

На правах рукописи

Сечко Елена Александровна

**Сахарный диабет MODY2 и MODY3 у детей и подростков:
молекулярно-генетические основы и клинические особенности**

(14.01.02 – Эндокринология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации
(ректор член-корр. РАН, д.м.н., профессор П.В. Глыбочко)

Научный руководитель

Кураева Тамара Леонидовна,
доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Петрайкина Елена Ефимовна,
доктор медицинских наук, профессор, заместитель
главного врача по медицинской части ГБУЗ
«Морозовская детская городская клиническая
больница Департамента здравоохранения города
Москвы»

Суплотова Людмила Александровна,
доктор медицинских наук, профессор кафедры
терапии с курсами эндокринологии, функциональной
и ультразвуковой диагностики ФПК и ППС ФГБОУ
ВО Тюменский ГМУ Минздрава России

Ведущая организация:

**Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего образования
«Российский национальный исследовательский
медицинский университет имени Н.И. Пирогова»
Министерства здравоохранения Российской
Федерации**

Защита диссертации состоится _____ г. в 14:00 на заседании Диссертационного совета Д 208.126.01 в ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России по адресу: 117036, г. Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России.

Автореферат разослан « » _____ 2016 г.

Ученый секретарь

Диссертационного Совета

доктор медицинских наук

Суркова Елена Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

MODY – редкая форма сахарного диабета (СД), на долю которой приходится до 2% от всех форм СД в популяции и до 4,74% - от всех форм СД в детском возрасте.

Термин MODY (акроним названия *maturity-onset diabetes of the young* – *диабет взрослого типа у молодых лиц*) впервые использовал Tattersall R.B. в 1974-1975 годах для описания наследственной инсулиннезависимой формы СД. MODY представляет гетерогенную группу заболеваний с аутосомно-доминантным типом наследования, в основе которых лежат мутации различных генов, характеризуется дисфункцией β -клеток и началом в молодом возрасте (до 25 лет). Клиническая картина MODY вариабельна: от бессимптомного носительства мутации до инсулинопотребного СД. К настоящему времени известно 13 форм MODY. Наиболее распространенными являются MODY2 и MODY3, которые обусловлены мутациями в генах глюкокиназы (*GCK*) и ядерного фактора гепатоцитов 1A (*HNF1A*) соответственно, на их долю приходится до 90% всех случаев MODY в детском возрасте.

Верификация диагноза оказывает влияние на выбор терапевтической тактики: при MODY2 сахароснижающая терапия у большинства пациентов не влияет на углеводный обмен, при MODY3 максимального эффекта удается достичь при назначении препаратов СМ. Верификация MODY позволяет прогнозировать течение диабета: не прогрессирующее - при MODY2, без развития специфических осложнений и, напротив, выраженное снижение функции β -клеток при MODY3 с развитием микрососудистых и макрососудистых осложнений. Диагноз MODY позволяет прогнозировать развитие СД у родственников и проведение медико-генетического консультирования в семьях.

По современным представлениям, основными диагностическими критериями MODY являются возраст диагностики СД 10-45 лет; отягощенная наследственность по аутосомно-доминантному типу наследования; отсутствие потребности или небольшая потребность в инсулине при длительности заболевания 3 года и более; отсутствие ожирения и инсулинорезистентности (ИР), специфических для сахарного диабета 1 типа (СД1) панкреатических аутоантител (АТ).

При соблюдении вышеперечисленных критериев, лишь у 50% будут выявлены мутации, приводящих к развитию MODY, что обусловлено в ряде случаев схожестью клинической картины MODY, СД1 и сахарного диабета 2 типа (СД2). Это требует более детального изучения особенностей течения и дифференциально-диагностических критериев MODY на основании клинического обследования.

Степень разработанности темы исследования

Несмотря на активное изучение MODY2 и MODY3, многие аспекты патогенеза заболевания, клинического течения, терапевтической тактики остаются не до конца изученными и противоречивыми. Исследования MODY2 и MODY3 в детском возрасте единичны и проведены на небольшом количестве пациентов. Данные о распространенности MODY и соотношении MODY2 и MODY3 в разных исследованиях варьируют, а в России отсутствуют. Остаются недостаточно изученными возрастные особенности состояния углеводного обмена и функции β -клеток.

В настоящее время уделяется большое внимание дифференциальной диагностике MODY2 и MODY3 с другими типами СД на стадии клинического обследования, которая представляет собой сложную задачу. Это обусловлено схожестью клинической картины MODY с СД1 (при его ранней диагностике или в стадии клинико-лабораторной ремиссии) и с СД2 - у пациентов с высокой концентрацией СД в семье. Разработанные критерии направления на молекулярно-генетическое исследование не позволяют заподозрить MODY2 и MODY3 при нетипичном его течении (при отсутствии отягощенной наследственности, наличии ожирения или ИР). Для детского возраста критерии направления на молекулярно-генетическое исследование не разработаны.

Цель: Изучить молекулярно-генетические основы MODY2 и MODY3 у детей и подростков в Российской популяции и особенности их клинического течения. Разработать алгоритм диагностики и лечения MODY2 и MODY3.

Задачи исследования:

1. Провести молекулярно-генетическую диагностику MODY2 и MODY3, в группе пациентов, клинически интерпретированных как MODY;
2. Изучить характер мутаций в генах *GCK*, *HNF1A* при MODY2 и MODY3 у детей в Российской популяции;
3. Изучить особенности клинического течения MODY2 и MODY3 в зависимости от возраста диагностики и длительности заболевания;
4. Изучить секрецию эндогенного инсулина (С-пептида) у пациентов с MODY2, MODY3;
5. Изучить частоту выявления специфических панкреатических АТ и определить связь с HLA-генотипами высокого риска развития СД1;
6. Разработать алгоритм диагностики MODY2 и MODY3.

Научная новизна

Впервые в России изучено состояние углеводного обмена, секреция инсулина (ИРИ) и С-пептида при MODY2, MODY3. Впервые получены данные о функции β -клеток в зависимости от возраста пациентов и длительности заболевания. Впервые описана когорта пациентов с MODY2 и MODY3, имеющих ожирение и ИР. Определено влияние данных факторов на особенности течения MODY2 и MODY3. Проведен анализ клинического течения MODY2 и MODY3 в зависимости от локализации и типа мутации. Определены критерии дифференциальной диагностики MODY2 и MODY3. Проведен сравнительный анализ пациентов MODY2, MODY3, СД1 в ст. полной или частичной клинико-лабораторной ремиссии и СД2, которые изначально были интерпретированы как пациенты с моногенной формой СД. Исследованы иммунологические и генетические маркеры СД1 у пациентов с MODY2 и MODY3.

Теоретическая и практическая значимость исследования

Представленная работа является первым исследованием в России большой группы пациентов с MODY2 и MODY3. Изучен спектр мутаций в генах *GCK* и *HNF1A* в Российской популяции, а также выявлены новые мутации в данных генах. Проанализирована связь между генотипом и фенотипом. Получены данные о влиянии расположения мутаций на возраст диагностики нарушений углеводного обмена при MODY3. Выявлено, что наличие ожирения и ИР не является основанием для исключения диагноза MODY2 и MODY3. Определена необходимость исследования специфических панкреатических АТ (GADA, IA2, ICA) перед проведением молекулярно-генетического исследования. Показано, что при отсутствии нарушений углеводного обмена у одного из родителей пробандов, у них необходимо активное исследование состояния углеводного обмена. Предложен алгоритм направления на молекулярно-генетическое исследование генов *GCK* и *HNF1A* у детей. Подтверждается, что при MODY2 терапия сахароснижающими препаратами не эффективна. При MODY3 эффективна терапия препаратами СМ.

Положения, выносимые на защиту

- 1) MODY2 и MODY3 у детей чаще выявляются случайно и протекают без инсулинопотребности и с сохранной функцией β -клеток на протяжении 3 лет и более. При этом MODY2 в Российской популяции встречается в 4,2 раза чаще, чем MODY3.
- 2) Для российской популяции не определено частых мутаций в гене *GCK* (MODY2), а наиболее частой мутацией в гене *HNF1A* (MODY3) является p.P291fs.
- 3) Характерным нарушением углеводного обмена при MODY2 являлось нарушение гликемии натощак (47,3%) или диабетический уровень натощак (33,3%) и НТГ при

проведении ПГТТ (64,5%), тогда как при MODY3 чаще натошак выявлялась нормогликемия (58,8%) и диабетический уровень гликемии при проведении ПГТТ (88,2%).

4) Для MODY2 и MODY3 характерна сохранная секреция ИРИ и С-пептида, не прогрессирующая с увеличением длительности заболевания. Секреция ИРИ и С-пептида была выше, чем при СД1, но не достигала гиперинсулинемии, характерной для СД2.

5) Наличие ожирения и даже инсулинорезистентности не исключают наличия MODY2 и MODY3. Ожирение выявлено у 5,9% пациентов с MODY2 и 40% пациентов с MODY3, инсулинорезистентность - у 15% при MODY2 и при MODY3. У детей с MODY2 в развитие инсулинорезистентности вносят вклад пубертатное снижение чувствительности к инсулину и избыток массы тела или ожирение, при MODY3 основной вклад вносит ожирение.

6) Специфические панкреатические АТ при MODY2 и MODY3 встречаются редко (5,8%) по сравнению с СД1 (91%) и не бывают в высоком титре.

7) HLA-генотипы высокого риска развития СД1 не ассоциированы с MODY2 и MODY3 и встречались лишь в 1,6% против 35,2% при СД1.

Степень достоверности и апробация результатов работы

Достоверность научных положений, практических выводов и рекомендаций в диссертации обеспечивается всесторонним подходом к изучению данной проблемы. Выполнен анализ результатов фундаментальных и прикладных научно-исследовательских работ зарубежных ученых по изучению особенностей течения, патогенеза, терапии MODY2, MODY3 в детском возрасте. Результаты исследования согласуются с опубликованными данными по теме исследования.

Основные положения диссертации были доложены и обсуждены 9 марта 2016 года на межотделенческой конференции ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения РФ, 10 марта 2016 года - на научной конференции кафедры эндокринологии и диабетологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М.Сеченова. Материалы и основные положения доложены на II всероссийском конгрессе с участием стран СНГ «Инновационные технологии в эндокринологии» (Москва, 2014), на EASD Annual Meeting, Вена, (Австрия, 2014), на VII Всероссийском диабетологическом конгрессе (Москва, 2015), на 54 th Annual Meeting ESPE (Испания, 2015), на VI конференции Московской Ассоциации Эндокринологов совместно с кафедрой эндокринологии лечебного факультета Первого МГМУ им И.М. Сеченова (Москва, 2015), на VII Всероссийском эндокринологическом конгрессе (Москва, 2016), на XII Российской научно-практической конференции детских эндокринологов (Санкт-Петербург, 2016).

По теме диссертации опубликовано 11 печатных работ, из них 3 статьи в журналах, включенных в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 146 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, изложения результатов проведенного исследования и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка используемой литературы, который включает 10 отечественных и 140 зарубежных публикаций. Диссертация иллюстрирована 33 рисунками и 49 таблицами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Молекулярно-генетическое исследование генов *GCK* и *HNF1A* проведено у 180 пробандов, клинически интерпретированных как MODY - мягкая манифестация, длительный период клинко-лабораторной ремиссии (отсутствие или низкая (<0,4 ед/кг/сутки) потребность в инсулине), сохранная секреция С-пептида при длительности заболевания более 2-3 лет, отсутствие специфических АТ в анамнезе и/или семейная концентрация СД. При отсутствии

СД у родителей пациенты оставались под наблюдением в течение 2 лет, при сохраняющейся низкой потребности в инсулине (или отсутствии) и сохранной секреции С-пептида у пробандов также проводилось молекулярно-генетическое исследование.

