Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

РОМАНЕНКОВА ЕЛИЗАВЕТА МИХАЙЛОВНА

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ФЕНОТИПИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ АУТОИММУННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА У ДЕТЕЙ

3.1.19 - ЭНДОКРИНОЛОГИЯ

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
Лаптев Дмитрий Никитич,
доктор медицинских наук

Москва – 2023

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 10

1.1 Введение 10

1.2 Генетические основы гетерогенности СД1 11

1.3 Эпигенетические факторы развития СД1 15

1.4 Ремиссия СД1 17

1.4.1 Характер манифестации нарушений углеводного обмена. 18

1.4.2 Аутоиммунный статус 19

1.5 Искусственные нейронные сети в дифференциальной диагностике СД. 19

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 21

2.1 Материалы и дизайн исследования 21

2.2 Методы исследования 23

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ 34

3.1 Сахарный диабет 1 типа у детей 34

3.1.1 Динамика уровня С-пептида в зависимости от возраста манифестации и длительности СД1 35

3.1.2 Особенности иммунологического статуса детей в зависимости от возраста манифестации и длительности СД1 39

3.2 Клинико-метаболическая ремиссия СД1 у детей 41

3.2.1 Сравнительная характеристика пациентов с ремиссией СД1 и без нее 41

3.2.2 Сравнительная характеристика полной и частичной ремиссии СД1 46

3.2.3 Анализ HLA I и II класса у детей с ремиссией СД1 и без нее 49

3.2.4 Результаты молекулярно-генетического исследования у детей с ремиссией СД1 53

3.2.5 Описание клинических случаев 60

3.3. Дифференциальная диагностика пациентов с полной ремиссией СД1 и MODY 70

3.4 Модель клинического прогнозирования сахарного диабета MODY типа у детей 75

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ ИССЛЕДОВАНИЯ 83

4.1. Факторы, ассоциированные с уровнем С-пептида у детей с СД1 ... 83

4.3 Особенности ремиссии СД1 85

4.4 Молекулярно-генетические основы ремиссии СД 95

4.5 Модель клинического прогнозирования сахарного диабета MODY типа у детей 96

ЗАКЛЮЧЕНИЕ 100

ВЫВОДЫ 102

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ 103

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 104

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 106

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Несмотря на сложившиеся подходы к классификации и диагностике сахарного диабета у детей с отнесением всех аутоиммунных форм к одной нозологической единице, клиническая картина аутоиммунного сахарного диабета (СД) крайне гетерогенна, что, очевидно, в значительной степени детерминировано генетическими и иммунологическими особенностями индивидуума.

В настоящее время, наряду с HLA системой, определяющей более 50% генетического риска, установлено более 75 генетических маркеров сахарного диабета 1 типа (СД1). При этом у детей изучение генетических основ аутоиммунного СД в основном ограничивается прогнозированием заболевания и выявлением групп риска с целью разработки методов профилактики СД. В то же время изучение зависимости клинического течения заболевания от иммунологических и генетических характеристик могло бы предоставить дополнительные перспективы в понимании патогенеза СД1, его прогнозировании и профилактике.

Понимание молекулярно-генетических, иммунологических, биохимических, гормональных особенностей течения различных форм аутоиммунного СД послужит основой для исследования новых сигнальных путей, задействованных в патогенезе нарушения функции бета-клетки, что будет иметь как фундаментальное значение, так и может позволить усовершенствовать методы ранней диагностики и профилактики аутоиммунного СД.

После начала инсулинотерапии у 80% детей с СД1 отмечается снижение дозы инсулина или полная его отмена, и развитие клинико-лабораторной ремиссии. При длительном отсутствии потребности в инсулине в случаях ранней доклинической диагностики СД1 и при полной клинико-лабораторной

ремиссии СД1 более 6 месяцев возникает вопрос о необходимости проведения дифференциальной диагностики между аутоиммунным СД и неиммунными формами СД, в первую очередь MODY. Схожесть клинической картины при СД1 и MODY приводит на догенетическом этапе как к гипердиагностике MODY и избыточному направлению на молекулярно-генетическое исследование пациентов с аутоиммунным СД, так и к недостаточному выявлению MODY.

Стандартизированных клинических подходов для дифференциальной диагностики различных форм СД в настоящее время не существует. Существующие на сегодняшний день калькуляторы риска MODY валидизированы для пациентов старше 18 лет. Создание алгоритма искусственного интеллекта, разработанного на детской популяции, поможет своевременно выявлять моногенные формы СД у детей и оптимизировать диагностику и лечение заболевания.

Цель научного исследования

Изучить клинические, генетические, иммунологические, гормональные особенности клинических фенотипов СД. Разработать алгоритмы дифференциальной диагностики различных форм СД.

Задачи научного исследования

1. Изучить секрецию С-пептида у детей с началом СД1 в пубертатном и допубертатном возрасте при различной длительности заболевания.
2. Определить особенности иммунологического профиля по наличию островковых аутоантител (ААт) у пациентов с различной длительностью заболевания и в зависимости от возраста манифестации СД1.
3. Установить клинико-лабораторные, иммунологические и генетические особенности пациентов с ремиссией СД1 и выявить предрасполагающие к ремиссии факторы.

4. Определить клинические и иммунологические критерии дифференциальной диагностики MODY диабета и СД1 в период ремиссии.
5. Разработать модель персонализированного прогнозирования MODY на основании значимых клинико-диагностических показателей.
6. Выявить генетические варианты, связанные с нарушением углеводного обмена, у пациентов с ремиссией СД1 методом полноэкзомного секвенирования

Научная новизна исследования

В данной работе впервые в российской популяции проведено изучение различных фенотипов СД1 у детей. Изучены возрастные особенности секреции С-пептида у детей при СД1, а также проведен анализ резервной функции β-клеток в зависимости от длительности заболевания. Впервые проведен сравнительный анализ частоты выявления ААт в различных возрастных группах, а также при различной длительности СД1 у детей. Впервые на большой выборке изучены клинические, лабораторные, иммунологические предикторы развития длительной ремиссии СД1 в детском возрасте. На большой выборке изучены генетические основы гетерогенности СД1 при классическом течение заболевания и при длительной ремиссии, выявлены HLA-генотипы, являющиеся возможными генетическими предикторами отсутствия длительной ремиссии СД1 у детей. Впервые проведено молекулярно-генетическое исследование, в том числе полноэкзомное секвенирование, пациентам с неклассическим течением СД1, выявлены варианты в генах, ответственных за секрецию, действие инсулина, а также за развитие поджелудочной железы.

Проведена сравнительная характеристика пациентов с полной ремиссией СД1 и MODY. Впервые разработана модель клинического прогнозирования сахарного диабета MODY на педиатрической выборке пациентов.

Теоретическая и практическая значимость

Выявлены факторы, влияющие на секрецию С-пептида у детей. Продемонстрированы возрастные особенности иммунологического статуса детей с СД1, а также влияние длительности заболевания на частоту серопозитивности. Определены клинические, лабораторные, генетические факторы, ассоциированные с ремиссией СД1. Разработанная модель клинического прогнозирования позволит с высокой точностью выявлять пациентов с моногенной формой СД и позволит своевременно направлять пациентов на молекулярно-генетическое тестирование для дифференциальной диагностики форм СД и назначения возможного патогенетического лечения.

Личное участие автора в получении научных результатов

Автор лично провел анализ состояния научной проблемы в мире на основании литературных данных, сформулировал цель, задачи и дизайн диссертационной работы. Принимал непосредственное участие в клинической работе с пациентами, в организации проведения лабораторных исследований. Автор подготовил базу данных, систематизировал полученные данные, проводил отбор критериев для разработки системы поддержки принятия врачебных решений (СППВР), осуществил статистический анализ, подготовил публикации по теме диссертации.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Манифестация СД1 в подростковом возрасте ассоциирована с более медленным истощением β-клеток в сравнении с пациентами младшего возраста.
2. У детей при длительности СД1 более 5 лет может сохраняться собственная секреция С-пептида.
3. Серопозитивность может сохраняться более 5 лет после манифестации СД1.

4. Ремиссия СД1 ассоциирована с иммунологическими и генетическими особенностями, а также выявлением заболевания на ранних стадиях.
5. Положительный уровень островковых ААт не исключает наличие MODY.
6. Алгоритм персонализированного прогнозирования на основании искусственной нейронной сети (НС) поможет своевременно выявлять MODY на догенетическом этапе и избежать гипердиагностики моногенных форм СД.

Степень достоверности

Достоверность изложенных в настоящем исследовании положений, выводов и рекомендаций подтверждаются тщательным анализом научно-исследовательских работ по гетерогенности СД; согласованностью полученных результатов с зарубежными данными; применением методов исследования с доказанной эффективностью; проведением экспериментальных методов согласно стандартам и с современными средствами измерений; применением статистического анализа для обработки полученных данных

Апробация работы и публикации

Апробация диссертационной работы проведена на межкафедральном заседании сотрудников кафедр эндокринологии, диабетологии и диетологии, детской эндокринологии-диабетологии Института высшего и дополнительного профессионального образования и научных сотрудников клинических и лабораторных подразделений ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России 08 ноября 2022 года.

Фрагменты диссертационной работы были представлены на конгрессе Европейской ассоциации по изучению диабета (EASD online, 2020г); XX городской научно-практической конференции «Эндокринные аспекты в

педиатрии» (Москва, 2021г.); II Конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям: «Персонализированный подход в детской эндокринологии» (Москва, 2022г.); Всероссийской научно-образовательной онлайн конференции «Актуальные вопросы современной эндокринологии: от инноваций до реальной клинической практики» (Москва, 2022г.); конференции Эндокринологического сообщества (ENDO online, 2021г.); XVII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (г. Санкт-Петербург, 2021г.); конференции Европейской ассоциации детских эндокринологов (ESPE online, 2021г.); конференции по орфанным заболеваниям и детским эндокринным заболеваниям с международным участием: «Достижения науки в практику детского эндокринолога» (г. Москва, 2021г.); Всероссийской онлайн-конференции «Актуальные вопросы современной эндокринологии: от инноваций до реальной клинической практики» (Москва, 2022г.).

По теме диссертации опубликовано 12 публикаций, из них в отечественных журналах – 9; в иностранных журналах – 3; 2 входят в перечень отечественных рецензируемых журналов, рекомендуемых для публикации основных результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 119 страницах печатного текста, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений. Библиография представлена 5 отечественными и 97 зарубежными источниками. Работа иллюстрирована 21 рисунком и 22 таблицами.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Введение

Сахарный диабет 1 типа — это многофакторное хроническое заболевание, развивающееся вследствие аутоиммунного поражения β-клеток поджелудочной железы, приводящее к абсолютной недостаточности инсулиновой секреции и хронической гипергликемии. По данным Всемирной Диабетической Ассоциации в настоящее время в мире насчитывается более 400 миллионов людей с СД, из которых более 1.1 миллиона составляют дети с СД1.

Риск развития СД1 у людей, имеющих родственников первой степени родства с СД1, составляет примерно 5%, в то время как в общей популяции всего 0,3%. Кроме того, конкордантность монозиготных близнецов составляет 30-70% по сравнению с 3-13% у дизиготных близнецов. По мнению ряда исследователей, риск развития СД1 в течение жизни у монозиготных близнецов близок к 100%, что указывает на значительную роль генетических факторов в развитии этого заболевания [1, 2].

Несмотря на то, что к настоящему времени изучено множество генов и генетических вариантов, риск развития СД1 при наличии известных предрасполагающих генетических факторов составляет лишь 12%. При этом, наличие СД1 у родственника первой степени родства увеличивает этот риск до 40%. Кроме того, следует отметить, что рост заболеваемости СД1 во всем мире сопровождается снижением распространенности предрасполагающих к заболеванию HLA-генотипов. Всё это может указывать на роль других, не установленных к настоящему времени, генетических факторов в развитии СД1 [3].

СД1 развивается в результате опосредованного Т-лимфоцитами аутоиммунного разрушения инсулин-продуцирующих β-клеток, приводящего к абсолютной недостаточности инсулина. Опираясь на данные когортных исследований в группах риска, появление нескольких специфических

островковых ААт рассматривается как 1 стадия СД1. В настоящее время доступны для исследования ААт к транспортеру цинка 8 (ZnT8A), тирозинфосфатазе (IA-2A), глутаматдекарбоксилазе (GAD), цитоплазматическим структурам β-клеток (ICA), эндогенному инсулину (IAA). Для 2 стадии СД1 характерно появление дисгликемии с нарушением толерантности к глюкозе (НТГ). Обе стадии протекают бессимптомно. На 3 стадии СД1 появляются клинические симптомы гипергликемии (полиурия, полидипсия, снижение массы тела) [4, 5].

Помимо аутоиммунного СД1, характеризующегося появлением ААт, также выделяют идиопатический. При идиопатическом СД1 аутоиммунные маркеры не определяются, а генез разрушения β-клеток в настоящее время остается неизвестным [6]. Среди аутоиммунных форм СД выделяют фульминатный СД (Fulminant type 1 diabetes (FT1D)) [7] и латентный аутоиммунный диабет взрослых (Latent autoimmune diabetes in adults (LADA)) [8]. LADA представляет собой медленно прогрессирующую форму аутоиммунного диабета, но клинические проявления гораздо больше похожи на сахарный диабет 2 типа (СД2), назначение инсулинотерапии происходит через 6 и более месяцев от установки диагноза [9-11]. У детей выделяют схожую форму СД – латентный аутоиммунный диабет 1 молодых (Latent autoimmune diabetes in the young (LADY)).

Становится очевидным, что СД1 является крайне гетерогенным заболеванием, на развитие которого влияет комплекс различных факторов, таких как возраст, генетическая предрасположенность и окружающая среда, и что β-клетки поджелудочной железы играют важную роль в инициировании патогенных процессов при взаимодействии с иммунными клетками [12].

1.2 Генетические основы гетерогенности СД1

Учитывая клиническую значимость и влияние на жизнь пациента, СД1 – одно из наиболее изученных полигенных заболеваний. Значительный вклад генетической предрасположенности в развитии заболевания иллюстрируется

тем фактом, что риск развития СД1 у людей, имеющих родственников первой степени родства с СД1, составляет примерно 5%, в то время как в общей популяции - всего 0,3%. Кроме того, конкордантность монозиготных близнецов составляет 30-70% по сравнению с 3-13% у дизиготных близнецов [13-15]. По мнению ряда исследователей, риск развития СД1 в течение жизни у монозиготных близнецов близок к 65-100% [1, 2, 16].

Подверженность развитию аутоиммунного СД определяется множеством генов: полногеномный поиск ассоциаций (GWAS) позволил выявить более 60 локусов, участвующих в развитии СД1 [17].

Более 50% генетического риска развития СД1 определяется наличием определенных комбинаций аллелей генов HLA (человеческий лейкоцитарный антиген), которые влияют на распознавание Т-клеток и толерантность к чужеродным и аутологичным молекулам. Регион HLA расположен на 6p21 хромосоме и представляет собой группу генов главного комплекса гистосовместимости (MHC). Ведущая роль в развитии СД1 среди генов HLA отводится локусам II класса (HLA-DR, HLA-DQ и HLA-DP) и I класса (HLA-A, HLA-B и HLA-C). Множество других локусов HLA и не-HLA регионов также влияют на особенности иммунных ответов и модифицируют уязвимость бета-клеток к медиаторам воспаления.

К основным факторам риска развития СД1 относятся гаплотипы DR4-DQ8 (DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302) и DR3-DQ2 (DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201) генов HLA II класса [18-20]. Как минимум один из гаплотипов присутствует у 80-90% пациентов с СД1, у 35-40% пациентов обнаруживаются оба гаплотипа [18-20]. Тогда как в контрольных группах (без СД1) один гаплотип выявляется у 30%, а два – у 3%. Протекторные гаплотипы ожидаемо чаще обнаруживаются в общей популяции, чем у пациентов с СД1 [21, 22].

Различные этнические группы могут различаться по предрасполагающим и протекторным гаплотипам, а также показателям относительного риска для определенного гаплотипа. В российской популяции к предрасполагающим HLA-гаплотипам относятся: DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302 (ОР=4,7);

DRB1*17(03)-DQA1*0501-DQB1*0201 (ОР=2,7); DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0304 (ОР=4,0); DRB1*01-DQA1*0101-DQB1*0501 (ОР=1,9); DRB1*16-DQA1*0102-DQB1*0502/4 (ОР=2,4); к протекторным HLA-гаплотипам относятся: DRB1*15-DQA1*0102-DQB1*0602/8 (ОР=0,08); DRB1*11-DQA1*0501-DQB1*0301 (ОР=0,14); DRB1*13-DQA1*0103-DQB1*0602/8 (ОР=0,16) [23].

К локусам HLA II класса, ассоциированным с развитием СД1, относятся также HLA DPA1 и DPB1. Они кодируют антиген DP и связаны с более низкой иммуностимулирующей способностью и уровнем экспрессии, чем другие антигены класса II. Различия в отдельных аминокислотах, кодируемых DPB1, ассоциированы с силой пролиферативного ответа в смешанной лимфоцитарной реакции [24]. Помимо СД1 DPB1 ассоциирован с ревматоидным артритом.

В большинстве исследований ассоциаций HLA DPB1 с СД1 к предрасполагающим аллелям относятся: DPB1*02:01, *02:02, *03:01, *15:01; к протекторным - DPB1*01:01, *04:01, *04:02, *05:01, *17:01 [25-27]. По данным Генетического Консорциума СД1 (Type 1 Diabetes Genetics Consortium (T1DGC)) DPB1*02:02 и DPB1*03:01 повышают риск заболевания, а DPB1*04:02 снижает его риск, независимо от локусов DR-DQ [28].

Продукты генов HLA I класса связывают и представляют пептидные антигены CD8+ Т-клеткам, формируя репертуар Т-клеток в тимусе и инициируя антиген-специфическую цитотоксичность, опосредованную Т-клетками. Риск развития СД1 ассоциирован с HLA-A, -B и -C I класса. Наиболее значимыми СД1-ассоциированными аллелями являются: B*57:01 (протекторный) и B*39:06 (предрасполагающий). Кроме того, ассоциированы с развитием СД1 следующие аллели: предрасполагающие - A*24:02, A*02:01, B*18:01, C*05:01; защитные - A*11:01, A*32:01, A*66:01, B*07:02, B*44;03, B*35:02, C*16:01, C*04:01 [29-31].

Более 40 крупных локусов HLA в настоящее время не изучено, однако генетический вклад данных областей может играть значительную роль в

предрасположенности к аутоиммунным заболеваниям, включая СД1 [32, 33]. Не-HLA гены, такие как *INS, CTLA4, PTPN22* и *IL-2RA* также ассоциированы с СД1 и дальнейшее их изучение может улучшить понимание гетерогенности заболевания [34, 35].

Наличие определенного генотипа HLA не только влияет на риск развития заболевания, но и может определять течение СД1, влияя на возраст дебюта и скорость снижения остаточной секреции эндогенного инсулина [36, 37].

При длительном отсутствии потребности в инсулине в случаях ранней доклинической диагностики СД1 и при полной клинико-лабораторной ремиссии СД1 более 6 месяцев возникает вопрос о необходимости проведения дифференциальной диагностики между аутоиммунным СД и неиммунными формами СД, в первую очередь MODY (акроним названия maturity-onset diabetes of the young – диабет взрослого типа у молодых лиц).

Схожесть клинической картины при СД1 и MODY приводит на догенетическом этапе как к гипердиагностике MODY и избыточному направлению на молекулярно-генетическое исследование пациентов с аутоиммунным СД, так и недостаточному выявлению MODY. По данным Shields et al. до 80% MODY не диагностирован, по данным исследования SEARCH, 94% молодых пациентов с MODY наблюдались с диагнозами СД1 и сахарным диабетом 2 типа (СД2) [7, 8]. Правильный клинический диагноз оказывает влияние на выбор тактики ведения, определяет прогноз заболевания у пациента, а также определяет риск развития заболевания у родственников. Таким образом, вопрос дифференциальной диагностики полной клинико-лабораторной ремиссии СД1 и MODY у детей остается актуальным и требует дальнейшего изучения.

В настоящее время остаются актуальными вопросы стратегии отбора и формирования систематического подхода направления пациентов на молекулярно-генетическое исследование генов, ответственных за развитие MODY. Данные подходы должны, с одной стороны, создавать условия для

наибольшей идентификации случаев MODY, с другой стороны, обеспечивать высокий процент положительных тестов. Вопрос о необходимости проведения дифференциальной диагностики СД1 с MODY возникает в случаях длительного периода клинико-лабораторной ремиссии (более 6 месяцев) или при ранней доклинической диагностике СД1, при наличии отягощенной наследственности по СД, а также в случаях отсутствия специфических островковых ААт.

1.3 Эпигенетические факторы развития СД1

Эпигенетическая регуляция представляет собой связь между генетической предрасположенностью и влиянием окружающей среды, что в свою очередь модифицирует экспрессию генов, играющих ключевую роль в развитии СД1 [38]. Под влиянием хронических факторов воспаления, энхансеры формируют эпигенетическую память через процессы метилирования и не возвращаются в свое латентное состояние. Вместо этого формируется более выраженный ответ при следующем контакте с воспалительным агентом, что влияет на манифестацию и скорость прогрессирования заболевания [34]. Поскольку специфические паттерны метилирования ДНК формируются во время эмбриогенеза и внутриутробного развития посредством запрограммированного процесса, подверженность к эпигенетическим изменениям, связанным с воздействием окружающей среды на этих этапах, может вызывать необратимые физиологические изменения, приводящие к различным заболеваниям в более позднем возрасте. Это происходит путем геномного импринтинга и влияния эпигенетических факторов окружающей среды, особенно при материнских энтеровирусных инфекциях. Кроме того, по данным исследований, пренатальное воздействие неблагоприятных жизненных событий матери приводит к длительным и обширным функциональным изменениям метилирования ДНК в генах плода, ответственных за врожденный и приобретенный иммунитет, а также генов, вовлеченных в метаболизм глюкозы [39].

Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) могут влиять на регуляцию конформации хроматина и связывающую способность транскрипционных факторов, тем самым нарушая трехмерную организацию генома и экспрессию генов, связанных с иммунным ответом при СД1. Недавнее исследование выявило новые некодирующие SNP высокого риска в Т-лимфоцитах у пациентов с СД1, которые нарушают активность энхансеров, ингибируя факторы транскрипции генов, вовлеченных в иммунный ответ [40]. Эпигенетические модификации, особенно метилирование генов, связаны с риском СД1, видимо, действуют независимо от генетических вариантов. Гиперметилирование промотора гена *IL2RA* снижает экспрессию белка IL2RA (CD25), играющего важную роль в иммунной регуляции воспалительного ответа Т-регуляторными клетками. Предполагается, что статус метилирования промотора гена *INS* влияет на экспрессию инсулина в β-клетках, а также, связан с эпителиальными клетками тимуса, следовательно, косвенно влияет на презентацию антигена и поддержание аутотолерантности к β-клеткам [41]. Исследования различных паттернов метилирования ДНК у пациентов с СД1 до манифестации диагноза и развития островкового аутоиммунитета в клетках поджелудочной железы, при сравнении со здоровой группой контроля, подтверждает идею, что эпигенетические модификации имеют влияние на патогенез СД1 [42].

Генетическая гетерогенность также может быть связана с нарушением сворачивания хроматина и аномальной экспрессией гена в Т-клетках. Single-cell транскриптомный профиль в популяции иммунных клеток поджелудочной железы у пациентов с СД1 также выявляет повышенную экспрессию белков цинкового пальца (KRAB-Zinc finger proteins), которые действуют как репрессоры специфических эндогенных ретровирусов, доказывая вовлеченность этих элементов в этиопатогенез СД1. Необходимы дальнейшие исследования по изучению связи сворачивания хроматина с генами *KRAB-ZFP* у людей с СД1[43].

Таким образом, статус метилирования ДНК, хроматин и генетические варианты в некодирующих областях влияют на транскриптом клеток и могут последовательно влиять на интенсивность иммунного ответа и повышать риск возникновения СД1 [34], особенно во внутриутробном периоде [39].

1.4 Ремиссия СД1

После диагностики СД1 типа у 80% пациентов развивается частичная или полная клинико-лабораторная ремиссия, также известная как «медовый месяц» [44, 45]. У 0-3,2% возможна полная отмена инсулина, в таких случаях говорят о полной клинико-лабораторной ремиссии [45, 46]. Данный период характеризуется снижением дозы инсулина при удовлетворительной компенсации углеводного обмена, что обусловлено частичным функциональным восстановлением β-клеток, повышением периферической чувствительности к инсулину [47]. В среднем длительность клинико-лабораторной ремиссией составляет 6 месяцев, в отдельных случаях может продолжаться в течение года и более [46].

Определение клинико-лабораторной ремиссии широко варьирует. Большинство авторов предлагают определять ремиссию диабета, как снижение потребности в инсулине менее 0,5 ед/кг/сутки [48, 49]. Другое определение парциальной ремиссии СД1 - это комбинация небольшой потребности в инсулине (0,3-0,5 ед/кг/сутки) с оптимальным метаболическим контролем (уровень HbA1c менее 7,5%) [50, 51]. В 2008 году Mortensen и соавт. предложили формулу для определения наличия у пациента ремиссии: уровень HbA1c (%)+4×суточную дозу инсулина (ед/кг/сутки). При получении значения менее 9, у пациента диагностируется парциальная ремиссия СД1 [52].

У пациентов с длительной клинико-лабораторной ремиссий отмечена длительная компенсация углеводного обмена, более низкий риск развития гипогликемий, а также невысокий риск развития хронических микро- и макрососудистых осложнений [53-56].

В настоящее время факторы, предрасполагающие к развитию длительной клинико-лабораторной ремиссии, изучены недостаточно, сведения об их роли в развитии ремиссии противоречивы. В настоящее время обсуждается значение множества факторов в развитии ремиссии, в том числе демографические (возраст, пол, этническая принадлежность, социально-экономический статус), клинико-лабораторные (степень метаболической декомпенсации, характер манифестации нарушений углеводного обмена, уровень С-пептида, аутоиммунный статус), генетические маркеры [45, 57, 58].

1.4.1 Характер манифестации нарушений углеводного обмена.

Доклиническая диагностика СД1 повышает вероятность развития ремиссии СД1 в детском возрасте, в то время как при острой манифестации с диабетическим кетоацидозом, напротив, частота развития ремиссии низкая, что обусловлено взаимосвязью между развитием диабетического кетоацидоза и небольшим количеством резидуальной β-клеточной массы [59, 60]. В исследовании DPV, проведенном в Германии и Австрии, проанализированы данные 3657 детей с СД1. Показано, что у детей, у которых развивалась частичная клинико-лабораторная ремиссия, частота ДКА в дебюте заболевания была статистически значимо ниже и составляла 13%, в то время как у детей с СД1 без ремиссии частота ДКА составила 21% [61].

По данным различных исследований, значительное влияние на вероятность развития ремиссии оказывает возраст на момент диагностики СД1. Наименьшая частота развития частичной ремиссии отмечается у детей раннего возраста (до 2-5 лет) и составляет 16,7-27,4%, у детей старше 5 лет - 37,1%-42,1%. Наиболее часто, в 56,6%, ремиссия развивается при дебюте СД в предпубертатном и постпубертатном возрасте [48, 60-64]. Более того, выявлена ассоциация между возрастом диагностики СД1 и длительностью ремиссии - у старших детей наблюдается более длительная ремиссия. Предполагается, что это обусловлено более медленной аутоиммунной деструкцией β-клеток у старших детей по сравнению с детьми дошкольного

возраста и более выраженным аутоиммунным ответом у маленьких детей [45, 57].

Данные о влиянии пола на вероятность развития ремиссии противоречивы. В некоторых исследованиях показано, что мужской пол является одним из предикторов развития ремиссии СД1 и большой ее длительности [59].

1.4.2 Аутоиммунный статус

Ассоциации между наличием специфических островковых ААт, их титром и вероятностью развития ремиссии не были установлены во многих исследованиях. Однако в единичных исследованиях получены данные, что в случаях выявления только одного типа ААт при диагностике СД1 частота ремиссии и ее длительность повышается [65].

1.5 Искусственные нейронные сети в дифференциальной диагностике СД.

MODY — редкая моногенная форма СД [66]. Правильный диагноз MODY имеет существенное значение для лечения пациента: некоторые формы MODY диабета требуют проведения интенсифицированной инсулинотерапии, в то время как при других формах могут успешно применяться таблетированные сахароснижающие препараты или вообще отсутствовать необходимость в медикаментозной терапии. Кроме того, верный диагноз MODY определяет прогноз заболевания и позволяет оценить риск развития диабета у членов семьи.

Выявление определенного варианта MODY дает возможность прогнозировать динамику нарушений углеводного обмена и оценить риск развития специфических осложнений, выбрать персонализированную терапию для пациента и необходимость применения междисциплинарного подхода, а также провести семейное медико-генетическое консультирование в семьях пробанда. Так как генетическое тестирование требует существенных экономических и временных затрат, направление на молекулярно-генетическое исследование должно проводится при достаточных основаниях.

Искусственные НС, как подкласс машинного обучения, представляют собой адаптивные, обучающие и вычислительные функции, которые имитируют структуру и поведение нейронов в человеческом мозгу [67]. Этот алгоритм может быть обучен различать и классифицировать сложные закономерности заболеваний с помощью итеративного процесса обучения. После надлежащего обучения НС могут прогнозировать с большей точностью, чем традиционные статистические модели. Благодаря своей способности выявлять многогранные нелинейные отношения между предикторами и исходами НС нашли эффективное применение в СППВР [68].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы и дизайн исследования

Проанализирована база данных пациентов с СД в возрасте от 0 до 18 лет, получивших стационарное клинико-лабораторное обследование за период 2016 – 2021гг.

