенном введении глюкозы (мг/кг/мин) Me [25%-75%]	0 [0-4] n=28	10,0 [8-14,1] n=18	0,000038

Было выявлено, что такие показатели как уровень инсулина и С-пептида крови в момент гипогликемии, степень тяжести гипогликемического синдрома, а также возраст манифестации заболевания могут служить прогностическими факторами эффективности консервативного лечения.

Всем пациентам, подвергшимся оперативному лечению было выполнено *гистологическое исследование ткани удаленной поджелудочной железы*. В результате было выявлено 9 диффузных (50%), 8 фокальных (44,4%) и 1 атипичная (5,6%) форма ВГИ. Ввиду отсутствия возможности инструментальной визуализации фокуса, лишь двум пациентам с фокальными формами была проведена органосохраняющая операция. В одном случае пациентка оперирована в клинике в Дании, где предварительно была проведена ПЭТ с ¹⁸Ф-Л-ДОПА. Во втором случае, фокус был визуализирован интраоперационно.

При сравнении гормональных показателей у пациентов с диффузной формой (группа 1, n=9) и пациентов с фокальной формой ВГИ (группа 2, n=8) различий в уровне инсулина и С-пептида не выявлено, что подтверждает невозможность дифференцировать эти формы на основании гормональных исследований (таб 8).

Таб 8. Гормональные характеристики пациентов с диффузной и фокальной формами ВГИ

	Группа 1 (дифф)	Группа 2 (фок)	p
Инсулин на фоне гипо (МкЕд/мл)	24,2 [10,3-76,3] n=9	27,1 [9,7-90,3] n=8	0,9
С-пептид на фоне гипо (нг/мл)	4,7 [3,8-6,6] n=7	2,92 [1,24-5,85] n=4	0,3

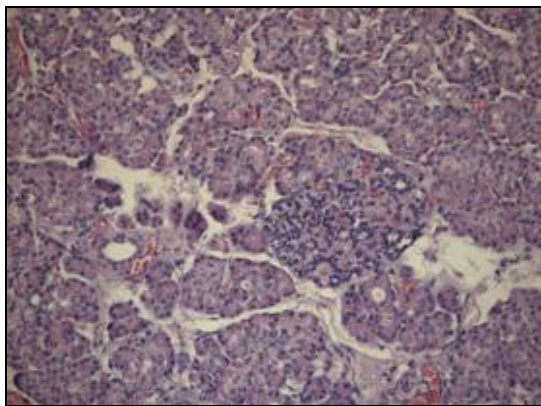
Ни в одном случае фокальной формы, УЗ-признаков очаговых изменений выявлено не было.

Иммунно-гистохимические исследования включали в себя исследование экспрессии в удаленной ткани АТ к инсулину, глюкагону, соматостатину и хромогранину А. В результате была выявлена разница в распределении и степени экспрессии АТ к глюкагону и соматостатину при диффузных и фокальных формах (таб 9). Это свидетельствует в пользу различий клеточного состава островкового аппарата поджелудочной железы при диффузных и фокальных формах (рис 2,3).

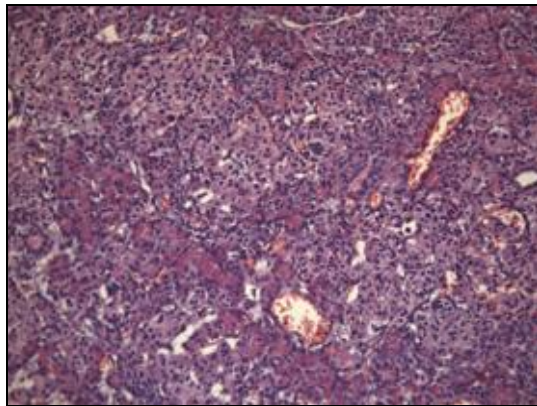
Таб 9. Иммунно-гистохимические характеристики диффузных и фокальных форм ВГИ

	Диффузные формы (n = 7)	Фокальные формы (n=6)
Экспрессия АТ к глюкагону	Высокая Диффузная Много А-клеток	Низкая Преимущественно по периферии островка Мало А-клеток
Экспрессия АТ к соматостатину	Средняя Диффузная Много Д-клеток	Низкая Преимущественно по периферии островка. Мало Д-клеток