MODY2 диагностирован при выявлении гетерозиготной мутации в гене *GCK* (у 79 пробандов), MODY3 - в гене *HNF1A* (у 19 пробандов). Исследование *GCK* также проведено 31 родителю и 12 сибсам пробандов с MODY2. Исследование гена *HNF1A* проведено у 6 родителей и 4 сибсов. В исследование включено 85 пациентов с возрастом диагностики СД до 18 лет с MODY2 (79 пробандов и 6 сибсов), 20 пациентов с MODY3 (19 пробандов и 1 сибс). В динамике обследовано 30 пациентов с MODY2 и 4 - с MODY3.

Среди пробандов, у которых не выявлено мутаций в генах *GCK* и *HNF1A*, а также других подтипов MODY (n=77) выделены следующие группы пациентов:

- Группа пациентов с СД1 (n=40). СД1 верифицирован при выявлении АТ в высоком титре, появление нарастающей потребности в инсулине в дозе 0,5-1 ед/кг/сутки при динамическом наблюдении в течение 2-3 лет;
 - Группа пациентов с СД2 (n=10). СД2 диагностирован на основании отсутствия АТ в высоком титре и потребности в инсулине в течение 2-3 лет, наличия ИР, ожирения.
 - Группа пациентов, у которых тип СД не верифицирован (n=27).
- У 5 пробандов верифицированы другие подтипы MODY.

Пациенты с MODY2 были сгруппированы в зависимости от длительности заболевания (до года, 1-3 года, более 3 лет), возраста обследования (до 6 лет, 7-12 лет, 13-18 лет), возраста диагностики нарушений углеводного обмена (до года и после года).

Пациенты с MODY3 были сгруппированы в зависимости от длительности заболевания (до года, 1-3 года, более 3 лет), возраста обследования (7-12 лет, 13-18 лет), от наличия или отсутствия ожирения.

Проведено сравнение клинико-лабораторных данных между группами MODY2 и MODY3 и группами пациентов с СД1 (n=40) и СД2 (n=10).

Контрольную группу при исследовании АТ составили 55 пациентов с СД1 в ст. частичной или полной клинико-лабораторной ремиссии, медиана возраста диагностики 11,1 года (8,5; 12,9), длительность заболевания 1,0 год (0,5; 1,6) и 66 пациентов с СД2 (данные н. с. ИДЭ ФГБУ ЭНЦ, к.м.н. Ереминой И.А.), медиана возраста диагностики 13 лет [11,5; 15,5], длительность наблюдения 2,6 лет [1,5; 4,5]. Контрольную группу при исследовании *HLA-DRB1,DQ*-генов составили 599 больных СД1, средний возраст 7,5 лет (1,2-15,8), с длительностью заболевания от 0 до 9 лет, находившихся на обследовании в ФГБУ ЭНЦ (данные в.н.с. ИДЭ ФГБУ ЭНЦ, к.м.н. Титович Е.В.) и 64 больных с СД2, находившихся на обследовании в ФГБУ ЭНЦ (данные н. с. ИДЭ ФГБУ ЭНЦ, к.м.н. Ереминой И.А.), медиана возраста диагностики 13 лет [11,5; 15,5], длительность наблюдения 2,6 лет [1,5; 4,5].

Методы исследования

Обследование пациентов проводилось в Институте детской эндокринологии (директор – член-корр. РАН, проф. Петеркова В.А.) ФГБУ Эндокринологический научный центр Минздрава России (директор – академик РАН Дедов И.И.).

Общеклиническое обследование включало изучение жалоб, анамнеза, изучение семейного анамнеза, осмотр, оценку антропометрических данных. ИМТ рассчитан по формуле ИМТ ($\text{кг}/\text{м}^2$), оценивался по нормативам ВОЗ для конкретного возраста и пола и был представлен в виде числа стандартных отклонений от среднего (SDS — standard deviation score). Диагностическим критерием ожирения был принят SDS ИМТ > 2,0 (ВОЗ 2007).

Биохимическое исследование крови: определение в плазме уровня глюкозы проводилось на биохимическом анализаторе «Architect plusC4000» (Abbott Diagnostics, США). Гликированный гемоглобин (HbA1c) - определялся методом жидкостной ионообменной хроматографии на анализаторе «Diastat» («BioRad», США). Гормональные исследования крови (лаборатория гормонального анализа ФГБУ ЭНЦ (рук. – проф. Гончаров Н.П.)): в сыворотке – уровень ИРИ и С-пептида проводилось методом усиленной хемилюминесценции на

анализаторе COBAS 6000 фирмы «RocheDiagnostics» (Швейцария). Референсные значения ИРИ - 2,3-26,4 мкЕд/мл, С-пептида - 1,1-1,4 нг/мл.

В лаборатории генетики и клинической иммунологии ФГБУ ЭНЦ (зав. лабораторией – к.б.н. О.Н. Иванова) проведены:

- Молекулярно-генетическое исследование методом прямого секвенирования экзонов 1a, 2-10 и примыкающих участков интронов гена *GCK*, экзонов 1-10 и примыкающих участков интронов гена *HNF1a*. Геномная ДНК выделялась из периферической крови с помощью наборов QIAamp DNA blood kit (Qiagen, USA). С ПЦР амплифицированными последовательностями экзонов после очистки (QIAquick PCR Purification kit, Qiagen, USA) проводилась реакция терминирования элонгации (Big Dye Terminator Cycle Sequencing kits V1.1 Ready Reaction, ABI PRISM/PE Biosystems, USA), продукт реакции очищался и анализировался с помощью капиллярного электрофореза (ABI PRISM 310 Genetic Analyzer, ABI PRISM/PE Biosystems, USA).
- Исследования аллельного полиморфизма генов DRB1, DQA1, DQB1 HLA класса проведено с использованием коммерческого набора для типирования генов HLA «НПФ ДНК-технологии» методом мультипраймерной ПЦР. Высокий риск определялся при наличии сочетания 2 гаплотипов высокого риска *DRB1*17-DQA1*0501-DQB1*0201(DQ2)*, *DRB1*04-DQA1*0301-DQB1*0302 (DQ8)*: *DQ2/DQ8*, *DQ/DQ2*, *DQ8/DQ8*. Средний или умеренный риск – сочетание одного из гаплотипов высокого риска со всеми другими.
- Иммунологическое исследование: определение АТ к цитоплазматическим структурам β -клеток (ICA), АТ к глутаматдекарбоксилазе (GADA), АТ к тирозинфосфатазе (IA-2) и антиинсулиновым АТ (IAA). Количественное определение ICA, GADA и IAA определяли с помощью иммуноферментных наборов «Isletest-ICA, GADA, IAA» фирмы «Biomerica», Количественное IA-2 - с использованием наборов «Medizym» фирмы «Medipan MGBH». При анализе пациенты с пограничным титром АТ расценивались как антитело-отрицательные.

Диагностические пробы. Состояния углеводного обмена оценивалось при проведении стандартного перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ). При уровне $HbA_{1c} > 7,0\%$ и гипергликемии в течение суток $> 11,1$ ммоль/л проводилась проба со стандартным углеводистым завтраком (50 г углеводов). При анализе углеводного обмена, секреции ИРИ и С-пептида при MODY2 были использованы только ПГТТ, т.к. стимулированные уровни гликемии, ИРИ и С-пептида в ходе ПГТТ были выше, чем при нагрузке завтраком. У пациентов с MODY3 при проведении ПГТТ и пробы с завтраком не получено достоверных различий в уровне гликемии, ИРИ и С-пептида, поэтому результаты, полученные в ходе ПГТТ и пробы с завтраком, были объединены. Проба проводилась натощак (период голодания – 11-12 часов). Базальный образец крови забирался до нагрузки глюкозой, путем пункции и постановки венозного катетера. Секреция ИРИ и С-пептида оценивалась натощак, через 60 и 120 мин. после нагрузки. Если пациент находился на терапии инсулином, исследования собственной секреции ИРИ не проводилось. У пациентов на пероральной сахароснижающей терапии препараты метформина отменялись за 3-5 дней до исследования, препараты СМ отменялись с вечера накануне. Интерпретация результатов ПГТТ проводилась согласно рекомендациям ISPAD (2014). При проведении пробы с завтраком уровень гликемии $\geq 11,1$ ммоль/л через 2 часа считался диабетическим, при уровне гликемии менее 11,1 ммоль/л не оценивался.

Для оценки ИР рассчитан индекс НОМА-IR (homeostasis model assessment) по формуле: $(ИРИ_0 \times Гл_0) / 22,5$, где ИРИ — иммунореактивный инсулин, мкЕд/мл, Гл — глюкоза, ммоль/л. ИР диагностировалась при значении индекса $НОМА > 3,2$ (Keskin M. 2005).

Гиперинсулинемический нормогликемический клэмп-тест проведен 8 пациентам с MODY2 (к.м.н. Майоров А.Ю., Кокшарова Е.О.), оценка ИР проводилась путем расчета М-индекса (скорость утилизации глюкозы).

Статистический анализ результатов проводился с использованием пакета

статистических программ IBM SPSS Statistics 22.0 (США). Данные представлены в виде медианы значения и интерквартильного размаха (Ме [25; 75 перцентиль]). Для сравнения двух независимых выборок по количественным признакам использовался критерий Манна-Уитни, для связанных выборок - критерий Вилкоксона, по качественным признакам - критерий хи-квадрат χ^2 . Для анализа связи двух признаков использовался анализ ранговой корреляции по Спирмену. Критический уровень значимости различий принимался $\geq 0,05$.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

MODY2 У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Клинико-лабораторная характеристика пациентов с MODY2

Клинико-лабораторная характеристика при диагностике нарушений углеводного обмена у пациентов с MODY2 представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с MODY2

Клинико-лабораторный показатель	Значение
Соотношение полов, ж:м	1:1,4
Возраст диагностики, лет	8,0 [4,3; 11,0]
Гликемия при диагностике, ммоль/л	6,8 [6,5; 7,4]
HbA1c, %	6,5% [6,2; 6,7]
Отягощенная наследственность (%):	
1 ст. родства	82,3
2 ст. родства	58,2
в 3-х поколениях	53,2
Характер диагностики (%):	
случайная	77,6
обследование по поводу отягощенной наследственности	15,3
клинические проявления СД	7,1
Назначенная терапия (%):	
инсулин	5,9
метформин	5,9
препараты СМ	1,2

Возраст пациентов при проведении полного клинико-лабораторного обследования составил 11,1 лет [7,5;15,0], длительность заболевания - 2 года [0,7; 4,5]. Частота ожирения у детей и подростков с MODY2 (SDS ИМТ ≥ 2) составила 5,9%. Уровень HbA1c составил 6,5% [6,3; 6,8], уровень гликемии натощак – 6,6 ммоль/л [6,2; 7,1]. Уровень гликемии в ходе ПГТТ на 60 мин. – 11,2 ммоль/л [9,9;12,7] (n=62), на 120 мин. – 9,4 ммоль/л [8,3; 11,1] (n=65).

Уровень гликемии натощак в 19,4% соответствовал нормальным значениям, в 47,3% - нарушению гликемии натощак, в 33,3% - СД. В ходе ПГТТ на 120 мин. в 12,9% уровень гликемии соответствовал нормальным значениям, в 64,5% - НТГ, в 22,6% - СД. Диагностический для СД уровень HbA1c (выше 6,5%) определялся у 52,4% детей. При оценке совокупности показателей углеводного обмена (уровень гликемии натощак и на 120 мин. в ходе ПГТТ, уровень HbA1c) в 78,5% был диагностирован СД.

Базальные уровни ИРИ и С-пептида составляли 6,2 мкЕд/мл [3,8; 9,1] (n=66) и 1,5 нг/мл [1,1; 1,9]. В ходе ПТГГ уровень ИРИ составил 42,5 мкЕд/мл [28,7; 56,0] и 32,3 мкЕд/мл [21,8; 50,2]; уровень С-пептида - 5,6 нг/мл [4,3; 7,4] и 5,6 нг/мл [4,3; 7,1] на 60 и 120 мин. соответственно.