Обследование и набор пациентов проводился в ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр» Минздрава России (президент – академик Дедов И.И., директор - д.м.н., профессор, член-корр. РАН Мокрышева Н.Г.) на базе детского отделения сахарного диабета (зав. отделением д.м.н. Лаптев Д.Н.) Института Детской эндокринологии (директор – д.м.н., профессор Безлепкина О.Б.). Дополнительный набор пациентов проходил в период с 2019 по 2021 гг.

Способ формирования выборки изучаемой популяции: сплошной.

Дизайн исследования: активное, поперечное, проспективное, с ретроспективным компонентом.

Репрезентативность выборки обеспечивалась большим объемом обследованных пациентов с учетом распределения по возрасту и полу.

Критерии включения:

1. Сахарный диабет, установленный на основании общепринятых критериев диагностики (ISPAD 2018г., Клинические рекомендации «Сахарный диабет 1 типа у детей», 2022г.) или сахарный диабет MODY типа, подтвержденный на основании результатов молекулярно-генетического исследования.
2. Возраст от 0 до 18 лет.
3. Наличие данных по оценке резервной функции β-клеток и иммунологического обследования на наличие специфических ААт.

Критерии исключения:

1. Синдромальные формы СД
2. Неонатальный СД
3. СД2

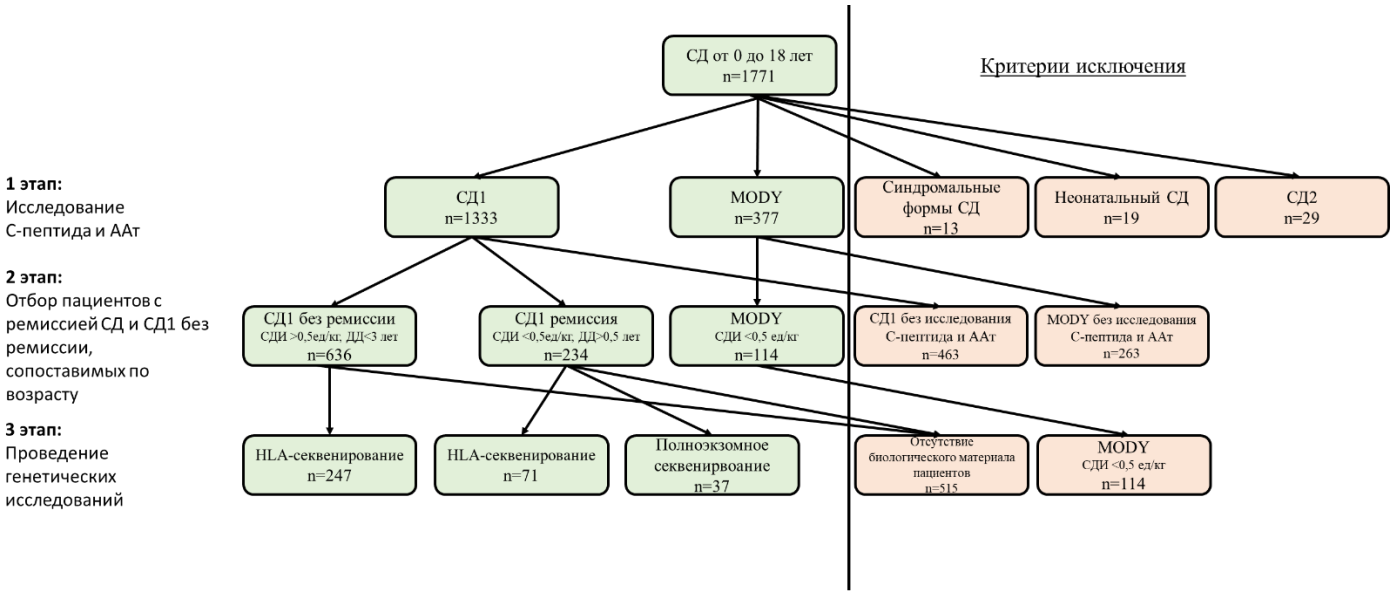

Рисунок 1. Дизайн исследования.

Проанализированы данные 1771 пациента с СД. Пациенты с синдромальными формами и с СД2 были исключены из дальнейшего анализа.

На первом этапе, вошедшие в исследование 1333 пациентов с СД, которым было проведено исследование уровня С-пептида, глюкозы и ААт, были распределены на две группы: пациенты с СД1 и пациенты с MODY.

Пациенты с СД1 (n=1333) разделены на группы в зависимости длительности СД1: 1 группа – длительность менее 1 года, 2 группа - от 1 года до 5 лет, 3 группа - более 5 лет. Группы пациентов дополнительно разделены на подгруппы по стадии полового созревания на момент манифестации СД1: допубертат и пубертат (2-5 стадии полового развития по Таннеру).

На втором этапе отобраны пациенты, соответствующие критериям ремиссии СД1 (n=324): длительность СД более 6 месяцев, суточная потребность в инсулине менее 0,5 ед/кг. Группой сравнения являлись пациенты с

длительностью СД1 менее 3 лет без ремиссии (n=636) с суточной потребностью в инсулине более 0,5 ед/кг, сопоставимые по длительности СД. В дальнейшем проведено сравнение пациентов с полной ремиссией СД1 (пациенты с отсутствием потребности в инсулине) (n=43) с пациентами с частичной ремиссией СД1 (n=191).

На третьем этапе 318 пациентам с СД1 (биологический материал которых был доступен: СД1 без ремиссии (n=247), СД1 с ремиссией (n=71)), проведено HLA-секвенирование.

37 пациентам с длительной ремиссией (более 1 года) проведено полноэкзомное секвенирование.

Пациенты с полной ремиссией СД1, имеющие результаты ПГТТ в 0, 30, 60, 90, 120 минутах после нагрузки глюкозой (n=43) сравнены с пациентами с MODY (n=114).

Дополнительным этапом исследования являлось создание СППВР. Для обучения нейронной сети отобрано 1348 пациентов (1045 – СД1 и 303 – MODY). Для тестирования оценки производительности отобрано 362 пациента (288 – СД1 и 74 – MODY) ранее не участвующих в исследовании.

2.2 Методы исследования

Общеклиническое обследование включало сбор жалоб, анамнеза жизни и заболевания, изучение наследственного анамнеза, осмотр, оценку антропометрических данных с расчетом ИМТ (по формуле ИМТ (кг/м^2) = масса(кг)/рост^2(м^2)). ИМТ анализировался индивидуально по нормативам для конкретного возраста и пола и был представлен в виде числа стандартных отклонений от среднего (SDS — standard deviation score). Диагностическим критерием избыточной массы тела считался SDS ИМТ >1,0-2,0, ожирения - >2,0.

Лабораторно-инструментальная диагностика

Всем пациентам был выполнен спектр лабораторно-инструментальных исследований на базе биохимической лаборатории (зав. Никанкина Л.В.) и отделения функциональной диагностики ФГБУ «НМИЦ эндокринологии»:

- Гликированный гемоглобин (HbA1c) - определялся методом жидкостной ионообменной хроматографии на анализаторе «Diastat» («BioRad», США) с использованием набора того же производителя по унифицированной методике.

- Гормональные исследования крови: уровень иммунореактивного инсулина (ИРИ) и С-пептида оценивался методом усиленной хемилюминесценции на анализаторе COBAS 6000 фирмы «RocheDiagnostics» (Швейцария). Референсные значения С-пептида — 1,1–1,4 нг/мл. Уровень С-пептида менее 0,01 нг/мл оценивался как неопределяемый, более 0,01 нг/мл оценивался как определяемый, в том числе: от 0,01 до 0,5 нг/мл — как остаточный, 0,5-1,1 нг/мл — сохранный, более 1,1 нг/мл — нормальный.

- Иммунологическое исследование: количественное определение ААт ICA, GADA и IAA проводилось с помощью иммуноферментных наборов «Isletest-ICA, GADA, IAA» фирмы «Biomerica», Ат к тирозинфосфатазе (IA-2A) - наборов «Medizym» фирмы «Medipan MGBH», Ат к ZnT8 – иммуноферментных наборов Zinc Transporter 8 Autoantibody Human ELISA фирмы «BioVendor». Положительным результатом считался уровень выше двух норм: ZnT8A — >15 ед/мл; IA-2A, GADA, IAA — >20 ед/мл, ICA — >2.

HLA-типирование

Для оценки генетического вклада в состояние ремиссии при СД1, были отобраны ранее описанные в литературе предрасполагающие и протекторные DR-DQ гаплогенотипы, а также не-DR-DQ локусы в пределах HLA региона:

HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DPB1. В анализ были включены только аллели с частотой встречаемости не менее 1,0% в общей группе. Для DR-DQ аллелей отдельно анализировались как частоты гаплотипов, так и их взаимодействий (генотипы), обладающие дополнительным риском или защитой по отношению к изолированному гаплотипу. Также для каждой группы был рассчитан показатель полигенного риска (genetic/polygenic risk score) по методологии описанной ранее [114]. Для расчета данного показателя необходимо вычислить сумму, взвешенных на основании регрессионных коэффициентов, всех анализируемых предрасполагающих и протекторных аллелей [114]. При этом DR-DQ гапло- и генотипы не суммируются между собой, то есть при наличии соответствующего генотипа, учитывается только его регрессионный коэффициент, а гаплотип учитывается только при отсутствии соответствующего генотипа.

Молекулярно-генетическое исследование

Молекулярно-генетическое исследование проводилось в лаборатории генетики моногенных эндокринных заболеваний ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ. Забор крови производился из локтевой вены вне зависимости от приема пищи в пробирки с консервантом этилендиаминтетраацетатом (ЭДТА) в концентрации 1,2–2,0 мг на 1 мл крови. Геномную ДНК извлекали роботизированной станцией Allsheng Autopure-96 (Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd., China) из периферической крови с использованием набора для выделения геномной ДНК из цельной крови NucleoMag Blood (MN). Выделенную ДНК качественно и количественно анализировали с помощью спектрофотометра Eppendorf Biospectrometer Fluorescence (Eppendorf AG, Germany) и набора Qubit dsDNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) соответственно.

- **Панель «Сахарный диабет-гиперинсулинизм»**

Подготовку полногеномной библиотеки (KAPA HyperPlus, Roche, Швейцария) и обогащение матрицы ДНК (KAPA HyperCapture, Roche, Швейцария) производили в соответствии с протоколами производителя (Roche (La Roche Ltd). Кастомная панель включала в себя в том числе кодирующие области 27 генов: *GCG, GLUD1, WFS1, HNF1A, GCK, INS, HNF1B, ABCC8, HNF4A, RFX6, PTF1A, NEUROD1, AKT2, ZFP57, INSR, EIF2AK3, PPARG, PAX4, PDX1, GLIS3, KCNJ11, SLC16A1, FOXP3, BLK, CEL, KLF11, SCHAD, GCGR* которые, по научным литературным данным и базы данных из OMIM, были описаны при моногенных формах СД. Исследование проведено методом массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения (2x100 п.о.).

- **Полноэкзомное секвенирование**

Подготовку полногеномной библиотеки (KAPA HyperPlus, Roche, Швейцария) и обогащение матрицы ДНК (KAPA HyperCapture, Roche, Швейцария) производили в соответствии с протоколами производителя, используя набор зондов KAPA HyperExome (Roche, Швейцария). Исследование проведено методом массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевого чтения (2x100 п.о.).

Обработка данных секвенирования проведена с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением компьютерных алгоритмов предсказания патогенности вариантов (SIFT, PolyPhen-2 HDIV, Polyphen-2 HVAR, PROVEAN, CADD). Для оценки популяционных частот выявленных

вариантов использованы данные международного проекта gnomAD Exomes для экзонных вариантов и базы gnomAD Genomes для интронных вариантов. Для предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга и прилежащих к сайту сплайсинга интронных участках использованы программы SpliceAI и AdaBoost.

Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, HGMD и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов дано с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS. В заключение включены только варианты, имеющие возможное отношение к клиническим проявлениям у пациента. Полиморфизмы, классифицированные по различным критериям как нейтральные, не включены в заключение.

Анализировались панели, средняя глубина покрытия которых была не менее 70x, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10x – не менее 97%.

Диагностические пробы

- **Пероральный глюкозотолерантный тест.** Если пациент находился на терапии пероральными сахароснижающими препаратами, то препараты метформина отменялась за 1 неделю до проведения исследования. Проба проводилась натощак (последний прием пищи за 12 часов до пробы). Базальный образец крови забирался до завтрака, путем пункции и постановки венозного катетера. После забора крови натощак пациент должен не более чем за 5 мин выпить раствор глюкозы из расчета 1,75 гр. безводной глюкозы на кг массы тела, но не более 75 гр. Забор крови производился через 30, 60, 90 и 120 мин после нагрузки глюкозой. В ходе пробы оценивались уровни глюкозы, инсулина и С-пептида.

- **Проба со стандартным жидким завтраком.** Стимулированная секреция инсулина и С-пептида оценивалась после приема специализированного питания Clinutren Junior, Nestlé Health Science (1 ккал/мл; 65% углеводов, 20% жиров и 15% белка) из расчета 6 мл препарата на кг веса, но не более 360 мл. Если пациент находился на инсулинотерапии - инсулин короткого действия не вводился в течение, как минимум, 6 часов до начала теста. Утренняя инъекция инсулина длинного действия в день проведения теста откладывалась до окончания теста (при использовании инсулиновой помпы базальная инфузия сохраняется). Если пациент получал инсулин продленного действия в вечернее время, то накануне теста он не отменялся. Если пациент находился на терапии пероральными сахароснижающими препаратами, то препараты метформина отменялась за 1 неделю до проведения исследования. Проба проводилась натощак (последний прием пищи за 12 часов до пробы). Базальный образец крови забирался до завтрака, путем пункции и постановки венозного катетера. После забора крови натощак пациент должен был выпить смесь не более, чем за 5 минут. Забор крови производился через 60 и 120 мин после завтрака. В ходе пробы оценивались уровни глюкозы, инсулина и С-пептида.

Инсулинорезистентность оценивалась по индексам HOMA-IR и Matsuda. Индекс HOMA-IR (homeostasis model assessment) рассчитывался по формуле: $(ИРИ_0 \times Гл_0)/22,5$, где ИРИ — иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл, Гл — глюкоза, ммоль/л. ИР диагностировалась при значении индекса HOMA>3,2. Индекс Matsuda рассчитывался по формуле $10000/\sqrt{(ИРИ0 \times Г0 \times ИРИ_{среднее} \times Гл_{среднее})}$, где ИРИ — иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл, Гл — глюкоза, ммоль/л. ИР диагностировалась при значении индекса Matsuda<2,6.

Модель клинического прогнозирования сахарного диабета MODY типа у детей

Для разработки модели был проведен ретроспективный анализ клинических данных пациентов с СД1 и СД MODY типа (из регистра СД детского отделения сахарного диабета ФГБУ «НМИЦ эндокринологии») в возрасте от 0 до 18 лет, независимо от длительности заболевания. Разработчик программы – д.м.н. Лаптев Д.Н.

- **Предикторы и прогнозируемые показатели**

В качестве предикторов исходно были отобраны 7 показателей, продемонстрировавших взаимосвязь с типом СД в ранее проведенных исследованиях [69, 70]: пол, возраст паспортный, возраст на момент манифестации СД, HbA1c, ИМТ SDS, отягощенная по СД наследственность родителей, получаемое лечение. Прогнозируемым, выходным показателем являлся тип СД: СД1 или MODY.

- **Подготовка данных**

Для достижения максимальной производительности и более простой реализации модели, исходный массив данных был предварительно обработан. Проведено: 1) удаление выбросов и исключение из анализа данных пациентов с более чем 30% отсутствующих значений; 2) приведение числовых значений переменных к одинаковой области их изменения с использованием алгоритма минимакс-нормализации; 3) Подстановка (замена) отсутствующих значений (для случаев с менее чем 30% отсутствующих данных) используя метод k-ближайших соседей или kNN с евклидовым расстоянием $k = \sqrt{N}$, где N размер выборки. 4) Отбор наиболее значимых признаков с использованием критерия Хи-квадрат (для бинарных признаков) и однофакторный дисперсионный анализ ANOVA (для непрерывных признаков).

- **Реализация искусственной нейронной сети**

НС представляет собой абстракцию структуры человеческого мозга и пытается имитировать ее работу [6]. НС состоит из одного входного и выходного слоя, а также одного или нескольких скрытых слоев (рис. 2).

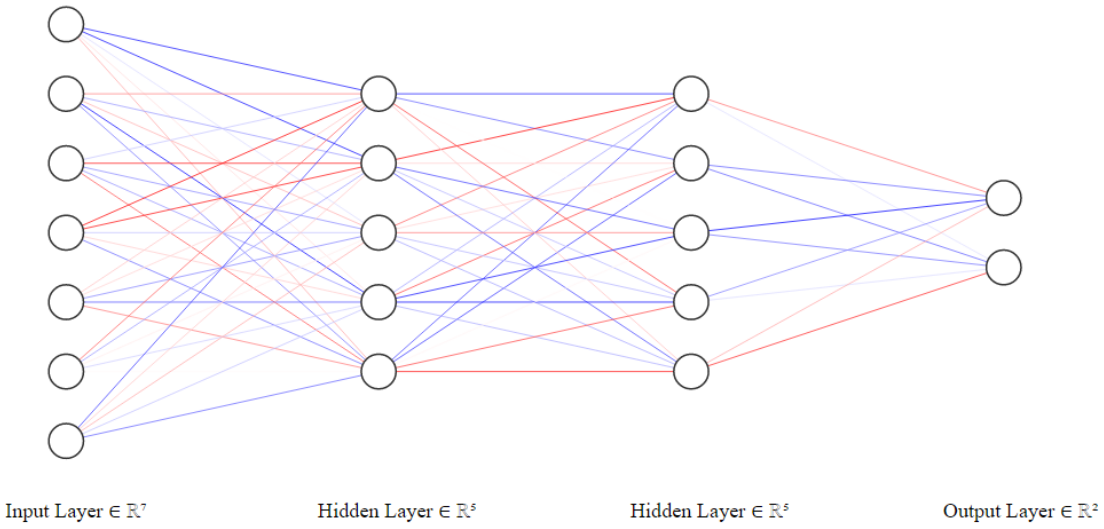

Рисунок 2. Конфигурация нейронной сети.

Примечания: Input layer – входной слой, Output layer – выходной слой, Hidden Layer скрытые слои.

Каждый слой НС включает несколько нейронов, которые выполняют разные задачи. Входной слой получает данные и, при необходимости, преобразует их в нормализованные фрагменты, подходящие для математических вычислений. Процесс вычисления происходит в скрытых слоях, которые имеют наибольшее количество нейронов и выполняют операцию вычисления на основании межнейронных связей – весов. Выходное значение нейрона определяется функцией активации в зависимости от результата взвешенной суммы входов и порогового значения. В выходном слое нейроны получают результаты вычислений слоя обработки и представляют их пользователю.

В этом исследовании, с использованием открытой библиотеки Keras 2.9.0, на языке программирования Python 3.10.2, была реализована НС прямого распространения – многослойный перцептрон. Keras — это API глубокого

обучения, написанный на Python и работающий поверх платформы машинного обучения TensorFlow.

В качестве функции активации нейронов скрытых слоев использовалась функция ReLu (rectified linear unit). Для коррекции весов нейронов НС при обучении модели использовался оптимизированный метод стохастического градиентного спуска Adam – ADAptive Momentum. В качестве функции потерь использовалась категориальная перекрестная энтропия.

Гиперпараметры НС подбирались эмпирически до получения наилучшей конфигурации НС, с учетом оптимальной скорости обучения и производительности. Для сравнения различных конфигураций использовалась площадь под ROC кривой (AUC-ROC) и показатели матрицы несоответствий (таблицы кросс-табуляции).

- **Система поддержки принятия врачебных решений**

Финальная математическая модель НС была реализована в виде программы для ЭВМ (IBM PC-совместимый ПК), в качестве СППВР для определения вероятности у пациента MODY диабета. Программа реализована на языке программирования Python 3.10.2 с использованием открытых библиотек PySimpleGUI 4.60.3 и Keras 2.9.0.

- **Оценка производительности НС**

Для построения модели и оценки её качества, общая выборка разделена на тренировочную и тестовую в соотношении 80%:20%. При обучении НС тренировочная выборка была также разделена на непосредственно тренировочную и валидационную в соотношении 80%:20%.

Для оценки конфигурации НС были проанализированы показатели матрицы несоответствий (таблицы кросс-табуляции):

1) Специфичность: TN / (TN + FP)
2) Чувствительность или полнота (recall): TP / (TP + FN)

3) Прогностическая ценность положительного результата (ПЦПР) или точность (precision) с поправкой на преваленс: Чувствительность · Частота MODY/[Чувствительность · Частота MODY + (1 − Специфичность) · (1 − Частота MODY)].
4) Прогностическая ценность отрицательного результата (ПЦОР) с поправкой на преваленс: Специфичность · (1 − Частота MODY)/[Специфичность · (1− Частота MODY)+(1− Чувствительность) · Частота MODY].
5) Доля правильных ответов или общая точность (accuracy): (TP + TN) / (TP + TN + FP + FN)

Где истинно положительные (TP) и истинно отрицательные (TN) — случаи MODY и СД1, правильно, а ложноотрицательные (FN) и ложноположительные (FP) — неправильно классифицированные моделью.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка проводилась в Python 3.10.2 с использованием открытых библиотек: statsmodels 0.13.2 (Seabold, Skipper, and Josef Perktold. “statsmodels: Econometric and statistical modeling with python.” Proceedings of the 9th Python in Science Conference. 2010), SciPy 1.9.1. Количественные признаки, независимо от распределения, описывались при помощи медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей (Q1-Q3). Различие между количественными признаками в независимых выборках оценивалось с помощью критерия Манна–Уитни. В случае множественных сравнений использовалась поправка Бонферрони. Качественные данные представлены в виде абсолютных значений (n) и/или частот (%). Доверительный интервал для биноминальных пропорций (частот) рассчитывался методом Агрести – Коулла. Для сравнения частот в каждой изучаемой группе использовались таблица кросстабуляции и статистика $\chi 2$ с поправкой на непрерывность, когда это необходимо (количество ожидаемых наблюдений в любой из ячеек <5). При оценке риска

генетического вклада в развитие состояния ремиссии при СД1 проводилась корректировка на конфаундеры (пол и возраст манифестации СД) с использованием логистической регрессии, поправка Бонферрони на множественные сравнения не применялась из-за ее чрезмерно консервативного характера. Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Этическая экспертиза

Локальным Этическим комитетом ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии» Минздрава России, согласно протоколу № 17 Заседания Комитета от 23.10.2019, постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе Института Детской эндокринологии ФГБУ «НМИЦ эндокринологии».

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Сахарный диабет 1 типа у детей

Проанализированы клинико-лабораторные данные 1333 детей с сахарным диабетом 1 типа, кому проводилось исследование уровня С-пептида и специфических островковых ААт ZnT8A, IA-2A, GADA, IAA.

Клинико-лабораторная характеристика представлена в табл.1.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика обследованных пациентов

	Всего 1333 ребенка
Возраст, лет	10,5 [6,6;14,1]
Длительность диабета, лет	1,8 [0,8;3,9]
Возраст манифестации, лет	7,0 [3,7;10,5]
Соотношение полов, м/ж	662/671
Гликированный гемоглобин, %	7,6 [6,6;7,8]
С-пептид, нг/мл	0,22 [0,01;0,729]
Неопределяемый уровень С-пептида (<0,01 нг/мл), %	31,5 [29,1-34,0]
Определяемый уровень С-пептида (>0,01 нг/мл), %	68,5 [66,0-70,9]
Остаточный уровень С-пептида (0,01-0,5 нг/мл), %	32,5 [30,0-35,1]
Сохранный уровень С-пептида (0,05-1,1 нг/мл), %	20,9 [18,8-23,2]
Нормальный уровень С-пептида (>1,1 нг/мл), %	15,1 [13,3-17,1]

Примечания. Описательная статистика количественных признаков представлена медианами, интерквартильными интервалами - Me [Q1; Q3], качественных признаков - относительными частотами, их 95% доверительными интервалами - % [95% ДИ].

При анализе функции β-клеток определяемая секреция С-пептида отмечалась у 68,5% [66.0-70.9] пациентов (медиана длительности заболевания 1.8 лет [0,8;3,9]).

3.1.1 Динамика уровня С-пептида в зависимости от возраста манифестации и длительности СД1

С целью изучения динамики уровня С-пептида пациенты были распределены на 3 группы в зависимости от длительности СД1: 1 группа – длительность менее 1 года, 2 группа - от 1 года до 5 лет, 3 группа - более 5 лет. Группы пациентов разделены на подгруппы по стадии полового созревания на момент манифестации СД1: допубертат (А) и пубертат (2-5 стадии полового развития по Таннеру) (Б). Клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в табл.2.

Таблица 2. Характеристика групп пациентов в зависимости от возраста манифестации и длительности СД1.

Показатели	**Длительность СД1**					
	Группа 1 (< 1 года)		**Группа 2 (1 год - 5 лет)**		**Группа 3 (>5 лет)**	
	Возраст манифестации СД1					
	А. Допубертат n=245	**Б. Пубертат n=182**	**А. Допубертат n=383**	**Б. Пубертат n=319**	**А. Допубертат n=143**	**Б. Пубертат n=61**
Возраст, лет	4,5 [2,8–6,5]	13,1 [10,9–15]	7,2 [5,2–9,1]	13,8 [12,3–15,6]	11,7 [9,4–14,1]	16,6 [15,3–17,3]
Длительность диабета, лет	0,5 [0,4–0,8]	0,6 [0,3–0,8]	2,2 [1,5–3,2]	2,2 [1,4–3,1]	6,3 [6–7,4]	6,1 [5,5–7,3]
Возраст манифестации, лет	4,1 [2,2–6]	12,3 [10,2–14,5]	4,8 [2,8–6,5]	11,5 [9,8–13,1]	4,2 [2,5–6,9]	9,6 [9,1–10,7]
Соотношение полов, м/ж	128/117	81/101	197/186	147/172	68/75	21/40

Гликированный гемоглобин, %	7,2 [6,4–8,6]	7,2 [6,4–8,6]	7,3 [6,6–8,2]	7,8 [6,8–9,3]	8,2 [7,5–8,9]	8,4 [7,3–10,1]
С-пептид, нг/мл	0,38 [0,1–0,63]	1,02 [0,61–1,51]	0,01 [0,01–0,15]	0,5 [0,13–1,07]	0,01 [0,01–0,01]	0,01 [0,01–0,23]

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3].

Неопределяемый уровень С-пептида (<0,01 нг/мл) статистически значимо чаще во всех группах (1-3) отмечался у детей с манифестацией СД1 в допубертатном возрасте: при длительности СД1 менее 1 года в 13% [9,3-17,8] (группа 1 А) и 5% [2,5-9,3] (группа 1Б) (p=0,039), при длительности СД1 от 1 до 5 лет – 51% [46,0-56,0] (группа 2А) и 14% [10,6-18,3] (группа 2Б) (p<0,001), при длительности СД1 более 5 лет – 82% [74,8-87,5] (группа 3А) и 50% [37,8-62,2] (группа 3Б) (p=0,001) (рис 3А).

Остаточная секреция С-пептида (>0,01-0,5 нг/мл) при манифестации СД1 у детей в допубертатном возрасте в сравнении с пубертатом, значимо чаще отмечалась при длительности СД1 менее 1 года – 52% [45,8-58,2] (группа 1А) против 17% [12,2-23,2] (группа 1Б) (p<0,001), при длительности СД1 от 1 года до 5 лет достоверных различий не получено: 2А – 35% [30,4-39,9], 2Б – 36% [30,9-41,4] (p=0,861). При длительности СД1 более 5 лет статистически значимо чаще остаточная секреция выявлялась у пациентов с манифестацией заболевания в пубертатном возрасте: 3А – 14% [9,2-20,7], 3Б – 30% [19,9-42,5] (p=0,039) (рис 3Б).

Сохранная секреция С-пептида (>0,5-1,1 нг/мл) значимо чаще отмечалась у пациентов с манифестацией заболевания в пубертатном возрасте при длительности СД1 от 1 до 5 лет: 2А – 12% [9,1-15,7], 2Б – 25% [20,6-30,0] (p=0,001). Тогда как в группах с длительностью СД1 менее 1 года и более 5 лет статистически значимых различий не получено:1А – 29% [23,7-35,0], 1Б – 34% [27,5-41,2] (p=0,43); 3А – 2% [0,4-6,1], 3Б – 9% [3,7-19,2] (p=0,102) (рис 3В).

Нормальный уровень С-пептида (>1,1 нг/мл) также значимо чаще отмечался у детей с манифестацией СД1 в пубертатном возрасте во всех группах: 1А – 6% [3,6-9,8], 1Б – 44% [37,0-51,3] (p<0,001); 2А – 2% [0,9-4,0], 2Б – 25% [20,6-30,0] (p<0,001); 3А – 2% [0,4-6,1], 3Б – 11% [5,0-21,6] (p=0,033) (рис 3Г).