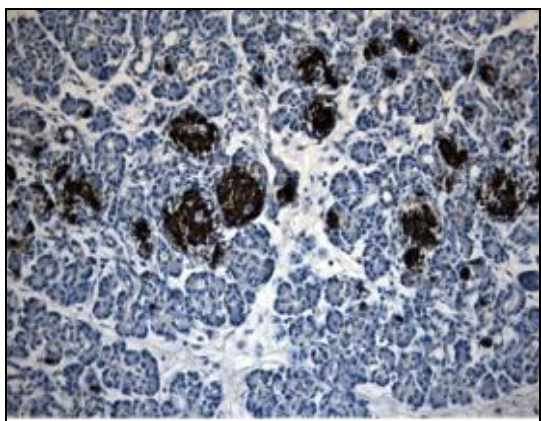
I A



I B



II A



II B

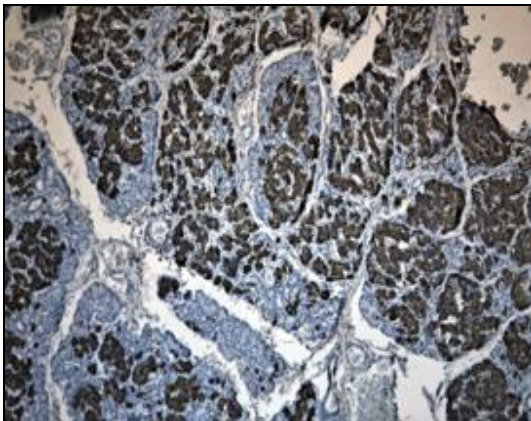


Рис 2. Микроскопическая картина диффузной и фокальной формы ВГИ

I окраска гематоксилином; II экспрессия инсулина; А – диффузная форма, В – фокальная форма.

Таб 12. Характеристики пациентов с ВГИ с установленным молекулярно-

Пациент	Ген	Мутация	Родители		Наследственность	Лечение	Гистологическая форма	
			мать	отец			Д	Ф
1	<i>KCNJ11</i>	A96T/A96T	A96T	A96T	Близкор брак	К		
2	<i>KCNJ11</i>	R136AFsX5/-	w/t	ND	Не отяг	О		Ф
3	<i>KCNJ11</i> <i>ABCC8</i>	G366R/ Y344X	w/t w/t	ND	Не отяг	О	Д	
4	<i>ABCC8</i>	R74L/-	w/t	R74L	Не отяг	К		
5	<i>ABCC8</i>	Q444H/-	w/t	ND	Не отяг	О		Ф
6	<i>ABCC8</i>	R998X/-	w/t	ND	Не отяг	О	Д	
7	<i>ABCC8</i>	delF1387/-	w/t	ND	Не отяг	О	Д	
8	<i>ABCC8</i>	R841P/-	w/t	R841P	Не отяг	О		Ф
9	<i>ABCC8</i>	I1511T/-	w/t	ND	Не отяг	К		
10	<i>ABCC8</i>	Q444H/-	w/t	Q444H	Не отяг	О		Ф
11	<i>ABCC8</i>	V357I/ R1352H	V357I w/t	w/t w/t	Гестац СД	К		
12	<i>GCK</i>	Y214C/-	w/t	w/t	Не отяг	О	Д	
13	<i>GCK</i>	V91L/-	w/t	w/t	Гестац СД	К		
14	<i>GLUD1</i>	S498L/-	ND	ND	Не отяг	О	Д	

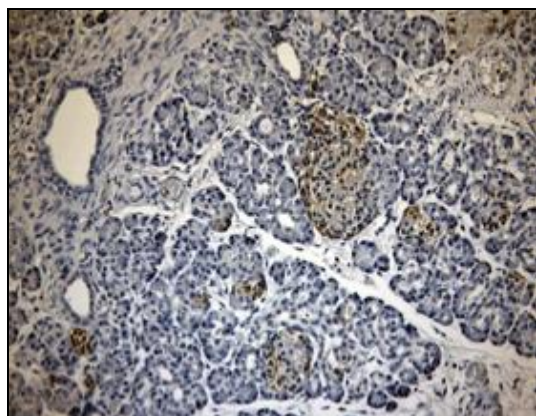
w/t - дикий тип, ND-не проводилось, не отяг- не отягощен, близкор – близкородственный, гестац СД – гестационный сахарный диабет, О-оперативное, К – консервативное, Д- диффузная, Ф-фокальная

генетическим дефектом

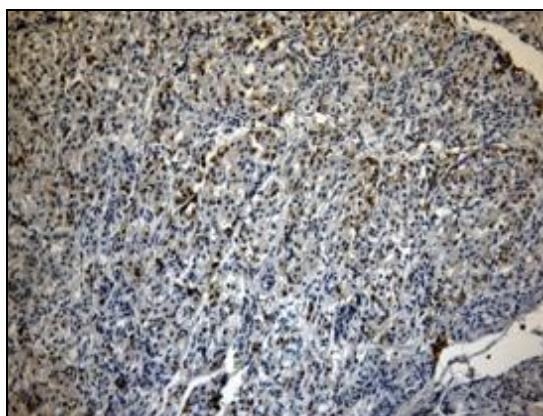
Возраст манифестации (дни)	пол	Вес при рожд.	Степень тяжести гипогл.	Инс. на фоне гипогл. (мкЕд/мл)	Сопутствующая патология	Задержка ПМР
1	М	4490	ср	28,63	нет	тяж
2	М	3770	Тяж	37,2	Атрофия зрит нервов	тяж
1	Ж	3200	Тяж	7,7	нет	тяж
1	М	3900	Лег	34,8	нет	тяж
1	М	3340	Тяж	93,6	Инсульт, аномалия развития ГМ	тяж
1	Ж	2348	Тяж	9	гипотрофия	тяж
2	М	4730	Ср	38,8	нет	тяж
2	М	5300	Тяж	17	Нейросенсорная тугоухость, микроцефалия	тяж
1	М	4180	Тяж	14	нет	-
3	Ж	3430	Тяж	12,6	нет	норма
1	М	3580	Тяж	76	нет	тяж
2	М	3300	Тяж	76,3	нет	лег
1	Ж	4290	Лег	28,8	нет	лег
60	Ж	3680	Ср	23	нет	тяж

