

DOI 10.52727/2078-256X-2021-17-4-11-19

Варианты генов *HNF4A* и *HNF1A* у пациентов с нарушениями метаболизма глюкозы и дислипидемией**Д.Е. Иваношук^{1, 2}, А.К. Овсянникова², С.В. Михайлова¹, Е.В. Шахтшнейдер^{1, 2},
Э.С. Валеев¹, О.Д. Рымар², П.С. Орлов^{1, 2}, М.И. Воевода¹**¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»

630090, Россия, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 10

² Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины –
филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения Российской академии наук»

630089, Россия, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

Диабет зрелого типа у молодых (MODY) — аутосомно-доминантно наследуемая форма моногенного диабета, диагностируемого в возрасте преимущественно до 35 лет и развивающегося вследствие дисфункции β-клеток поджелудочной железы. Мутации в генах *HNF1A* и *HNF4A* ассоциированы с развитием сахарного диабета подтипов *HNF1A*-MODY и *HNF4A*-MODY соответственно. Для этих двух форм MODY характерно не только нарушение метаболизма глюкозы, но и развитие дислипидемии, обусловленное функцией генов транскрипционных факторов *HNF1A* и *HNF4A*. Целью данного исследования был генетический анализ ДНК двух пациенток молодого возраста с фенотипом MODY, дислипидемией и отягощенным семейным анамнезом. **Материал и методы.** Пробандам выполнено таргетное секвенирование. Таргетная панель включала кодирующие участки и прилегающие сайты сплайсинга MODY-ассоциированных генов: *HNF4A*, *GCK*, *HNF1A*, *PDX1*, *HNF1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *KCNJ11*, *ABCC8* и *APPL1*. **Результаты.** Гетерозиготная однонуклеотидная делеция NM_000457.4:c.153del(3'rule) обнаружена у пробанда P1 в гене *HNF4A*. У пробанда P2 выявлен вариант однонуклеотидной делеции NM_000545.8:c.335del(3'rule) в гене *HNF1A* в гетерозиготном состоянии. Оба варианта локализуются в кодирующих частях гена, приводят к сдвигу рамки считывания и ранее в литературе и базах данных не описаны. **Заключение.** Принимая во внимание описанные фенотипические особенности пробандов, мы предполагаем, что варианты NM_000545.8:c.335del(3'rule) в гене *HNF1A* и NM_000457.4:c.153del(3'rule) гена *HNF4A* ассоциированы с развитием MODY у этих лиц. При верификации у пациентов типа диабета MODY-*HNF1A* и MODY-*HNF4A* необходимо контролировать показатели липидного профиля (содержание общего холестерина, холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности, триглицеридов) и назначать соответствующую медикаментозную терапию. Работа выполнена при поддержке программы «Совершенствование методов диагностики, профилактики и лечения больных распространенными заболеваниями эндокринной системы в Сибири» (FWNR-2021-0042, 121090800101-7).

Ключевые слова: MODY-диабет, дислипидемия, мутации, диабет взрослого типа у молодых, ген *HNF4A*, ген *HNF1A*, секвенирование нового поколения.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Иваношук Д.Е., e-mail: dinara2084@mail.ru

Для цитирования: Иваношук Д.Е., Овсянникова А.К., Михайлова С.В., Шахтшнейдер Е.В., Валеев Э.С., Рымар О.Д., Орлов П.С., Воевода М.И. Варианты генов *HNF4A* и *HNF1A* у пациентов с нарушениями метаболизма глюкозы и дислипидемией. *Атеросклероз*, 2021; 17 (4): 11–19. doi: 10.52727/2078-256X-2021-17-4-11-19

Variants of the *HNF4A* and *HNF1A* genes in patients with impaired glucose metabolism and dyslipidemia

D.E. Ivanoshchuk^{1, 2}, A.K. Ovsyannikova², S.V. Mikhailova¹, E.V. Shakhtshneider^{1, 2},
E.S. Valeev¹, O.D. Rymar², P.S. Orlov^{1, 2}, M.I. Voevoda¹

¹ Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Center
Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 10

² Research Institute of Internal and Preventive Medicine, Branch of the Institute
of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
630089, Russia, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1