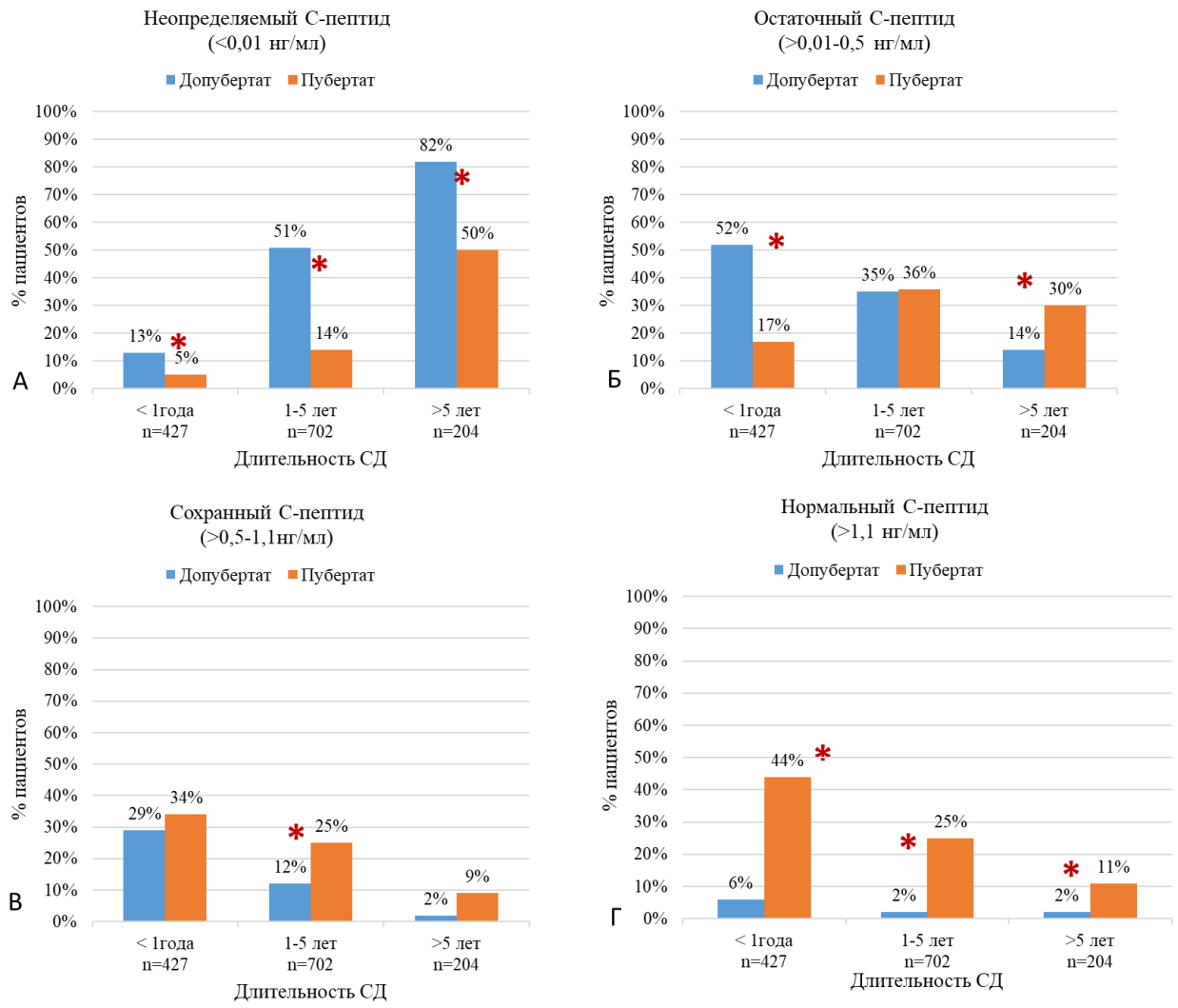

Рисунок 3. Уровень секреции С-пептида в зависимости от возраста манифестации и длительности СД1. А – неопределяемый уровень С-пептида (<0,01нг/мл); Б – остаточный уровень С-пептида (>0,01-0,5 нг/мл); В – сохранный уровень С-пептида (>0,5-1,1 нг/мл); Г – нормальный уровень С-пептида (>1,1 нг/мл). Для сравнения групп использовались критерий Хи-квадрат. * - p<0,05.

169 пациентам с определяемым базальным уровнем С-пептида (>0,01нг/мл) исследованы стимулированные уровни С-пептида в ходе пробы со

стандартным жидким завтраком. Уровень С-пептида натощак и в ходе стимуляции был выше у детей с манифестацией СД1 в пубертатном возрасте вне зависимости от длительности СД1 (рис 4).

У детей с длительностью СД1 менее 1 года (рис. 4А) в обеих подгруппах, ожидаемо выше секреция С-пептида как натощак (подгруппа 1А – 1,0 нг/мл [0,34;1,0], подгруппа 1Б – 1,42 нг/мл [0,89;2,13]) (p=0,000), так и на фоне стимуляции через 60 мин (подгруппа 1А – 2,3 нг/мл [0,9;2.9], подгруппа 1Б – 3,42 нг/мл [2,5;4,6]) (p=0,006) и 120 минут (подгруппа 1А – 1,99 нг/мл [1,0;2,5], подгруппа 1Б – [3,37 нг/мл [2,0;5,1]) (p=0,001).

Во второй группе (рис. 4Б) медиана базальной секреции в подгруппе 2А составила 0,42 нг/мл [0,15;0,75], в подгруппе 2Б – 1,05 нг/мл [0,7;1,81] (p=0,001), медиана секреции через 60 минут в подгруппе 2А – 1,2 нг/мл [0,35;2,47], подгруппа 2Б – 2,52 нг/мл [1,5;4,4]) (p=0,001), через 120 минут –в подгруппе 2А – 1,13 нг/мл [0,3;3,22], подгруппа 2Б – 2,77 нг/мл [1,36;3,88] (p=0,001).

По данным нашего исследования, при длительности СД1 более 5 лет (рис.

4В) у 23% пациентов также сохранялась определяемая секреция С-пептида

Натощак (подгруппа 3А – 0,15 нг/мл [0,1;0,4], подгруппа 3Б – 0,83 нг/мл [0,27;1,2]) (p=0,001) и на фоне стимуляции (через 60 минут - подгруппа 3А – 0,49 нг/мл [0,21;0,63], подгруппа 3Б – 1,76 нг/мл [0.2;3.2] (p=0,001), через 120 минут - подгруппа 3А – 0,45 нг/мл [0,19;0,58], подгруппа 3Б – 1,97 нг/мл [0,3;3,4]) (p=0,001).

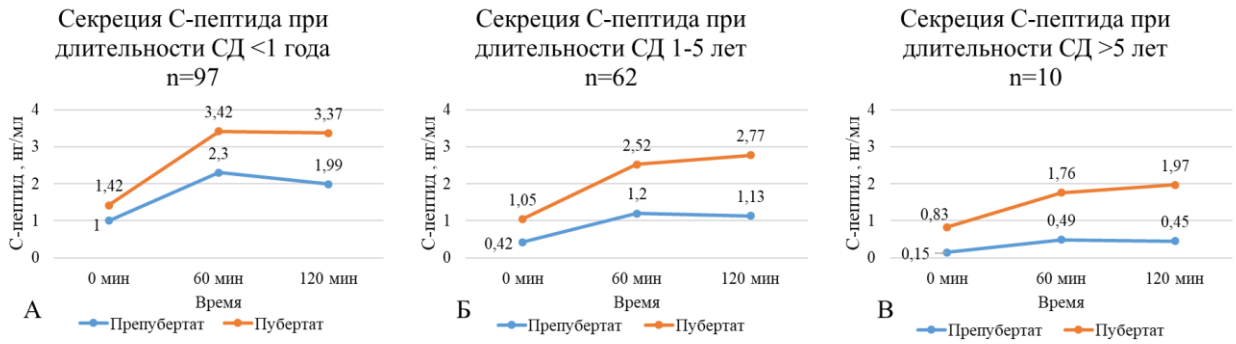

Рисунок 4. Секреция С-пептида в ходе пробы со стандартным жидким завтраком. А – группа пациентов с длительность СД1 менее 1 года, Б – группа пациентов с длительностью СД1 от 1 до 5 лет, В – группа пациентов с длительность СД1 более 5 лет.

3.1.2 Особенности иммунологического статуса детей в зависимости от возраста манифестации и длительности СД1

Медиана длительности заболевания в общей группе (таблица 1) всех пациентов составила 1,8 лет [0,8;3,9]. Среди них серопозитивность (ААт+), то есть положительный результат по одному или более виду ААт, встречалась у 1017 пациентов (76,3% [73,9-78,5]), в то время как у 316 детей (23,7% [21,5-26,1]) ААт не выявлялись.

Среди пациентов с длительностью СД1 менее 1 года частота серопозитивного статуса встречалась у 74% [69,6-77,9], что предсказуемо выше, чем в группах с большей длительностью СД1. С увеличением продолжительности заболевания отмечается тенденция к снижению количества ААт+ пациентов в группах: при длительности от 1 года до 5 лет – 69% [65,5-72,3], при длительности СД1 более 5 лет – 48% [41,2-54,8].

Серопозитивность по одному или более виду ААт в подгруппах 1А и 1Б встречается в 71% [65,0-76,3] и 80% [73,6-85,2] случаев (p=0,024), соответственно. При анализе данных в 2А и 2Б подгруппах получены статистически значимые различия – 64% [59,1-68,6] и 76% [71,0-80,4], соответственно (p<0,001). В подгруппах 3А и 3Б также получены

статистически значимые различия – 49% [40,9-57,1] и 54% [48,5-59,4] соответственно (p<0,001).

Частота положительного уровня ААт к ZnT8 в 1А и 1Б подгруппах статистически значимо не различалась – 60% и 67% (p=0,154), тогда как в подгруппах 2Б и 3Б положительный уровень ААт к ZnT8 встречался статистически значимо чаще – 64% [53,8-65,9] и 47% [35,0-59,3], против 51% [46,0-56,0] и 33% [25,8-41,1] в подгруппах 2А и 3А, соответственно.

Исследование ААт к IA-2 в подгруппах 1 и 2 показало наличие статистически значимых различий в частоте положительного уровня IA-2A в зависимости от стадии полового развития – в подгруппах 1А и 1Б 48% [41,8-54,2] и 65% [57,8-71,6] (p<0,001), в подгруппах 2А и 2Б 47% [42,1-52,0] и 61% [55,5-66,2] (p=0.027). В подгруппе 3А и 3Б статистически значимой разницы не было получено (p=0,163).

В подгруппах 1А и 1Б, 3А и 3Б при оценке ААт к GAD статистически значимых различий не получено – 64% [57,8-69,8] против 68% [61,9-73,5] (p=0.634) и 36% [25,1-48,6] против 41% [29,5-53,5] (p=0,053), соответственно, в то время как в подгруппе 2Б положительный уровень данного вида ААт встречался статистически значимо чаще – 64% [59,1-68,6] в сравнении с подгруппой 2А 48% [43,0-53,0] (p=0,025).

При анализе ААт IAA положительный уровень статистически значимо чаще встречался у пациентов в подгруппах 1 и 2, которые манифестировали в допубертатном возрасте: 1А – 29% [23,7-35,0], 1Б – 14% [9,6-19,8] (p=0,026), 2А – 20% [16,3-24,3], 2Б – 10% [7,1-13,8] (p=0,048), в то время как в группе детей с длительностью заболевания более 5 лет статистически значимой разницы не получено 3А – 10% [6,0-16,1], 3Б – 5% [1,2-14,1] (p=0,313).

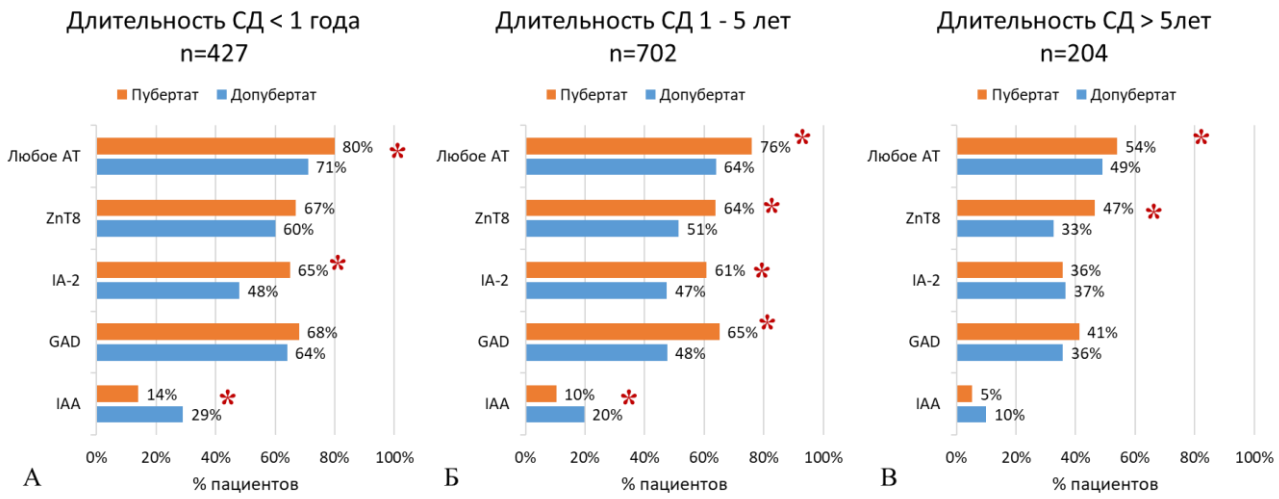

Рисунок 5. ААт+ в зависимости от возраста манифестации и длительности сахарного диабета. А – при длительности СД1 менее 1 года; Б – при длительности СД1 от 1 года до 5 лет; В – при длительности СД1 более 5 лет.

Примечания: IAA – аутоантитела к инсулину, IA-2 – аутоантитела к тирозинфосфатазе, GAD – аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе, ZnT8 – аутоантитела к транспортеру цинка 8,. Для сравнения групп использовались критерий Хи-квадрат. * - p<0,01.

3.2 Клинико-метаболическая ремиссия СД1 у детей

3.2.1 Сравнительная характеристика пациентов с ремиссией СД1 и без нее

Клинико-лабораторная характеристика пациентов с ремиссией сахарного диабета 1 типа у детей представлена в табл. 2.

Таблица 2. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с ремиссией СД1.

Показатели	**СД1 с ремиссией n=234**	**СД1 без ремиссии n=636**	**p**
Возраст (годы)	11,6 [7,7; 15,23]	7,6 [4,5; 11,7]	<0,001
Длительность СД1 (годы)	1,2 [0,8; 2,1]	1,2 [0,7; 1,9]	>0,05

Возраст манифестации	9,9 [6,6; 13,1]	6,3 [3,2; 10,1]	<0,001
Пол (м/ж)	132/102	303/333	>0,05
Гликированный гемоглобин (%)	6,8 [6,2; 7,6]	7,5 [6,8; 8,7]	<0,001
SDS ИМТ	0,19 [-0,6; 1,0]	0,16 [-0,55; 0,92]	>0,05
СДИ (ЕД/кг)	0,33 [0,1; 0,44]	0,82 [0,67; 1,0]	<0,001

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовались критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), Хи-квадрат (для качественных признаков). Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости $p<0,007$.

Группу сравнения представляли пациенты с классическим течением СД1 с длительностью заболевания до 3 лет.

Пациенты с ремиссией СД1 были статистически значимо старше пациентов без ремиссии при диагностике СД1 – медиана возраста диагностики составила 9,9 года [6,6; 13,1] и 6,3 года [3,2; 10,1] соответственно. Среди пациентов с длительной ремиссией СД1 наиболее часто нарушения углеводного обмена были диагностированы в возрасте 6-12 лет и старше 12 лет – в 42,3% [36,1-48,7] и 34,6% [28,7-40,9], соответственно. У пациентов без ремиссии в 48,6% [44,7-52,5] диабет был диагностирован в возрасте до 6 лет. У пациентов с ремиссией СД1 статистически достоверно ($p<0,001$) чаще диагностика диабета носила случайный характер – в 31,6% против 10,4% у пациентов без ремиссии. Острая манифестация СД1 была у 68,4% пациентов с ремиссией СД1 и 89,6% без ремиссии (рис.6).

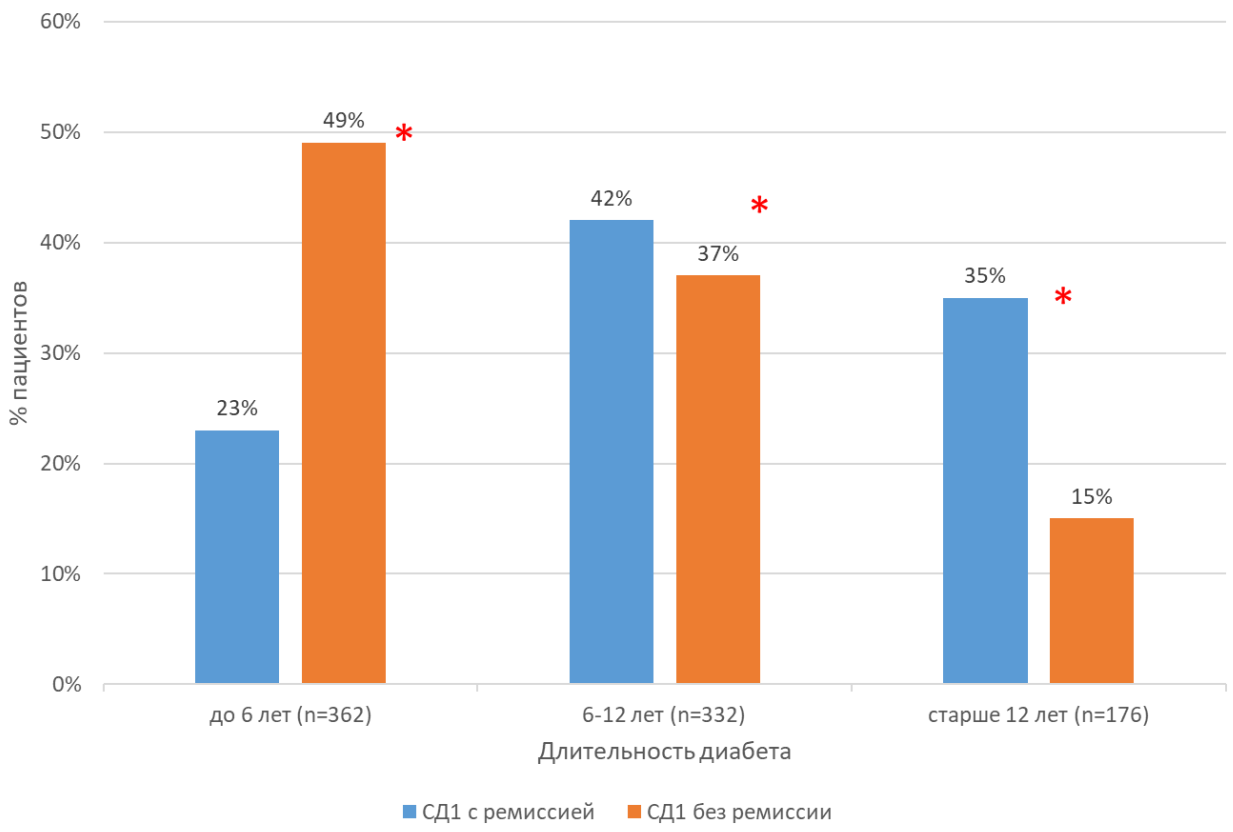

Рисунок 6. Частота выявления ремиссии в зависимости от возраста диагностики СД1. Для сравнения групп использовались критерий Хи-квадрат. * - p<0,001.

При обследовании пациенты с ремиссией СД1 были старше пациентов без ремиссии - 11,6 лет [7,7; 15,23] против 7,6 лет [4,5; 11,7]. Группы были сопоставимы по длительности заболевания. Уровень HbA1c был статистически значимо ниже у пациентов с ремиссией СД1 и составлял 6,8% [6,2; 7,6] против 7,5% [6,8; 8,7]. Группы не различались по частоте выявления ожирения.

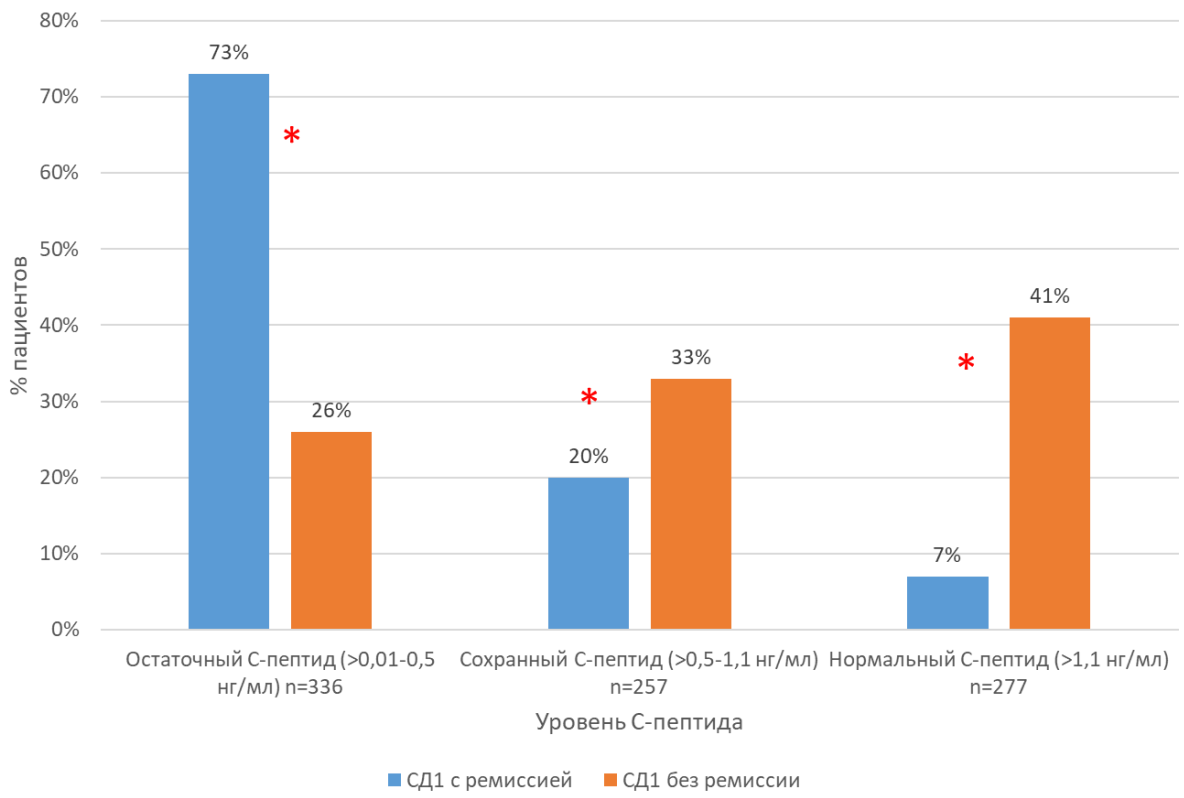

Рисунок 7. Степень сохранности С-пептида у детей с ремиссией СД1 и без ремиссии СД1. Для сравнения групп использовались критерий Хи-квадрат. * - p<0,001.

Более высокая базальная секреция С-пептида определялась при ремиссии СД1: уровень С-пептида натощак составил 0,97 нг/мл [0,48; 1,66] и 0,2 нг/мл [0,01; 0,54] у пациентов с ремиссией и без ремиссии, соответственно (p<0,001). Резервная функция β-клеток была выше у пациентов с ремиссией СД1 (рис.7): нормальная секреция С-пептида (более 1,1 нг/мл) отмечалась в 41,2% [35,1-47,6] и 6,7% [5,0-8,9], сохранная - в 32,8% [27,1-39,1] и 20,4% [17,4-23,7], остаточная – в 26,0% [20,8-32,0] и 72,9% [69,3-76,2] при ремиссии и без ремиссии СД1, соответственно. Стимулированный уровень С-пептида при длительной ремиссии СД1 составлял на 60-й минуте – 3,07 нг/мл [2,2; 4,83], на 120 минуте – 3,3 нг/мл [2,4; 5,0].

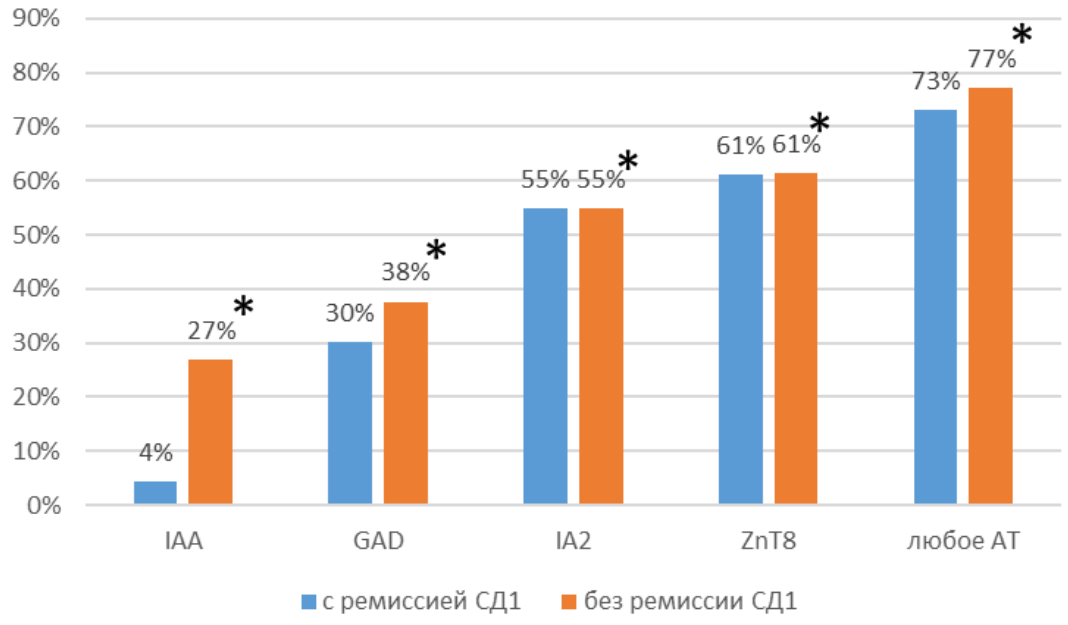

Рисунок 8. Частота положительных титров ААт (IAA, GAD, IA-2, ZnT8) у детей с ремиссией и без ремиссии СД1. * - p>0,05

Частота серопозитивности не отличалась в 2 группах и составляла 73,1% [67,1-78,4] у пациентов с ремиссией и 77,2% [73,8-80,3] у пациентов без ремиссии СД1 (p>0,05). Однако IAA статистически значимо реже определялись у пациентов с ремиссией СД1 в 4,3% по сравнению с пациентами без ремиссии – в 26,8% (рис. 8). Различий в частоте ААт к GAD, IA2, ZnT8а не получено. Титр ААт к инсулину был статистически значимо ниже у пациентов с ремиссией СД1 (табл. 3).

Таблица 3. Уровень ААт (IAA, GAD, IA-2, ZnT8) у детей с ремиссией и без ремиссии СД1.

Показатели	**СД1 с ремиссией**	**СД1 без ремиссии**	**p**
IAA, Ед/мл	3,61 [2,08; 6,14]	8,0 [3,6; 21,4]	p<0,001
GAD, Ед/мл	36,4 [4,4; 185,1]	40,4 [5,8; 220]	p>0,05
IA2, Ед/мл	49 [4,1; 327,85]	49,5 [2,1; 301,7]	p>0,05
ZnT8, Ед/мл	134,8 [10,6; 500]	79,7 [10; 385,8]	p>0,05

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовались критерий Манна-Уитни (для количественных признаков). Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,001.

Частота СД у родственников 1 степени родства не различалась в двух группах и составляла 15,0% [12.4-18.0] при ремиссии СД1 и 11,6% [9.3-14.3] при СД1 без ремиссии (p>0,05).

3.2.2 Сравнительная характеристика полной и частичной ремиссии СД1

Таблица 4. Клинико-лабораторные показатели пациентов с ремиссией СД1.

Показатели	СД1 с полной ремиссией n=43	СД1 с частичной ремиссией n=191	p
Возраст (годы)	13,0 [8,5; 15,3]	11,4 [7,7; 15,2]	>0,05
Длительность СД1 (годы)	0,9 [0,6; 1,9]	1,2 [0,8; 2,2]	>0,05
Возраст манифестации	9,9 [6,6; 13,1]	9,4 [6,0; 13,0]	>0,05
Пол (м/ж)	26/17	106/85	>0,05
Гликированный гемоглобин (%)	6,0 [5,6; 6,4]	7,0 [6,3; 7,8]	<0,001
SDS ИМТ	0,37 [-0,6; 1,04]	0,17 [-0,63; 0,99]	>0,05
СДИ (ЕД/кг)	0,0 [0,0; 0,0]	0,38 [0,25; 0,46]	<0,001

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовались Критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), Хи-квадрат (для качественных признаков). Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,007.

Пациенты с полной и частичной ремиссией не различались по возрасту диагностики, возрасту при обследовании, а также по длительности заболевания. У пациентов с полной ремиссией СД1 статистически значимо

чаще (p<0,001) нарушения углеводного обмена были диагностированы на доклинической стадии – в 60,5% [45,6-74,0%] против 25,4% [19,6-31,9%] у пациентов с частичной клинико-лабораторной ремиссией. Статистически значимо чаще у пациентов с частичной клинико-лабораторной ремиссией отмечалась острая манифестация СД1: в 20,9% случаев [10,9-34,7%] и 66,1% [59,2-72,6%] диабет диагностирован в состоянии ДКА, в 18,6% случаев [9,2-32,1%] и в 8,5% [5,1-13,1%] - в состоянии кетоза при полной ремиссии СД1 и при частичной ремиссии СД1, соответственно.