М-мужской, Ж-женский, ср – средняя, лег – легкая, тяж – тяжелая, гипогл – гипогликемия, зрит – зрительные, ГМ – головной мозг, ПМР – психо-моторное развитие

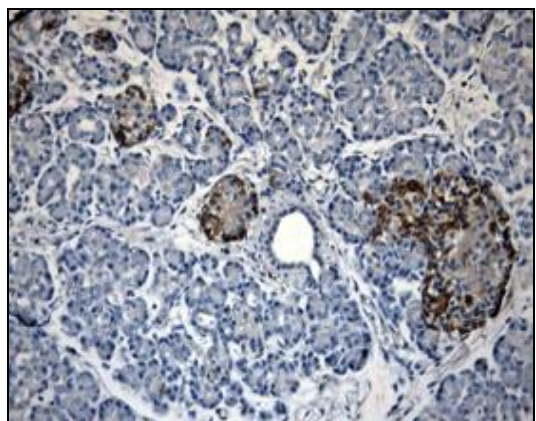
I A



I B



II A



II B

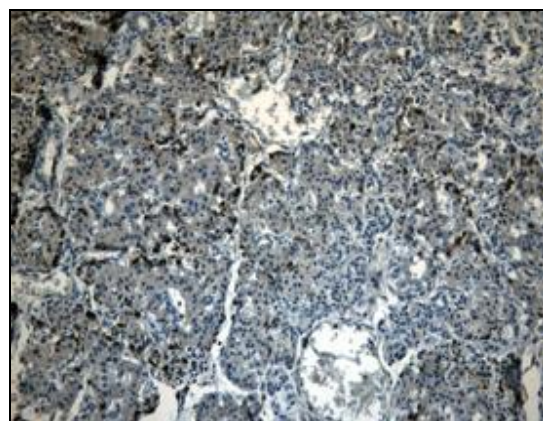


Рис 3. Микроскопическая картина диффузной и фокальной формы ВГИ

I экспрессия соматостатина; II экспрессия глюкагона: А-диффузная форма, В – фокальная форма.

Молекулярно-генетические исследования

Молекулярно-генетические исследования были проведены у 42 детей с ВГИ. В первую очередь исследовались гены, кодирующие АТФ-зависимые К⁺каналы бета-клеток (*KCNJ11*, *ABCC8*). Мутации в этих генах были выявлены у 11 человек (26%): 4 пациента из группы, ответившей на консервативное лечение и 7 пациентов, резистентных к терапии. Таким образом, среди пациентов с фармакорезистентными формами ВГИ мутации *KCNJ11* и *ABCC8* были выявлены в 44% случаев, тогда как у детей с фармакочувствительными формами они отмечены лишь у 15%. Мутации в гене *GCK* обнаружены у 2-х детей (5,1%), один из которых ответил на терапию Диазоксидом, а второму потребовалось оперативное лечение. Только у одного ребенка обнаружена мутация в *GLUD1* (рис 4). Таким образом, генетический дефект установлен в 33,3% случаев.

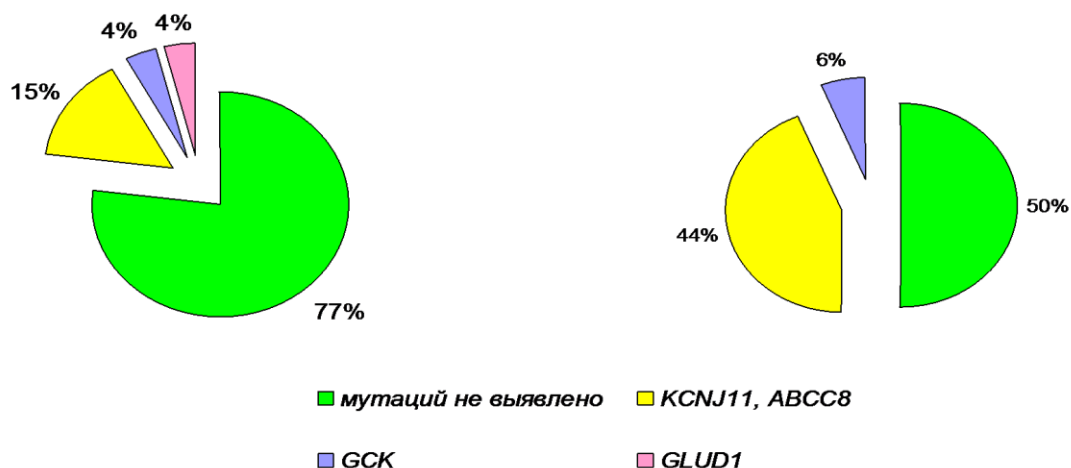


Рис 4. Распространенность выявленных мутаций у пациентов с фармакочувствительными и фармакорезистентными формами ВГИ.