Maturity onset diabetes of the young is a dominantly inherited form of monogenic diabetes, diagnosed mainly before the age of 35 years. Mutations in the *HNF1A* and *HNF4A* genes are associated with diabetes mellitus of the HNF1A-MODY and HNF4A-MODY subtypes, respectively. These two forms of MODY are characterized by dyslipidemia in addition to impaired glucose metabolism due to the altered function HNF1A and HNF4A proteins. **The aim** of this study was a genetic analysis of young patients with the MODY phenotype and dyslipidemia with a burdened family history. **Material and methods.** The probands underwent targeted DNA sequencing using the Illumina MiSeq NGS System. The target panel included the coding regions and splicing sites of MODY-associated genes: *HNF4A*, *GCK*, *HNF1A*, *PDX1*, *HNF1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *KCNJ11*, *ABCC8*, and *APPL1*. **Results.** A heterozygous single nucleotide deletion NM_000457.4: c.153del (3'rule) was found in proband P1 in the *HNF4A* gene. In proband P2, single nucleotide deletion NM_000545.8: c.335del (3'rule) in the *HNF1A* gene was detected in a heterozygous state. Both variants are located in the coding parts of the genes, led to a shift in the reading frame and have not been described in the literature and databases earlier. **Conclusions.** Taking into account the phenotypic features of probands, we assume that the variants NM_000545.8: c.335del (rule 3) in the *HNF1A* gene and NM_000457.4: c.153del (rule 3) of the *HNF4A* gene are associated with different MODY subtypes in these individuals. After verification of MODY-HNF1A and MODY-HNF4A diagnosis, it is necessary to monitor the lipid profile parameters (total cholesterol, low and high density lipoprotein cholesterol, triglycerides) and prescribe appropriate drug therapy. The work was done as part of the topic «Improvement of methods of diagnostics, prevention and treatment of patients with common diseases of the endocrine system in Siberia» (FWNR-2021-0042, 121090800101-7).

Keywords: MODY diabetes, dyslipidemia, mutations, maturity onset diabetes of the young, *HNF4A* gene, *HNF1A* gene, next generation sequencing.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Correspondence: Ivanoshchuk D.E., e-mail: dinara2084@mail.ru

Citation: Ivanoshchuk D.E., Ovsyannikova A.K., Mikhailova S.V., Shakhtshneider E.V., Valeev E.S., Rymar O.D., Orlov P.S., Voevoda M.I. Variants of the *HNF4A* and *HNF1A* genes in patients with impaired glucose metabolism and dyslipidemia. *Atherosclerosis*, 2021; 17 (4): 11–19. [In Russian]. doi: 10.52727/2078-256X-2021-17-4-11-19

Введение

Сахарный диабет (СД) с аутосомно-доминантным типом наследования, в том числе диабет взрослого типа у молодых (MODY), представляет собой гетерогенную группу заболеваний, вызываемых мутациями в генах, которые приводят к дисфункции β-клеток поджелудочной железы [1]. Известно 14 типов MODY, которые классифицируются по мутациям в генах, определяющих их клинический фенотип: *HNF4A*, *GCK*, *HNF1A*, *PDX1*, *HNF1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *KCNJ11*, *ABCC8* и *APPL1* [2]. Несмотря на существенную вари-

бельность частоты отдельных форм заболевания в различных популяциях, у пациентов преобладают мутации в генах ядерных факторов гепатоцитов 1α (*HNF1A*) и 4α (*HNF4A*), а также в гене глюкокиназы (*GCK*), определяющие развитие подтипов HNF1A-MODY, HNF4A-MODY и GCK-MODY соответственно [3]. Клинические фенотипы HNF4A-MODY и HNF1A-MODY имеют схожие проявления (таблица), включающие дисфункцию β-клеток поджелудочной железы, гипергликемию и микрососудистые осложнения, и характеризуются чувствительностью к препаратам сульфонилмочевины [4]. СД, обусловленный мутациями в гене *GCK*, вызы-