При обследовании уровень HbA1c был ниже у пациентов с полной ремиссией СД1 и составлял 6,0% [5,6; 6,4]. Резервная функция β-клеток была выше у пациентов с полной ремиссией СД1: нормальная секреция С-пептида (более 1,1 нг/мл) отмечалась в 65% [49,6-78,3] и 34,3% [26,8-42,5], сохранная (0,5-1,1 нг/мл) - в 30,0% [17,6-45,2] и 33,6% [26,1-41,8], остаточная (>0,01-0,5 нг/мл) – в 5,0% [1,1-15,1] и 32,1% [24,7-40,2] при полной и частичной ремиссии СД1, соответственно. У пациентов с полной ремиссией СД1 базальный уровень С-пептида был статистически значимо выше и составлял 1,4 нг/мл [0,9; 1,9] против 0,86 нг/мл [0,39; 1,24] при частичной ремиссии СД1 (p<0,001). Уровень стимулированного С-пептида был статистически значимо выше на 30, 60, 90, 120 минутах ПГТТ у пациентов с полной ремиссией СД1 (табл. 5).

Таблица 5. Уровень С-пептида в ходе пробы со стандартным жидким завтраком у пациентов с полной и частичной клинико-лабораторной ремиссией СД1.

	Уровень С-пептида в сыворотке, нг/мл				
	0 мин	**30 мин**	**60 мин**	**90 мин**	**120мин**
СД1 с полной ремиссией	1,4 [0,9; 1,9]	3,26 [2,61; 5,1]	4,4 [2,83; 6,6]	5,06 [3,16; 7,59]	5,04 [2,84; 7,12]
СД1 с частичной ремиссией	0,86 [0,39; 1,24]	1,88 [1,31; 2,77]	2,59 [1,85; 3,41]	2,95 [1,96; 3,84]	3,11 [1,92; 3,72]

p	<0,001	<0,001	<0,001	0,002	<0,001

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни. Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,001.

При анализе наследственного анамнеза выявлено, что при полной ремиссии СД1 статистически значимо чаще (p<0,05), в 31,4% [19,5-46,4], у родственников 1 степени родства диагностированы нарушения углеводного обмена против 12,5% при частичной ремиссии СД1.

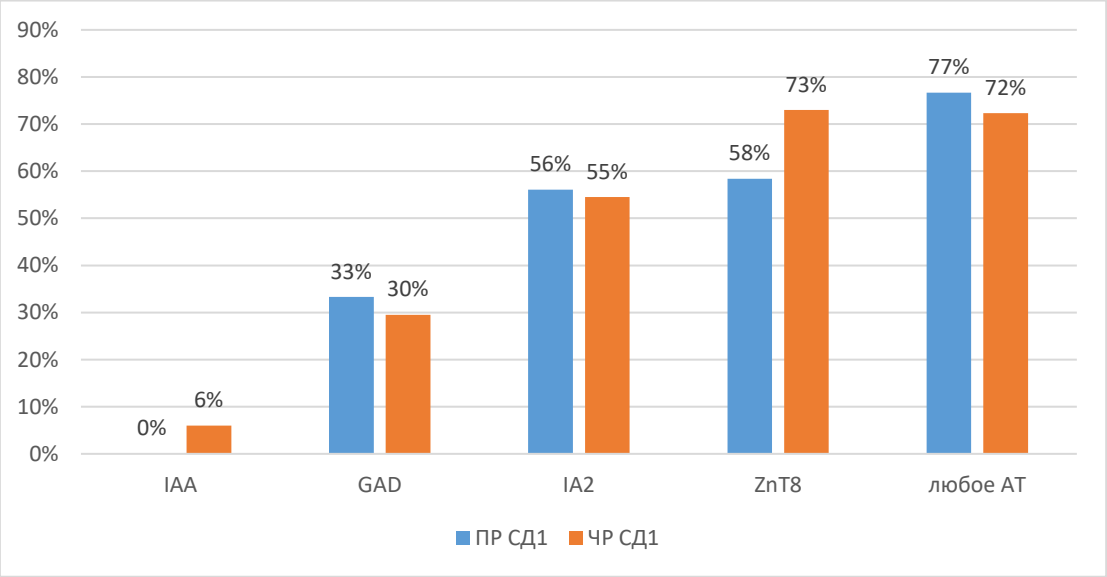

Рисунок 9. Частота выявления ААт (IAA, GAD, IA-2, ZnT8) у детей с полной и частичной ремиссией СД1.

Примечания. ПР СД1 – полная ремиссия СД1, ЧР СД1 – частичная ремиссия СД1

Частота выявления ААт (рис.9) не различалась (p>0,05) в 2 группах и составляла 76,7% [62,7-87,4] у пациентов с полной ремиссией СД1 и 72,3% [65,6-78,2] у пациентов с частичной ремиссией СД1 (p>0,05). Различий в частоте выявления ААт IAA, GADA, IA2A, ZnT8A не получено (табл. 6).

Таблица 6. Уровень ААт (IAA, GADA, IA-2A, ZnT8A) у детей с полной и частичной ремиссией СД1.

Показатели	**СД1 с полной ремиссией n=43**	**СД1 с частичной ремиссией n=191**	**p**
IAA, Ед/мл	2,24 [1,65; 3,94]	4,3 [2,4; 7,8]	p<0,001
GAD, Ед/мл	101,7 [44,2; 250,0]	31,3 [4,0; 157,6]	p>0,05
IA2, Ед/мл	49 [8,0; 361,8]	50,4 [2,64; 327,03]	p>0,05
ZnT8, Ед/мл	185,5 [15,5; 500]	106,0 [10,25; 493,8]	p>0,05

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни. Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,001.

3.2.3 Анализ HLA I и II класса у детей с ремиссией СД1 и без нее

Для изучения роли генетических факторов в развитии ремиссии СД1 были проанализированы данные HLA в двух группах детей с ремиссией заболевания и без, сопоставимые по возрасту диагностики заболевания. Характеристика групп пациентов представлена в таблице 7.

Таблица 7. Клиническая характеристика пациентов с СД1, включенных в исследование.

Показатели	**СД1 без ремиссии (n=247)**	**СД1 с ремиссией (n=71)**	**p**
Возраст	8,8 [5,7;11,5]	10,7 [6,8;13,8]	0,016
Длительность СД1	1,5 [0,9;2,1]	1,7 [0,8;2,6]	0,034
Возраст манифестации СД1	7,3 [4,4; 9,8]	7,8 [4,0;10,8]	0,45

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовался критерий Манна-Уитни. Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,016.

Гетерозиготный HLA-генотип DR3-DQ2/DR4-DQ8 статистически значимо реже выявляется у детей с ремиссией СД1, в 14% по сравнению с 28% (p=0,020), в том числе после коррекции на пол и возраст (p=0,007) (табл. 8). Частота предрасполагающих гомозиготных генотипов DR3-DQ2 и DR4-DQ8 (DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201 и DRB1*04-DQA1*03-DQB1*0302), а также генотипа DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201/DRB1*01-DQA1*0101-DQB1*0501 была сопоставима в 2-х группах. Частота протекторного генотипа DR4/DR13/15 (DRB1*04-DQA1*03-DQB1*0302/DRB1*13/15-DQA1*0103-DQB1*0603) также значимо не различалась между группами.

Таблица 8. DR-DQ генотипы в группах детей с ремиссией СД1 и без.

Гаплотип 1			**Гаплотип 2**			**СД1 без ремиссии n=247**		**СД1 с частичной ремиссией n=71**		**Значение p**	**Скорректированное значение p***
DRB1	**DQA1**	**DQB1**	**DRB1**	**DQA1**	**DQB1**	**%**	**95% ДИ**	**%**	**95% ДИ**		
Предрасполагающие											
03	05:01	02:01	04	03:0X	03:02	27,5	22,3-33,4	14,1	7,6-24,2	**0,020**	**0,007**
04	03:0X	03:02	04	03:0X	03:02	4,5	2,4-7,9	2,8	0,2-10,3	0,784	0,312
03	05:01	02:01	01	01:0X	05:01	4,5	2,4-7,9	5,6	1,8-14	0,924	0,625
03	05:01	02:01	03	05:01	02:01	3,6	1,8-6,9	5,6	1,8-14	0,685	0,662
Протекторные											
04	03:0X	03:02	13/15	01:03	06:03	2,4	1-5,3	5,6	1,8-14	0,328	0,435

Примечания. Данные представлены как % (95% ДИ). Для сравнения частот использовались статистика $\chi 2$ с поправкой на непрерывность, когда это

необходимо. Корректировка на конфаундеры была выполнена с использованием логистической регрессии.

** с поправкой на пол и возраст на момент постановки диагноза.*

Изолированное исследование DR-DQ гаплотипов показало (табл. 9), что у детей без ремиссии, после коррекции на пол и возраст манифестации, статистически значимо чаще выявляется предрасполагающий гаплотип DRB1*04-DQA1*030X-DQB1*0302 (в 62% по сравнению с 46%, p=0,002) и DRB1*03-DQA1*0501-DQB1*0201 (в 47% по сравнению с 39%, p=0,046). У детей с ремиссией СД1 чаще присутствует протекторный гаплотип DRB1*11/13/15-DQA1*0103-DQB1*0603 (в 9% по сравнению с 3%, p=0,035), однако после коррекции на конфаундеры данные различия становятся статистически не значимыми.

Таблица 9. DR-DQ гаплотипы в группах детей с ремиссией СД1 и без.

Гаплотип			**СД1 без ремиссии n=247**		**СД1 с частичной ремиссией n=71**		**Значение p**	**Скорректи-рованное значение p***
DRB1	DQA1	DQB1	**%**	**95% ДИ**	**%**	**95% ДИ**		
Предрасполагающие								
04	03:0X	03:02	62,3	56,2-68,2	46,5	35,4-58	**0,017**	**0,002**
03	05:01	02:01	47,0	40,8-53,2	39,4	28,9-51,1	0,261	**0,046**
Протекторные								
01	01:0X	05:01	17,8	13,5-23,1	26,8	17,8-38,1	0,096	0,223
04	03:0X	03:01	6,9	4,3-10,8	7,0	2,7-15,8	0,963	0,833
13/15	01:03	06:03	2,8	1,3-5,8	8,5	3,6-17,6	**0,035**	0,129
08	04:01	04:02	6,9	4,3-10,8	8,5	3,6-17,6	0,653	0,941

Примечания. Данные представлены как % (95% ДИ). Для сравнения частот использовались статистика $\chi 2$ с поправкой на непрерывность, когда это

необходимо. Корректировка на конфаундеры была выполнена с использованием логистической регрессии.

** с поправкой на пол и возраст на момент постановки диагноза.*

При исследовании аллелей HLA DPB1 получено, что по более значимым как предрасполагающему DPB1*0301, так и протекторному DPB1*0402, статистически значимых различий между группами пациентов с ремиссией и без не выявлено (табл. 10). Среди локусов HLA I класса статистически значимые различия, с учетом коррекции на пол и возраст манифестации СД1, в двух группах получены только для предрасполагающего аллеля C*0602: в группе без ремиссии – 21%, в группе с ремиссией – 8% (p=0,004). Разницы в частоте выявления других предрасполагающих, а также протекторных аллелей, не выявлено.

Показатель полигенного риска у детей с ремиссией СД1 был статистически значимо ниже – 1,6 против 2,4 у пациентов без ремиссии (p<0,001).

Таблица 10. Не-DR-DQ локусы в пределах HLA региона в группах детей с ремиссией СД1 и без.

Локус	**СД1 без ремиссии n=247**		**СД1 с частичной ремиссией n=71**		**Значение p**	**Скорректированное значение p***
	%	**95% ДИ**	**%**	**95% ДИ**		
Предрасполагающие						
B*3906	3,6	1,8-6,9	4,2	1-12,2	0,884	0,999
DPB1*1501	5,7	3,3-9,4	7,0	2,7-15,8	0,667	0,986
A*2402	28,3	23,1-34,3	26,8	17,8-38,1	0,794	0,293
A*0205	2,0	0,7-4,8	1,4	0-8,3	0,874	0,528
C*0602	21,1	16,4-26,6	8,5	3,6-17,6	**0,015**	**0,004**
A*0201	49,4	43,2-55,6	46,5	35,4-58	0,665	0,124
B*1801	20,2	15,7-25,7	15,5	8,7-25,8	0,370	0,093

A*0301	22,3	17,5-27,9	19,7	12-30,5	0,646	0,278
DPB1*0301	23,9	19–29,6	18,3	10,9–29	0,322	0,150
Протекторные						
DPB1*0101	10,5	7,2–15	16,9	9,8–27,4	0,144	0,377
DPB1*0501	2,8	1,3–5,8	4,2	1–12,2	0,837	0,495
B*4403	3,2	1,5–6,4	1,4	0–8,3	0,679	0,463
DPB1*0402	10,5	7,2–15	8,5	3,6–17,6	0,608	0,387

Примечания. Данные представлены как % (95% ДИ). Для сравнения частот использовались статистика $\chi 2$ с поправкой на непрерывность, когда это необходимо. Корректировка на конфаундеры была выполнена с использованием логистической регрессии.

** с поправкой на пол и возраст на момент постановки диагноза.*

3.2.4 Результаты молекулярно-генетического исследования у детей с ремиссией СД1

37 пациентам с длительной полной или частичной ремиссией проведено молекулярно-генетическое исследование, в ходе которого у 17 пациентов (табл. 11) выявлены гетерозиготные мутации в различных генах: у 6 пациентов выявлены мутации в генах, ассоциированных с развитием MODY (*HNF1B, GCK, KLF11, WFS1*), у 8 пациентов выявлены мутации ассоциированные с развитием сахарного диабета 2 типа, инсулинорезистентностью, ожирением (*ACAD10, PREX1, PCSK1, COG3, DGKD, SIRT1, FOXA2, SIM1, GLIS3*), у 8 пациентов выявлены мутации, ассоциированные с предрасположенностью к сахарному диабету 1 типа, аутоиммунным заболеваниям (*CBLB, MYRIP, COG3, FEM1B, CTSL, WFS1, GLIS3*). Все пациенты были серопозитивны.

Таблица 11. Генетические, клинические характеристики пациентов с сочетанием аутоиммунного и моногенного сахарного диабета.

	Ген	**Вариант**	**Клиническая значимость**	**Заболевание**	**Возраст манифестации, годы**	**Характер манифестации**	**ДР, годы**	**Наследственность**	**Уровень HbA1c, %**	**С-пептид, нг/мл**	**ДД, годы**	**Терапия**
1	*HNF1B* (NM_000458)	c.1474G>C p.G492R	Неопределенного значения, не описан	MODY5	12,9	Доклиническая	1,5	нет	6,3	1,04	1,5	Диета
2	*HNF1B* (NM_000458.4)	c.1006C>G p.H336D	Вероятно патогенный, описан	MODY5	11	Доклиническая	1,0	СД2 у отца	6,6	1,45	1	Инсулин, 0,04 ед/кг/ сут
3	*GCK* (NM_000162.3)	c.793G>A p.E265K	Патогенный, описан	MODY2	10,8	Доклиническая	4,0	нет	6,9	0,01	2,6	Инсулин, 0,27 ед/кг/сут
4	*KLF11* (NM_003597.5)	c.40_41dupGC p.N381SlnfsTer41	Вероятно патогенный, не описан	MODY7	12,3	Доклиническая	2,6	нет	7	0,76	5	Инсулин, 0,4 ед/сут
5	*POGZ* (NM_015100.4)	c.1777C>G p.Q593E	Вероятно патогенный, не описан	Синдром Уайта-Саттона	15	Доклиническая	1,2	СД2	7,1	7,37	2,5	Инсулин, 0,22 ед/кг/сут,

	CTSL (NM_000009.12)	Chr9:8772760_87731109dup		Аутоиммунный сахарный диабет (мышиные модели)								метформин, 2000 мг/сут
6	*WFS1* (NM_006005.3)	c.977C>T p.A326V	Вероятно патогенный, описан	Синдром Вольфрама	8,2	Доклиническая	1,9	СД2	6,8	0,8	1,9	Инсулин, 0,35 ед/кг/сут
		c.2272A>T p.K758X	Вероятно патогенный, не описан									
7	*FOXA2 (HNF3B)* (NM_021784.5)	c.1320C>A p.D440E	Неопределенной значимости, не описан	СД2	12,4	Доклиническая	5,2	нет	7,4	0,06	5,2	Инсулин, 0,47 ед/кг/сут
8	*SIRT1* (NM_001314049.1)	c.-2G>C	Неопределённой значимости, не описан	СД1	11,9	Доклиническая	2,8	СД2	6,7	1,35	3	Инсулин, 0,2 ед/кг/сут
9	*ACAD10* (NM_025247.6)	c.531+6C>T	Вероятно патогенный, не описан	НТГ, ИР, СД2	14,7	Доклиническая	2,9	нет	6,8	1,19	2,8	Инсулин, 0,06 ед/кг/сут

	CBLB (NM_170662.5)	c.578C>T p.P193L	Неопределённой значимости, не описан	СД1								
10	*MYRIP* (NM_015460.4)	c.1961A>G p.N654S	Неопределённой значимости, не описан	СД (мышиные модели)	7,1	Доклиническая	1,5	СД2	6,4	0,01	5	Инсулин 0,8 ед/кг/сут
11	*PREX1* (NM_020820.4)	c.2366A>G p.Y789C	Неопределённой значимости, не описан	СД2	5,1	Доклиническая	5	СД2	5,6	2,3	3,6	диета
12	*MYRIP* (NM_015460.4)	c.1942G>C	Неопределённой значимости	СД (мышиные модели)	12,2	Острая	1,0	СД2	5,7	1,96	1	Инсулин 0,05 ед/кг/сут
13	*COG3* (NM_031431.4)	c.1640C>G p.P547R	Неопределённой значимости, не описан	СД1, СД2	13,5	острая	2,6	нет	6,6	1,61	2,6	Инсулин 0,2 ед/кг/сут
	PCSK1 (NM_000439.5)	c.323G>C p.S108T	Неопределённой значимости, не описан	Ожирение								

14	*FEM1B* (NM_015322.5)	c.628C>A p.R210S	Неопределённой значимости, не описан	НТГ (мышиные модели)	4,9	случайная	3,5	нет	10,8	0,01	4,5	Инсулин 0,45 ед/кг/сут
15	*DGKD* (NM_152879.3)	c.734T>G p.V245G	Неопределённой значимости, не описан	ИР, СД2	16,8	случайная	1,1	нет	8,1	1,46	1,1	Инсулин 0,45 ед/кг/сут
16	*SIM1* (NM_005068)	c.383T>C p.I128T	Неопределённой значимости, не описан	Ожирение	14,4	случайная	1,3	СД2	6,3	4,69	1,3	диета
17	*GLIS3* (NM_001042413)	c.1910C>G p.T637R	Неопределённой значимости, не описан	Неонатальный СД, СД1, СД2	6,9	острая	2,8	нет	7,3	0,12	2,8	Инсулин, 0,4 ед/кг/сут

Примечания: ДР – длительность ремиссии, ДД – длительность диабета

В настоящее время имеется достаточно много исследований и описательных работ российских и зарубежных авторов о гетерозиготных вариантах, приводящих к нарушению формирования белка, ассоциированных с развитием моногенных и синдромальных форм СД. Общеизвестна клиническая характеристика разных типов СД, характерных сочетанных патологий почек, нервной системы, половых органов, щитовидной железы.

Ген *FOXA2* (ядерный фактор гепатоцитов 3β) экспрессируется в эмбриональных тканях, происходящих из энтодермы (поджелудочная железа, легкие, печень). Исследования на мышиных моделях показали, что данный ген участвует в развитии поджелудочной железы и дифференцировке эндокринных клеток через влияние на ген *PDX1* – ключевого участника в органогенезе поджелудочной железы. Делеции в генах *FOXA1/FOXA2* у мышей приводит к неонатальному СД и гипоплазии поджелудочной железы. У пациента №7 (табл. 11) не выявлено изменений в поджелудочной железе по данным УЗИ. Аналогичное течение СД описано у пациента из Швейцарии [70].

Ген *SIRT1* (сиртуин 1) экспрессируется в β-клетках поджелудочной железы и регулирует секрецию инсулина, а также, влияет на развитие Т-регуляторных клеток, тем самым учувствует в аутоиммунных процессах. В литературе описаны пациенты с СД1 в сочетании с инсулинорезистентностью. У пациента №8 СД выявлен на фоне избыточной массы тела, и через 2 года после манифестации заболевания максимальный уровень С-пептида на фоне стимуляции составил 3,12 нг/мл, что может свидетельствовать о сопутствующей инсулинорезистетности.

Ген *ACAD10* (фермент семейства Ацетил-КоА дегидрогеназ – 10) катализирует β-окисление жирных кислот, играющее ключевую роль в развитии инсулинорезистетности и СД2. Варианты в данном гене ассоциированы с ранней манифестацией СД2 (до 25 лет). У пациента №9 также

выявлен вариант в гене *CBLB* (убиквитин-протеинлигаза E3). Белковый продукт данного гена вовлечен в регуляцию иммунного ответа за счет контроля активации Т- и В-клеточных рецепторов, описан при СД1. Наш пациент с 12 до 17 лет наблюдался с диагнозом СД2, до выявления островковых ААт. Через 5 лет после манифестации заболевания максимальная секреция стимулированного С-пептида составила 2,08 нг/мл. По совокупности данных, можно свидетельствовать о сочетании СД1 и СД2 у данного пациента.

Ген *MYRIP* (Белок, взаимодействующий с миозином VIIA и Rab) учувствует в экзоцитозе инсулина, путем взаимодействия в регуляции гомеостаза инсулина. Варианты в данном гене описаны на мышиных моделях СД. В нашем исследовании у двух пациентов выявлены в варианты в гене *MYRIP*.

Ген *PREX1* (фосфатидилинозитол-3,4,5-трисфосфат-зависимый фактор обмена Rac 1) опосредует передачу сигналов инсулина, экспрессируется в адипоцитах и вызывает инсулинорезистетность. Описан у пациентов с СД2. У пациента №11 максимальный уровень С-пептида на фоне стимуляции составил 5,97 нг/мл через 3 года после манифестации заболевания, что может косвенно указывать на наличие инсулинорезистетности.

Ген *COG3* (Субъединица 3 консервативного олигомерного комплекса Гольджи). Белковый продукт гена вовлечен в функционирование аппарата Гольджи в клетках. Нарушение экспрессии гена *COG3* описано у пациентов с СД 1 и 2 типов. Также, у данного пациента выявлен вариант в гене *PCSK1* (Пропротеинконвертаза 1), варианты в данном гене связаны с предрасположенностью к ожирению. На момент манифестации СД пациент №13 имел ожирение, через 3 года после манифестации заболевания пациент имел сохранную секрецию С-пептида (максимальный уровень стимулированной секреции составил 3,3 нг/мл).

Ген *FEM1B* экспрессируется в поджелудочной железе и скелетной мускулатуре, белковый продукт гена участвует в гомеостазе глюкозы в β-

клетках поджелудочной железы. В экспериментальных исследованиях описаны нарушения толерантности к глюкозе и дефекты секреции инсулина на мышиных моделях. При манифестации заболевания у пациента № 14 выявлено НТГ, через 5 лет после манифестации секреция С-пептида не определялась.

Ген *DGKD* (Диацилглицеролкиназа δ) играет роль в инсулинорезистентности и ассоциирован с СД2. Манифестация заболевания у пациента № 15 была на фоне избыточной массы тела. Через 1 год после манифестации отмечался нормальный базальный уровень С-пептида - 1,36 нг/мл.

3.2.5 Описание клинических случаев

Клинический случай 1. Мальчик, с 8 лет отмечался активный набор веса на фоне повышенного аппетита. В 9 лет впервые обследован эндокринологом, диагностировано ожирение 3 степени. При динамическом наблюдении гликемия в пределах нормы.

Наследственный анамнез отягощен по СД, ожирению (рис. 10).

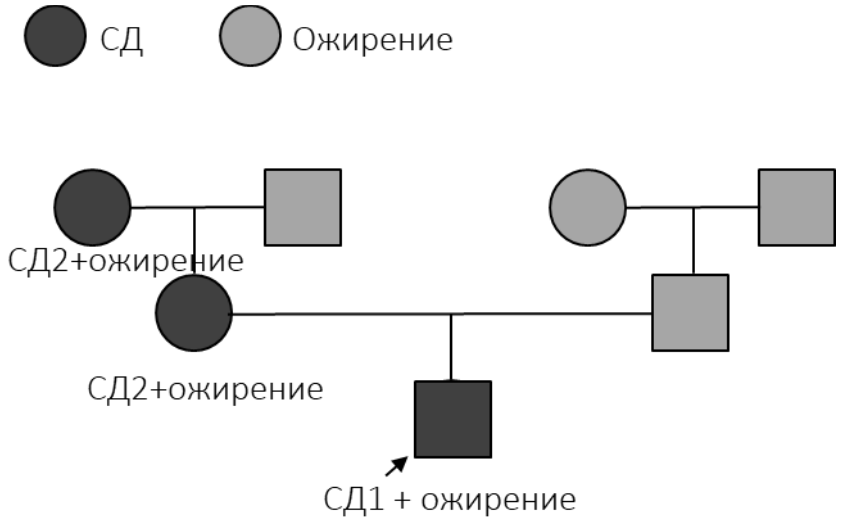

Рисунок 10. Наследственный анамнез пациента 1.

В 15 лет – рост 167 см, вес 135 кг, SDS ИМТ+ 4,06. При обследовании: HbA1c 7,1%; в ходе ПГТТ с нагрузкой 75гр. глюкозы выявлен диабетический уровень

гликемической кривой, нормальный уровень С-пептида натощак (табл. 12); повышение печеночных трансаминаз: АСТ 42,9 Ед/л (N 5-34), АЛТ 73,6 Ед/л (N 0-55); повышение АД до 140/70 мм.рт.ст. Установлен диагноз «Морбидное ожирение. Сахарный диабет 2 типа. Вторичная артериальная гипертензия. Стеатогепатит». Рекомендована диетотерапия. Через 6 месяцев: SDS ИМТ +4,1, HbA1c 11,0%, С-пептид 8,13 нг/мл (N 0,9-7,1) при гликемии 13,5 ммоль/л, глюкозурия 55 ммоль/л, АСТ 80,8 ед/л (N 5-34), АЛТ 103,5 ед/л (N 0-55). Назначена терапия препаратами из группы бигуанидов (метформин) + иАПФ (эналаприл).

Таблица 12. Пероральный глюкозотолерантный тест пациента 1.

время	**0 мин**	**30 мин**	**60 мин**	**90 мин**	**120 мин**
Глюкоза (ммоль/л)	6,2	15,6	13,3	9,7	3,5
С-пептид (0,9-7,1 нг/мл)	3,39				

При поступлении в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» в 16 лет: SDS ИМТ +4,1, отмечаются бледно-розовые стрии на бедрах, животе, плечах, груди, ягодицах. Acantosis nigricans на задней поверхности шеи, в подмышечных областях, в локтевых сгибах, на локтях. Фолликулярной гиперкератоз на ягодицах, бедрах, руках, спине. Многочисленные пустулы на спине. Бугорок "буйвола". Таннер 3 (G утоплен в подкожно-жировую клетчатку, P 3) Ax 2, яички в мошонке, volume testes D = 12-15 ml, volume testes S = 12-15 ml. Нервная система: легкая задержка речевого и умственного развития. При обследовании: HbA1c 11,1%. В ходе ПГТТ (табл. 13) – диабетический уровень гликемической кривой, выраженная инсулинорезистентность (индекс HOMA – 33,8; М-индекс 0,49 в ходе гиперинсулинемического эугликемического клэмп-теста). Панкреатические ААт: ZnT8 - 75,5 Ед/мл (0-15), IA-2 - 28,9 Ед/мл (0-10), GAD 0,2 Ед/мл (0-1), IAA - 2,1 Ед/мл (0-10), ICA -0,1 Ед/мл (0-1).

Таблица 13. Проба со стандартным жидким завтраком пациента 1.

время	**0 мин**	**60 мин**	**120 мин**
Глюкоза (ммоль/л)	10,58	20,76	18,91
Инсулин (2,3-26,4 мкЕ/мл)	71,97	214,3	112,9
С-пептид (1,1-4,4 нг/мл)	7,37	14,03	10,92

В отделении инициирована терапия препаратами сульфонилмочевины (глибенкламид) 10,5 мг/сут (~0,1 мг/кг) без клинического эффекта (табл. 14). Нормализация уровня гликемии достигнута на комбинированной терапии инсулином сверхбыстрого действия Деглудек в дозе 45 ед/сут (0,3 ед/кг) + метформин 2000 мг/сут.

Таблица 14. Уровень гликемии пациента 1 в стационаре в зависимости от получаемой терапии

Гликемия (ммоль/л), время									**Получаемая терапия**
9.00 ч	**12.00 ч**	**14.00 ч**	**16.00 ч**	**18.00 ч**	**21.00 ч**	**24.00 ч**	**3.00 ч**	**6.00 ч**	
-	12,6	10,9	8,0	10,8	10,3	-	-	-	Метформин 1000 мг
11,8	17,0	9,0	12,1	14,7	16,3	-	-	-	Глибенкламид 10,5 мг/сут
11,3	14,3	12,8	15,7	14,2	15,7	-	-	-	
9,8	11,7	13,6	19,0	16,2	15,7	9,6	9,4	11,4	Деглудек 10 ед/сут + метформин 1500 мг/сут
9.0	9,9	6,2	11,8	9,4	11,8	7,8	8,5	9,3	Деглудек 25 ед/сут + метформин 1500 мг/сут
8,9	12,9	7,9	15,9	9,9	10,3	6,8	8,3	8,4	Деглудек 35 ед/сут + метформин 2000 мг/сут

7,2	7,5	7,9	15,5	11,3	8,5	7,1	7,7	8,3	Деглудек 45 ед/сут + метформин 2000 мг/сут

Также, установлена конституциональная задержка полового развития: ЛГ 1,79 ед/л (10,1-17,9), ФСГ 3,57 ед/л (1,6-9,7), тестостерон 6,79 нмоль/л (0,52-9,72).