Молекулярно-генетическая характеристика MODY2 у детей и подростков. Спектр мутаций, выявленных в гене *GCK*, представлен в таблице 2. Миссенс-мутации выявлены у 81,0% пробандов, нонсенс-мутации - у 6,3%, мутации со сдвигом рамки считывания – у 5,1%, делеции – у 2,5%, мутации в интроне – у 5,1%. Расположение мутаций представлено на рисунке 1. Пациенты не различались по возрасту при диагностике нарушений углеводного обмена, по уровню гликемии, HbA1c, секреции ИРИ и С-пептида при обследовании в зависимости от расположения и типа мутации.

Таблица 2. Спектр мутаций в гене *GCK*, выявленных у детей и подростков с MODY2 в Российской популяции

Экзон	Мутация	Тип мутации	Другие исследования	N пробандов	N пациентов
2	p.D29fsdelA	сдвиг рамки считывания	не описана	1	2
	p.M34R	миссенс	не описана	1	1
	p.R36W	миссенс	[Hager, 1994]	2	2
	p.R43H	миссенс	[Linder, 1999]	1	3
	p.R43C	миссенс	[Osbaek, 2009]	1	1
	p.G44S	миссенс	[Gragnoti, 2001]	3	4
	p. R46W	миссенс	не описана	1	1
	p. H50D	миссенс	http://grenada.lumc.nl	1	2
	p.V55G	миссенс	не описана	1	1
	p.V55A	миссенс	не описана	1	3
3	p.G72R	миссенс	[Lehto, 1999]	1	1
	p.G80S	миссенс	[Guazzini, 1998]	1	2
	p.T82P	миссенс	не описана	1	3
	p.A114P	миссенс	не описана	1	2
4	p.D124H	миссенс	[Osbaek, 2009]	1	4
	p.C137R	миссенс	[Velho, 1997]	1	2
	p. L146G	миссенс	не описана	1	2
	p.F150Y	миссенс	[Lorini, 2009]	2	2
	p.S151delS	Делеция трех нуклеотидов, приводящая к делеции одной аминокислоты	не описана	1	1
	p.E157K	миссенс	[Massa, 2001]	1	2
	p. D160Y	миссенс	не описана	1	1
5	p.V182M	миссенс	[Osbaek, 2009]	1	1
	p.L185V	миссенс	не описана	1	1
	p.R186L	миссенс	не описана	1	1
	p.R186fsdelA	миссенс	не описана	1	1
	p.A188T	миссенс	[Takeda, 1993]	2	3
	p.R191W	миссенс	[Ellard, 2000]	3	3

	p.R191Q	миссенс	[Massa, 2001]	1	1
6	p.T206M	миссенс	[Bertini, 1996]	2	3
	p.S212delS	Делеция трех нуклеотитдов, приводящая к делеции одной аминокислоты	не описана	1	4
	p.C220X	нонсенс	[Pruhova, 2003]	1	2
	p.E221K	миссенс	[Guazzini, 1998]	1	1
	p.V226M	миссенс	[Velho, 1997]	1	1
7	p.G249fsG	сдвиг рамки считывания	не описана	1	1
	p.E256K	миссенс	[Gidh-Jain, 1993]	3	3
	p.G258C	миссенс	[Mantovani, 2003]	3	3
	p.G261R	миссенс	[Massa, 2001, Velho, 1997]	4	5
	p.E265K	миссенс	[Galan, 2006]	1	2
	p.Y273N	миссенс	не описана	2	3
	p.D274N	миссенс	не описана	1	4
8	p.G294D	миссенс	[OsbaK, 2009]	1	1
	p.G299D	миссенс	[OsbaK, 2009]	1	1
	p.L307F	миссенс	не описана	1	3
	p.L324P	миссенс	[McKinney, 2004]	1	1
9	p.D363N	миссенс	[OsbaK, 2009]	1	1
	p.C365R	миссенс	не описана	1	2
	p.C371Y	миссенс	[OsbaK, 2009]	1	1
	p.C372X	нонсенс	не описана	2	5
	p.C382X	нонсенс	не описана	1	1
	p.S383P	миссенс	не описана	1	2
	p.S383L	миссенс	[Barrio, 2002]	2	3
	p.T405I	миссенс	[OsbaK, 2009]	1	1
	p.V406A	миссенс	не описана	1	2
10	p.K420X	нонсенс	не описана	1	2
	p.R422G	миссенс	не описана	1	1
	p.E440fsde ITCGAG	сдвиг рамки считывания	не описана	1	1
	p.S453L	миссенс	[Thomson, 2003]	1	1
интрон					
6	int6+2T>G		не описана	2	3
	int6+C>15 A		не описана	1	2
8	int8+5G>A		[Lorini, 2009]	1	1

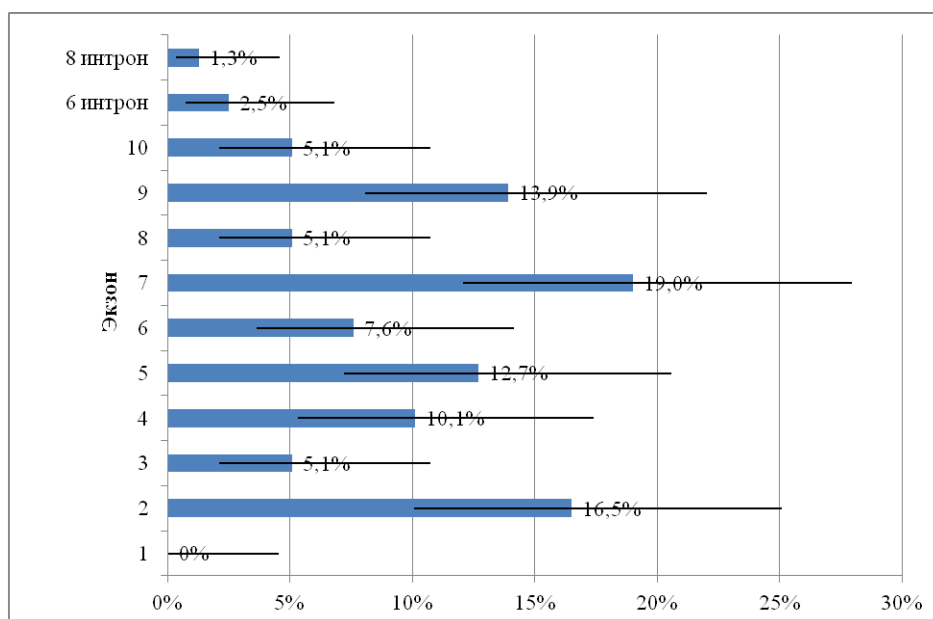


Рисунок 1. Гистограмма расположения мутаций в гене *GCK*

Состояние углеводного обмена, секреции инсулина и С-пептида в зависимости от длительности заболевания при MODY2

Длительность заболевания не влияла на уровень HbA1c, гликемии натощак, а также на уровень стимулированной гликемии. Не выявлено различий между базальными уровнями ИРИ и С-пептида, а также в ходе нагрузки (ПГТТ) при длительности заболевания менее года (n=37), 1-3 года (n=31) и более 3 лет (n=45).

Состояние углеводного обмена, секреции инсулина и С-пептида в зависимости от возраста пациентов

Уровень HbA1c не различался в возрастных группах до 6 лет (n=19), 7-12 лет (n=46), 13-18 лет (n=48). Уровень гликемии натощак и на 120 мин. в условиях ПГТТ был достоверно ниже в возрасте до 6 лет (таблица 3). Выявлена положительная взаимосвязь между возрастом пациентов и уровнем гликемии натощак ($r=0,287$, $p=0,002$) (рисунок 2), взаимосвязи между возрастом пациентов и уровнем гликемии в ходе нагрузки (ПГТТ), а также с уровнем HbA1c не выявлено.

Таблица 3. Уровень глюкозы (в ммоль/л) натощак и в ходе нагрузки в зависимости от длительности заболевания при MODY2

Возраст, лет		Уровень глюкозы в плазме		
		0 мин.	60 мин.	120 мин.
1	0-6	6,2 [5,5; 6,4], n=19	11,6 [9,6; 12,2], n=12	8,6 [7,2; 9,4], n=13
2	7-12	6,6 [6,3; 7,0], n=46	11,3 [9,7; 12,9], n=32	9,6 [8,4; 11,3], n=39
3	13-18	6,6 [6,2; 7,1], n=48	11,0 [9,5; 12,5], n=39	9,0 [7,7; 10,7], n=41
$p^{1,2}$		$p<0,001$	$p=0,9$	$p=0,03$
$p^{2,3}$		$p=0,9$	$p=0,3$	$p=0,2$
$p^{1,3}$		$p<0,001$	$p=0,6$	$p=0,2$

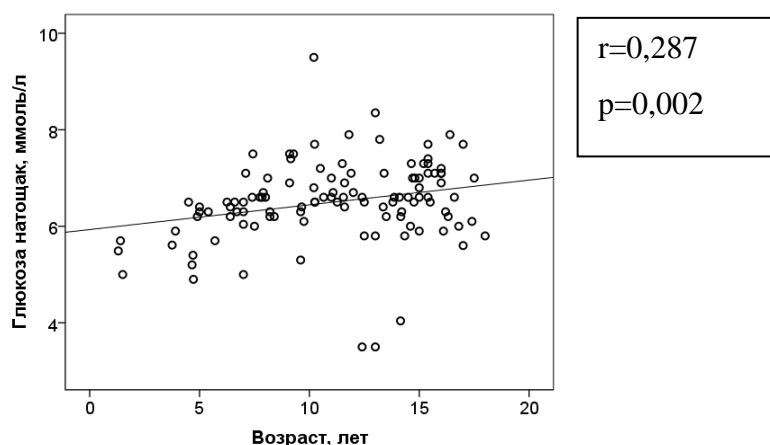


Рисунок 2. Корреляционная взаимосвязь между возрастом и уровнем глюкозы плазмы натощак при MODY2

Достоверно самые низкие базальные и стимулированные в ходе ПГТТ уровни ИРИ и С-пептид (таблица 4, таблица 5) были выявлены в возрасте до 6 лет. Далее отмечалось достоверное увеличение базальной секреции ИРИ и С-пептида с увеличением возраста пациентов. Выявлена положительная взаимосвязь между возрастом пациентов и уровнем ИРИ натощак ($r=0,373$, $p<0,001$) (рисунок 3) и в ходе ПГТТ на 60 мин. ($r=0,369$, $p=0,001$) и 120 мин. ($r=0,369$, $p=0,001$), а также между возрастом пациентов и уровнем С-пептида натощак ($r=0,570$, $p<0,001$) (рисунок 3) и в ходе нагрузки (ПГТТ) ($r=0,397$, $p=0,03$) на 60 мин. ($r=0,504$, $p<0,001$) и 120 мин. ($r=0,235$, $p=0,04$). Увеличение секреции ИРИ и С-пептида по мере увеличения возраста отражает тенденцию к пубертатной гиперинсулинемии и ИР у здоровых детей.