Всего в генах *KCNJ11* и *ABCC8* было выявлено 12 различных мутаций у 11 человек. Большинство дефектов в этих генах (66,6%) представлены миссенс мутациями, в 3-х случаях (25%) обнаружены нонсенс мутации, в 1 случае делеция. Обе выявленные мутации в гене *GCK* и мутация в гене *GLUD1*- миссенс мутации. Распределение мутаций по экзонам хаотичное. Четыре выявленных нами мутации ранее не были описаны: Y344X, V357I в *ABCC8*, A96T и R136FsX5 в *KCNJ11*.

Потенциальная патогенность миссенс мутаций оценивалась методом множественного выравнивания последовательностей с учетом независимых наблюдений в каждой позиции (PSIC). Данный показатель для впервые выявленной A96T мутации составил 0,96, что свидетельствует о ее высокой потенциальной патогенности. Мутация V357I имеет низкий PSIC и рассматривается нами как вариант полиморфизма (таб 10).

Таб 10. Характеристики выявленных мутаций.

Ген	Нуклеотидная замена	Экзон	АК замена	Тип мутации	PSIC	патогенность	Описана/ впервые выявлена
ABCC8	c.222G>T	2	R74L	мис	0,998	Пат	О
	c.1038C>G	7	Y344X*	Нон	-		Н
	c.1069G>A	7	V357I**	Мис	0,4	не пат	Н
	c.1332G>T	9	Q444H	Мис	1,0	Пат	О
	c.2522G>C	21	R841P	Мис	0,698	Возм пат	О
	c.2992C>T	25	R998X	нон	-		О
	c.4055G>A	33	R1352H**	мис	1,0	пат	О
	c.4160_4162delTTC	34	delF1387	Дел	-		Н
	c.4552T>C	37	I1511T	Мис	0,236	Не пат	О
KCNJ11	c.286G>A	1	A96T	Мис	0,96	Пат	Н
	c.400insG	1	R136AFsX5	нон	-		Н
	c.1096G>A	1	G366R*	мис	0,664	Возм пат	О
GCK	c.271G>T	3	V91L	Мис	0,976	пат	О
	c.641A>C	6	Y214C	мис	1,0	Пат	О
GLUD1	c.1493C>T	11	S498L	мис	0,158	Не пат	О

Мис–миссенс мутация, нон – нонсенс мутация, дел –делеция, пат – патогенная, возм пат – возможно патогенная – не пат – не патогенная, О – ранее описанная мутация, Н – впервые выявленная мутация, *,** - компаундные мутации.

Отдаленные наблюдения

В группу катамнеза вошли 36 пациентов (10 человек из ретроспективной и 26 из проспективной группы). Из них, 16 детей с фармакорезистентными формами, 20 детей с фармакочувствительными формами. Длительность наблюдения составила в среднем 15 мес (6 мес- 13 лет) от момента постановки диагноза ВГИ.

Оценивались *исходы оперативного лечения* (n= 16, длительность наблюдения составила Me (min-max) 2 г (6 мес – 13 лет)):

- Нормогликемия выявлена у 7 пациентов (43,8%) (5 после субтотальной панкреатэктомией, 2 – после частичной резекции)
- ИЗСД - у 7 пациентов (43,8%)
- Гипогликемии - у 2-х пациентов (12,4%) (требуется терапии Диазоксидом)

У всех пациентов (в 100% случаев) отмечалась транзиторная гипергликемия в послеоперационном периоде.

Важно отметить, что среди пациентов с послеоперационным ИЗСД, у двоих гистологически была верифицирована фокальная форма. Т.е, эти больные потенциально имели шанс на полное выздоровление в случае наличия возможности предоперационной топической диагностики фокуса и проведения органосохраняющей операции. Данные результаты говорят о необходимости введения в протокол обследования методов молекулярной визуализирующей диагностики, например, таких как ПЭТ с 18-Ф-ЛДОПА.

Спонтанное выздоровление отмечено у 5 детей (14%) в возрасте от 1, 5 до 3-х лет (через 4 мес-1 год от момента постановки диагноза и инициации терапии). Основные характеристики течения ВГИ у этих пациентов представлены в таблице 11.

Таб 11. Основные клинические и гормональные характеристики пациентов со спонтанным выздоровлением.

Пациент	Возраст манифестации гипогликемии	Степень тяжести гипогликемии	Инсулин на фоне гипогликемии	Вес при рождении	Лечение (препарат, продолжительность приема)	Возраст ремиссии
1	12 мес	легкая	9,87	2870	Соматостатин (2 г)	3 г
2	1 мес	средняя	27	2280	Диазоксид (6 мес)	1,5 г
3	2,5 г	легкая	50,93	3020	Соматостатин (12 мес)	3,5 г
4	1 день	легкая	6,17	3000	Диазоксид (4 мес)	3 г
5	4 мес	легкая	12	3100	Диазоксид (5 мес)	1,5 г

Из таблицы видно, что у всех пациентов со спонтанной ремиссией отмечался нормальный или низкий вес при рождении, легкое течение гипогликемического синдрома (кроме пациента №2, потребность в инфузии глюкозы которого на момент постановки диагноза составила 4,5 мг/кг/мин). Обращает на себя внимание и то, что

ни у одного из этих пациентов не было выявлено мутаций в исследованных генах. У пациентов №2 и №4 отмечался ранний дебют заболевания, что дает основание предполагать наличие у них “затяжного неонатального гиперинсулинизма”. Случаи № 1, 3 и 5 требуют дальнейших исследований.