При повторной госпитализации в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» в возрасте 17 лет: SDS ИМТ +3,84. Отмечаются светлые стрии на бедрах, животе, плечах, груди, ягодицах. Acantosis nigricans (слабо выраженный) на шее, в подмышечных областях. Фолликулярной кератоз на ягодицах, бедрах, руках, спине. Многочисленные пустулы на спине. Бугорок "буйвола". Таннер 4 (G утоплен в подкожно-жировую клетчатку, P 4), яички в мошонке, volume testes D = 16 ml, volume testes S = 16 ml. Молочные/грудные железы: ложная гинекомастия.

При обследовании: HbA1c 10,1%, инсулин 41,36 мкМе/мл (2,6-24,9), С-пептид 5,09 нг/мл (1,1-4,4) при гликемии 8,66 ммоль/л. Панкреатические ААт: ZnT8 - <10 Ед/мл (0-15), IA-2 - <1 Ед/мл (0-10), GAD >2000 Ед/мл (0-1), ICA - 0.43 Ед/мл (0-1).

При поступлении отмечалась выраженная гипергликемия (табл. 15), в связи с чем к терапии добавлены инъекции ультракороткого инсулина (Аспарт) на основные приемы пищи. На фоне инсулинотерапии в базис-болюсном режиме в дозе 75 ед/сут (0,55 ед/кг), соблюдения режима питания, удалось достигнуть целевых показателей гликемии.

Таблица 15. Уровень гликемии пациента 1 в стационаре в зависимости от получаемой терапии

Гликемия (ммоль/л), время									**Получаемая терапия**
9.00 ч	**12.00 ч**	**14.00 ч**	**16.00 ч**	**18.00 ч**	**21.00 ч**	**24.00 ч**	**3.00 ч**	**6.00 ч**	
-	13,4	16,7	14,6	12,6	17,2	13,8	11,1	10,7	Деглудек 48 ед (0,35 ед/кг)

7,1	9,7	7,4	10,3	7,0	14,1	9,3	8,9	9,5	Деглудек 50 ед + Аспарт 12 ед (0,45 ед/кг)
6,6	5,6	6,4	7,9	6,0	5,9	5,3	5,8	6,0	Деглудек 55 ед + Аспарт 20 ед (0,55 ед/кг)

Проведено молекулярно-генетическое исследование: выявлен патогенный вариант p.Q593E в гене *POGZ* и дупликации гена *CTSL*.

Мутации в гене *POGZ* описаны при синдроме Уайта-Саттона. На сегодняшний день описано около 100 пациентов с данным синдромом, в связи с чем, фенотип данного заболевания до конца не изучен. В литературе встречаются описания пациентов с задержкой развития, умственной отсталостью различной степени, расстройствами аутистического спектра, задержкой речевого развития, задержкой полового развития, проблемами со зрением, потерей слуха, желудочно-кишечными нарушениями, ожирением, проблемами с вниманием.

У данного пациента имеется задержка умственного развития легкой степени, задержка речевого развития, ожирение, задержка полового развития. На наличие остальных компонентов пациент не обследован.

Ген *CTSL* кодирует белок катепсин L. В литературе обсуждается возможная патогенетическая роль катепсина L при аутоиммунном сахарном диабете.

Данный клинический случай описывает сочетание редкой синдромальной патологии в сочетании с СД1. Длительная ремиссия СД1 и низкая вариабельность гликемии может быть обусловлена выявленным генетическим вариантом в гене *CTSL*.

Клинический случай 2. Мальчик, с раннего возраста отмечалась избыточная масса тела. В 10 лет появились классические манифестные симптомы СД

(полиурия, полидипсия, повышенная утомляемость). При осмотре: рост 168 см, вес 87 кг, SDS ИМТ +3,0. При обследовании: HbA1c 8,9 %, С-пептид - 3,3 нг/мл при гликемии 14,4 ммоль/л, ААт к GAD - 4,5 ед/мл (N <1), установлен диагноз: Сахарный диабет 1 типа, впервые выявленный, инициирована инсулинотерапия в суточной дозе 18 ед/сут (0,2 ед/кг).

Наследственный анамнез отягощен по ожирению и сахарному диабету (рис. 11)

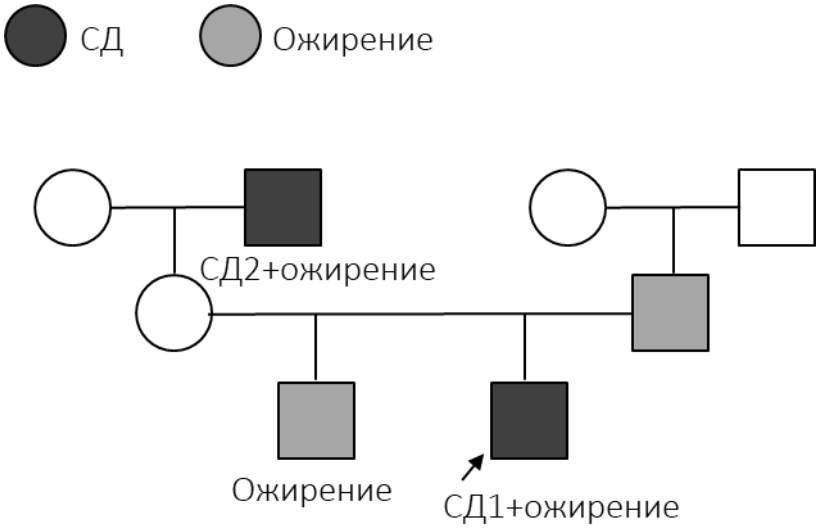

Рисунок 11. Наследственный анамнез пациента 2.

Впервые госпитализирован в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» в возрасте 10,5 лет: рост 168,5 см, вес 90 кг, SDS ИМТ +3,3. При обследовании: HbA1c 10,6%. По данным пробы с нагрузкой углеводистым завтраком НТГ, сохранная секреция С-пептида (табл. 16). HLA-типирование: DRB1*01,07-DQA1*0101,0201-DQB1*0501,0201 (гаплотипы: предрасполагающий и нейтральный). ААт: ICA – отриц., GAD – 2,5 Ед/мл (N 0-1), IA-2 – 25 Ед/мл (N 0-1).

Таблица 16. Пероральный глюкозотолератный тест пациента 2.

время	**0 мин**	**60 мин**	**120 мин**
Глюкоза (ммоль/л)	7,5	10,8	7,8

С-пептид (1,1-4,4 нг/мл)	2,2	4,8	3,9

При обследовании в 11 лет: рост 174 см, вес 108 кг, SDS ИМТ +3,35, HbA1c 10,6%. Мальчик переведен на помповую инсулинотерапию, суточная доза инсулина 100 ед (0,95 ед/кг/сут). По данным пробы с углеводной нагрузкой отмечается диабетический уровень гликемической кривой, сохранная секреция С-пептида (табл. 17). В связи с наличием ожирения и сохранной инсулиновой секрецией к терапии добавлены препараты бигуанидов в дозе 1000-1350 мг/сут. Суточная доза инсулина снижена до 60-70 Ед (0,60-0,65 Ед/кг). При обследовании выявлены жировой гепатоз, дислипидемия.

Таблица 17. Проба со стандартным жидким завтраком пациента 2.

время	**0 мин**	**60 мин**	**120 мин**
Глюкоза (ммоль/л)	10.91	18.68	17.23
С-пептид (1,1-4,4 нг/мл)	2.46	3.65	3.21

В возрасте 15 лет: рост 168,5 см, вес 90 кг, SDS ИМТ +3,4; HbA1c 10,7%; при проведении теста с углеводной нагрузкой: диабетический уровень гликемической кривой, сохранная секреция С-пептида (табл. 18). ААт: ZnT8 72.9 Ед/мл (N 0-15), IA-2 81,6 Ед/мл (N 0-10), GAD 44,6 Ед/мл (N 0-10).

Таблица 18. Пероральный глюкозотолератный тест пациента 2.

время	**0 мин**	**60 мин**	**120 мин**
Глюкоза (ммоль/л)	9,48	19,47	17,65
С-пептид (1,1-4,4 нг/мл)	0,82	1,63	1,66

На всем протяжении заболевания отмечался высокий уровень гликированного гемоглобина, обусловленный низкой комплаентностью пациента. Вариабельность гликемии низкая (рис. 12). Колебания гликемии в стационарных условиях при соблюдении диеты и режима инъекций инсулина всегда от 4 до 10 ммоль/л, отмечалось снижение веса на 2-4 кг.

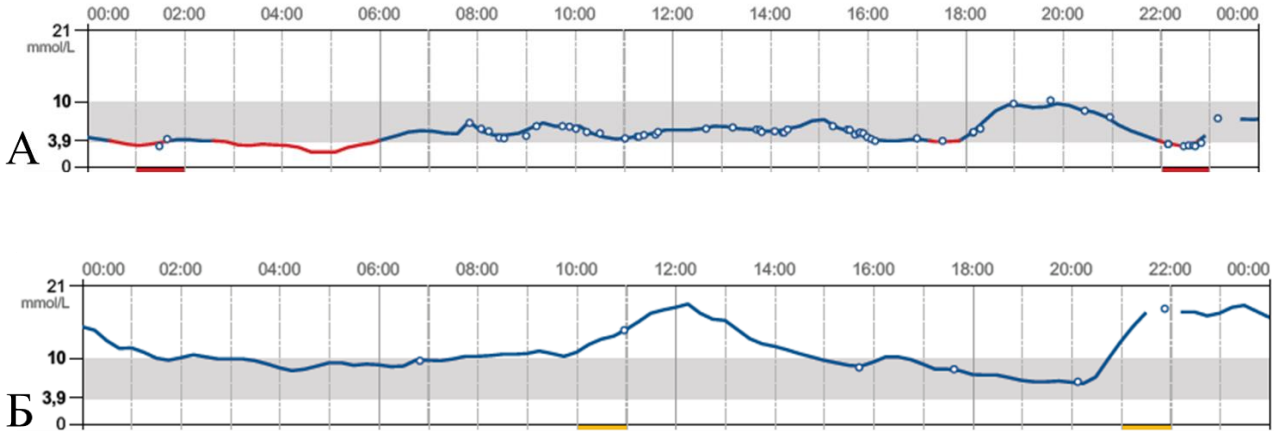

Рисунок 12. Уровень гликемии по данным мониторирования глюкозы. А – гликемия в стационаре, Б – гликемия в домашних условиях

Учитывая длительную сохранную секрецию инсулина, медленное прогрессирование СД, проведено молекулярно-генетическое исследование, в гене *KLF11* выявлен гетерозиготный вариант c.40 41dupGC (p.Val15GlnfsTer41), вероятно патогенный вариант.

Мутации в гене *KLF11* описаны при MODY. Ген *KLF11* является глюкозо-индуцированным регулятором гена *INS*. Как и другие факторы транскрипции, ген *KLF11* играет важную роль в дифференцировке β-клеток поджелудочной железы. К настоящему времени описано менее 10 мутаций в гене *KLF11*, в связи с чем, данные по клинической картине достаточно малочисленны. В основном, заболевание протекает аналогично СД2 типа, встречаются упоминания о инсулинопотребности.

Данный клинический пример представляет собой комбинацию моногенного и аутоиммунного СД. Мягкое течение заболевания, длительная сохранная секреция С-пептида, отрицательный титр панкреатических аутоантител при манифестации, HLA-генотип среднего риска, вероятнее всего свидетельствуют о начале заболевания с моногенной формы СД с дальнейшим присоединением аутоиммунного компонента.

Клинический случай 3. Девочка, с 3,5 лет отмечается прогрессирующий набор веса. В 12 лет инициирована терапия метформином в дозе 1000 мг/сут по поводу экзогенно-конституционального ожирения. В 14 лет, в связи с выявлением повышенного уровня гликированного гемоглобина (6,5%), был установлен диагноз «Сахарный диабет 2 типа», доза метформина увеличена до 2000 мг/сут.

Наследственный анамнез отягощен по СД и ожирению (рис. 13)

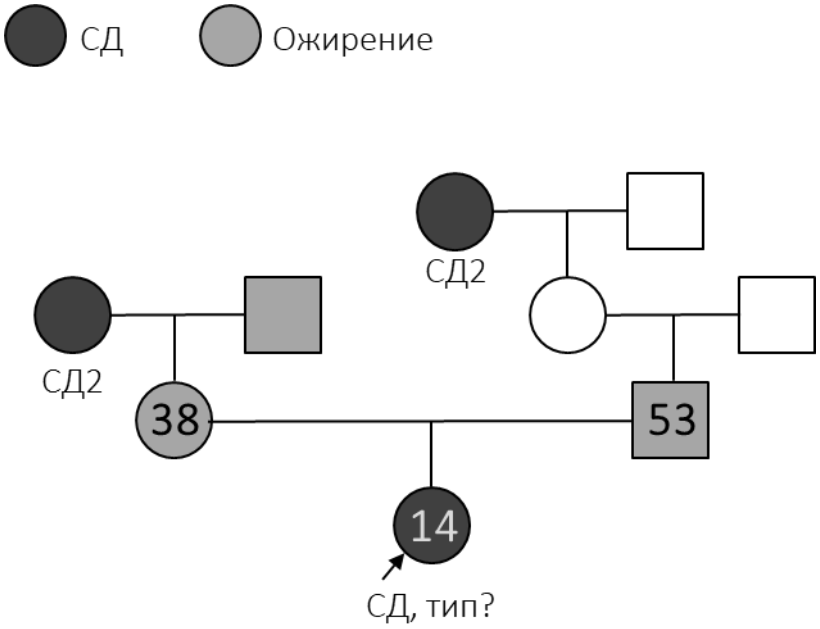

Рисунок 13. Наследственный анамнез пациента 3.

Через 2 месяца после диагностики СД девочка поступила в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии». При осмотре: рост 173,6 см (SDS 1,89), вес 155 кг, SDS ИМТ +4,38, Таннер 4 (В 4, Р 5) менструации с 11 лет, нерегулярные. Кожные покровы с явлениями слабовыраженного acantosis nigricans в подмышечных впадинах и на задней поверхности шеи, множественные бледно-розовые стрии на груди, животе, боковых поверхностях туловища, плечах, бедрах, пояснице, гирсутизм по шкале Ферримана-Голлвея – 2 балла. Подкожно-жировая клетчатка развита избыточно, распределена равномерно. АД 138/80 мм.рт.ст., ЧСС 71 уд/мин. HbA1c – 6,3%. Выявлено повышение уровня мочевой кислоты (418,9 мкмоль/л (120,0-320,0)) и холестерина ЛПНП (3,31 мкмоль/л (1,10-

3,00)). На фоне 3-х дневной отмены метформина проведен ПГТТ: отмечается диабетический уровень гликемической кривой, гиперинсулинемическая инсулинорезистентность (индексы инсулинорезистентности: HOMA 10,05 (норма <3,2); Matsuda 1,0 (норма >2,5) (табл. 19).

Таблица 19. Пероральный глюкозотолератный тест пациента 3

время	**0 мин**	**30 мин**	**60 мин**	**90 мин**	**120 мин**
Глюкоза (ммоль/л)	5,01	9,28	13,8	13,33	12,21
Инсулин (1,1-4,4 нг/мл)	45,14	96,91	164,8	177,4	153,2

ААт: IA-2 – 358,1 Ед/мл; GAD – 2000 Ед/мл, ZnT8 - 500 Ед/мл. За время пребывания в стационаре при исследовании гликемического профиля в 9 точках наблюдались колебания гликемии в пределах от 4,1 до 11,7 ммоль/л. Учитывая признаки метаболического синдрома: выраженное экзогенно-конституциональное ожирение, инсулинорезистентность, жировой гепатоз, гиперурикемию, артериальную гипертензию, терапию метформином в дозе 2000 мг/сут решено оставить с патогенетической целью. В течение последующих 2 месяцев в домашних условиях сохранялись удовлетворительные показатели гликемии.

Учитывая медленное прогрессирование СД, проведено молекулярно-генетическое исследование, в гене *SIM1* выявлен гетерозиготный вариант c.383T>C, p.Ile128Thr, с неясной клинической значимостью.

Мутации в гене *SIM1* описаны при моногенном ожирении, резвившемся в раннем детском возрасте.

Данный клинический случай описывает латентное течение аутоиммунного СД у девочки-подростка на фоне выраженного ожирения, обусловленного генетическим дефектом. Интересно, что диабетический уровень гликемии и гликированного гемоглобина диагностирован на фоне высокой эндогенной

секреции инсулина, что обычно наблюдается при СД 2 типа. Подобное течение СД в настоящее время предлагается рассматривать как LADY, двойной диабет.

Данный клинический случай подчеркивает необходимость исследования панкреатических ААт у всех детей с впервые выявленным СД, даже при типичной клинической картине СД 2 типа.

3.3. Дифференциальная диагностика пациентов с полной ремиссией СД1 и MODY

У пациентов с MODY были выявлены гетерозиготные мутации в следующих генах: GCK - в 85,7% (n=98), HNF1A – в 3,5% (n=4), ABCC8 – в 1,8% (n=2), HNF1B - в 1,8% (n=2), INSR - в 1,8% (n=2), HNF4A – в 0,9% (n=1), INS - в 0,9% (n=1), WFS1 - в 0,9% (n=1), CEL - в 0,9% (n=1), AKT2 - в 0,9% (n=1), PTF1A - в 0,9% (n=1).

Клинико-лабораторная характеристика пациентов представлена в табл. 20. Пациенты с ремиссией СД1 и MODY не отличались по полу. На момент проведения обследования пациенты были сопоставимы по возрасту в двух группах. Длительность заболевания была меньше у пациентов с СД1.

ИМТ и SDS ИМТ в двух группах не различались. Доля пациентов с ожирением и избыточной массой тела была сопоставима в двух группах (p>0,05): при ремиссии СД1 ожирение встречалось у 8,3% пациентов (n=3), избыточная масса тела - у 16,7% (n=6), при MODY ожирение выявлено у 4,4% пациентов (n=5), избыточная масса тела - у 11,4% (n=13).

Таблица 20. Клинико-лабораторная характеристика пациентов

Клинико-лабораторный показатель	**Полная ремиссия СД1 n=43**	**MODY n=114**	**p**
Соотношение полов, м:ж	1,4:1	1:1,07	>0,05

Возраст при обследовании, лет	13,5 [9,45; 15,3]	11,9 [8,28; 14,4]	>0,05
Длительность заболевания, лет	1,1 [0,75; 2,2]	2,1 [1,1; 4,8]	<0,001
Возраст при диагностике, лет	11,25 [8,33; 13,78]	7,5 [4,6; 12,2]	0,004
SDS ИМТ	0,37 [-0,47; 1,09]	-0,10 [-0,61; 0,76]	>0,05
HbA1c, %	6,0 [5,6; 6,4]	6,5 [6,2; 6,7]	<0,001

Примечания. Данные представлены в виде медианы и интерквартильного размаха: Me [Q1; Q3]. Для сравнения групп использовались критерий Манна-Уитни (для количественных признаков), Хи-квадрат (для качественных признаков). Для нивелирования проблем множественных сравнений применена поправка Бонферрони, уровень статистической значимости p<0,008.

Пациенты с СД1 на момент диагностики нарушений углеводного обмена были значимо старше пациентов с MODY, причем СД был диагностирован в возрасте до 6 лет в 22,2% и 42,1%, в возрасте от 7 до 12 лет в 38,9% и 31,6%, старше 12 лет в 38,9% и 26,3% при ремиссии СД1 и MODY, соответственно (p=0,09). Клинические проявление СД при диагностике значительно чаще отмечались при СД1 (38,9%), чем при MODY (1,8%) (p<0,001). У 7 пациентов (19,4%) с ремиссией СД1 зафиксирован кетоз при манифестации, у 1 пациента (2,8%) - диабетический кетоацидоз (ДКА), в группе пациентов с MODY не зафиксировано ни одного случая ДКА. Умеренные клинические проявления СД (полиурия, полидипсия) отмечались у двух пациентов с GCK-MODY, в том числе у девочки с GCK-MODY отмечались кетонурия, снижение массы тела, при обследовании выявлен высокий уровень ААт (ZnT8 145 Ед/л), у данной пациентки возможно сочетание моногенного и аутоиммунного СД.

Гликированный гемоглобин был ниже у пациентов с ремиссией СД1 и составлял 6,0% [5,6; 6,4], в том время как при MODY - 6,5% [6,2; 6,7] (p<0,001).

Гликемия натощак была ниже у пациентов с ремиссией СД1 по сравнению с MODY – 5,12 ммоль/л [4,17; 5,87] и 6,27 ммоль/л [5,38; 6,72], соответственно). При проведении ПГТТ уровень глюкозы значимо не различался на 30, 90, 120 мин. в двух группах. Уровень гликемии на 60 мин. у пациентов с ремиссией СД1 был значимо выше, чем у пациентов с MODY - 12,22 ммоль/л [9,73; 14,29] и 10,4 ммоль/л [8,52; 12,58], соответственно (рис.14). Нормогликемия натощак была наиболее характерна для пациентов с ремиссией СД1, нарушенная гликемия натощак (НГН) - для пациентов с MODY (p=0,003): натощак уровень гликемии соответствовал нормальным значениям у 63,8% и 27,2%, НГН – 25,0% и 54,38%, диабетическому уровню – 14,1% и 18,4%, при ремиссии СД1 и MODY, соответственно. На 120 минуте при проведении ПГТТ уровень гликемии в двух группах значимо не отличался (p=0,08) и соответствовал нормальным значениям в 31,3% и 29,8%, нарушенной толерантности к глюкозе – в 28,1% и 48,0%, диабетическому уровню – в 40,6% и 25,4%, при ремиссии СД1 и MODY, соответственно.

Уровень С-пептида натощак и в ходе ПГТТ в 2 группах не различался (рис.15).

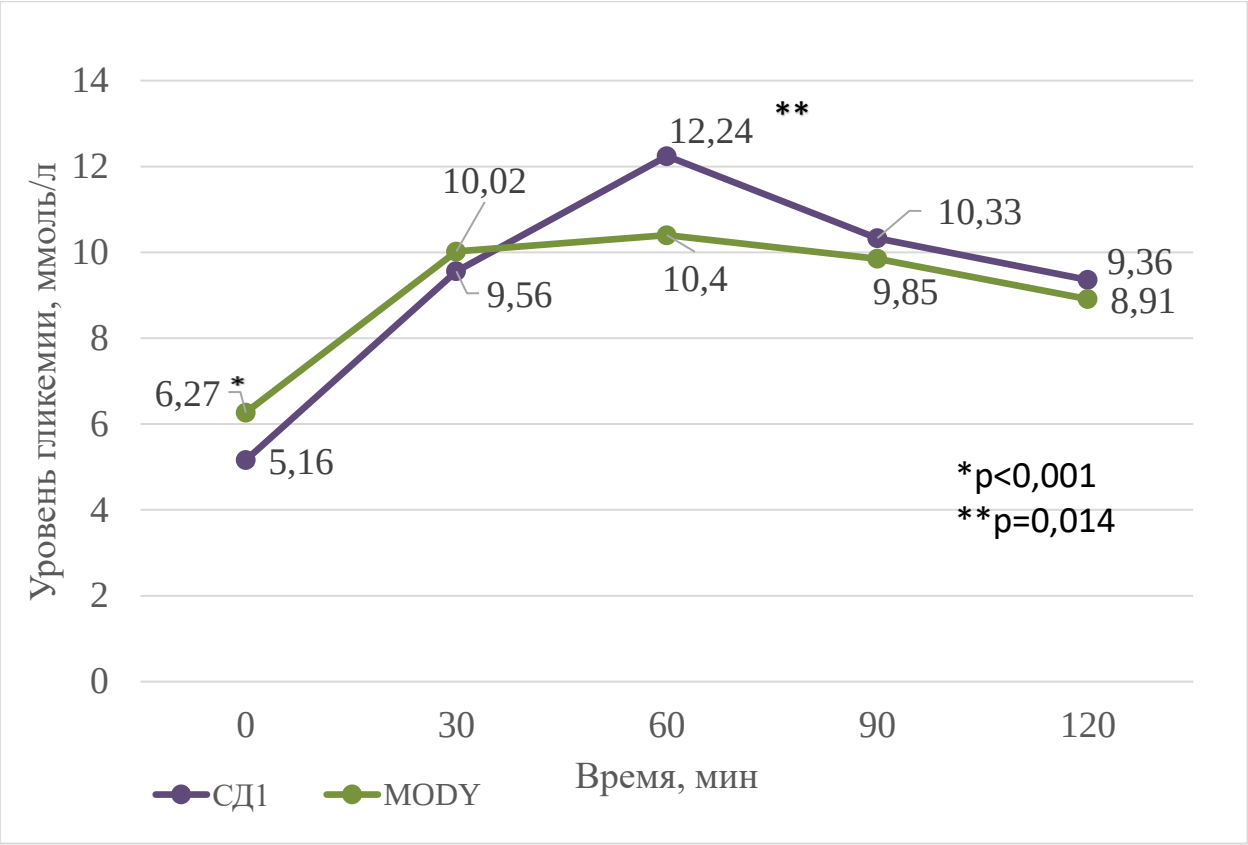

Рисунок 14. Уровень гликемии натощак и в ходе ПГТТ при ремиссии СД1 и MODY

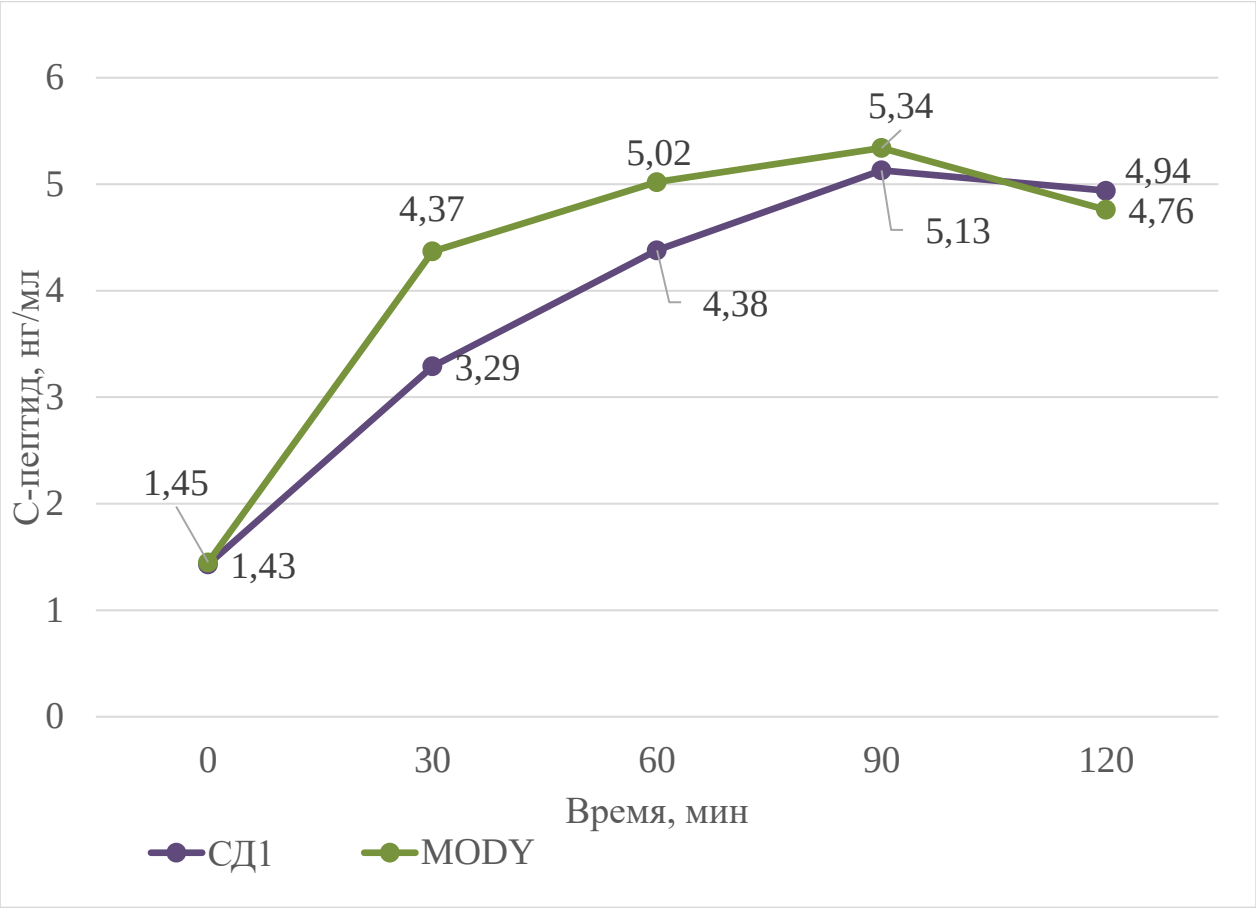

Рисунок 15. Уровень С-пептида натощак и в ходе ПГТТ у детей с полной клинико-лабораторной ремиссией СД1 и MODY

В наследственном анамнезе у пациентов с ремиссией СД1 нарушения углеводного обмена отмечались в 66,7%, в том числе у родственников 1 степени родства (родители) – в 22,2%, что значимо реже, чем у пациентов с MODY. Родители пациентов с СД1 типа и ремиссией наблюдались с диагнозами: СД2 (n=3), гестационный СД (n=3), НТГ (n=1), СД1 (n=1). При MODY нарушения углеводного обмена в наследственном анамнезе отмечались – в 93% (p=0,014), в том числе у родственников 1 степени родства – в 71,1% (p<0,001).