Таблица 4. Секреция ИРИ (в мкЕд/мл) у пациентов с MODY2 в различных возрастных группах

Возраст, лет		Уровень ИРИ в сыворотке		
		0 мин.	60 мин.	120 мин.
1	0-6	1,7 [0,7; 3,8], n=15	20,3 [15,8; 35,6], n=10	7,3 [4,7; 21,3], n=11
2	7-12	6,2 [4,9; 9,3], n=33	39,7 [22,9; 55,2], n=27	36,4 [27,0; 52,0], n=29
3	13-18	7,6 [5,4; 11,0], n=44	49,1 [35,3; 61,1], n=31	33,6 [24,4; 48,8], n=38
$p^{1,2}$		$p<0,001$	$p=0,01$	$p<0,001$
$p^{2,3}$		$p=0,2$	$p=0,1$	$p=0,4$
$p^{1,3}$		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$

Таблица 5. Секреция С-пептида сыворотки (в нг/мл) у пациентов с MODY2 в различных возрастных группах

Возраст, лет		Уровень С-пептида в сыворотке		
		0 мин.	60 мин.	120 мин.
1	0-6	0,7 [0,5; 0,9], n=12	3,9 [2,9; 5,0], n=8	3,0 [2,0; 4,4], n=8
2	7-12	1,4 [1,0; 1,8], n=39	5,1 [4,2; 6,9], n=27	5,6 [4,8; 7,4], n=29
3	13-18	1,8 [1,5; 2,2], n=38	6,9 [5,7; 7,8], n=29	6,5 [5,0; 8,1], n=30
$p^{1,2}$		$p<0,001$	$p=0,02$	$p<0,001$
$p^{2,3}$		$p=0,001$	$p=0,01$	$p=0,4$
$p^{1,3}$		$p<0,001$	$p<0,001$	$p<0,001$

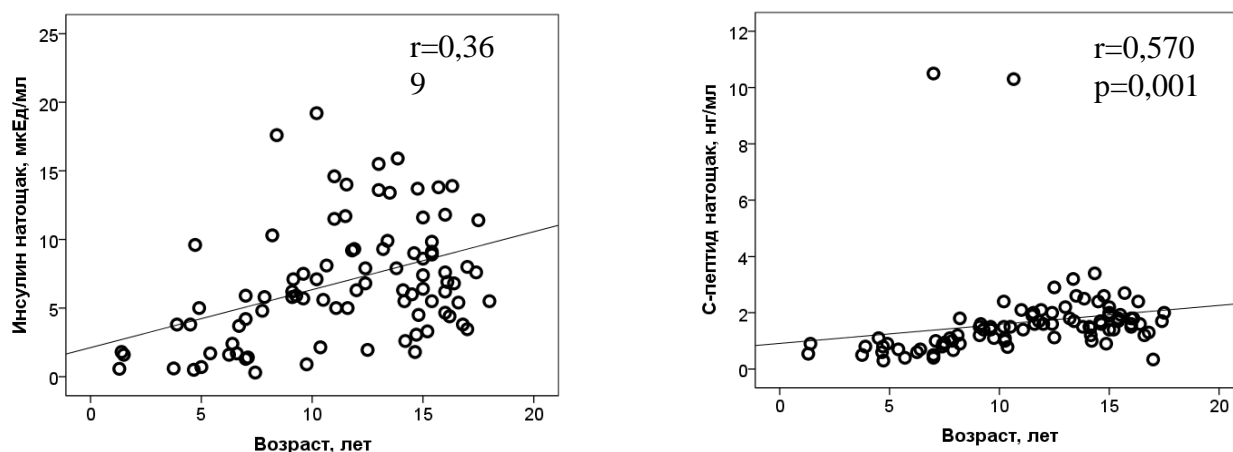


Рисунок 3. Корреляционная взаимосвязь между возрастом и уровнем ИРИ натошак, возрастом и уровнем С-пептида сыворотки натошак при MODY2

ИР при MODY2 у детей и подростков

ИР (НОМА-IR>3,2) была выявлена у 15,3% (n=13) детей с MODY2. Медиана индекса НОМА-IR составила 1,9 [1,1; 2,8]. Выявлена положительная взаимосвязь между уровнем IR-НОМА и возрастом пациентов при обследовании ($r=0,467$, $p<0,001$), а также IR-НОМА и ИМТ ($r=0,451$, $p<0,001$) (рисунок 4). Таким образом, у детей с MODY2 в развитие ИР вносят вклад 2 фактора: пубертатное снижение чувствительности к инсулину, характерное для здоровых детей, и избыток массы тела или ожирение.

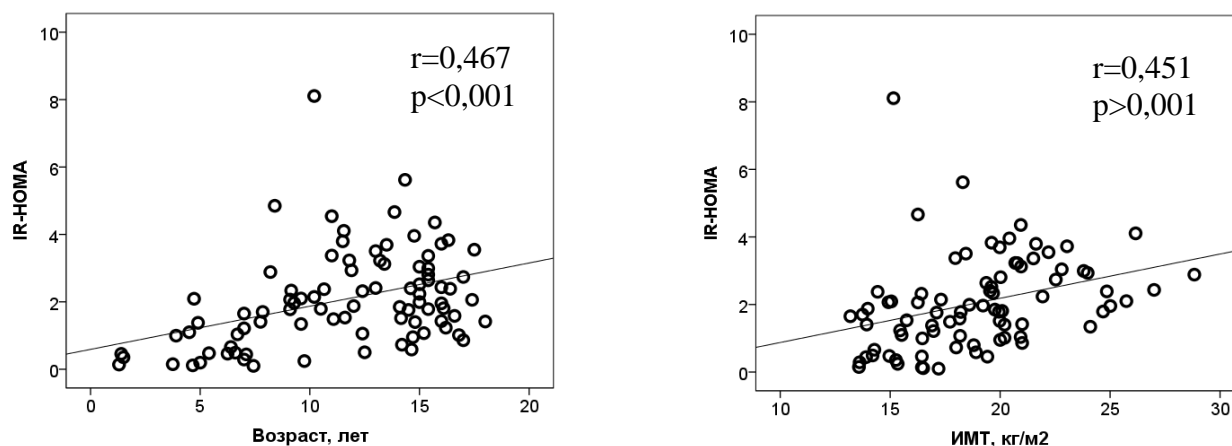


Рисунок 4. Корреляционная взаимосвязь между IR-НОМА и возрастом пациентов, между IR-НОМА и ИМТ при MODY2

У 8 пациентов был проведен эугликемический гиперинсулинемический клэмп-тест (таблица 6). Референсные значения М-индекса: < 2 мг/кг/мин – выраженная ИР, 2-4 мг/кг/мин – умеренно выраженная, 4-6 мг/кг/мин – слабо выраженная, >6 мг/кг/мин – ИР отсутствует. Выраженная ИР выявлена у 2 пациентов, умеренная - у 2, слабо выраженная – у 2. Достоверной взаимосвязи между IR-НОМА и М-индексом не выявлено ($r=-0,8$, $p=0,1$).

Таблица 6. Клиническая характеристика пациентов, которым проведен эугликемический гиперинсулинемический клэмп-тест

	Возраст, лет	SDS ИМТ	HbA1c, %	НОМА	М-индекс
Пациент 1	14	-0,2	6,9	114,3	2,85

Пациент 2	16	-0,26		13	1,69
Пациент 3	10	-0,8	7,1	8,1	3,38
Пациент 4	12	1,61		5,44	1,61
Пациент 5	17	-0,4	6,9	3,8	2,46
Пациент 6	13	1,2	6,5	3,8	5,2
Пациент 7	17	-1,2	6,4	2,05	4,6
Пациент 8	14	0,4	6,4	0,95	9,8

Особенности MODY2 при диагностике нарушений углеводного обмена в возрасте до года

В 11,8% (n=10) нарушения углеводного обмена были диагностированы в возрасте до года (от 1 до 12 месяцев), в том числе у 7 пациентов (8,2%) - до 6 мес. Уровни гликемии и HbA1c были сопоставимы с их уровнями в возрасте старше 1 года: 6,6 ммоль/л [6,3; 7,0] против 6,8 ммоль/л [6,5; 7,4] (p=0,4), 6,2% [5,7; 6,7] против 6,5% [6,2; 6,7] (p=0,4). Медикаментозная терапия не назначалась ни одному из пациентов при диагностике нарушений углеводного обмена до года.

Терапевтическая тактика у детей и подростков с MODY2

Терапия пациентов с MODY2 представлена на рисунке 5. Верификация диагноза MODY2 позволила снизить долю пациентов, получающих медикаментозную терапию с 21,2% до 8,3% (n=10), в том числе получающих инсулин с 10,6% до 5,9%. Назначение сахароснижающей терапии не приводило к улучшению показателей углеводного обмена: уровень HbA1c у 11 детей с MODY2 на фоне сахароснижающей терапии и без нее не различался - 6,7% [6,6; 6,8] и 6,5% [6,3; 6,7], p=0,4 (критерий Вилкоксона для двух связанных выборок).

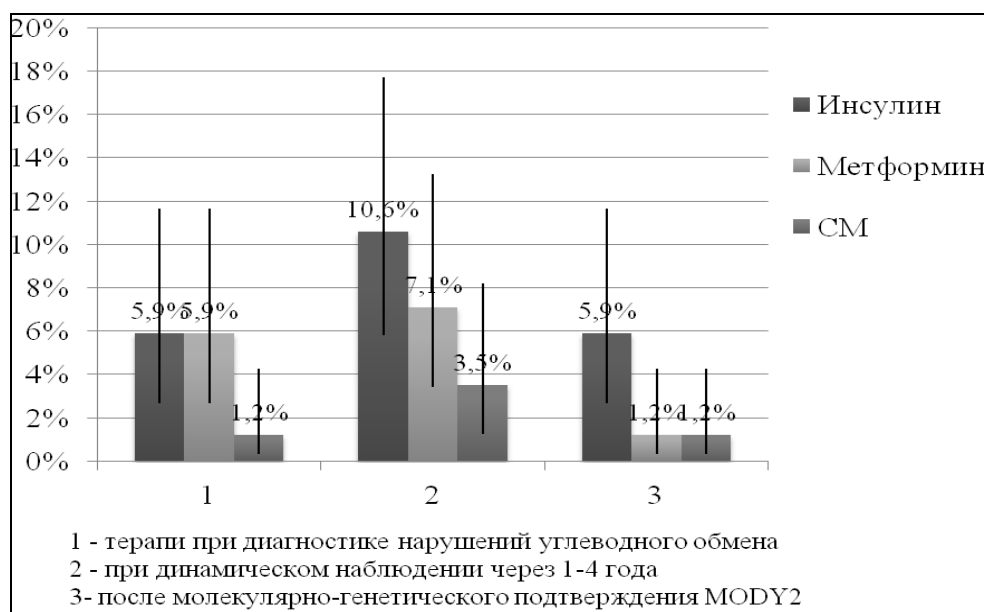


Рисунок 5. Терапия пациентов с MODY2 при диагностике нарушений углеводного обмена, при обследовании до верификации MODY2, после верификации MODY2

Наследственный анамнез пациентов с MODY2

Наследственность по СД была отягощена в 87,3%: в 82,3% (n=66) у одного или двух родителей были в анамнезе или выявлены активно нарушения углеводного обмена, только у

родственников вт.степени родства – в 5,0%; в трех и более поколениях – в 53,2%. Возраст выявления нарушений углеводного обмена у родителей составил 33,0 года [27,3; 39,8].

В 39,3% у родителей пробандов диагностирован СД, в 26,5% случаев отмечались нарушения гликемии натощак или НТГ, в 17,7% - гестационный сахарный диабет (ГСД). Молекулярно-генетическое исследование проведено 28 родителям с нарушениями углеводного обмена, диагноз MODY2 был верифицирован у 25.

ГСД при MODY2. ГСД был диагностирован 14 из 40 матерей с нарушениями углеводного обмена (35%). Наличие нарушений углеводного обмена у матери, вне зависимости от времени диагностики, приводили к увеличению массы тела при рождении 3310 ± 530 г (n=32) против 3000 ± 390 г (n=31) у матерей с нормальным углеводным обменом, $p=0,003$, SDS массы тела -0,39 [-1,4;0,55] (n=32) против -1,5 [-2;-0,72] (n=31), $p=0,004$.

MODY3 У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ

Клинико-лабораторная характеристика детей и подростков с MODY3

Клинико-лабораторная характеристика пациентов с MODY3 при диагностике нарушений углеводного обмена представлена в таблице 7.