Клинические особенности диабета HNF1A-MODY и HNF4A-MODY

Clinical characteristics of HNF1A-MODY and HNF4A-MODY diabetes

Тип MODY	Клинические особенности
HNF4A-MODY	<ul style="list-style-type: none"> • Диабет выявляется в молодом возрасте до 25–30 лет. Пик заболеваемости приходится на подростковый период (9–13 лет) • Клинические проявления гипергликемии от бессимптомного течения до острой декомпенсации углеводного обмена • Уровень глюкозы натощак повышен умеренно, а через 2 часа после углеводной нагрузки намного превышает норму • Пациенты могут иметь полный спектр сосудистых осложнений сахарного диабета, особенно ретино- и нефропатии • Характерно развитие дислипидемии • Чувствителен к препаратам сульфонилмочевины
HNF1A-MODY	<ul style="list-style-type: none"> • Диагностика диабета в постпубертатный период, медиана возраста на момент диагностирования гипергликемии составляет от 21 до 26 лет • Отягощенный семейный анамнез по СД в нескольких поколениях и по сердечно-сосудистым заболеваниям • Нормогликемия натощак и высокий прирост гликемии при пероральном глюкозотолерантном тесте, глюкозурия • Характерно прогрессирующее течение • Риск развития микрососудистых осложнений у пациентов с HNF1A-MODY такой же, как и при других типах СД, а риск развития макрососудистых осложнений выше, чем в популяции • Характерно развитие дислипидемии • Высокая чувствительность к препаратам сульфонилмочевины

вает легкую гипергликемию, которая часто не требует лечения [5].

В данной работе мы описываем два клинических случая в двух неродственных семьях, ассоциированные с носительством новых мутаций, приводящих к сдвигу рамки считывания в генах *HNF1A* и *HNF4A*.

Клинический случай 1. Под медицинским наблюдением находилась пациентка Р1, женского пола, возраст 21 год (рис. 1). При первичном обследовании в сентябре 2020 г. предъявляла жалобы на сухость во рту, частые мочеиспускания, утомляемость. Из истории заболевания: в феврале 2014 г. при рутинном обследовании выявлена гипергликемия 16,1 ммоль/л, назначена базис-болюсная инсулинотерапия (гларгин 26 ЕД в сутки, лизпро 24 ЕД в сутки). В 2020 г. госпитализирована из-за частых гипогликемий. Пациентке отменен лизпро и назначен эмпаглифлозин 25 мг в сутки. Данные лабораторных исследований до 2020 г. у пациентки отсутствуют. Из анамнеза: рождена от первой беременности на 38–39-й неделе гестации, масса тела при рождении составляла 3500 г. Развивалась соответственно возрасту, период детства без особенностей. Сопутствующие заболевания: описторхоз, хронический пиелонефрит, жировой гепатоз, дислипидемия. Среди родственников пробанда по линии матери СД диагностирован в трех поколениях у пяти человек (у самой пациентки, у ее матери, у родной сестры

матери пробанда, а также у сестры бабушки и у бабушки по линии матери). Все лица с СД, кроме матери пробанда (ей назначена базис-болюсная терапия), принимали таблетированные сахароснижающие препараты, дебют заболевания приходился на возраст около 40 лет, все родственники с гипергликемией имели нормальный вес. При осмотре: рост 163 см, масса тела 65 кг, индекс массы тела 24,1 кг/м², пульс ритмичный (68 ударов в минуту), артериальное давление (АД) 120/84 мм рт. ст., признаков патологии внутренних органов нет. В биохимическом анализе крови отмечалась дислипидемия: повышение содержания общего холестерина (ОХС) (5,9 ммоль/л), ХС липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) (4,5 ммоль/л), триглицеридов (1,9 ммоль/л). Другие показатели оставались в пределах нормы. Уровень гликированного гемоглобина (HbA1c) составлял 8,8 %, С-пептида – 0,94 нг/мл. Экскреция альбумина с мочой 20 мг/л. Исследованы антитела к островковым клеткам поджелудочной железы (ICA), к глютаматдекарбоксилазе (GAD), результат отрицательный. Ультразвуковое исследование сердца и брахиоцефальных сосудов не выявило особенностей, в брюшной полости обнаружены диффузные изменения паренхимы печени и поджелудочной железы. Пациентка ранее наблюдалась с диагнозом «СД 2 типа». На фоне инсулинотерапии гларгином 26 ЕД вечером и эмпаглифлозином содержание глюкозы в крови составля-