В группе пациентов, ответивших на консервативную терапию Диазоксидом было отмечено снижение дозы со временем: на момент динамического обследования средняя доза составила $9,5 \pm 3,83$ мг/кг/сут (исходная доза $12,7 \pm 4,2$ мг/кг/сут).

Анализ спектра неврологических осложнений выявил задержку психомоторного развития (ПМР) у 24 пациентов (66,6% случаев): легкой степени у 11 детей в возрасте от 2 до 11 лет, тяжелой степени у 13 детей в возрасте от 8 мес до 6 лет. Наличие эпилептиформной активности на ЭЭГ и сохраняющаяся потребность в противосудорожной терапии констатирована у 8 детей (22,2%) в возрасте от 1 г до 6 лет.

Оценка взаимосвязи генотип-фенотип

Клинические данные пациентов с установленной генетической причиной ВГИ представлены в таблице 12.

Мутации в генах, кодирующих АТФ-зависимые К⁺-каналы бета-клеток поджелудочной железы (*KCNJ11* и *ABCC8*) были выявлены у 11 пациентов (26%), 8 мальчиков и 3 девочки. Манифестация гипогликемического синдрома у всех пациентов данной группы отмечалась в течение первых трех дней жизни. 4 ребенка (40%) родились с весом $\geq 2SD$. Степень тяжести гипогликемического синдрома была определена как тяжелая в 8 случаях, как средняя в 2-х случаях и как легкая в 1 случае. 7 (63,6%) пациентов оказались резистентны к консервативному лечению, из них у 4-х выявлены фокальные формы ВГИ.

В одном случае отмечалась гомозиготная мутация (пациент 1 от близкородственного брака), в 2-х случаях выявлены компаундные гетерозиготные мутации (пациенты 3,11), у остальных детей мутации гетерозиготные. Клинических данных за наличие ВГИ у родственников выявлено не было. В 3-х случаях у отцов пробандов выявлены гетерозиготные мутации при отсутствии у них клинических проявлений ВГИ, что свидетельствует об унипарентальном наследовании, характерном для фокальных форм. Двое из этих детей имели тяжелое

фармакорезистентное течение заболевания и были прооперированы в первые месяцы жизни (фокальные формы подтверждены гистологически), один ребенок с мягким вариантом гипогликемического синдрома ответил на терапию препаратами Диазоксидом. В 6 семьях исследование материнской аллели мутаций не выявило, а обследование отцовской аллели не представлялось возможным, что в 3-х случаях установленных диффузных форм свидетельствует о спорадическом аутосомно-доминантном варианте ВГИ, проявившимся тяжелой гипогликемией с ранним дебютом.

В одной семье (пациент 11) у матери выявлена идентичная пробанду гетерозиготная мутация, однако, учитывая отсутствие у нее клинических признаков ВГИ, данные функциональных тестов, свидетельствующие о низкой патогенности указанной мутации, а также наличие у ребенка другой патогенной мутации, переданной от отца, данный генетический дефект (V357I) рассматривается нами как вариант полиморфизма.

В 3-х случаях фокальных форм у детей были отмечены сопутствующие врожденные пороки развития, не явившиеся следствием гипогликемии: атрофия зрительных нервов, нейросенсорная тугоухость, микроцефалия, аномалия развития сосудов головного мозга. Мы предполагаем, что эти пороки могут быть результатом соматической потери материнской аллели хромосомы 11p15 в клетках головного мозга.

Отдельного внимания заслуживают пациенты с мутациями в гене *GCK*. Оба случая спорадические, с ранним дебютом гипогликемического синдрома. В обоих случаях мутации ранее описаны. Несмотря на то, что подавляющее большинство случаев ВГИ, связанного с мутациями в гене *GCK*, хорошо поддается терапии Диазоксидом, один из наших пациентов оказался резистентен ко всем видам консервативного лечения и сохраняет эпизоды гипогликемии даже после субтотальной панкреатэктомии. В литературе имеются единичные описания подобных случаев, один из которых связан именно с мутацией Y214C, обнаруженной у нашего пациента. Функциональные исследования мутантной (Y214C) глюкокиназы продемонстрировали снижение порогового показателя глюкозы, при котором происходит активация фермента, до 0,8 ммоль/л ($N = 5$ ммоль/л), и увеличение индекса активности до 130 ($N=1,5$).

Пациентка с лейцинчувствительной гипогликемией (мутация в гене *GLUD1*) имела все характерные для данной формы ВГИ особенности: поздний дебют заболевания, высокий уровень аммония крови (120 мкмоль/л при норме до 85 мкмоль/л), нормальный вес при рождении, относительно невысокую потребность во в/в введении глюкозы (4 мг/кг/мин) и хороший ответ на консервативную терапию (Соматостатин). Однако, учитывая низкую комплаентность в приеме препаратов, а также неудовлетворительный контроль гликемии, девочка была прооперирована. У пациентки также имеется характерная для данной формы ВГИ тяжелая эпилепсия.