Таблица 7. Клинико-лабораторная характеристика пациентов с MODY3

Клинико-лабораторный показатель	Значение
Соотношение полов, ж:м	2,3:1
Возраст диагностики, лет	11,8 [9,7; 15,0]
Гликемия при диагностике, ммоль/л	7,9 [6,9; 10,5]
HbA1c, %	6,7 [6,4;7,8]
Отягощенная наследственность (%):	
1 ст. родства	94,7
2 ст. родства	78,9
в 3-х поколениях	73,7
Характер диагностики (%):	
случайная	60,0
обследование по поводу отягощенной наследственности	25,0
клинические проявления СД	15,0
Терапия при диагностике (%):	
инсулин	30,0
метформин	5
препараты СМ	5

При проведении полного клинико-лабораторного обследования возраст пациентов составил 14,1 лет [10,5;17,0], длительность заболевания - 2,8 года [1,2; 4,2]. В 60% пациенты получали сахароснижающую терапию, в том числе в 35% инсулин, в 20% - метформин, в одном случае (5%) - гликлазид. Уровень HbA1c составил 6,5% [6,1; 7,8], уровень гликемии натощак - 5,0 ммоль/л [4,8; 6,5].

Стимулированный уровень гликемии в ходе ПГТТ на 60 мин. составил 12,0 ммоль/л [10,5; 14,7], на 120 мин. – 13,2 ммоль/л [11,0; 15,3]. В 58,8% выявлен нормальный уровень гликемии натощак. В ходе ПГТТ у 88,2% пациентов уровень гликемии соответствовал СД, у 5,9% - НТГ, в 5,9% - нормальным значениям. У пациентов, не получавших терапию (n=8), уровень HbA1c ниже диагностического определялся в 6 случаях (75,0%).

Базальный уровень ИРИ составил 6,3 мкЕд/мл [4,6; 9,7], базальный уровень С-пептида - 1,8 нг/мл [1,5; 2,2]. НОМА-IR - 1,6 [1,1;2,5]. ИР по индексу НОМА выявлена в 15%. Секреция ИРИ на составляла 28,5 мкЕд/мл [15,3; 41,2] и 25,2 мкЕд/мл [17,3; 41,2], секреция С-пептида - 4,3 нг/мл [3,4; 5,2] и 4,6 нг/мл [4,0; 5,7], на 60 и 120 мин. соответственно.

У 60% пациентов в анамнезе отмечалась глюкозурия, при диагностике нарушений углеводного обмена глюкозурия выявлена у 15%, в том числе у 10,0% выявление глюкозурии послужило поводом для исследования углеводного обмена.

Молекулярно-генетическая характеристика MODY3 у детей и подростков

Наиболее частая мутация - p.P291fs, выявлена у 5 пробандов (26,3%), p.R131W - у 2 пробандов (10,5%), остальные мутации выявлены каждая в одном случае. Спектр выявленных мутаций представлен в таблице 8. В 47,4% (n=9) выявлены мутации со сдвигом рамки считывания, 36,8% (n=7) выявлены миссенс-мутации, 15,8% (n=3) – нонсенс-мутации. Расположение выявленных мутаций в гене *HNF1A* представлено на рисунке 6. Пациенты не различались по возрасту при диагностике нарушений углеводного обмена, по уровню гликемии, HbA1c при обследовании в зависимости от локализации и типа мутации.

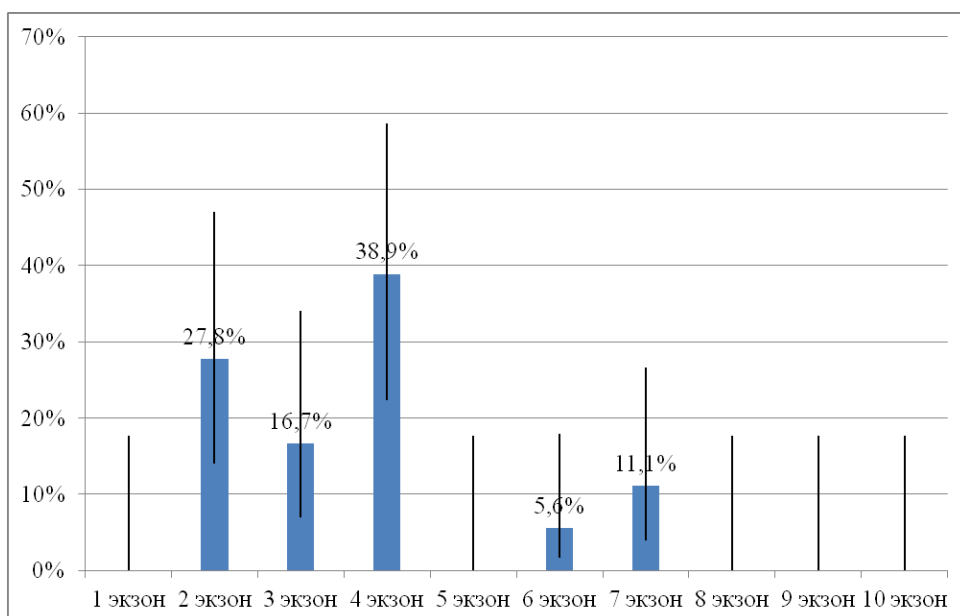


Рисунок 6. Гистограмма расположения мутаций в гене *HNF1A*

Таблица 8. Спектр мутаций в гене *HNF1A* в российской популяции

Экзон	Аминокислотная замена	Тип мутации	Другие исследования	N пробандов	N пациентов
1	p.D45fs	сдвиг рамки считывания	не описана	1	1
2	p.V119G	миссенс	не описана	1	1
	p.Y122C	миссенс	[Vaxillaire, 1997]	1	3
	p.R131W	миссенс	[Glucksmann, 1997]	2	2
	p.R159Q	миссенс	[Vaxillaire, 1997]	1	3
3	p.R203C	миссенс	[Yamada, 1999]	1	2
	p.R229X	нонсенс	[Yamada, 1999]	1	1

	p.R229Q	миссенс	[Kaisaki, 1997]	1	1
4	p.S249X	нонсенс	не описана	1	1
	p.Q252Rfs	сдвиг рамки считывания	не описана	1	1
	p.P291fs	сдвиг рамки считывания	[Yamagata, 1996]	5	12
6	p.S335X	нонсенс	[Awa, 2011]	1	2
	p.R379fs	сдвиг рамки считывания	[Yamagata, 1996]	1	1
7	p.P447L	миссенс	[Yamagata, 1996]	1	1

Состояние углеводного обмена, секреции ИРИ и С-пептида в зависимости от длительности заболевания

Уровень HbA1c, гликемия натощак и в ходе ПГТТ не различались при длительности заболевания менее года, 1-3 года, более 3 лет. Не выявлено различий между базальными и стимулированными уровнями ИРИ и С-пептида при длительности заболевания менее года, 1-3 года и более 3 лет. Корреляционный анализ не выявил взаимосвязи между длительностью заболевания и показателями углеводного обмена, уровнем ИРИ, С-пептида.

Состояние углеводного обмена, секреции ИРИ и С-пептида в зависимости от возраста пациентов

Уровни HbA1c, гликемии натощак и в ходе нагрузки не различались в группах пациентов в возрасте 7-12 лет и 13-18 лет. Различий между секретией базального и стимулированного ИРИ и С-пептида в возрасте 7-12 лет и 13-18 лет не выявлено. При проведении корреляционного анализа взаимосвязи между возрастом пациентов и показателями углеводного обмена, секрецией ИРИ и С-пептида не выявлено.

Влияние ожирения на течение MODY3 у детей

Частота экзогенно-конституционального ожирения (SDS ИМТ>2) при MODY3 составила 40,0%. В группе пациентов с ожирением отмечалась достоверно более ранняя диагностика нарушений углеводного обмена, чем в группе с нормальной массой тела: 10,4 года [9,6; 11,0] против 13,2 лет [11,4; 15,4] ($p<0,05$). При проведении корреляционного анализа (рисунок 7) выявлена отрицательная взаимосвязь между SDS ИМТ и возрастом диагностики нарушений углеводного обмена ($r=-0,555$, $p=0,021$). Таким образом, ожирение являлось фактором риска более раннего дебюта нарушений углеводного обмена при MODY3.

На момент диагностики СД уровень HbA1c был сопоставим в двух группах, к моменту молекулярно-генетической верификации выявлено нарастание уровня HbA1c в группе с ожирением до 7,6% [6,0; 8,7].

Корреляционный анализ (рисунок 8) выявил взаимосвязь между индексом IR-HOMA и ИМТ ($r=0,568$, $p=0,03$). Таким образом, ожирение вносит основной вклад в развитие ИР у детей с MODY3.

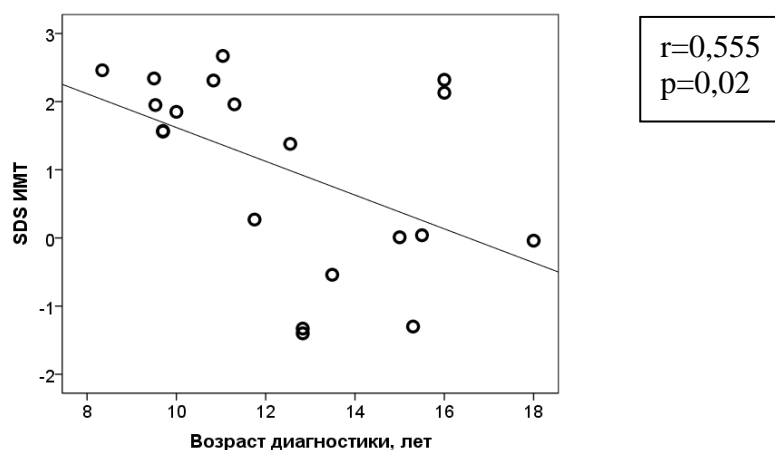


Рисунок 7. Корреляционная взаимосвязь между SDS ИМТ и возрастом диагностики нарушений углеводного обмена при MODY3

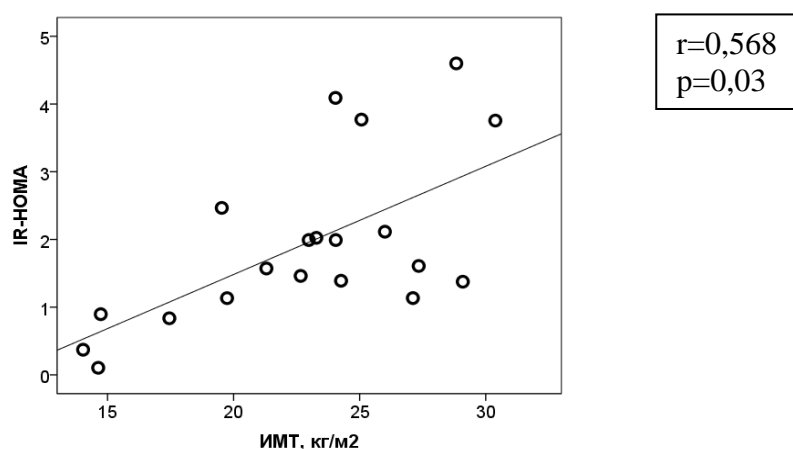


Рисунок 8. Корреляционная взаимосвязь между IR-HOMA и ИМТ у детей при MODY3.

Терапевтическая тактика у детей с MODY3

При диагностике СД в 30,0% был назначен инсулин, в 5,0% - гликлазид, в 5,0% – метформин, в 60,0% - диета. В динамике до верификации диагноза 60% пациентов получали сахароснижающую терапию, в том числе в 35% - инсулин, в 20%– метформин, в 5% препараты СМ. Верификация диагноза MODY3 позволила снизить долю пациентов, получающих инсулин, до 5% (n=1) и увеличить долю пациентов, получающих препараты СМ, до 65%: 6 пациентов – глибенкламид в дозе 1,5-10,5 мг/сутки, 5 пациентов – гликлазид в дозе 15-60 мг, в том числе у одной пациентки в комбинации с инсулином гларгин, 2 пациента – глимепирид в дозе 1-2 мг. В 10% назначена терапия метформином в связи с выявленной ИР. Во всех случаях было достигнуто снижение уровня HbA1c (таблица 9).