Положительный уровень одного и более вида ААт значимо чаще определялся у пациентов с ремиссией СД1 – в 77,8%, по сравнению с пациентами с MODY – 11,4% (рис. 16). Всем серонегативным пациентам в группе ремиссии СД1 проведено генетическое исследование. Патогенных вариантов в генах,

ответственных за развитие MODY, не выявлено. Частота выявления ААт к ZnT8, IA2, ICA, GAD была значимо выше у пациентов с ремиссией СД1, частота выявления IAA в двух группах не различалась. При ремиссии СД1 один вид ААт определялся у 33,3% пациентов, 2 вида ААт – у 30,6%, более 3 видов ААт – у 13,9%. У пациентов с MODY выявлялось не более одного вида ААт. Уровень ААт IAA, ICA, GADA значимо не различался при ремиссии СД1 и MODY, титр IA2 и ZnT8 был значимо выше при ремиссии СД1.

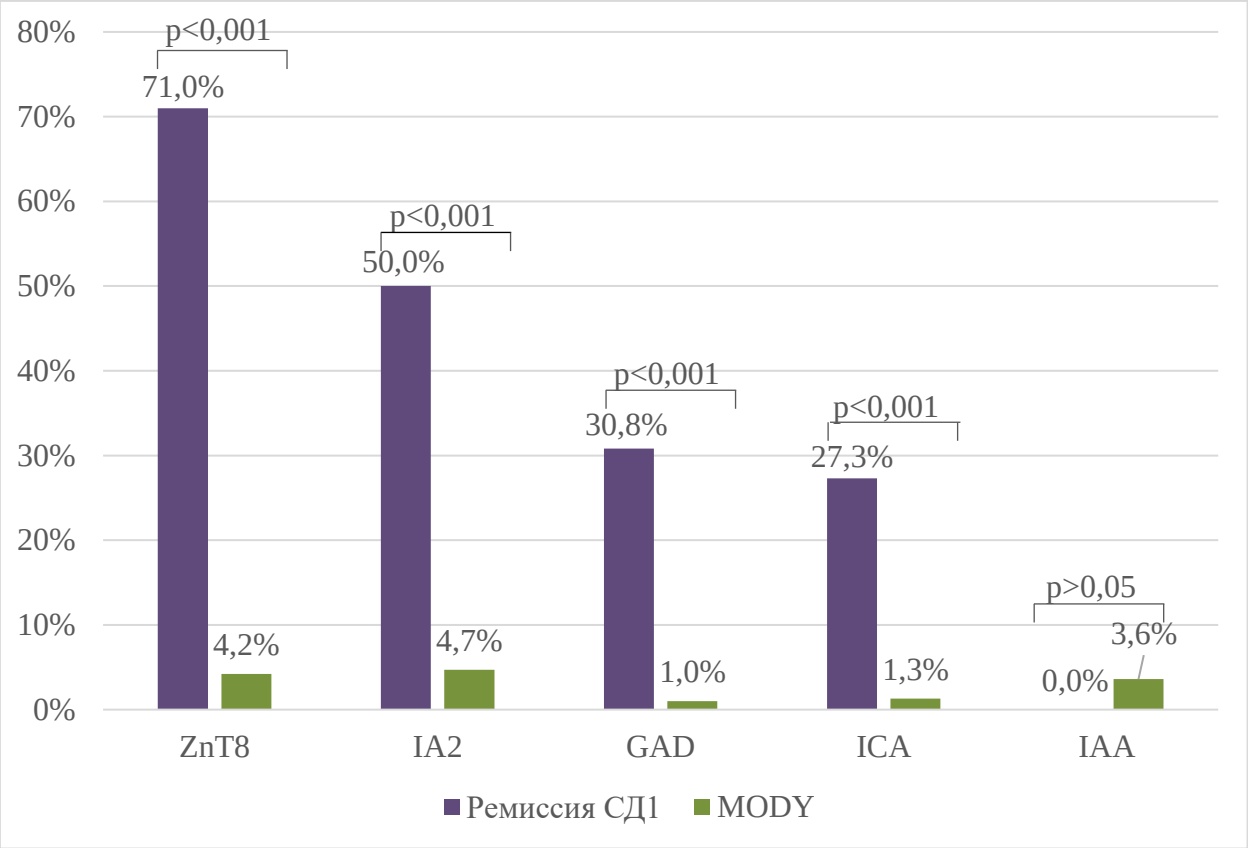

Рисунок 16. Частота выявления ААт у детей с ремиссией СД1 и MODY

3.4 Модель клинического прогнозирования сахарного диабета MODY типа у детей

После исключения не соответствующих и/или неполных записей (пациентов с более 30% отсутствующих значений), итоговая выборка составила 1710 детей в возрасте до 18 лет с СД1 (78%) и MODY (22%) диабетом. Среди включенных случаев, 1613 не имели пропущенных значений признаков, 92 имели 1 пропущенное значение и 5 имели 2 пропущенных значения. Таким образом

общее количество пропущенных значений в отношении которых проведена подстановка (замена) по всей выборке составило 0,85%.

Характеристики выборок пациентов, использованных для обучения и тестирования модели представлены в таблице 21.

Таблица 21. Клиническая характеристика общей, тренировочной и тестовой выборок пациентов.

	Вся выборка			**Тренировочная выборка**			**Тестовая выборка**		
	Всего	**СД1**	**MODY**	**Всего**	**СД1**	**MODY**	**Всего**	**СД1**	**MODY**
	n=1710	n=1333	n=377	n=1348	n=1045	n=303	n=362	n=288	n=74
Мужской пол (%)	48,0%	47,0%	50,0%	48,0%	47,0%	51,0%	49,0%	50,0%	45,0%
Отягощенная наследственность (%)	26,0%	15,0%	68,0%	26,0%	14,0%	68,0%	27,0%	17,0%	69,0%
ИМТ SDS	0,19 [1,21]	0,23 [1,21]	0,01 [1,17]	0,19 [1,21]	0,23 [1,21]	0,03 [1,19]	0,17 [1,22]	0,22 [1,25]	-0,06 [1,08]
Возраст (годы)	10,56 [4,54]	10,42 [4,57]	11,12 [4,39]	10,64 [4,53]	10,49 [4,55]	11,21 [4,44]	10,26 [4,57]	10,14 [4,66]	10,75 [4,22]
Возраст манифестации (годы)	7,68 [4,32]	7,5 [4,27]	8,34 [4,45]	7,67 [4,29]	7,5 [4,23]	8,29 [4,47]	7,73 [4,44]	7,51 [4,42]	8,57 [4,42]
HbA1c (%)	7,67 [1,77]	7,95 [1,84]	6,58 [0,76]	7,68 [1,78]	7,98 [1,86]	6,57 [0,76]	7,6 [1,7]	7,85 [1,79]	6,64 [0,76]
Получает лечение (%)	74,0%	92,0%	6,0%	74,0%	92,0%	7,0%	73,0%	90,0%	4,0%

Примечания. Данные представлены в виде: среднее значение (SD).

Все предварительно отобранные признаки статистически значимо (p<0,05) влияли на тип сахарного диабета (табл. 22) и в дальнейшем были использованы для построения различных конфигураций НС.

Таблица 22. Результаты статистической оценки взаимосвязи предикторов с типом СД.

Переменная	**Статистика**	**Величина**	**Значение p**
Отягощенная по СД наследственность	Хи-квадрат	307,2	<0,001
Получаемое лечение	Хи-квадрат	294,8	<0,001
HbA1c	ANOVA	201,9	<0,001
Возраст на момент манифестации СД	ANOVA	12,4	<0,001
SDS ИМТ	ANOVA	10,7	0,001
Возраст паспортный	ANOVA	7,2	0,007
Мужской пол	Хи-квадрат	4	0,046

Для определения оптимальной конфигурации НС, были проанализированы показатели прогностической эффективности нескольких моделей с последовательным включением каждого предиктора на основании более высокой статистической величины. Результаты представлены на рисунках 17 и 18.

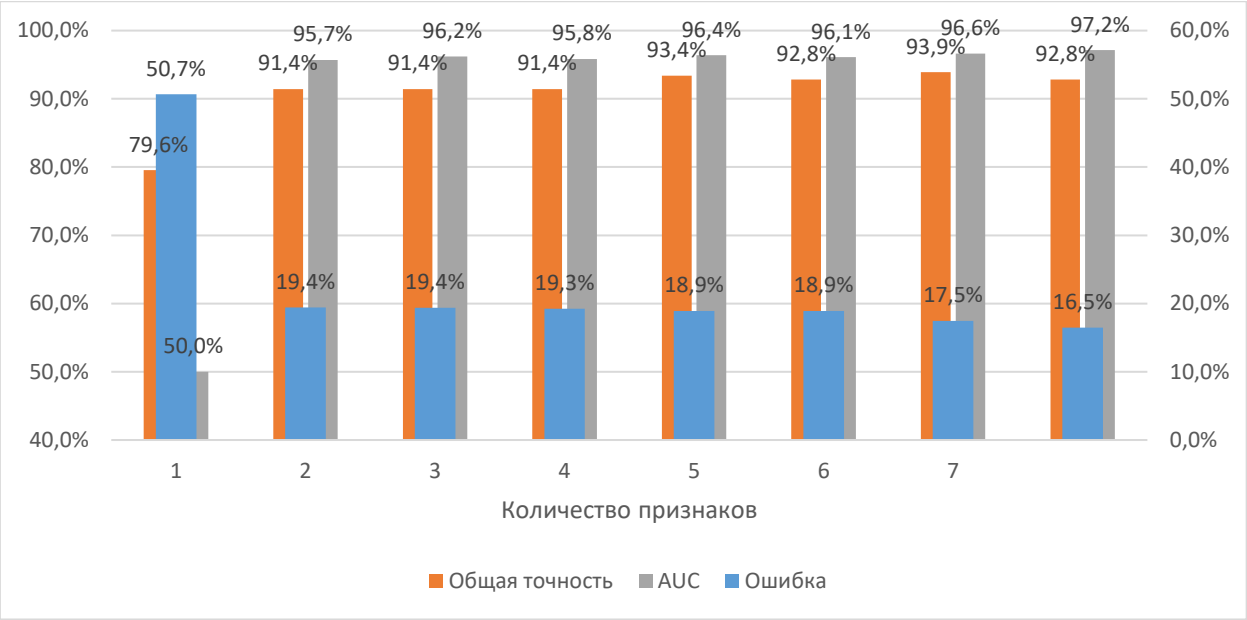

Рисунок 17. Показатели эффективности модели в зависимости от количества предикторов в процессе их последовательного добавления по статистической величине. Общая точность и AUC по основной оси, ошибка по вспомогательной оси.

Наиболее значимыми переменными для эффективной работы НС являлись отягощенная наследственность и получаемое лечение, однако включение других значимых признаков также увеличивало качество прогноза. На основании этого, для итоговой конфигурации НС было принято решение использовать все предварительно отобранные предикторы. Итоговая архитектура НС представлена на рисунке 18.

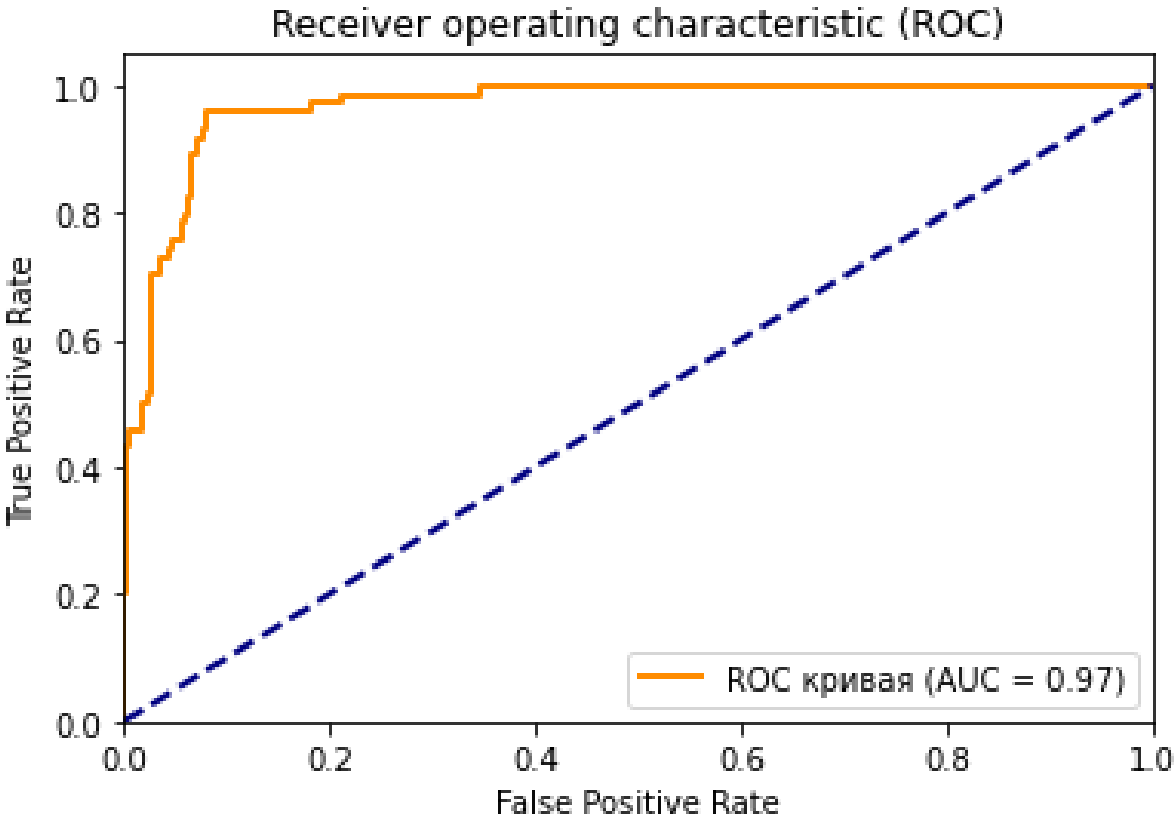

Рисунок 18. Операционных характеристики итоговой конфигурации НС полученные тестовой выборки.

На рисунке 18 представлена динамика ошибки – значения функции потерь в процессе обучения НС. Дальнейшее изменение архитектуры НС (увеличение скрытых слоев и количества нейронов в скрытых слоях) не привело к улучшению характеристик НС.

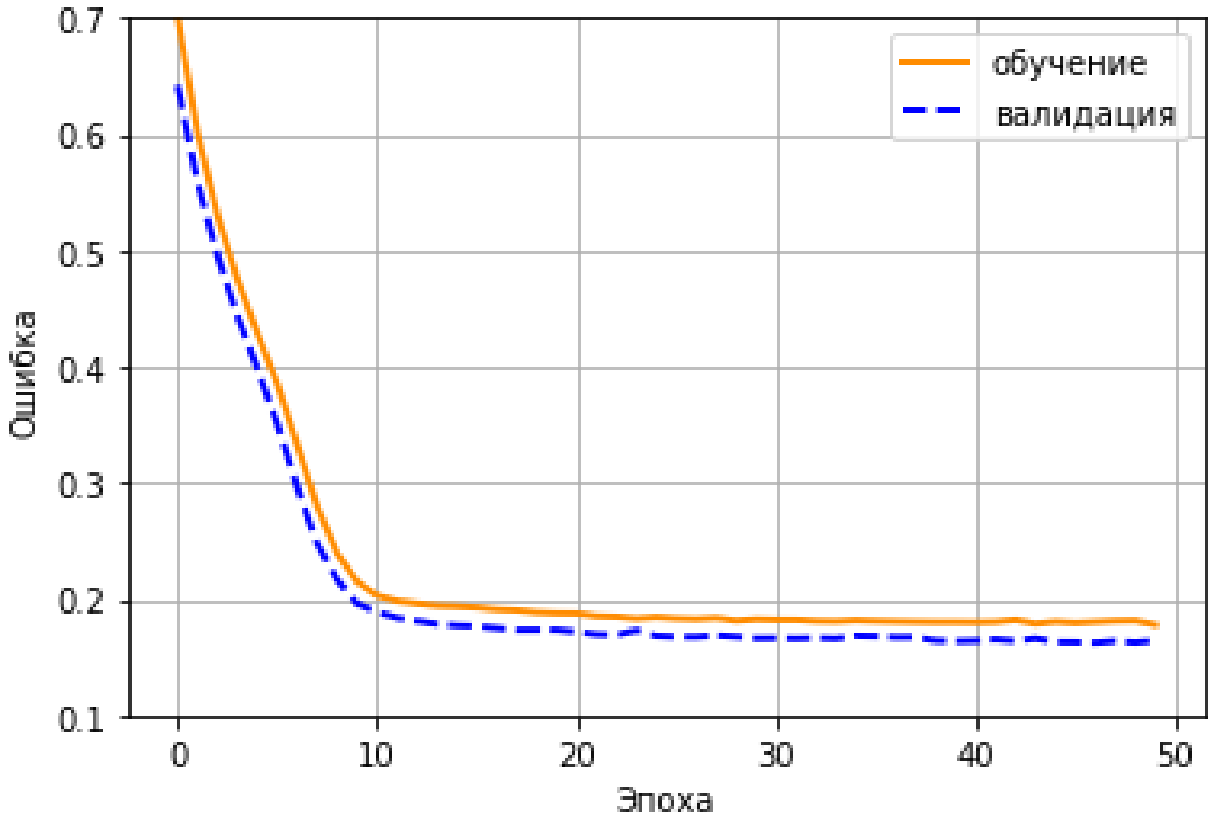

Рисунок 19. Значение функции потерь - ошибка при обучении для тренировочной и валидационной выборок.

После обучения, оценка производительности (качества) НС проводилась на тестовой выборке. В процессе оценки, разработанная НС продемонстрировала хорошие прогностические возможности. Так площадь под ROC (receiver operating characteristics) кривой (AUC) достигла 0,97 (рис. 18).

Для определения наиболее оптимального порогового значения предсказанной вероятности MODY диабета были проанализированы различные показатели матрицы несоответствий, отражающие качество НС (рис. 19).

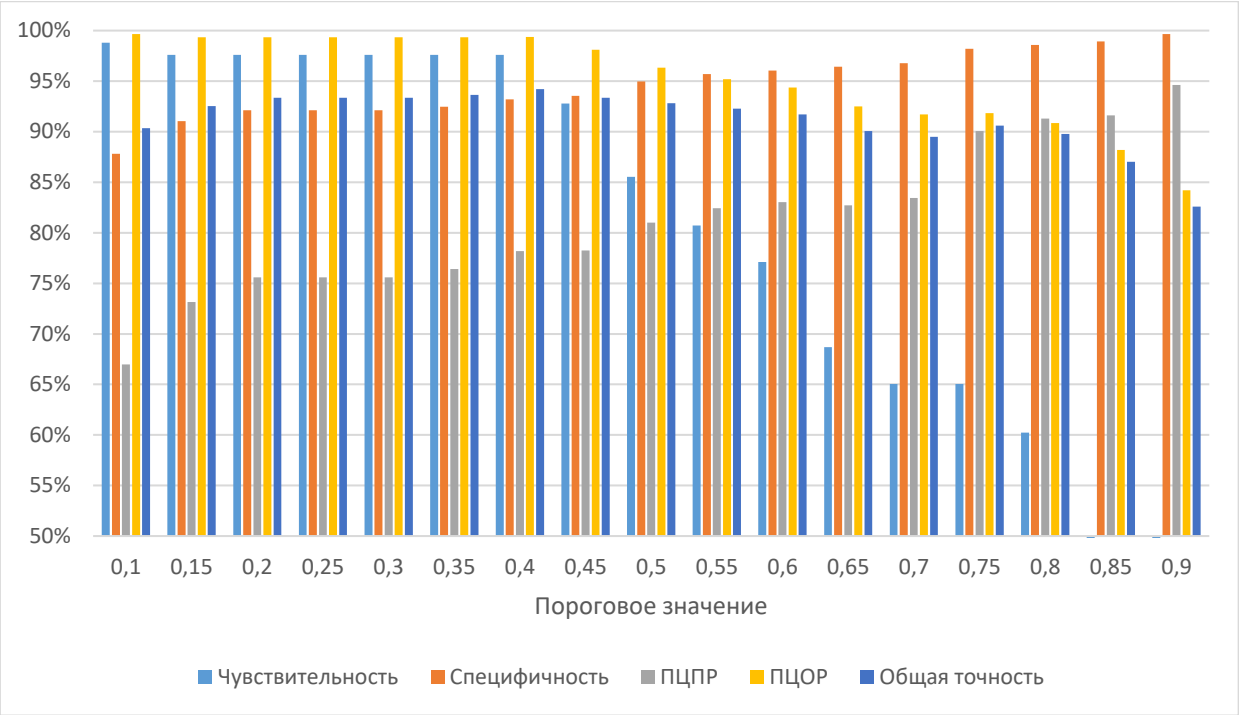

Рисунок 20. Показатели эффективности модели в зависимости от выбранного порогового значения предсказанной вероятности.

Наибольшая сумма показателей чувствительности и специфичности (1,91) была достигнута при пороговом значении 0,40 (предсказанная вероятность MODY диабета 40%) (Рис. 20). При этом пороговом значении, чувствительность составила 98%, специфичность 93%, ПЦПР с коррекцией на преваленс 78%, а ПЦОР с коррекцией на преваленс 99%, общая точность модели 94%.

На основании модели НС была разработана СППВР для определения наличия у пациента MODY диабета, реализованная в виде приложения (рис. 21).

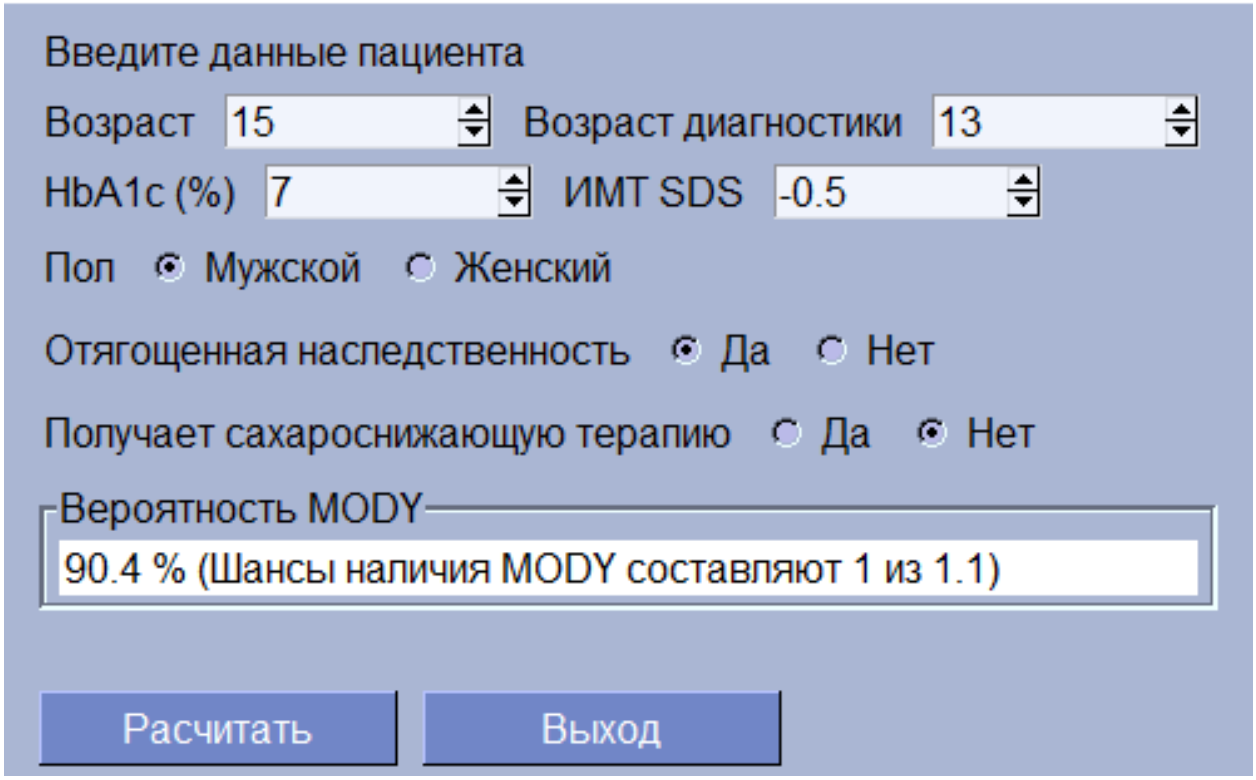

Рисунок 21. СППВР на основании разработанной НС.

После внесения всех необходимых клинических признаков, СППВР рассчитывает вероятность и шансы наличия MODY диабета у конкретного пациента.

ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ МАТЕРИАЛОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Факторы, ассоциированные с уровнем С-пептида у детей с СД1

В классическом понимании СД1 характеризуется аутоиммунным, антителассоциированным разрушением β-клеток, приводящим к абсолютной недостаточности инсулина. Однако, у большого числа пациентов С-пептид может быть обнаружен спустя долгое время после постановки диагноза. Исследование С-пептида является общепринятым методом количественной оценки функции β-клеток и может использоваться как рутинный диагностический метод. В свою очередь, измерение уровня стимулированного С-пептида в ходе пробы со стандартным жидким завтраком – основной критерий оценки эндогенной секреции инсулина при СД. В нашем исследовании у 68,5% пациентов от общего числа обследуемых сохранялась определяемая функция β-клеток, что соответствует данным больших обсервационных исследований [4, 18]. У 35% пациентов с СД1, диагностированным после 18 лет, С-пептид определяется через 10–19 лет после постановки диагноза, по сравнению с 9% людей, у которых СД1 диагностирован до 18 лет [4]. По полученным нами данным, у детей, заболевших СД1 в допубертатном возрасте, реже встречалась сохранная или нормальная секреция С-пептида натощак, в сравнении с детьми, которым диагноз был установлен в период пубертата. Особый интерес представляют пациенты с длительностью СД1 более 5 лет, имеющие определяемую секрецию С-пептида. В нашем исследовании 23% пациентов с длительностью более 5 лет имели определяемую базальную секрецию С-пептида. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) показало, что у 33% детей при длительности СД менее 5 лет и у 3% при длительности заболевания от 5 до 15 лет стимулированный уровень С-пептида был выше 0,2 нмоль/л (0,6 нг/мл) [19]. Среди наших пациентов с длительностью СД1 более 5 лет медиана стимулированного уровня С-пептида через 2 часа в группе с манифестацией в пубертате составила 1,97 нг/мл, а в допубертатном возрасте 0,45 нг/мл.

DCCT так же показало, что сохранная секреция эндогенного инсулина, оцениваемая по уровню С-пептида, улучшает клиническое течение СД1, а также приводит к снижению частоты развития острых и хронических осложнений заболевания [20]. Необходимы дальнейшие исследования с прицельным изучением групп пациентов с сохранной секрецией С-пептида, что может помочь в понимании физиологии истощения пула инсулин-продуцирующих клеток и разработке лекарственных препаратов, направленных на сохранение их функций.

4.2 Особенности иммунологического статуса у детей с СД1

В нашем исследовании из 1333 включенных в исследование детей с СД1 76,3% были серопозитивны по одному или более виду ААт, в свою очередь, у 23,7% ААт не определялись. При анализе литературы процент идиопатического – не аутоиммунного СД1 - в детской популяции варьирует от 5 до 30% в зависимости от объема выборки и типов определяемых ААт [8, 11, 12].

Аутоиммунитет к островковым клеткам может развиваться у детей, начиная с 6 месяцев, с пиком сероконверсии к 2–3 годам и вероятным вторым пиком в период полового созревания [13]. Большие обсервационные сравнительные исследования показывают, что среди пациентов с СД1 ААт определяются чаще в детской популяции в сравнении со взрослыми пациентами [14]. Согласно литературным данным, положительный уровень ААт сохраняется более чем у 60% детей при длительности СД1 более 5 лет [15-17], а также у 29,5% пациентов с длительностью СД более 50 лет [1]. Полученные нами данные соотносятся с результатами предыдущих исследований: положительный уровень ААт определялся чаще в группе пациентов с длительностью СД1 менее 1 года, в первые 5 лет частота выявления каждого вида ААт значимо не снижается, процент пациентов с определяемым уровнем ААт через 5 лет после манифестации остается высоким и составляет около 50% от общего числа пациентов. Во всех группах один или более вид ААт выявлялся статистически значимо чаще у пациентов с СД1,

манифестировавших в период пубертата. Более низкая выявляемость ААт в группе пациентов с манифестацией СД в допубертатном возрасте в нашем случае, возможно, связана с большей длительностью заболевания в этой группе на момент обследования.

При анализе серопозитивности разных видов ААт в исследуемых группах, IAA ожидаемо чаще выявлялись у пациентов, манифестировавших в допубертатном возрасте и с меньшей длительностью заболевания. В недавно проведенном британском исследовании с участием 3312 человек ААт к GAD чаще выявлялись у взрослых с СД1, а ААт к IA-2 и ZnT8 у детей младше 17 лет [14]. По результатам нашей работы у детей с манифестацией СД1 в период полового созревания процент положительных уровней ААт к GAD и ZnT8 был выше. Учитывая отсутствие статистически значимой разницы в выявлении ААт к GAD и ZnT8 в группе детей с длительностью заболевания менее 1 года можно говорить о высокой специфичности данных видов ААт в детском возрасте. При оценке ААт к IA-2 установлено, что период сероконверсии приходится на первые 5 лет после клинической манифестации заболевания с превалированием определения положительного уровня у пациентов с манифестацией СД в пубертате. В то время как у детей с манифестацией в допубертатном возрасте ААт к IA-2 встречаются реже.