При сравнении группы пациентов с выявленными мутациями генов *KCNJ11* и *ABCC8* (группа А, n=11) с группой пациентов, где не было выявлено мутаций в исследованных генах (группа В, n=32) выявлена ассоциация мутаций в генах *KCNJ11* и *ABCC8* с ранним дебютом и тяжелым течением ВГИ, что совпадает с данными литературы (таб 13).

Таб 13. Сравнительная характеристика случаев ВГИ, ассоциированных с мутациями в генах, кодирующих АТФ-зависимые K⁺каналы и пациентов с диким типом этих генов.

	Группа А (n=11)	Группа В (n=28)	p
Возраст манифестации (мес) Me[25%-75%]	0,03 [0,03-0,06]	3,5 [0,5-6]	0,000098
Инсулин в момент гипогликемии (Ед/л) Me [25%-75%]	28,63 [12,6-38,8]	14,82 [6,8-31,7]	0,244
Вес при рождении Ср знач (±SD)	3842,5±811,8	3514±440,8	0,21
Случаи тяжелого гипогликемического синдрома (n, %)	8 72,7%	7 25,9%	0,005
Случаи фармакорезистентных форм (n, %)	7 63,4%	7 25,9%	0,02
Случаи тяжелой задержки ПМР (n, %)	8/9 88,8%	4/20 20%	0,0006
Случаи спонтанной ремиссии (n)	0	5	0,18

ПМР – психо-моторное развитие

Мы не выявили разницы в уровне инсулина и показателях веса при рождении у пациентов в сравниваемых группах. Кроме того, распространенность тяжелых форм задержки психо-моторного развития выше среди пациентов с мутантными генами, что может являться результатом тяжелого течения гипогликемии у этих детей.

Результаты обследования пациентов с инсулинпродуцирующими опухолями поджелудочной железы

Всего нами было обследовано 9 человек (4 девочки и 5 мальчиков) в возрасте от 11 до 23 лет. Из них впервые обратившиеся 4 пациента (в возрасте от 11 до 16 лет), с ранее установленным диагнозом - 5 пациентов (в возрасте от 15 до 23 лет).

При анализе **анамнестических данных** было выявлено, что медиана возраста манифестации заболевания составила 10 лет (7-16), тогда как медиана возраста постановки диагноза 11 лет (8-16). У 6 пациентов (66,6%) в дебюте заболевания отмечался судорожный синдром, 5 из них в течение 6-12 мес наблюдались с диагнозом Эпилепсия и получали противосудорожную терапию. У 4-х детей первыми жалобами была вялость, сонливость, заторможенность. Дети засыпали на уроках, во время еды и на прогулке. У всех пациентов отмечался повышенный аппетит и прогрессирующий набор избыточной массы тела.

Наследственный анамнез был отягощен по онкологическим заболеваниям у 6 пациентов.

При проведении пробы с голоданием средний уровень **инсулина** в момент гипогликемии (n=8) составил 22,4 Ед/л (10,1-67), **С-пептида** (n=4) – 2,09 нг/мл (0,98-3,4).

Шести пациентам для купирования гипогликемических состояний в предоперационном периоде требовалась постоянная в/в инфузия раствора глюкозы. Всем пациентам было проведено оперативное лечение: энуклеация инсулином в 8 случаях, панкреато-гастро- дуоденальная резекция в 1 случае.

По результатам **гистологического** исследования у всех пациентов были констатированы высокодифференцированные нейрондокринные инсулинпродуцирующие опухоли. Проведение **иммуно-гистохимического** исследования удаленной опухоли было возможно у 5 пациентов: экспрессия АТ к инсулину обнаружена у всех пациентов, к соматостатину – у двух пациентов, к

гастрину – у одного пациента, индекс пролиферативности Ki67 был в 3-х случаях > 2% и 2-х случаях < 2%.

Всем пациентам проспективной группы проводилось комплексное обследование с целью скрининга **синдрома МЭН1**. На момент первичного обращения гормональных изменений ни у одного из пациентов выявлено не было.

Всем пациентам был проведен **молекулярно-генетический анализ гена *MEN1***. Мутации выявлены у трех пациентов (33,3%), две из которых впервые выявленные, а одна ранее описана.

Основные клинические характеристики пациентов и результаты генетического обследования представлены в таблице 14.

Клиническое и генетическое обследование родственников было возможно у двух детей с генетически верифицированным диагнозом МЭН1. Как видно из таблицы, в обоих случаях, несмотря на исходно скудный наследственный анамнез, у родственников были выявлены характерные для синдрома МЭН1 гиперпаратиреоз и гиперпролактинемия. Данные наблюдения подчеркивают необходимость молекулярно-генетического исследования MEN1 и последующего генетического консультирования родственников.

Отдаленные наблюдения за период 1 год-12 лет с момента постановки диагноза выявили характерные для синдрома МЭН1 гормональные изменения у всех пациентов с верифицированными мутациями, а также у одного пациента, не имеющего генетического дефекта гена *MEN1*.