Таблица 9. Примеры перевода на терапию препаратами СМ у пациентов с MODY3

	1	2	3	4	5
Мутация	R229X	P291fsC	V119G	P291fsC	P291fsC
Терапия назначения препаратов СМ до	Инсулин 0,13 ед/кг/сут	Инсулин 0,22 ед/кг/сут	Диета	Метформин 1000 мг/сут	Метформин 1000 мг/сут
Длительность заболевания, лет	6	3,5	1	2	4

НbA1с до перевода, %	11,6	7,1	8,1	9,7	7,3
Препарат (суточная доза)	Гликлазид 60 мг/сут	Глимепирид 1 мг/сут	Гликлазид 60 мг/сут	Глибенкламид 10,5 мг/сут	Глимепирид 1 мг/сут
НbA1с после перевода, %	8,5	6,1	6,6	6,3	6,0

Наследственный анамнез пациентов с MODY3

Наследственность по СД отягощена у всех пациентов (в 94,7% - у родственников 1 ст.родства, в 5,3% - только у родственников 2 ст.родства), в трех поколениях - в 73,7%. В 84,1% у родителей отмечался СД, в одном случае (5,3%) – ГСД, в одном случае СД выявлен нами активно. Медиана возраста диагностики СД у родителей - 25 лет [19,0; 36,0].

89,4% родителей пациентов получали сахароснижающие препараты (52,6% - инсулин, 36,9% - ПССП). Молекулярно-генетическое исследование гена *HNF1A* проведено 6 родителям с СД, у всех диагноз MODY3 был подтвержден. После верификации MODY3 двум родителям инсулин отменен и назначены препараты СМ с положительным эффектом спустя 5 и 6 лет от начала заболевания.

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ДИАГНОСТИКА MODY

Дифференциальная диагностика MODY2 и MODY3

Нарушения углеводного обмена при MODY2 были диагностированы раньше, чем при MODY3 – в 8,0 лет [4,3; 11,0] против 11,8 лет [9,7; 15,0], $p<0,001$.

У пациентов с MODY3 ожирение ($\text{SDS ИМТ} \geq 2$) отмечалось достоверно чаще (40,0%) по сравнению с MODY2 (5,9%), $p<0,01$.

Для MODY2 были характерны нарушение гликемии натощак (в 47,3%) и диабетический уровень гликемии натощак (в 33,3%) детей и подростков против 11,8% при MODY3 ($p<0,05$). Нормальный уровень гликемии натощак чаще определялся при MODY3 - у 58,8%, для MODY2 были характерны нарушение гликемии натощак (в 47,3%) и диабетический уровень гликемии натощак (в 33,3%). При проведении ПГТТ для MODY2 было характерно НТГ (64,5%), для MODY3 – диабетический уровень гликемии (88,2%) (рисунок 9).

Базальные уровни ИРИ и С-пептида не различались, а стимулированные уровни ИРИ (рисунок 10) и С-пептида (рисунок 11) были достоверно выше при MODY2 на 60 мин.

Глюкозурия при обследовании у пациентов с MODY2 не выявлялась. При MODY3 у 6 пациентов (30,0%) отмечалась глюкозурия даже при компенсации углеводного обмена.

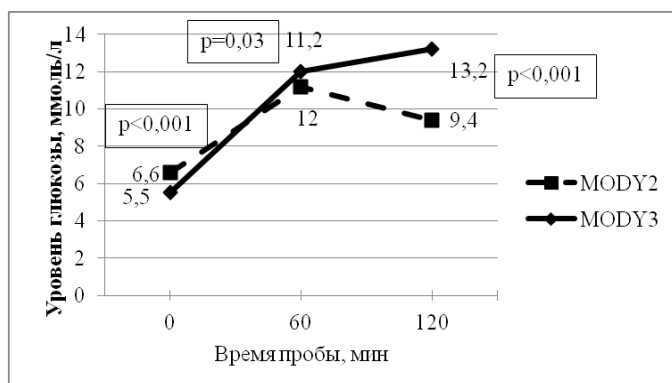


Рисунок 9. Уровень глюкозы натощак и в ходе нагрузки (в ммоль/л) при MODY2 и MODY3

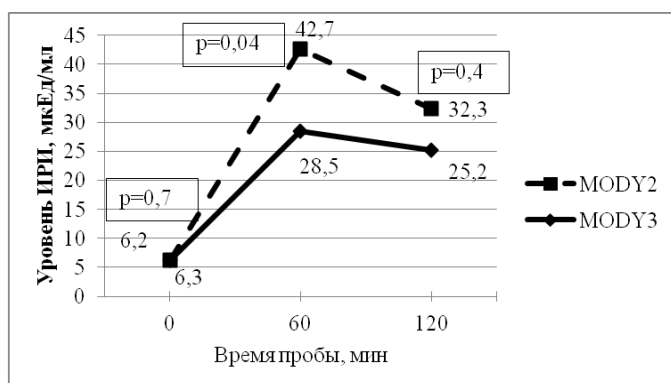


Рисунок 10. Секретия ИРИ (в мкЕд/мл) при MODY2 и MODY3

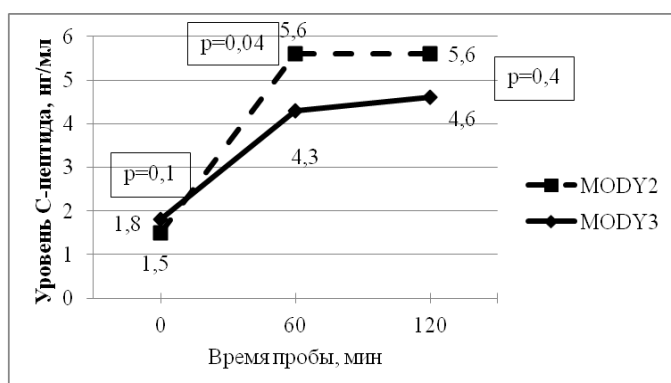


Рисунок 11. Секретия С-пептида (в нг/мл) при MODY2 и MODY3

Медиана возраста диагностики нарушений углеводного обмена у родителей была ниже при MODY3 – 24 года [18,5; 35,3] против 32 лет [27,0; 37,0] при MODY2, $p < 0,05$. Степень нарушения углеводного обмена у родителей при MODY3 соответствовала СД в 89,4%, при MODY2 - в 40,6%. В 24,6% у родителей пробандов с MODY2 отмечались нарушение гликемии натощак и/или НТГ, которые не встречались у родителей пробандов с MODY3. Родители пациентов с MODY3 достоверно чаще получали сахароснижающую терапию - в 89,4% (в 52,5% - инсулин, 36,9% - СМ) против 24,7% при MODY2 (в 4,4% - инсулин, 20,3 - ПССП).

Дифференциальная диагностика MODY2 и MODY3 с СД1 и СД2

Для выявления дифференциальных критериев MODY2 и MODY3 проведено сравнение с пациентами с СД1 и СД2, которые первоначально клинически были интерпретированы как имеющие MODY. Сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей представлен в таблице 10. Клинические проявления СД отмечались достоверно реже при MODY2 (7,1%) и MODY3 (15,0%), чем при СД1 (50,0%) и при СД2 (50,0%). Кетонурия не встречалась при MODY2 и MODY3, но была зафиксирована в 30% при СД1 и в 20% при СД2.

Таблица 10. Сравнительная клиническая характеристика MODY2, MODY3, СД1 и СД2

	MODY2 n=85	MODY3 n=20	СД1 n=40	СД2 n=10	$p^{1,2}$	$p^{1,3}$	$p^{1,4}$	$p^{2,3}$	$p^{2,4}$
	1	2	3	4					
Возраст диагностики, лет	8,0	11,8	11,6	11,6	<0,001	<0,001	<0,01	0,2	0,7

Гликемия при диагностике, ммоль/л	6,8	7,9	12,5	13,0	<0,01	<0,001	<0,001	<0,01	0,1
HbA1c при диагностике, %	6,5	6,7	8,4	7,8	0,02	<0,001	<0,001	0,04	0,1
Характер диагностики (%):									
• случайная	77,6	60,0	47,5	40,0	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05	>0,05
• обследование по поводу отягощенной наследственности	15,3	25,0	2,5	10,0	>0,05	<0,01	>0,05	<0,01	>0,05
• клиническая картина СД	7,1	15,0	50,0	50,0	>0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,05
Терапия при диагностике (%):									
• инсулин	5,9	30,0	52,5	40,0	<0,01	<0,01	<0,01	>0,05	>0,05
• метформин	5,9	5	7,5	30,0	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05	>0,05
• препараты СМ	1,2	5	-	-	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Отягощенная наследственность (%):									
1 ст. родства	82,3	94,7	37,5	50,0	>0,05	<0,01	<0,05	<0,01	<0,01
2 ст. родства	58,2	78,9	55,0	60,0	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
в 3-х поколениях	53,2	73,7	20,0	40,0	>0,05	<0,01	>0,05	<0,01	>0,05
Длительность заболевания при обследовании, лет	2	2,8	1,1	3,3	0,5	0,01	>0,05	0,01	>0,05
SDS ИМТ	0,1	1,6	0,4	2,1	0,02	0,4	<0,001	0,03	0,1
Частота ожирения	5,9	40,0	7,5	60,0	<0,01	>0,05	<0,01	<0,01	>0,05
HbA1c при обследовании, %	6,5	6,5	6,9	5,9	>0,05	<0,001	0,3	0,3	0,1
Терапия при динамическом наблюдении									
• инсулин	5,9	5	57,5	-	>0,05	<0,01	>0,05	<0,01	>0,05
• метформин	1,2	5	-	60,0	>0,05	>0,05	<0,01	>0,05	<0,01
• препараты СМ	1,2	65	-	-	<0,01	>0,05	>0,05	<0,01	<0,01

Степень нарушения углеводного обмена при диагностике была в меньшей степени выражена при MODY2, чем при СД1 и СД2. При MODY3 степень нарушения углеводного обмена была менее выражена, чем при СД1, и была сопоставима с СД2.

Ожирение при MODY2 выявлялось с той же частотой (5,9%), как при СД1 (7,5%), и реже, чем при СД2 (60,0%), в то время как частота ожирения при MODY3(40,0%) была сопоставима с СД2 (60,0%).

При исследовании стимулированного уровня гликемии, секреции С-пептида и ИРИ у пациентов с СД1 использовались пробы с нагрузкой глюкозой (n=7) или завтраком (n=30), у пациентов с СД2 пробы с нагрузкой глюкозой (n=8) или завтраком (n=2). Характер гликемической кривой в ходе нагрузки позволяет дифференцировать только MODY2 (гипергликемия натощак, НТГ при нагрузке), при MODY3, СД1 и СД2 уровень гликемии не

различается (таблица 11, рисунок 12). Базальные уровни ИРИ и С-пептида не имели дифференциально-диагностической ценности для определения типа СД. Наиболее низкая секреция ИРИ и С-пептида отмечалась при СД1, секреция при MODY2 и MODY3 занимала промежуточное значение. Для СД2 было характерна наиболее высокая секреция ИРИ и С-пептида, а также отмечался характерный отсроченный подъем уровней ИРИ и С-пептида на 120 мин. (таблицы 12,13, рисунки 13,14). ИР (IR-HOMA>3,2) определялась достоверно чаще при СД2 (в 60%), чем при MODY2 (15,3%, $p>0,05$) и MODY3 (15,3%, $p>0,05$) и не выявлялась при СД1. При СД1 наследственный анамнез по СД в трех поколениях отягощен в 20,0%, что было реже чем при MODY2 (53,2%) ($p<0,01$) и MODY3 (73,7%) ($p<0,01$); у пациентов СД2 - у 40%, что сопоставимо с MODY2 (53,2%, $p>0,05$) и с MODY3 (73,7%, $p>0,05$).