4.3 Особенности ремиссии СД1

После диагностики СД1 часто наступает фаза клинико-лабораторной ремиссии, также известная как «медовый месяц». Данный период характеризуется снижением глюкозотоксичности, которое происходит благодаря инициации терапии инсулином, что приводит в свою очередь к улучшению резидуальной секреции эндогенного инсулина и замедлению деструкции β-клеток, потребность в экзогенном инсулине может снижатся [72].

В нашем исследовании при изучении группы пациентов с длительной ремиссией СД1 типа выявлено, что наиболее значимыми факторами развития

длительной ремиссии СД1 были возраст пациента при диагностике СД1, сохранная резервная функция β-клеток, характер манифестации нарушений углеводного обмена.

Дети, у которых наблюдалась длительная ремиссия СД1, были старше детей, у которых СД1 имел классическое течение. Наиболее часто ремиссия наблюдалась в возрастной группе 6-12 лет. Возраст детей до 6 лет явился предиктором быстрой деструкции β-клеток с развитием потребности в инсулине более 0,5 ед/кг/сут – 49% пациентов без ремиссии СД1 заболели в возрасте до 6 лет. Полученные данные совпадают с данными зарубежных исследователей. В исследовании S.Passanisi и соавт. было включено 167 детей, у 106 наблюдалась ремиссия СД1. Пациенты с ремиссией были старше детей без ремиссии СД1 (9,3±3,7 против 7,4±3,7), ремиссия наиболее часто (43,4%) наблюдалась в возрастной группе 10-16 лет [57]. В финском исследовании по изучению СД1 у 745 детей частичная ремиссия наиболее редко наблюдалась в возрасте до 2 лет, у детей пубертатного возраста ремиссия наблюдалась реже, чем в группе детей 2-10 лет [50]. Однако в польском исследовании, в которое было включено 114 детей с СД1, напротив, частота развития ремиссии не зависела от возраста пациентов при диагностике СД и была одинаковой в возрастных группах 0-4 года, 5-9 лет, 10-14 лет и более 14 лет [73]. Таким образом, возраст на момент диагностики СД1 является одним из факторов, обуславливающим вероятность развитии частичной ремиссии СД1. Манифестация заболевания в более позднем возрасте является благоприятным прогностическим фактором развития ремиссии. Низкая частота развития ремиссии СД1 у маленьких детей вероятно обусловлена высокой частотой ДКА, что в свою очередь связано с более агрессивным аутоиммунным процессом с быстрым развитием недостаточности β-клеток у детей младшего возраста по сравнению с другими возрастными группами.

В нашем исследовании у детей с ремиссией СД1 нарушения углеводного обмена чаще диагностированы на доклинической фазе. Более того, случайная

диагностика СД явилась фактором длительной полной клинико-лабораторной ремиссии СД1. Острая манифестация наблюдалась лишь у 20,9% детей с полной ремиссией СД1, 66,1% у детей с частичной ремиссией СД1 и 89,6% у детей без ремиссии СД1. Полученные данные согласуются с ранее проведенными исследованиями, где острая манифестация, в том числе ДКА, отрицательно коррелировали с длительностью и вероятностью развития ремиссии СД1. При анализе данных 3657 детей с СД1 из регистра сахарного диабета Германии и Австрии выявлено, что ДКА статистически значимо реже встречался у детей с частичной ремиссией СД1 (13%) по сравнению с детьми без ремиссии СД1 (21%) [61]. В исследовании Bowden и соавт. также отмечалась более высокая частота ДКА у детей без ремиссии – 49,5%, по сравнению со случаями СД1 с ремиссией – 18,3% [60].

Мы не получили статистических различий в гендерном распределении пациентов с длительной ремиссией и без ремиссии. Однако отмечается тенденция к преобладанию мальчиков среди пациентов с частичной ремиссией СД1. Ранее было отмечено, что мужской пол является предиктором развития частичной клинико-лабораторной ремиссии [61, 49]. Например, в исследовании, проведенном в Германии и Австрии, частичная ремиссия в 1,4 раза чаще отмечалась у мальчиков, чем у девочек [61]. А также в данном исследовании у мальчиков ремиссия была более продолжительна. Обсуждается влияние более выраженной ИР у девочек, по сравнению с мальчиками [73], а также половым диморфизмом в сохранении резидуальной β-клеточной массы, связанной с секрецией половых гормонов [75].

Нами получены данные, что частота серопозитивности не различалась в группах пациентов с ремиссией и без ремиссии – 73,1 и 77,2%, однако ААт IAA чаще выявлялись у пациентов без ремиссии в 27% против 4%. По данным некоторых исследований наличие ААт снижает вероятность наступления ремиссии и влияют на длительность ремиссии [76]. Например, в австро-германском исследовании показано, что отсутствие ААт при диагностике

диабета повышало вероятность развития частичной ремиссии СД1 [61]. Высокий уровень ААт при диагностике заболевания является маркером более выраженной аутоиммунной агрессии и быстрой деструкции β-клеток [61]. Однако в исследовании S.Passanisi и соавт. не выявлено статистически значимых различий в частоте ААт (GADA, ICA) у пациентов с ремиссией СД1 и без нее [57]. По полученным нами данным, меньшая частота IAA у детей с ремиссией, по-видимому, связана с более старшим возрастом дебюта заболевания, а не напрямую с вероятностью развития ремиссии, так как известно, что частота выявления ААт к инсулину снижается с возрастом.

Задачей данного исследования являлось определение дифференциально-диагностических критериев полной клинико-лабораторной ремиссии СД1 типа и MODY. Группа пациентов с СД1 включала в себя пациентов с полной клинико-лабораторной ремиссией и с ранней, доклинической диагностикой СД1. У детей длительность клинико-лабораторной ремиссии, как правило, не превышает 6 месяцев. Согласно рекомендациям ISPAD, длительный период «медового месяца» должен быть основанием для исключения MODY [46], в связи с чем, в наше исследование были включены пациенты с длительностью заболевания более 6 месяцев. В группу с MODY были включены пациенты с гетерозиготными мутациями в генах, известных как приводящие к моногенным формам СД. Особенностью формирования данной выборки пациентов является преобладание в данной группе GCK-MODY, что обусловлено наибольшей встречаемостью данного подтипа MODY в детском возрасте [82-84].

Ключевыми дифференциально-диагностическими критериями СД1 и MODY являются специфические ААт и наследственный анамнез, дополнительными критериями могут быть характер манифестации заболевания, показатели углеводного обмена, получаемое лечение. СД1 развивается в результате аутоиммунной агрессии организма к β-клеткам поджелудочной железы. У 85-93% пациентов с СД1 определяется положительный титр специфических ААт

[61, 85], однако отрицательный титр не исключает наличие у пациента СД1. Отсутствие панкреатических ААт является одним из основных критериев для проведения молекулярно-генетического исследования с целью дифференциальной диагностики с моногенными формами СД [66]. В нашем исследовании у пациентов с полной ремиссией СД1 выявление специфических панкреатических ААт позволило исключить MODY у 77,8% пациентов, причем наибольшее дифференциально-диагностическое значение показали ААт к ZnT8 и IA2, которые выявлялись у пациентов с СД1 чаще, чем GADA, ICA, IAA. Полученные данные согласуются с результатами Bravis V. и соав. [85]. В шведском педиатрическом исследовании изучена дифференциально-диагностическая роль GADA, IA2A, ZnT8A. В данное исследование были включены 3933 пациента с СД в возрасте от 1 года до 18 лет, всем были исследованы специфические островковые ААт. Молекулярно-генетическое исследование проведено 76 пациентам с отрицательным титром ААт с фенотипом MODY и 227 серонегативным пациентам без фенотипа MODY, диагноз подтвержден в 34 и 12 случаях, соответственно. Группу контроля составили 182 пациента с положительным титром ААт - MODY не выявлено ни у одного пациента. Таким образом, в данной работе продемонстрирована необходимость проведения иммунологического обследования перед генетическим анализом [86].

Однако у пациентов с СД и положительным титром ААт MODY не может быть полностью исключен. При наличии клинической картины MODY пациентов следует направлять на молекулярно-генетическое исследование. В нашем исследовании 11,4% пациентов с MODY были серопозитивными. Следует отметить, что у пациентов с MODY определялось не более одного вида ААт, в то время как у 44,5% пациентов с ремиссией СД1 выявлялось 2 и более типов ААт. По данным литературы, у 1-25% пациентов с MODY отмечалось носительство ААт [87-89]. В работе McDonald и соав. исследование ААт к GAD, IA2 проведено у 508 пациентов с MODY, и у 5 из них были выявлены ААт (менее 1%). Все пациенты были серопозитивны только по одному типу

ААт. Низкая частота выявления ААт в данном исследовании связана с предварительным скринингом пациентов на специфические островковые ААт перед направлением на генетическое исследование. При выявлении ААт при MODY обсуждается возможное сочетание моногенного СД и СД1, поэтому необходимо наблюдение за данной группой пациентов [104]. Таким образом, исследование специфических островковых ААт целесообразно проводить перед проведением молекулярно-генетического исследования. При выявлении одного типа ААт решение о необходимости генетического исследования должно приниматься на основании комплексного анализа клинических и лабораторных характеристик. При выявлении более одного вида ААт выявление мутаций в генах, характерных для MODY, маловероятно, но не исключено.

У пациентов с MODY, по сравнению с пациентами с ремиссией СД1, значимо чаще в наследственном анамнезе отмечались случаи СД у родителей, сибсов и родственников 2 степени родства. Аналогичные данные получены в 5-летнем педиатрическом национальном исследовании, проведенном в Швеции - СД у родителей был диагностирован в 12% при СД1 и 63% при MODY ($p=6*10^{-5}$) [86]. По данным литературы, у 12,2-15% пациентов с СД1 диагностированы различные нарушения углеводного обмена у родственников 1 степени родства [85, 90]. В нашем исследовании выявлена более высокая частота СД у родственников 1 степени родства в группе пациентов с СД1 по сравнению с литературными данными – 22%. Brevis и соав. показали, что у пациентов с отягощенным наследственным анамнезом по СД (у родителей или сибсов) риск манифестации СД1 с кетоацидозом был ниже, а вероятность развития ремиссии выше, чем у пациентов с СД1 без отягощенной наследственности, что может быть связано с повышенной осведомленностью о симптомах СД и более ранней диагностикой СД, когда сохранен резерв β-клеток [85].

У большинства пациентов в нашем исследовании нарушения углеводного обмена были диагностированы на доклинической стадии – 98,2% при MODY и 61,1% при полной клинико-лабораторной ремиссии СД1. Лишь

у одного пациента с ремиссией был ДКА при манифестации (2,8%) и у 7 пациентов (19,4%) – кетоз. Умеренные клинические симптомы СД отмечались у 2 пациентов с гетерозиготной мутацией в гене GCK, в том числе у одной пациентки с повышенным уровнем ААт, таким образом, в данном случае можно говорить о сочетании GCK-MODY с аутоиммунным СД. Мягкий характер манифестации СД1 является предрасполагающим фактором к развитию ремиссии СД. Диабетический кетоацидоз при манифестации СД в детском возрасте снижает вероятность развития ремиссии, что обусловлено взаимосвязью между развитием ДКА и количеством резидуальной β-клеточной массы [60, 91]. В исследовании DPV, проведенном в Германии и Австрии, проанализированы данные 3657 детей с СД1. Показано, что у детей у которых развивалась частичная клинико-лабораторная ремиссия, частота ДКА была статистически значимо ниже и составляла 13%, в то время как у детей с СД1 без ремиссии частота ДКА составила – 21% [61]. В исследовании Bowden и соавт. также отмечалась более высокая частота ДКА у детей без ремиссии – 49,5%, по сравнению со случаями СД1 с ремиссией – 18,3% [60]. Для наиболее распространенных форм MODY (GCK-MODY, HNF1A-MODY, HNF4A-MODY) характерна асимптоматическая диагностика нарушений углеводного обмена или возможны мягкие клинические проявления СД [66, 82, 92, 93]. Острая манифестация MODY описана при гетерозиготных мутациях в генах *NEUROD1, PDX1, INS* [62].

Помимо характера манифестации, значимыми факторами развития ремиссии СД1 являются возраст дебюта заболевания и пол [45, 48, 61, 91]. В нашем исследование пациенты с ремиссией СД1 были старше пациентов с MODY. В группе пациентов с MODY наиболее часто (в 42,1%) СД был диагностирован до 6 лет, в то время как для ремиссии СД1 был характерен дебют в предпубертатном (38,9%) и пубертатном возрасте (38,9%). По данным различных исследований возраст на момент диагностики СД1 оказывает значимое влияние на вероятность развития ремиссии. Частота развития

частичной ремиссии у детей раннего возраста (до 2-5 лет) невысока и составляет 16,7-27,4%, у детей старше 5 лет 37,1%-42,1%. Наиболее часто, в 56,6% ремиссия развивается при дебюте СД в предпубертатном и постпубертатном возрасте [48, 60, 63, 64, 94]. Возраст диагностики MODY варьирует в зависимости от подтипа MODY. При GCK-MODY, который превалирует в исследованной нами выборке MODY, нарушения углеводного обмена могут быть выявлены уже в первые дни жизни [95], и, как правило, возраст диагностики СД совпадает с возрастом исследования гликемии, медиана возраста диагностики составляет 8 лет [96]. При других формах MODY возраст диагностики углеводного обмена выше: средний возраст диагностики нарушений углеводного обмена при MODY-HNF1A и MODY-HNF4A составляет 18-25 лет, MODY-HNF1B – 16 лет [97]. Таким образом, наличие стойкой ремиссии СД у детей раннего возраста может служить дополнительным основанием для проведения дифференциальной диагностики типа СД.

Для пациентов с ремиссией СД1 более характерна гипергликемия при проведении ПГТТ, а для пациентов с MODY – гипергликемия натощак, что вероятно, обусловлено преобладанием в группе с MODY пациентов с гетерозиготными мутациями в гене GCK, для которых типичен данный тип гликемической кривой [95, 96]. Уровень гликированного гемоглобина у пациентов с ремиссией СД1 были ниже, чем у пациентов с MODY, что, предположительно, говорит о большем влиянии базального уровня гликемии на средний уровень глюкозы.

Определение С-пептида широко используется для оценки функции β-клеток. Выявление сохранной секреции С-пептида является одним из оснований для проведения дифференциальной диагностики между сахарным диабетом 1 типа и моногенными формами СД [66]. В настоящем исследовании не выявлено различий между базальным и стимулированными уровнями С-пептида у пациентов с ремиссией СД1 и MODY. Таким образом, определение С-пептида,

как натощак, так и в процессе проведения ПГТТ, у детей с СД без потребности в инсулине не позволяет дифференцировать СД1 и MODY.

Показано, что наиболее высокий риск развития СД1 определяется гетерозиготным генотипом DR3-DQ2/DR4-DQ8 [23, 98]. Нами получено, что частота данного гетерозиготного генотипа статистически значимо реже встречается среди детей с ремиссией СД1. В исследовании Camilo DS с соавт. по изучению взаимосвязи HLA II класса и уровня ассоциированных с диабетом антител с развитием частичной ремиссии СД1 проведено проспективное наблюдение 51 пациента с впервые выявленным СД1 [98]. Из общего числа пациентов у 21 отмечалась ремиссия СД1. Не получено статистически значимых различий в частоте гетерозиготного генотипа DRB1*03-DQB1*0201/DRB1*04-DQB1*0302 у пациентов с ремиссией СД1 и без, однако выявлена разница в частоте определения этого генотипа у детей с разным возрастом начала заболевания: у детей с манифестацией до 5 лет – в 33,3%, в 5-15 лет – 27,6%, старше 15 лет – 0%. Отсутствие различий частоты данного генотипа в группах с ремиссией и без, возможно, обусловлено небольшим числом пациентов в этом исследовании в отличие от нашей работы. Кроме того, в исследовании Camilo DS с соавт. у детей с ремиссией СД1 статистически значимо чаще выявлялся HLA-гаплотип DRB1*03-DQB1*0201 (в 42,9% случаев по сравнению с 21,7%); у пациентов, гомозиготных по данному гаплотипу, чаще развивалась ремиссия СД1. Гомозиготный генотип DR3-DQ2/DR3-DQ2 является предрасполагающим к развитию СД1 и в нашем исследовании не отмечено более высокой частоты его выявления у пациентов с ремиссией СД1. По нашим данным у детей с ремиссией значимо чаще определялся протекторный генотип DRB1*04-DQA1*030X-DQB1*0302/ DRB1*11/13/15-DQA1*0103-DQB1*0603.

Ранее ряд работ также продемонстрировал ассоциацию между наличием HLA-генотипов высокого риска с возрастом начала СД1 и уровнем С-пептида при манифестации заболевания. В исследовании Petrone A и соавт. частота

гетерозиготного генотипа высокого риска DRB1 *03-DQB1*0201 /DRB1 *04-DQB1*0302 снижалась с увеличением возраста начала заболевания (p<0,0001), наличие генотипа высокого риска ассоциировано с более низкими уровнями С-пептида при диагностике СД1 (p = 0,002) [36]. В нашей работе группы детей с ремиссией СД1 и без были сопоставимы по возрасту диагностики заболевания, что позволило нам продемонстрировать ассоциацию генотипов HLA с вероятностью развития ремиссии СД1, независимо от возраста манифестации заболевания.

При анализе HLA-гаплотипов получено, что у детей без ремиссии статистически значимо чаще выявляется предрасполагающий гаплотип DRB1*04-DQA1*030X-DQB1*0302, а у детей с ремиссией СД1 - протекторный гаплотип DRB1*11/13/15-DQA1*0103-DQB1*0603, DPB1*0402. Haller K с соавт при сравнении результатов HLA-типирования у взрослых пациентов с классическим СД1 и латентным аутоиммунным диабетом (LADA) выявили более низкую ассоциацию LADA с HLA-DQB1 высокого риска [37].

Таким образом, проведенный нами анализ HLA II класса свидетельствует о более низкой суммарной генетической предрасположенности к СД1 у детей с ремиссией СД1: для пациентов этой группы характерна более низкая частота предрасполагающих гаплогенотипов и более высокая частота протекторных гаплотипов.

Результаты исследования локусов HLA I класса также свидетельствуют о более низкой частоте предрасполагающего аллеля C*0602 в группе детей с ремиссией заболевания. При анализе данных литературы, публикаций, посвященных влиянию тех или иных аллелей HLA I класса на вероятность развития ремиссии СД1, нами не найдено.

Выявленные генетические особенности пациентов с ремиссией СД1 сопоставимы с результатами расчета показателя полигенного риска, который

у пациентов с ремиссией оказался статистически значимо ниже – 1,6 против 2,3 в группе без ремиссии (p<0,001). В работе Redondo MJ с соавт. было обследовано 1244 родственников участников исследования T1DM TrialNet [98] с целью изучения прогностической ценности шкалы генетического риска (GRS) для оценки скорости прогрессирования островского аутоиммунитета и развития СД1 у лиц группы риска. Показано, что более высокий GRS ассоциирован с увеличением скорости прогрессирования аутоиммунного процесса, с переходом от повышения одного вида антител до множественного, независимо от возраста, пола, этнической принадлежности пациента и типа выявленных антител [100]. Результаты нашей работы свидетельствуют о роли генетических факторов не только в скорости прогрессирования заболевания на доклинической стадии, но и скорости истощения β-клеток после диагностики заболевания, вероятности развития ремиссии заболевания.

4.4 Молекулярно-генетические основы ремиссии СД

При проведении молекулярно-генетического исследования у 17 из 37 пациентов с длительной частичной или полной ремиссией СД1 выявлены мутации в генах, ответственных за развитие, функцию β-клеток, а также секрецию, действие инсулина и предрасположенность к аутоиммунным процессам. Однако учитывая высокий уровень ААт, а также высокую потребность в инсулине, данные клинические случае интерпретированы как СД1. У четырех пациентов выявлены патогенные варианты в генах, ответственных за развитие MODY (*HNF1B, GCK, KLF11*).

У пациента с острой манифестации СД в возрасте 6,9 лет выявлена мутация в гене *GLIS3*. Ген *GLIS3* кодирует круппелеподобный белок цинковых пальцев Gli-similar (GLIS) 3, играет критическую роль в развитии поджелудочной железы, мутации в данном гене приводят к сочетанию неонатального СД, гипотиреозом и другими врожденными дисфункциями [77]. А также выявлена ассоциация между различными вариантами в гене *GLIS3* и развитием СД1, а также СД2 [78].

У пациентов, имеющих ожирение на момент манифестации заболевания, выявлены мутации в генах, ассоциированных с развитием СД2, ожирением, инсулинорезистентностью (*ACAD10, PREX1, PCSK1, COG3, DGKD, SIRT1, FOXA2, SIM1*).

У пациента с ожирением и мягким течением диабета с небольшой потребностью в инсулине выявлена гетерозиготная мутация в гене *FOXA2*. Ген *FOXA2* рассматривают как ген-кандидат развития СД2 [79]. Данный ген *FOXA2* кодирует транскрипционный фактор (Forkhead box a2), который играет ключевую роль в развитии β-клеток, регулирует сеть факторов транскрипции β-клеток, включающей Nkx6.1, *PDX1, HNF1α, HNF1β и HNF4α*, а также гены *ABCC8, KCNJ11* [95, 96]. Учитывая наличие у пациента ожирения, длительную ремиссию СД с ААт+, можно говорить о сочетании СД1 и СД2.

У одного пациента выявлена компаунд-гетерозиготная мутация в гене *WFS1*. На момент обследования других компонентов синдрома Вольфрама у пациента не выявлено. Гетерозиготные мутации в гене *WFS1* также ассоциированы с развитием изолированного СД1 [103].

Таким образом, у 46,95% детей с ремиссией СД1 выявлены варианты в генах, ассоциированных с секрецией и/или действием инсулина, закладкой и развитием поджелудочной железы. Биоинформатические алгоритмы предсказания патогенности рассматривают данные варианты как патогенные, однако, в связи с отсутствием достаточной информации о механизме их влияния на развитие заболевания, данные замены расцениваются как варианты с неизвестной клинической значимостью. Необходимо проведение функциональных исследований для уточнения патогенеза развития СД1.

4.5 Модель клинического прогнозирования сахарного диабета MODY типа у детей

Различные технологий искусственного интеллекта в медицине в последнее время получают все более широкое распространение. Применение таких

технологий позволяет повысить эффективность диагностики и лечения при различных заболеваниях и состояниях. Целью данной работы являлось разработка наиболее эффективного алгоритма прогнозирования MODY диабета у детей на основании доступных клинических показателей 1710 пациентов с СД в возрасте до 18 лет с использованием многослойной НС прямого распространения.

В качестве предикторов предварительно были отобраны различные, доступные без проведения дополнительного обследования, клинические показатели, которые могут быть связанны с СД и прогнозировать тип СД [69]. Для определения наиболее значимых переменных, был применен критерий хи-квадрат и однофакторный дисперсионный анализ, что позволило подтвердить статистически значимую взаимосвязь отобранных предикторов с типом СД. Исходная база данных была подготовлена и разделена на три выборки: обучающая, валидационная и тестовая, для обучения, настройки и оценки НС, соответственно. Архитектура НС последовательно изменялась до достижения наилучших показателей площади под ROC кривой (AUC-ROC) и матрицы несоответствий.

Результаты оценки показали, что разработанная архитектура НС в виде 7-5-5-2 (входной слой-скрытые слои-выходной слой, рисунок 2) обладает достаточной общей точностью, составляющей 93% (AUC 97%), при этом чувствительностью тестирования достигает 98%, а специфичность 93%.

Генетическое тестирование является высокоспецифичным и чувствительным методом, и представляет собой золотой стандарт диагностики MODY. Ограничивающим фактором является высокая стоимость процедуры, что затрудняет использование метода в рутинной практике. Решение о необходимости проведении генетического исследования принимается врачом с учетом клинической картины заболевания.

Вероятность MODY диабета >40%, предсказанная моделью, является основанием для рассмотрения вопроса о проведении молекулярно-генетического тестирования (специфичность 93%). В этих случаях дальнейшее исследование уровня С-пептида и островковых ААт может быть проведено до генетического тестирования, при этом положительный результат на С-пептид и отрицательный результат на ААт убедительно указывает на MODY по сравнению с СД1 [89, 101].

Сильной стороной разработанной модели является достаточная по количеству и качеству выборка пациентов в возрасте до 18 лет. Однако несмотря на проведенную валидацию и проверку модели, необходимо дальнейшее тестирование. Модель должна быть проверена в различных условиях и популяциях, так как распространенность СД1 и MODY диабета может существенно различаться между этническими и возрастными группами.

Включение в модель других характеристик может улучшить ее диагностические возможности. В этой модели использовались только основные клинические характеристики, а данные были ограничены информацией, доступной для всех пациентов. Некоторые важные клинические признаки, которые указывают на MODY, СД1 не были включены. Островковые ААт [102] и показатели секреции эндогенного инсулина, такие как уровень С-пептида, являются высокочувствительными и специфическими биомаркерами СД1, которые хорошо дифференцируют MODY и СД1 [89, 101]. Дополнительными прогностическими показателями являются: инсулинорезистентность, стимулированный уровень С-пептида и гликемии. Преимущество использованных в работе клинических критериев, заключается в том, что они должны быть рутинно доступны для всех пациентов. Но даже без дополнительных клинических характеристик разработанная модель продемонстрировала превосходное качество распознавания (ROC AUC>0,97), используя только клинические характеристики.

Разработанная в данной работе на базе НС модель клинического прогнозирования неиммуных форм сахарного диабета использует доступные для каждого пациента клинические показатели для определения вероятности наличия у пациента MODY. Применение в клинической практике СППВР на базе разработанной модели окажет помощь в отборе пациентов для диагностического генетического тестирования на MODY, что позволит эффективно распределить ресурсы здравоохранения, выбрать персонализированное лечение и наблюдение пациента.

Ограничения исследования

Исследование является ретроспективным, в связи с чем клиническая информация отсутствует у части пациентов. Также, ретроспективный характер исследования явился ограничением для проведения молекулярно-генетического исследования у части пациентов вследствие отсутствия их биологического материала.

Направления дальнейших исследований

С целью поиска и выявления генетических маркеров медленнопрогрессирующего СД, рекомендуется продолжить сбор наблюдений с целью получения большего количества пациентов и материалов для исследования. Необходимо проведение функциональных исследований выявленных генетических вариантов для уточнения патогенеза развития СД и возможного назначения патогенетического лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При длительности СД1 более 5 лет у детей в 23% случаев определяется резидуальная функция β-клеток. Более высокие уровни С-пептида статистически значимо чаще встречались у пациентов с манифестацией в пубертате вне зависимости от длительности СД1.

У детей наблюдается высокая частота выявления ААт, около половины детей с длительностью СД1 более 5 лет являются серопозитивными. По результатам нашего исследования можно сделать вывод о высокой информативности ААт GAD и ZnT8 на момент клинической манифестации заболевания. Несмотря на определение 4 видов ААт, процент идиопатического СД1 в нашей группе составил 23,7% случаев. Не выявлено ассоциации между уровнем С-пептида и видом, количеством и титром ААт.

Выявлена ассоциация ремиссии СД1 с более низкой генетической предрасположенностью к заболеванию. У пациентов с длительной ремиссией реже выявляются предрасполагающие HLA-гаплогенотипы, чаще выявляются протекторные HLA-гаплотипы.

У пациентов с ремиссией СД выявлены генетические варианты, ассоциированные с развитием СД1, СД2, и MODY, что может вносить вклад в длительно сохранную секрецию С-пептида.

Положительный уровень ААт не всегда исключает моногенную форму СД. При нетипичном течении СД1, отягощенном наследственном анамнезе по СД, следует проводить молекулярно-генетическое исследование с целью возможного назначения патогенетического лечения, последующего медико-генетического консультирования семьи.

Гетерогенность клинической картины заболевания диктует необходимость проведения дальнейших исследований для уточнения влияния найденных вариантов на развитие СД.

Применение в клинической практике систем поддержки принятия врачебных решений может оказать помощь в отборе пациентов для диагностического генетического тестирования на MODY, что позволит эффективно распределить ресурсы здравоохранения, выбрать персонализированное лечение и наблюдение пациента.