Обращает на себя внимание, что в 4-х из 5 случаев (80%) инсулиномы носили злокачественный характер (степень дифференцировки G2), что у одного пациента (№ 2) привело к развитию отдаленных метастазов.

Таб 14. Клинические характеристики и результаты молекулярно-генетического исследования гена *MEN1* у пациентов с инсулиномами

Пациент	Возраст диагностики (г)	Количество опухолей, размер (см), локализация	Степень дифференцировки (Grade)	Наследственный анамнез	Результаты секвенирования гена <i>MEN1</i>	Клиническое обследование родственников	Возраст (г) и результаты обследования при отдаленных наблюдениях
1	8	1. 2,5 см. Головка	ND	По материнской линии: рак желудка у бабушки, рак щитовидной железы у тети	C.1547insC	Не проводилось	21. Гиперпролакт
2	11	3. 1 см; 0,8 см; 1,5 см. Головка, тело	G2	Неотягощен	w/t	Не проводилось	21. Гиперпаратиреоз, аденома паращитовидной железы, метастазы в печени, мезагастральных лимфоузлах
3	11	2. 1,2 см, 0,5 см. Хвост, головка	G2	Я.б. у отца По отцовской линии: я.б. и МКБ у бабушки, гиперпролакт у двоюродной сестры	c.830C>G, p.P277R	Отец: гиперпаратиреоз, аденома паращитовидной железы, гиперпролакт	13. гормонально неактивная микроаденома гипофиза 15. гиперпаратиреоз
4	13	1. 1 см. Граница тела и головки	ND	По материнской линии: рак прямой кишки у бабушки	w/t	Не проводилось	15. здоров
5	13	1. 3 см. Хвост	ND	Неотягощен	c.936delC	У брата: гиперпаратиреоз, аденома паращитовидной железы, гиперпролакт	19. Гиперпаратиреоз, аденома паращитовидной железы, пролактинома, гиперпролакт, узелковая гиперплазия надпочечника
6	13	1. 1,9 см. Головка	ND	Неотягощен	w/t	Не проводилось	18. эпилепсия, задержка ПМР
7	16	1. 3,5 см. Хвост	G2	По материнской линии: рак щитовидной железы у тети	w/t	Не проводилось	17. здорова
8	12	1. 3 см. Хвост	G1	По отцовской линии: рак прямой кишки у бабушки	w/t	Не проводилось	14. здоров
9	11	1. 1,5 см. Тело	G2	Неотягощен	w/t	Не проводилось	Не проводилось

Я.б– язвенная болезнь, щит – щитовидная, паращит– паращитовидная, гиперпролакт–гиперпролактинемия, отц– отцовская, матер – материнская, гиперплаз– гиперплазия, w/t - дикий тип

ВЫВОДЫ

- Среди обследованных детей с тяжелыми персистирующими гипогликемиями в 51% случаев диагностирован врожденный гиперинсулинизм, в 10% - инсулинпродуцирующие опухоли поджелудочной железы, в 39% случаев гипогликемии носили негиперинсулинемический характер.
- Выявлена значительная гетерогенность и неспецифичность клинической картины врожденного гиперинсулинизма (слабость, вялость в 78,6%, набор избыточной массы тела в 78,2%, судорожный синдром в 61,9%, угнетение сознания в 14,3%, нарушения сна в 9,5%, остановка дыхания в 7,14%, гипогликемическая кома в 4,76%) и ассоциированная с ней поздняя диагностика (Δ возраста манифестации и возраста постановки диагноза 2,5 мес).
- Доказана более высокая эффективность Диазоксид (55%) по сравнению с аналогами Соматостатина (26,9%) в лечении врожденного гиперинсулинизма.
- Выявлена высокая частота фармакорезистентных форм (39%) и определены предикторные факторы эффективности терапии. В группе пациентов с фармакорезистентными формами врожденного гиперинсулинизма по сравнению с фармакочувствительными формами, достоверно меньше возраст манифестации заболевания, выше уровень инсулина в момент гипогликемии, тяжелее течение гипогликемического синдрома и выше частота выявления мутаций в генах АТФ-зависимых K^+ каналов (44% и 15% соответственно).
- Выявлена высокая распространенность фокальных форм врожденного гиперинсулинизма (44,4%) и отсутствие клинических и гормональных критериев дифференциальной диагностики с диффузными формами.
- Молекулярно-генетический дефект установлен в 33,3% случаев врожденного гиперинсулинизма. Наиболее распространенной генетической причиной явились мутации в генах *KCNJ11* и *ABCC8* (26%), в единичных случаях выявлены дефекты генов *GCK* и *GLUD1* (5,1% и 2,4% соответственно). Выявлена ассоциация мутаций в генах *KCNJ11* и *ABCC8* с более тяжелым течением гипогликемического синдрома и грубой задержкой психо-моторного развития.