Таблица 11. Уровень глюкозы натощак и в ходе нагрузки (в ммоль/л) при MODY2, MODY3, СД1 и СД2 у детей и подростков

		Уровень глюкозы в плазме		
		0 мин.	60 мин.	120 мин.
1	MODY2	6,6 [6,2; 7,1], n=85	11,2 [9,9; 12,7], n=62	9,4 [8,3; 10,9], n=65
2	MODY3	5,5 [5,0; 6,8], n=20	12,0 [10,5; 14,7], n=17	13,2 [11,0; 15,3], n=17
3	СД1	6,4 [5,4; 8,8], n=37	14,1 [11,9; 17,3], n=35	14,3 [10,3; 17,5], n=35
4	СД2	7,3 [5,1; 7,7], n=10	13,5 [9,8; 16,4], n=10	11,2 [8,2; 14,8], n=10
$p^{1,3}$		$p=0,5$	$p<0,001$	$p<0,001$
$p^{1,4}$		$p=0,3$	$p=0,5$	$p=0,3$
$p^{2,3}$		$p=0,03$	$p=0,07$	$p=0,6$
$p^{2,4}$		$p=0,1$	$p=0,5$	$p=0,4$

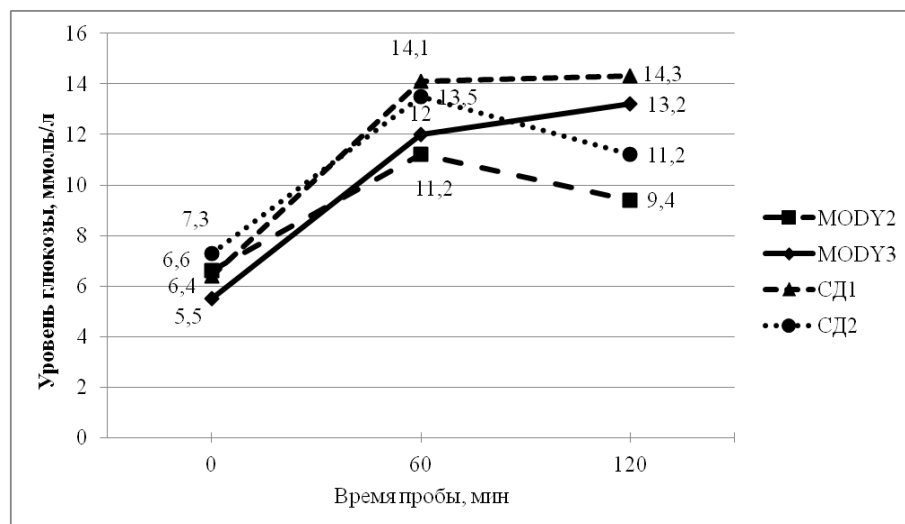


Рисунок 12. Уровень глюкозы натощак и в ходе нагрузки (в ммоль/л) при MODY2, MODY3, СД1 и СД2

Таблица 12. Секреция ИРИ (в мкЕд/мл) при MODY2, MODY3, СД1 и СД2

		Уровень ИРИ в сыворотке		
		0 мин.	60 мин.	120 мин.
1	MODY2	6,2 [3,8; 9,1], n=66	42,7 [28,7; 56,0], n=62	32,3 [21,8; 50,2], n=63
2	MODY3	6,3 [4,6; 9,7], n=21	28,5 [15,3; 41,2], n=21	25,2 [17,3; 41,2], n=21

3	СД1	6,6 [4,3; 9,7], n= 17	24,4 [15,1; 41,8], n=15	20,8 [16,2; 35,1], n=15
4	СД2	14,0 [10,6; 25,8],n=9	48,2 [35,4; 124,9], n=9	59,3 [29,0; 107,2], n=9
$p^{1,3}$		$p=0,9$	$p=0,002$	$p=0,04$
$p^{1,4}$		$p<0,001$	$p=0,3$	$p=0,06$
$p^{2,3}$		$p=0,6$	$p=0,5$	$p=0,4$
$p^{2,4}$		$p<0,001$	$p=0,009$	$p=0,004$

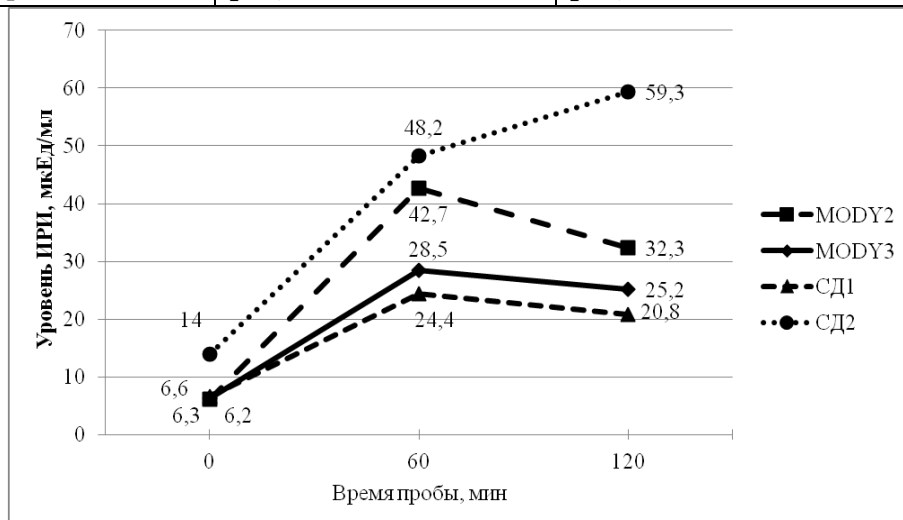


Рисунок 13. Секретия ИРИ (в мкЕд/мл) при MODY2, MODY3, СД1 и СД2

Таблица 13. Секретия С-пептида (в нг/мл) при MODY2, MODY3, СД1 и СД2

в нг/мл

		Уровень С-пептида в сыворотке		
		0 мин.	60 мин.	120 мин.
1	MODY2	1,5 [1,1; 1,9], n=71	5,6 [4,3; 7,4], n=53	5,6 [4,3; 7,1], n=54
2	MODY3	1,8 [1,5; 2,2], n=15	4,3 [3,4; 5,2], n=14	4,6 [4,0; 5,7], n=14
3	СД1	1,3 [0,8; 1,8], n=36	2,7 [2,1; 4,2], n=34	2,8 [2,3; 4,7], n=34
4	СД2	2,3 [2,0; 3,4], n=10	6,1 [4,3; 9,8], n=10	8,4 [4,6; 9,1], n=10
$p^{1,3}$		0,01	<0,001	<0,001
$p^{1,4}$		0,001	0,2	0,04
$p^{2,3}$		0,001	0,004	<0,001
$p^{2,4}$		0,02	0,1	0,1

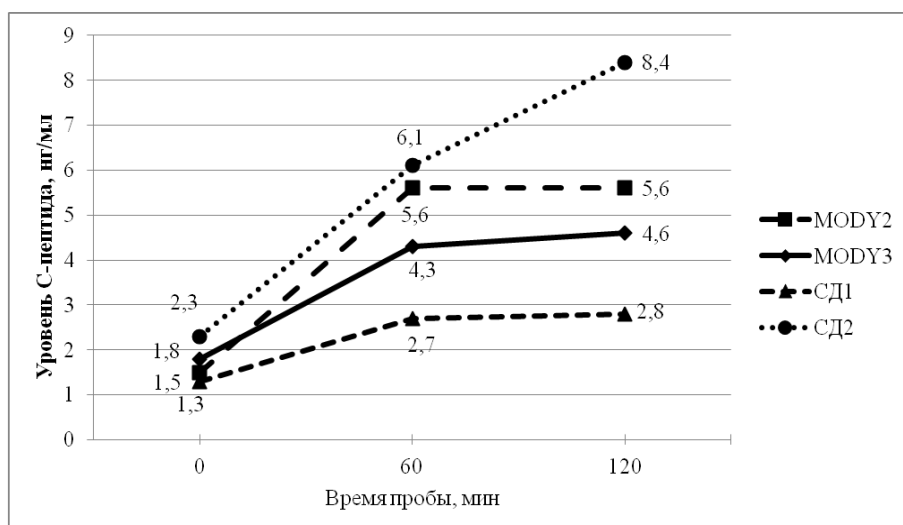


Рисунок 14. Секретия С-пептида (в нг/мл) при MODY2, MODY3, СД1 и СД2

Маркеры СД1 при MODY2 и MODY3

Частота и титр специфических панкреатических АТ при MODY2 и MODY3 не различались, поэтому данные были объединены. АТ (таблица 14) были исследованы у 82 детей и подростков с MODY. Повышенный титр одного из АТ определялся у 7,3% пациентов (n=6), повышения более одного вида АТ выявлено не было. Чаще всего выявлялись АТ к IA2 (в 5,8%). Титр всех АТ незначительно превышал нормальный уровень.

Группами сравнения были пациенты с СД1 типа в стадии полной или частичной клинико-лабораторной ремиссии и пациенты с СД2 (данные И.А. Ереминой). Выявлено, что при MODY по сравнению с СД1 достоверно реже выявлялись АТ к GAD - в 1,2% против 25,5% ($p<0,01$), IA2 – в 5,8% против 72,3% ($p<0,01$), ICA не определялись ($p<0,01$), при MODY титр АТ был ниже (таблица 14). При MODY были выявлены АТ в низком титре GAD и IA2, которых не было обнаружено при СД2.

Таблица 14. Панкреатические АТ у пациентов с MODY2.

Вид АТ	MODY (1)			СД1 (2)			СД2 (3)			Референсные значения АТ, Ед/мл	p 1,2	p 1,3
	n (%) с «+» АТ	Титр АТ, Ед/ мл	n	n (%) с «+» АТ	Титр АТ, Ед/ мл	n	n (%) с «+» АТ	Титр АТ, Ед/ мл	n			
GAD	1 (1,2)	2,3	82	14 (25,5)	2,3-12,0	55	-		66	0-1	<0,01	<0,01
IA-2	3 (5,8)	16,0-29,0	52	34 (72,3)	30,0-400,0	47	-		66	0-8	<0,01	<0,05
ICA	-	-	75	7 (13,2)	11,0-14,0	53	10 (15,2)	11,0-40,0	66	0-10	<0,01	<0,01
IAA	2 (1,7)	21,0-25,0	73	3 (6,7)	11,0-15,0	48	4 (6,1)	11,0-20,0	66	0-10	>0,05	>0,05

Частота выявления гаплотипов высокого риска развития СД1 была одинаковой при MODY2 и MODY3, поэтому данные были объединены. HLA-типирование проведено 64 пациентам с MODY. Группами сравнения были пациенты с СД1 типа (данные вед. науч. сотрудника Института детской эндокринологии ФГБУ ЭНЦ, к.м.н. Е.В. Титович) клинико-лабораторной ремиссии и пациенты с СД2 (данные науч. сотрудника Института детской эндокринологии ФГБУ ЭНЦ, к.м.н И.А. Ереминой). HLA-гаплотипы высокого риска при MODY встречались реже (27,7%), чем при СД1 (78,2%), и сопоставимо с частотой при СД2 (5,5%), при этом HLA-генотипы высокого риска при MODY практически не встречаются (1,5%).

Таблица 15. HLA у пациентов с MODY, СД1 и СД2

	MODY (1)	СД1(2)	СД2 (3)	p ^{1,2}	p ^{1,3}
HLA-гаплотипы высокого риска	n=64 27,7%	n=559 78,2%	n=64 38,2%	p<0,01	p>0,05
HLA-генотипы высокого риска	1,5%	35,2 %	5,5%	p<0,01	p>0,05
HLA-генотипы среднего риска	26,2%	42,9 %	32,7%	p<0,05	p>0,05

ВЫВОДЫ

1. Среди детей с нарушениями углеводного обмена, мягким течением без инсулинопотребности или с потребностью менее 0,4 ед/кг/сутки в течение более 2 лет и с сохранной функцией β -клеток и/или с отягощенной наследственностью по нарушениям углеводного обмена в трех поколениях, MODY2 и MODY3 выявлен в 54,2%, при этом MODY2 - в 4,2 раза чаще, чем MODY3.