ВЫВОДЫ

1. Дебют СД1 в подростковом возрасте ассоциирован с более высоким уровнем С-пептида в начальном периоде заболевания, а также, с более медленным истощением β-клеток по сравнению с манифестацией заболевания в допубертатном возрасте. При длительности заболевания более 5 лет у 23% детей отмечалась определяемая секреция С-пептида.
2. При увеличении длительности СД1 частота серопозитивных пациентов снижается. При длительности заболевания более 5 лет 49% пациентов с манифестацией СД1 в допубертатном и 54% пациентов в пубертатном возрасте остаются серопозитивными по одному и более типуААт. Для манифестации СД1 в допубертатном возрасте характерна большая частота ААт IAA и меньшая частота IA-2A.
3. Ремиссия СД1 у детей ассоциирована с более старшим возрастом дебюта, доклинической диагностикой, меньшей частотой ААт к инсулину, большей частотой протекторных и меньшей частотой предрасполагающих HLA-гаплотипов
4. У 46,95% детей с ремиссией СД1 выявлены варианты в генах, ассоциированных с секрецией и/или действием инсулина, закладкой и развитием поджелудочной железы, предрасположенностью к аутоиммунным процессам.
5. Островковые ААт являются специфическим маркером СД1, однако их наличие не исключает MODY, так как 11,4% пациентов серопозитивны по одному из типов ААт.
6. Разработанный алгоритм персонализированного прогнозирования на основании искусственной НС позволяет на догенетическом этапе диагностировать MODY с чувствительностью и специфичностью тестирования, составляющей 96 и 92%, соответственно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Не рекомендуется использовать в клинической практике изолированную оценку уровня С-пептида в качестве основного дифференциально-диагностического критерия различных форм СД у детей.
2. Рекомендуется проведение исследования на наличие островковых ААт у детей с ремиссией СД и рассмотрение вопроса о направлении пациента на молекулярно-генетическое тестирование при полном отсутствии островковых ААт или в случае положительного уровня не более одного типа ААт.
3. У детей с ремиссией СД1 (при длительности заболевания более 6 месяцев) целесообразно проводить оценку вероятности наличия MODY с использованием разработанной СППВР для принятия решения о проведении дополнительного обследования и направления на генетическое исследование.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

FT1D – фульминатный сахарный диабет

GADA – аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе

GWAS – полногеномный поиск ассоциаций

HbA1c – гликированный гемоглобин

HLA – человеческий лейкоцитарный антиген

HOMA – индекс инсулинорезистентности

IA-2A – аутоантитела к тирозинфосфатазе

IAA – аутоантитела к эндогенному инсулину

ICA – аутоантитела к цитоплазматическим структурам β-клеток

LADA – латентный аутоиммунный диабет взрослых

LADY – латентный аутоиммунный диабет 1 молодых

MHC - главный комплекс гистосовместимости

MODY – диабет взрослого типа у молодых лиц

ROC - операционная кривая теста

SD – среднее значение

SDS - число стандартных отклонений от среднего

SNP - однонуклеотидные полиморфизмы

ZnT8A – аутоантитела к транспортеру цинка 8

ААт – островковые аутоантитела

АЛТ – аспартатаминотрасфераза

АСТ – аланинаминотрансфераза

ДИ – доверительный интервал

ДКА – диабетический кетоацидоз

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

иАПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

ИРИ – иммунореактивный инсулин

Me [Q1 – Q3] – медиана [1-й и 3-й квартили]

НС – нейронные сети

НТГ – нарушение толерантности к глюкозе

ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест

ПЦПР - прогностическая ценность положительного результата

СД – сахарный диабет

СД1 – сахарный диабет 1 типа

СД2 – сахарный диабет 2 типа

СППВР – система поддержки принятия врачебных решений

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кураева Т.Л., Петеркова В.А., Носиков В.В., Сергеев А.С., Дедов И.И. Возможности прогнозирования инсулинозависимого сахарного диабета в семьях больных на основе исследования генетических маркеров // Сахарный диабет. — 1998. — № 1. — С. 34—38.;

2. Дедов И.И., Петеркова В.А., Кураева Т.Л., Титович Е.В., Зильберман Л.И. Прогнозирование и профилактика сахарного диабета в детском возрасте. Методические рекомендации. М., 2009. — С. 55

3. Rich SS. Mapping genes in diabetes. Genetic epidemiological perspective Diabetes. 1990;39(11):1315–1319

4. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2022. *Diabetes Care*. 2022;45(Suppl 1):S17-S38. doi:10.2337/dc22-S002

5. Dayan CM, Korah M, Tatovic D, Bundy BN, Herold KC. Changing the landscape for type 1 diabetes: the first step to prevention. *Lancet*. 2019;394(10205):1286-1296. doi:10.1016/S0140-6736(19)32127-0

6. Atkinson MA, Eisenbarth GS, Michels AW. Type 1 diabetes. Lancet. 2014; 383(9911):69-82. doi:10.1016/S0140-6736(13)60591-7

7. Imagawa A, Hanafusa T, Miyagawa J, Matsuzawa Y. A novel subtype of type 1 diabetes mellitus characterized by a rapid onset and an absence of diabetes-related antibodies. Osaka IDDM Study Group. *N Engl J Med*. 2000; 342(5):301-307. doi:10.1056/NEJM200002033420501

8. Tuomi T, Groop LC, Zimmet PZ, Rowley MJ, Knowles W, Mackay IR. Antibodies to glutamic acid decarboxylase reveal latent autoimmune diabetes mellitus in adults with a non-insulin-dependent onset of disease. Diabetes. 1993;42(2):359-362. doi:10.2337/diab.42.2.359

9. Groop L, Tuomi T, Rowley M, Zimmet P, Mackay IR. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA)--more than a name. *Diabetologia*. 2006; 49(9):1996-1998. doi:10.1007/s00125-006-0345-x ;

10. Stenström G, Gottsäter A, Bakhtadze E, Berger B, Sundkvist G. Latent autoimmune diabetes in adults: definition, prevalence, beta-cell function, and treatment. *Diabetes*. 2005; 54 Suppl 2:S68-S72. doi:10.2337/diabetes.54.suppl_2.s68

11. Pozzilli P, Di Mario U. Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (latent autoimmune diabetes of the adult): definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care*. 2001; 24(8):1460-1467. doi:10.2337/diacare.24.8.1460

12. Li Y, Sun F, Yue TT, et al. Revisiting the Antigen-Presenting Function of β Cells in T1D Pathogenesis. Front Immunol. 2021; 12:690783. Published 2021 Jul 14. doi:10.3389/fimmu.2021.690783

13. Olmos P, A'Hern R, Heaton DA, et al. The significance of the concordance rate for type 1 (insulin-dependent) diabetes in identical twins. *Diabetologia*. 1988; 31(10):747-750. doi:10.1007/BF00274777 ;

14. Kyvik KO, Green A, Beck-Nielsen H. Concordance rates of insulin dependent diabetes mellitus: a population based study of young Danish twins. *BMJ*. 1995; 311(7010):913-917. doi:10.1136/bmj.311.7010.913 ;

15. Hyttinen V, Kaprio J, Kinnunen L, Koskenvuo M, Tuomilehto J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study. *Diabetes*. 2003; 52(4):1052-1055. doi:10.2337/diabetes.52.4.1052

16. Redondo MJ, Jeffrey J, Fain PR, Eisenbarth GS, Orban T. Concordance for Islet Autoimmunity among Monozygotic Twins. *N Engl J Med*. 2008; 359(26):2849-2850. doi:10.1056/NEJMc0805398

17. Ram R, Mehta M, Nguyen QT, et al. Systematic Evaluation of Genes and Genetic Variants Associated with Type 1 Diabetes Susceptibility. *J Immunol*. 2016; 196(7):3043-3053. doi:10.4049/jimmunol.1502056

18. Sticht J, Álvaro-Benito M, Konigorski S. Type 1 Diabetes and the HLA Region: Genetic Association Besides Classical HLA Class II Genes. *Front Genet*. 2021; 12:683946. doi:10.3389/fgene.2021.683946

19. Nygård L, Laine AP, Kiviniemi M, et al. Tri-SNP polymorphism in the intron of HLA-DRA1 affects type 1 diabetes susceptibility in the Finnish population. *Human Immunology*. 2021; 82(12):912-916. doi:10.1016/j.humimm.2021.07.010

20. Zhao LP, Papadopoulos GK, Lybrand TP, et al. The KAG motif of HLA-DRB1 (β71, β74, β86) predicts seroconversion and development of type 1 diabetes. *eBioMedicine*. 2021; 69:103431. doi:10.1016/j.ebiom.2021.103431

21. Redondo MJ, Steck AK, Pugliese A. Genetics of type 1 diabetes. *Pediatric Diabetes*. 2018; 19(3):346-353. doi:10.1111/pedi.12597

22. Thomas NJ, Dennis JM, Sharp SA, et al. DR15-DQ6 remains dominantly protective against type 1 diabetes throughout the first five decades of life. *Diabetologia*. 2021; 64(10):2258-2265. doi:10.1007/s00125-021-05513-4

23. Kuraeva TL, Titovich EV, Prokofiev SA, Peterkova VA. Geneticheskie i immunologicheskie technologii opredeleniya riska razvitiya saharnogo diabeta 1 tipa. Perspectivi predupreghdeniya bolezni. Posobie dlya vrachej. Published online Moscow 2011.

24. Noble JA, Valdes AM. Genetics of the HLA Region in the Prediction of Type 1 Diabetes. *Curr Diab Rep*. 2011; 11(6):533-542. doi:10.1007/s11892-011-0223-x

25. Cruz TD, Valdes AM, Santiago A, et al. DPB1 Alleles Are Associated With Type 1 Diabetes Susceptibility in Multiple Ethnic Groups. *Diabetes*. 2004; 53(8):2158-2163. doi:10.2337/diabetes.53.8.2158

26. Al-Hussein KA, Rama NR, Ahmad M, Rozemuller E, Tilanus MG. HLA-DPB1*0401 is associated with dominant protection against type 1 diabetes in the general Saudi population and in subjects with a high-risk DR/DQ haplotype: HLA-DPB1*0401 and type 1 diabetes. *European Journal of Immunogenetics*. 2003; 30(2):115-119. doi:10.1046/j.1365-2370.2003.00369.x

27. Cucca F, Dudbridge F, Loddo M, et al. The *HLA-DPB1* –Associated Component of the *IDDM1* and Its Relationship to the Major Loci *HLA-DQB1*, -*DQA1*, and - *DRB1*. *Diabetes*. 2001; 50(5):1200-1205. doi:10.2337/diabetes.50.5.1200

28. Varney MD, Valdes AM, Carlson JA, et al. HLA DPA1, DPB1 Alleles and Haplotypes Contribute to the Risk Associated With Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2010; 59(8):2055-2062. doi:10.2337/db09-0680

29. The Wellcome Trust Case Control Consortium, Nejentsev S, Howson JMM, et al. Localization of type 1 diabetes susceptibility to the MHC class I genes HLA-B and HLA-A. *Nature*. 2007; 450(7171):887-892. doi:10.1038/nature06406

30. Noble JA, Valdes AM, Varney MD, et al. HLA Class I and Genetic Susceptibility to Type 1 Diabetes. *Diabetes*. 2010; 59(11):2972-2979. doi:10.2337/db10-0699

31. Baschal EE, Baker PR, Eyring KR, Siebert JC, Jasinski JM, Eisenbarth GS. The HLA-B*3906 allele imparts a high risk of diabetes only on specific HLA-DR/DQ haplotypes. *Diabetologia*. 2011;54(7):1702-1709. doi:10.1007/s00125-011-2161-1

32. Pang H, Xia Y, Luo S, et al. Emerging roles of rare and low-frequency genetic variants in type 1 diabetes mellitus. *J Med Genet*. 2021; 58(5):289-296. doi:10.1136/jmedgenet-2020-107350

33. Qu HQ, Qu J, Bradfield J, et al. Genetic architecture of type 1 diabetes with low genetic risk score informed by 41 unreported loci. *Commun Biol*. 2021; 4(1):908. doi:10.1038/s42003-021-02368-8

34. Diedisheim M, Carcarino E, Vandiedonck C, Roussel R, Gautier JF, Venteclef N. Regulation of inflammation in diabetes: From genetics to epigenomics evidence. *Molecular Metabolism*. 2020; 41:101041. doi:10.1016/j.molmet.2020.101041

35. Jiang Z, Ren W, Liang H, et al. HLA class I genes modulate disease risk and age at onset together with DR-DQ in Chinese patients with insulin-requiring type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2021; 64(9):2026-2036. doi:10.1007/s00125-021-05476-6

36. Petrone A, Galgani A, Spoletini M, et al. Residual insulin secretion at diagnosis of type 1 diabetes is independently associated with both, age of onset and HLA genotype. *Diabetes Metab Res Rev*. 2005; 21(3):271-275. doi:10.1002/dmrr.549

37. Haller K, Kisand K, Pisarev H, et al. Insulin gene VNTR, CTLA-4 +49A/G and HLA-DQB1 alleles distinguish latent autoimmune diabetes in adults from type 1 diabetes and from type 2 diabetes group. *Tissue Antigens*. 2007; 69(2):121-127. doi:10.1111/j.1399-0039.2006.00745.x

38. Zhang J, Chen LM, Zou Y, Zhang S, Xiong F, Wang CY. Implication of epigenetic factors in the pathogenesis of type 1 diabetes. *Chin Med J (Engl)*. 2021;134(9):1031-1042. Published 2021 Apr 1. doi:10.1097/CM9.0000000000001450

39. Barchetta I, Arvastsson J, Sarmiento L, Cilio CM. Epigenetic Changes Induced by Maternal Factors during Fetal Life: Implication for Type 1 Diabetes. *Genes (Basel)*. 2021; 12(6):887. Published 2021 Jun 8. doi:10.3390/genes12060887

40. Gao P, Uzun Y, He B, et al. Risk variants disrupting enhancers of TH1 and TREG cells in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2019; 116(15):7581-7590. doi:10.1073/pnas.1815336116

41. Cerna M. Epigenetic Regulation in Etiology of Type 1 Diabetes Mellitus. Int J Mol Sci. 2019;21(1):36. Published 2019 Dec 19. doi:10.3390/ijms21010036

42. Johnson RK, Vanderlinden LA, Dong F, et al. Longitudinal DNA methylation differences precede type 1 diabetes. *Sci Rep*. 2020; 10(1):3721. Published 2020 Feb 28. doi:10.1038/s41598-020-60758-0

43. Fasolino M, Goldman N, Wang W, et al. Genetic Variation in Type 1 Diabetes Reconfigures the 3D Chromatin Organization of T Cells and Alters Gene Expression. *Immunity*. 2020; 52(2):257-274.e11. doi:10.1016/j.immuni.2020.01.003

44. Lombardo F, Valenzise M, Wasniewska M, et al. Two-year prospective evaluation of the factors affecting honeymoon frequency and duration in children with insulin dependent diabetes mellitus: the key-role of age at diagnosis. Diabetes Nutr Metab. 2002; 15(4):246-251.

45. Abdul-Rasoul M, Habib H, Al-Khouly M. “The honeymoon phase” in children with type 1 diabetes mellitus: frequency, duration, and influential factors. Pediatr Diabetes. 2006; 7(2):101-107. doi:10.1111/j.1399-543X.2006.00155.x

46. Mayer-Davis EJ, Kahkoska AR,, Jefferies C, et al. I. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018; 19(Suppl. 27):7-19. doi:https://doi.org/10.1111/pedi.12773

47. Akirav E, Kushner JA, Herold KC. Beta-cell mass and type 1 diabetes: going, going, gone? *Diabetes*. 2008; 57(11):2883-2888. doi:doi:10.2337/db07-1817

48. Muhammad BJ, Swift PGF, Raymond NT, Botha JL. Partial remission phase of diabetes in children younger than age 10 years. *Arch Dis Child*. 1999; 80(4):367-369. doi:10.1136/adc.80.4.367-369

49. Kordonouri O, Danne T, Enders I, Weber B. Does the long-term clinical course of type I diabetes mellitus differ in patients with prepubertal and pubertal onset? Results of the Berlin Retinopathy Study. *Eur J Pediatr*. 1998; 157(3):202-207. doi:10.1007/s004310050796

50. Komulainen J, Lounamaa R, Knip M, Kaprio EA, Akerblom HK. Ketoacidosis at the diagnosis of type 1 (insulin dependent) diabetes mellitus is related to poor residual beta cell function. Childhood Diabetes in Finland Study Group. *Arch Dis Child*. 1996; 75(5):410-415. doi:10.1136/adc.75.5.410

51. Örtqvist E, Falorni A, Scheynius A, Persson B, Lernmark Å. Age governs gender-dependent islet cell autoreactivity and predicts the clinical course in childhood IDDM. *Acta Paediatr*. 1997; 86(11):1166-1171. doi:10.1111/j.1651-2227.1997.tb14837.x

52. Mortensen HB, Hougaard P, Swift P, et al. New Definition for the Partial Remission Period in Children and Adolescents With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*. 2009;32(8):1384-1390. doi:10.2337/dc08-1987

53. Sørensen JS, Johannesen J, Pociot F, et al. Residual β-Cell Function 3–6 Years After Onset of Type 1 Diabetes Reduces Risk of Severe Hypoglycemia in Children and Adolescents. *Diabetes Care*. 2013; 36(11):3454-3459. doi:10.2337/dc13-0418

54. Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) Research Group. The Absence of a Glycemic Threshold for the Development of Long-Term Complications: The Perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes*. 1996; 45(10):1289-1298. doi:10.2337/diab.45.10.1289

55. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes*. 1997; 46(2):271-286. doi:10.2337/diab.46.2.271

56. Niedzwiecki P, Pilacinski S, Uruska A, Adamska A, Naskret D, Zozulinska-Ziolkiewicz D. Influence of remission and its duration on development of early microvascular complications in young adults with type 1 diabetes. *J Diabetes Complications*. 2015; 29(8):1105-1111. doi:10.1016/j.jdiacomp.2015.09.002

57. Passanisi S, Salzano G, Gasbarro A, et al. Influence of Age on Partial Clinical Remission among Children with Newly Diagnosed Type 1 Diabetes. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(13):4801. doi:10.3390/ijerph17134801

58. Moole H, Moole V, Mamidipalli A, et al. Spontaneous complete remission of type 1 diabetes mellitus in an adult – review and case report. *J Community Hosp Intern Med Perspect*. 2015; 5(5):28709. doi:10.3402/jchimp.v5.28709

59. Kara Ö, Esen İ, Tepe D. Factors Influencing Frequency and Duration of Remission in Children and Adolescents Newly Diagnosed with Type 1 Diabetes. *Med Sci Monit*. 2018; 24:5996-6001. doi:10.12659/MSM.908450

60. Bowden SA, Duck MM, Hoffman RP. Young children (12 yr) with type 1 diabetes mellitus have low rate of partial remission: diabetic ketoacidosis is an important risk factor. *Pediatr Diabetes*. 2008;9(3pt1):197-201. doi:10.1111/j.1399-5448.2008. 00376.x

61. Nagl K, Hermann JM, Plamper M, et al. Factors contributing to partial remission in type 1 diabetes: analysis based on the insulin dose-adjusted HbA1c in 3657 children and adolescents from Germany and Austria: Partial remission based on IDAA1c. *Pediatr Diabetes*. 2017; 18(6):428-434. doi:10.1111/pedi.12413

62. Bonfanti, R., Bognetti, E., Meschi, F., Brunelli, A., Riva, M. C., Pastore, M. R., Chiumello, G. Residual beta-cell function and spontaneous clinical remission in type 1 diabetes mellitus: the role of puberty. *Acta diabetologica*. 35(2):91-9

63. Komulainen J, Kulmala P, Savola K, et al. Clinical, autoimmune, and genetic characteristics of very young children with type 1 diabetes. Childhood Diabetes in Finland (DiMe) Study Group. *Diabetes Care*. 1999; 22(12):1950-1955. doi:10.2337/diacare.22.12.1950

64. Hathout EH, Hartwick N, Fagoaga OR, et al. Clinical, Autoimmune, and HLA Characteristics of Children Diagnosed With Type 1 Diabetes Before 5 Years of Age. *Pediatrics*. 2003; 111(4):860-863. doi:10.1542/peds.111.4.860

65. Bonifacio E. Predicting Type 1 Diabetes Using Biomarkers. *Diabetes Care*. 2015;38(6):989-996. doi:10.2337/dc15-0101

66. Hattersley A.T. et al. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents // Pediatr. Diabetes. 2018. Vol. 19. P. 47–63. doi:10.1111/pedi.12772

67. Streun G.L. et al. A machine learning approach for handling big data produced by high resolution mass spectrometry after data independent acquisition of small molecules – Proof of concept study using an artificial neural network for sample classification // Drug Test. Anal. 2020. Vol. 12, № 6. P. 836–845.

68. Rong D., Xie L., Ying Y. Computer vision detection of foreign objects in walnuts using deep learning // Comput. Electron. Agric. 2019. Vol. 162. P. 1001–1010.

69. Shields B.M. et al. The development and validation of a clinical prediction model to determine the probability of MODY in patients with young-onset diabetes // Diabetologia. 2012. Vol. 55, № 5. P. 1265–1272.

70. Wang H, Gauthier BR, Hagenfeldt-Johansson KA, Iezzi M, Wollheim CB. Foxa2 (HNF3beta) controls multiple genes implicated in metabolism-secretion coupling of glucose-induced insulin release. J Biol Chem. 2002; 277(20):17564-17570. doi:10.1074/jbc.M111037200

71. Seabold, Skipper, and Josef Perktold. “statsmodels: Econometric and statistical modeling with python.” Proceedings of the 9th Python in Science Conference. 2010

72. Pyziak A, Zmyslowska A, Bobeff K, et al. Markers influencing the presence of partial clinical remission in patients with newly diagnosed type 1 diabetes. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017; 30(11). doi:10.1515/jpem-2017-0100

73. Chobot A, Stompór J, Szyda K, et al. Remission phase in children diagnosed with type 1 diabetes in years 2012 to 2013 in Silesia, Poland: An observational study. *Pediatr Diabetes*. 2019; 20(3):286-292. doi:10.1111/pedi.12824

74. Wong TWC, Wong MYS, But WMB. Features of partial remission in children with type 1 diabetes using the insulin dose-adjusted A1c definition and risk factors associated with nonremission. *Ann Pediatr Endocrinol Metab*. 2021; 26(2):118-125. doi:10.6065/apem.2040202.101

75. Büyükgebiz, A., Cemeroglu, A. P., Böber, E., Mohn. Factors influencing remission phase in children with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism*. 2001;14(9):1585-1596.

76. Scholin A, Torn C, Nystrom L, et al. Normal weight promotes remission and low number of islet antibodies prolong the duration of remission in Type 1 diabetes. *Diabet Med*. 2004; 21(5):447-455. doi:10.1111/j.1464-5491.2004.01175.x

77. Taha D, Barbar M, Kanaan H, Williamson Balfe J. Neonatal diabetes mellitus, congenital hypothyroidism, hepatic fibrosis, polycystic kidneys, and congenital glaucoma: A new autosomal recessive syndrome? *Am J Med Genet*. 2003;122A(3):269-273. doi:10.1002/ajmg.a.20267

78. Nogueira TC, Paula FM, Villate O, et al. GLIS3, a Susceptibility Gene for Type 1 and Type 2 Diabetes, Modulates Pancreatic Beta Cell Apoptosis via Regulation of a Splice Variant of the BH3-Only Protein Bim. McCarthy MI, ed. *PLoS Genet*. 2013;9(5): e1003532. doi: 10.1371/journal.pgen.1003532

79. Tabassum R, Chavali S, Dwivedi OP, Tandon N, Bharadwaj D. Genetic variants of FOXA2: risk of type 2 diabetes and effect on metabolic traits in North Indians. *J Hum Genet*. 2008; 53(11-12):957-965. doi:10.1007/s10038-008-0335-6

80. Kaestner KH. The Hepatocyte Nuclear Factor 3 (HNF3 or FOXA) Family in Metabolism. *Trends Endocrinol Metab*. 2000; 11(7):281-285. doi:10.1016/S1043-2760(00)00271-X

81. Lantz KA, Vatamaniuk MZ, Brestelli JE, Friedman JR, Matschinsky FM, Kaestner KH. Foxa2 regulates multiple pathways of insulin secretion. *J Clin Invest*. 2004;114(4):512-520. doi:10.1172/JCI21149

82. 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. https://doi.org/10.14341/probl201561514-25 (Kuraeva T.L., Sechko E.A., Zilberman L.I. et al. Molecular genetic and clinical variants MODY2 and MODY3 in children in Russia. Problems of Endocrinology. 2015; 61(5):14-25. (In Russ.) https://doi.org/10.14341/probl201561514-25)

83. Mozzillo E, Salzano G, Barbetti F, et al. Survey on etiological diagnosis of diabetes in 1244 Italian diabetic children and adolescents: Impact of access to genetic testing. Diabetes Res Clin Pract. 2015; 107(3):e15-e18. doi:10.1016/j.diabres.2015.01.003

84. Fendler W, Borowiec M, Baranowska-Jazwiecka A, et al. Prevalence of monogenic diabetes amongst Polish children after a nationwide genetic screening campaign. Diabetologia. 2012; 55(10):2631-2635. doi:10.1007/s00125-012-2621-2

85. Bravis V, Kaur A, Walkey HC, et al. Relationship between islet autoantibody status and the clinical characteristics of children and adults with incident type 1 diabetes in a UK cohort. BMJ Open. 2018; 8(4):e020904. doi:10.1136/bmjopen-2017-020904

86. Carlsson A, Shepherd M, Ellard S, et al. Absence of Islet Autoantibodies and Modestly Raised Glucose Values at Diabetes Diagnosis Should Lead to Testing for MODY: Lessons From a 5-Year Pediatric Swedish National Cohort Study. Diabetes Care. 2020; 43(1):82-89. doi:10.2337/dc19-0747

87. Schober E, Rami B, Grabert M, et al. Phenotypical aspects of maturity-onset diabetes of the young (MODY diabetes) in comparison with Type 2 diabetes mellitus

(T2DM) in children and adolescents: experience from a large multicentre database. Diabet Med. 2009; 26(5):466-473. doi:10.1111/j.1464-5491.2009.02720.x

88. Urbanová J, Rypáčková B, Procházková Z, et al. Positivity for islet cell autoantibodies in patients with monogenic diabetes is associated with later diabetes onset and higher HbA 1c level. Diabet Med. 2014; 31(4):466-471. doi:10.1111/dme.12314

89. McDonald TJ, Colclough K, Brown R, et al. Islet autoantibodies can discriminate maturity-onset diabetes of the young (MODY) from Type 1 diabetes: Pancreatic autoantibodies can discriminate MODY from Type 1 diabetes. Diabet Med. 2011; 28(9):1028-1033. doi:10.1111/j.1464-5491.2011.03287.x

90. Parkkola A, Härkönen T, Ryhänen SJ et al. The Finnish Pediatric Diabetes Register. Extended Family History of Type 1 Diabetes and Phenotype and Genotype of Newly Diagnosed Children. Diabetes Care. 2013;36(2):348-354. doi:10.2337/dc12-0445

91. Kara Ö, Esen İ, Tepe D. Factors Influencing Frequency and Duration of Remission in Children and Adolescents Newly Diagnosed with Type 1 Diabetes. Med Sci Monit. 2018; 24:5996-6001. doi:10.12659/MSM.908450

92. Овсянникова А.К., Шахтшнейдер Е.В., Иванощук Д.Е., Воевода М.И., Рымар О.Д. Течение сахарного диабета взрослого типа у молодых лиц старше 18 лет, обусловленного мутацией гена глюкокиназы (GCK-MODY): данные проспективного наблюдения // Сахарный диабет. — 2021. — Т. 24. — №2. — С. 133-140. doi: https://doi.org/10.14341/DM12319 Ovsyannikova OK, Shakhtshneider EV, Ivanoshchuk DE, Voevoda MI, Rymar OD. GCK-MODY diabetes course in persons over 18 years of age: prospective observation. Diabetes Mellitus. 2021; 24(2):133-140. doi: https://doi.org/10.14341/DM1231924.

93. Aarthy R, Aston-Mourney K, Mikocka-Walus A, et al. Clinical features, complications and treatment of rarer forms of maturity-onset diabetes of the young (MODY) - A review. J Diabetes Complications. 2021; 35(1):107640. doi:10.1016/j.jdiacomp.2020.107640

94. Chakera AJ, Steele AM, Gloyn AL, et al. Recognition and Management of Individuals With Hyperglycemia Because of a Heterozygous Glucokinase Mutation. Diabetes Care. 2015; 38(7):1383-1392. doi:10.2337/dc14-2769

95. Сечко Е. А. Сахарный диабет MODY2 и MODY3 у детей и подростков: молекулярно-генетические основы и клинические особенности: дис. канд. мед. наук.:14.01.02. М., 2016. С. 5-8.

96. Harries LW, Ellard S, Stride A, et al. Isomers of the TCF1 gene encoding hepatocyte nuclear factor-1 alpha show differential expression in the pancreas and define the relationship between mutation position and clinical phenotype in monogenic diabetes. Hum Mol Genet. 2006; 15(14):2216-2224. doi:10.1093/hmg/ddl147

97. Madariaga L, García-Castaño A, Ariceta G, et al. Variable phenotype in HNF1B mutations: extrarenal manifestations distinguish affected individuals from the population with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. Clin Kidney J. 2019; 12(3):373-379. doi:10.1093/ckj/sfy102

98. Camilo DS, Pradella F, Paulino MF, et al. Partial remission in Brazilian children and adolescents with type 1 diabetes. Association with a haplotype of class II human leukocyte antigen and synthesis of autoantibodies. *Pediatr Diabetes*. 2020;21(4):606-614. doi:10.1111/pedi.12999

99. Skyler JS, Greenbaum CJ, Lachin JM, et al. Type 1 Diabetes TrialNet-An International Collaborative Clinical Trials Network. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2008; 1150(1):14-24. doi:10.1196/annals.1447.054

100. Redondo MJ, Geyer S, Steck AK, et al. A Type 1 Diabetes Genetic Risk Score Predicts Progression of Islet Autoimmunity and Development of Type 1 Diabetes in Individuals at Risk. *Diabetes Care*. 2018; 41(9):1887-1894. doi:10.2337/dc18-0087

101. Besser R.E.J. et al. Urinary C-Peptide Creatinine Ratio Is a Practical Outpatient Tool for Identifying Hepatocyte Nuclear Factor 1-α/Hepatocyte Nuclear Factor 4-α Maturity-Onset Diabetes of the Young From Long-Duration Type 1 Diabetes // Diabetes Care. 2011. Vol. 34, № 2. P. 286–291.

102. Barker J.M. Type 1 Diabetes-Associated Autoimmunity: Natural History, Genetic Associations, and Screening // J. Clin. Endocrinol. Metab. 2006. Vol. 91, № 4. P. 1210–1217.

103. Luc Marchand, Meihang Li, Coralie Leblicq, Ibrar Rafique, Tugba Alarcon-Martinez, Claire Lange, et al. Monogenic Causes in the Type 1 Diabetes Genetics Consortium Cohort: Low Genetic Risk for Autoimmunity in Case Selection, The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Volume 106, Issue 6, June 2021, Pages 1804–1810, https://doi.org/10.1210/clinem/dgab056