- Частота синдрома множественной эндокринной неоплазии 1 типа у детей с изолированными инсулиномами составила 33,3%.
- У четырех из пяти детей с изолированными инсулиномами, при проведении иммунно-гистохимических исследований, выявлены признаки злокачественности (G2 степень дифференцировки) опухолевой ткани.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предложен стандартизированный протокол диагностики и ведения пациентов с врожденным гиперинсулинизмом, включающий проведение молекулярно-генетических исследований генов *KCNJ11* и *ABCC8* с целью выявления фокальных форм (рис 5).
2. Рекомендуется проведение молекулярно-генетического исследования гена *MEN1* у детей с изолированными инсулиномами
3. Рекомендуется стандартизированное гистологическое и ИГХ исследование удаленной ткани у пациентов с инсулиномами с целью определения прогноза заболевания и выбора тактики дальнейшего ведения.



Рисунок 5. Протокол ведения пациентов с ВГИ

ПЭТ с 18фЛ-Д – позитронно-эмиссионная томография с ^{18}F -флюороЛеводоПА, Са-ССАГ – Ca^{2+} -стимулированная селективная ангиография

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

- 1) М.А. Меликян Гипогликемический синдром в детском возрасте. Обзор литературы. Журнал Доктор Ру. 2009 №6
- 2) М.А. Меликян, Е.Е. Петрайкина, И.Э. Волков, И.Г. Коломина. Клинический полиморфизм врожденного гиперинсулинизма. сборник Всероссийского Конгресса «Современные технологии в эндокринологии». Москва , 2009г, стр. 93
- 3) М.А. Меликян Врожденный гиперинсулинизм. Обзор литературы. Журнал Проблемы эндокринологии.- 2010.- №6.- С.41-47.
- 4) М.А. Меликян, Е.Е. Петрайкина, В.Л. Фомина, И.Г. Рыбкина, И.В. Гаряева, Е.А. Пронина, Т.Д. Михайлова, И.Э. Волков, Ю.В. Аверьянова, И.Г. Коломина, В.А. Петеркова. Врожденный гиперинсулинизм: диагностика и лечение. Журнал Педиатрия 2011, том 90/ №1/ стр 59-65
- 5) М.А. Меликян, Е.Е. Петрайкина, И.Э. Волков, И.Г. Коломина, В.А, Х. Кристесен. Клинические, биохимические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с врожденным гиперинсулинизмом. Материалы VI съезда Российского общества медицинских генетиков, Ростов-на-Дону 2010 г., стр 113
- 6) Maria Melikyan; Irina Kolomina; Elena Petraykina; Igor Volkov; Klaus Brusgaard; Henrik Christesen. Clinical, biochemical and molecular-genetic characteristics of 27 Russian patients with congenital hyperinsulinism. Hormone Research in Paediatrics 2010 Vol. 74, Suppl. 3, p 240
- 7) Maria Melikyan; Klaus Brusgaard; Elena Petraykina; Igor Volkov; Yulia Averyanova; Maria Kareva; Valentina Peterkova; Larisa Gurevich; Henrik Christesen. Genotype-phenotype associations in children with congenital hyperinsulinism. Hormone Research in Paediatrics 2011 Vol. 76, Suppl. 2, p 225
- 8) Maria Melikyan; Yulia Averyanova; Larisa Gurevich; L Friis-Hansen; Valentina Peterkova; Henrik Christesen. Insulinomas as the first sign of MEN1 syndrome in children. Hormone Research in Paediatrics 2011 Vol. 76, Suppl. 2, p 167
- 9) Maria Melikyan; Larisa Gurevich; Yulia Averyanova; L Friis-Hansen; Henrik Christesen. Insulinomas in children. 9th Annual ENETS Conference for the Diagnosis and treatment of neuroendocrine tumor disease, 2012. Abstract book, p 145.
- 10) L. Gurevich, I.A. Kazantseva, N. Korsakova, A.Egorov, T.Britvin, E.Panteleeva,

I.Vasilyev, Y.Averyanova, M.Melikyan, A.Kochatkov. Morphological characteristics of pancreatic tumors in children and young patients. 9th Annual ENETS Conference for the Diagnosis and treatment of neuroendocrine tumor disease, 2012. Abstract book, p 19.

- 11) Меликян М.А.; Карева М.А.; Петряйкина Е.Е., Волков И.Э., Аверьянова Ю.В., Коломина И.Г., Гуревич Л.Е., Петеркова В.А., Brusgaard K., Christesen H, Дедов И.И. Врожденный гиперинсулинизм. Результаты молекулярно-генетических исследований в российской популяции. Журнал Проблемы Эндокринологии - 2012-№ 2, стр 3-7.

Список сокращений:

5-ОИУК – 5 оксииндолуксусная кислота

АЛТ – аланиновая трансаминаза

АСТ – аспарагиновая трансаминаза

АКТГ – адренокортикотропный гормон

АТ – антитела

ВГИ – врожденный гиперинсулинизм

ГГ – гиперинсулинемические гипогликемии

ИГХ - иммуногистохимические

ИЗСД – инсулинзависимый сахарный диабет

ИФР1 – инсулиноподобный фактор роста 1

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

МСКТ – мультиспиральная компьютерная томография

МЭН1 – синдром множественной эндокринной неоплазии 1 типа

НН – надпочечниковая недостаточность

НЭО – нейроэндокринные опухоли

ПМР – психо-моторное развитие

ПРЛ – пролактин

ПТГ – паратиреоидный гормон

ПЭТ – позитронно-эмиссионная томография

УЗИ – ультразвуковое исследование