2. В гене *GCK* (MODY2) выявлено 60 разных мутаций, в том числе 28 ранее не описанных, частых мутаций не выявлено. В гене *HNF1A* (MODY3) выявлено 14 разных мутаций, в том числе 5 ранее не описанных, выявлена наиболее частая мутация p.P291fs (26,3%).

3. Нарушения углеводного обмена у пробандов с MODY2 диагностированы раньше по сравнению с MODY3, в том числе в 11,8% в возрасте до года: медиана возраста диагностики MODY2 – 8,0 лет, MODY3 - 11,8 лет.

4. Для MODY2 характерны нарушение гликемии натощак (47,3%) и диабетический уровень гликемии (33,3%), при MODY3 - чаще нормогликемия натощак (58,8%). В ходе нагрузки для MODY2 более характерно нарушение толерантности к глюкозе (64,5%), для MODY3 – диабетический уровень гликемии (88,2%).

5. Секреция инсулина и С-пептида у детей с MODY2 и MODY3 занимала промежуточное значение между СД1 и СД2. При этом не отмечалось прогрессирования дисфункции β -клеток с увеличением длительности заболевания. У детей с MODY2 выявлена пубертатная гиперинсулинемия, которая отсутствовала при MODY3.

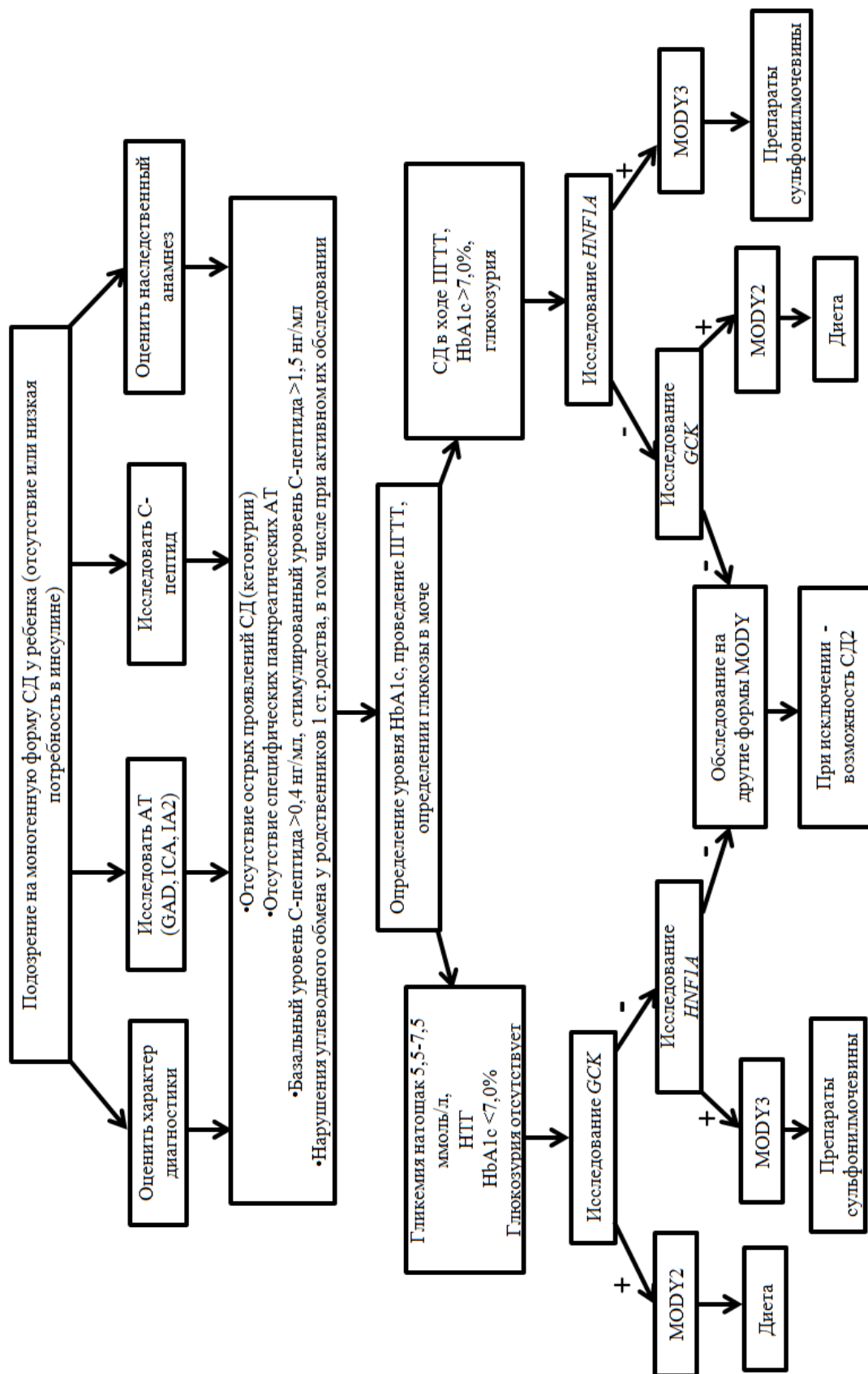
6. Ожирение наблюдалось у 5,9% пациентов с MODY2 и 40% пациентов с MODY3, инсулинорезистентность выявлена у 15% пациентов с MODY2 и MODY3. У детей с MODY2 в развитие инсулинорезистентности вносят вклад пубертатное снижение чувствительности к инсулину и избыток массы тела или ожирение, при MODY3 основной вклад вносит ожирение. При MODY3 ожирение является фактором риска более раннего дебюта нарушений углеводного обмена.

7. Частота выявления АТ при MODY2 и MODY3 составила 5,8% против 91% у больных СД1, при этом они определялись в низком титре. HLA-генотипы высокого риска развития СД1 не ассоциированы с MODY2 и MODY3 и встречались лишь в 1,6% против 35,2% при СД1.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Критериями для проведения молекулярно-генетического исследования на MODY являются:
 - Бессимптомная диагностика нарушений углеводного обмена;
 - Отсутствие специфических панкреатических АТ (IA2, ICA и GADA) в высоком титре;
 - Отсутствие или низкая потребность в инсулине - менее 0,4 ед/кг/сут;
 - Сохранная секреция инсулина с учетом возрастных особенностей;
 - Наличие нарушений углеводного обмена у родственников 1 ст.родства.
2. Наличие ожирения и умеренной инсулинорезистентности не исключает диагноз MODY2 и MODY3 при соблюдении других критериев MODY.
3. При гипергликемии натощак 5,5-7,5 ммоль/л, НТГ в ходе ПГТТ, уровне HbA1c менее 7,0%, при наличии гипергликемии натощак в первую очередь рекомендуется исследование гена *GCK*. При уровне HbA1c 7,0% и выше, диабетическом уровне гликемии в ходе ПГТТ, наличии глюкозурии рекомендуется начинать исследовать с гена *HNF1A*.
4. При выявлении мутации в гене *GCK* терапия сахароснижающими препаратами как пероральными, так и инсулином не показана.
5. При выявлении мутации в гене *HNF1A* при повышении уровня HbA1c более 6,5% рекомендуется назначение препаратов СМ. У пациентов с MODY3, получающих инсулин, перевод на препараты СМ возможен независимо от дозы инсулина и длительности его получения.

Рисунок 15. Алгоритм дифференциальной диагностики и терапевтической тактики MODY2 и MODY3



Список сокращений

GADA – аутоантитела к глутаматдекарбоксилазе

HbA1c – гликированный гемоглобин

HLA (Human Leucocyte Antigen) – главный комплекс гистосовместимости (человеческий лейкоцитарный антиген)

IA-2 – аутоантитела к тирозинфосфатазе

IAA – аутоантитела к инсулину

ICA – аутоантитела к β -клеткам

MODY – Maturity Onset Diabetes of the Young – сахарный диабет взрослого типа у молодых

SDS — standard deviation score – стандартное отклонение

GCK – ген глюкокиназы

HNFI1A – ген ядерного фактора гепатоцитов 1A

СМ - препарат сульфонилмочевины

НТГ - нарушение толерантности к глюкозе

ПЦР – полимеразная цепная реакция

ДНК - дезоксирибонуклеиновая

АТ – специфические панкреатические аутоантитела

ИМТ – индекс массы тела

ИР – инсулинорезистентность

ИРИ – иммунореактивный инсулин

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

НТГ – нарушение толерантности к глюкозе

ПГТТ – пероральный глюкозотолерантный тест

ОХ – общий холестерин

ПССП – пероральный сахароснижающий препарат

СД – сахарный диабет

СД1 – сахарный диабет 1 типа

СД2 – сахарный диабет 2 типа

ТГ – триглицериды

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. Сечко Е.А., Кураева Т.Л., Зильберман Л.И., Иванова О.Н., Петеркова В.А. MODY3 у детей и подростков: молекулярно-генетическое и клиничко-лабораторное исследование. // Проблемы эндокринологии. – 2015. - №3.-С.16-22.
2. Кураева Т.Л., Сечко Е.А., Зильберман Л.И., Иванова О.Н., Майоров А.Ю., Кокшарова Е.О., Петеркова В.А., Дедов И.И. Молекулярно-генетические и клинические варианты MODY2 и MODY3 у детей в России //Проблемы эндокринологии. – 2015. - №5.- С. 14-25
3. Кураева ТЛ, Сечко ЕА, Еремина ИА, Иванова ОН, Прокофьев СА. Особенности течения MODY3 у ребенка с фенотипом сахарного диабета 2 типа //Сахарный диабет. - 2013. - №2.- С. 88–93 .
4. Сечко Е.А., Кураева Т.Л., Зильберман Л.И., Иванова О.Н. MODY2 и MODY3 у детей и подростков //Сборник тезисов. VII Всероссийский диабетологический конгресс «Сахарный диабет в XXI веке – время объединения усилий». - 2015.- С. 205.
5. E.A. Sechko, L.I. Zilberman, O.N. Ivanova, T.L. Kuraeva, V.A. Peterkova. MODY-GCK and MODY-HNF1A in Children and Adolescents in Russian Population // 54 th Annual Meeting ESPE 2015, Barcelona. Horm Res Paediatr. – 2015. – VOL. 84. - suppl 1. – P. 182
6. L.Zilberman, E.Sechko, S. Sapunova, O.Ivanova, T. Kuraeva. Mody3 Early Identification and Diagnosis// 54 th Annual Meeting ESPE 2015, Barcelona. - Horm Res Paediatr. – 2015. – VOL. 84. - suppl 1. – P. 377
7. Зильберман Л.И., Сечко Е.А., Еремина И.А., Иванова О.Н., Кураева Т.Л. Полиморфизм клинической картины при MODY2 // Сборник тезисов. II всероссийский конгресс «Инновационные технологии в эндокринологии». – 2014.- С. 67.
8. Сечко Е.А., Зильберман Л.И., Иванова О.Н., Кураева Т.Л. MODY, связанный с мутацией гена *HNF1a* у детей и подростков // Сборник тезисов. II всероссийский конгресс «Инновационные технологии в эндокринологии». – 2014.- С. 408.
9. E.A. Sechko, L.I. Zilberman, O.N. Ivanova, T.L. Kuraeva, V.A. Peterkova. Clinical features of MODY-HNF1a in children and adolescents with obesity// EASD. – 2014. - P 362.
10. L. Zilberman, E. Sechko, V. Peterkova, T. Kuraeva, O. Ivanova. Clinical features of MODY2 in children and adolescents in Russian Federation// EASD. – 2014. - P 371.
11. Сечко Е.А., Кураева Т.Л., Зильберман Л.И. Функция β -клеток у детей и подростков с MODY2 и MODY3 в зависимости от возраста// Сборник тезисов. VII всероссийского конгресса эндокринологов «Достижения персонализированной медицины сегодня – результаты практического здравоохранения завтра». - 2016.