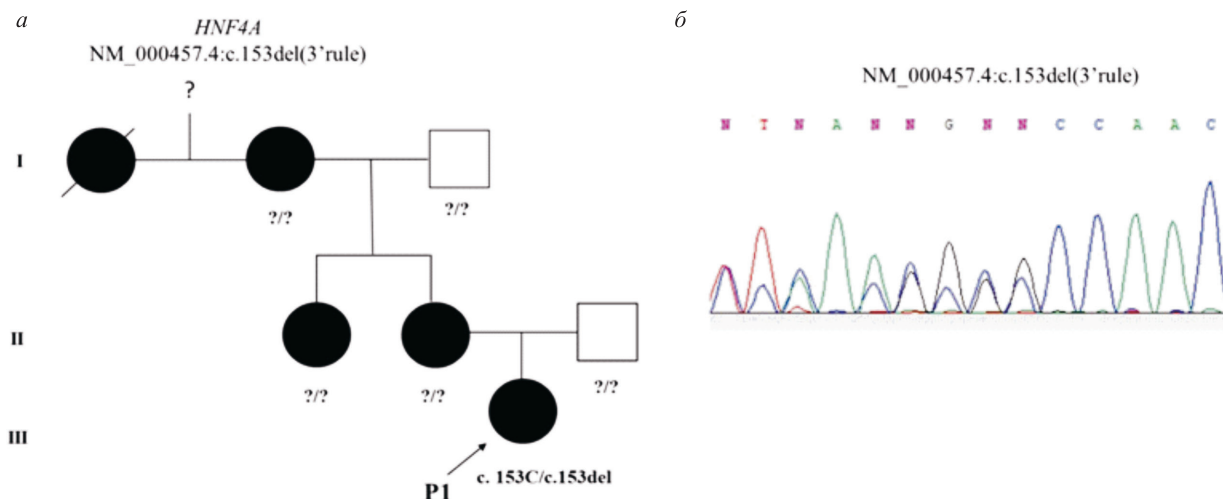


Рис. 1. Семейная история и вариант однонуклеотидной делеции С гена *HNF4A* в семье с наследственной формой (*a*: черным выделены члены семьи с СД; c.153C/c.153del – носитель однонуклеотидной делеции С в гетерозиготном варианте; ?/? – лица, генотипирование которых не проводилось). Электрофореграмма последовательности с мутантным вариантом NM_000457.4:c.153del(3'rule) в гене *HNF4A* (*б*)

Fig. 1. *a* – Family history and variant of a single nucleotide deletion of C nucleotide in the *HNF4A* gene in proband and her relatives with a hereditary form of diabetes mellitus. Family members with diabetes mellitus are highlighted in black. c.153C/c.153del – heterozygous carrier of a single nucleotide deletion C; ?/? – persons who have not been tested. *б* – Electrophoregram of DNA sequence with the single nucleotide deletion NM_000457.4:c.153del(3'rule) in the *HNF4A* gene

ло: 8:00 – 7,2 ммоль/л, 11:00 – 12,7 ммоль/л, 13:00 – 9,4 ммоль/л, 17:00 – 11,3 ммоль/л, 20:00 – 8,6 ммоль/л. В связи с недостижением целевых показателей углеводного обмена пациентке дополнительно назначен гликлазид МВ 60 мг в сутки, ситаглиптин 100 мг в сутки с положительным эффектом: уровень гликемии натощак достигал 6,5 ммоль/л, через 2 часа после еды – до 9 ммоль/л, HbA1c через 3 месяца – 8 %. После верификации диагноза пациентке назначен розувастатин 10 мг в сутки, концентрация ОХС снизилась до 4,7 ммоль/л через 3 месяца, ХС ЛПНП – 3,3 ммоль/л.

Клинический случай 2. Пациентка Р2, женского пола, возраст 37 лет (рис. 2). При первичном обследовании в мае 2020 г. предъявляла жалобы на сухость во рту, жажду. Из истории заболевания пациента: в 2014 г. при рутинном обследовании выявлена гипергликемия 7,1 ммоль/л, соблюдала диету. В январе 2020 г. госпитализирована по поводу острого аппендицита, выполнена аппендэктомия. После госпитализации отмечала постпрандиальную гипергликемию до 11 ммоль/л. Из анамнеза: рождена от первой беременности на 38–39-й неделе гестации, масса тела при рождении составляла 3200 г. Развивалась соответственно возрасту, период детства без особенностей. Среди родственников пробанда по линии матери СД диагностирован

в трех поколениях у четырех человек (у самой пациентки, у ее матери, у ее родного брата, а также у бабушки по линии матери). Все лица с СД принимали таблетированные сахароснижающие препараты, дебют СД приходился на возраст около 45 лет, все родственники с гипергликемией имели нормальную массу тела. При осмотре: рост 164 см, масса тела 54 кг, индекс массы тела 20 кг/м², пульс ритмичный (64 удара в минуту), АД 118/80 мм рт. ст., признаков патологии внутренних органов нет. В биохимическом анализе крови отмечалась дислипидемия: повышение содержания ОХС (5,1 ммоль/л), ХС ЛПНП (3,4 ммоль/л). Другие показатели оставались в пределах нормы. Уровень HbA1c составлял 7,4 %, С-пептида – 1,1 нг/мл. Экскреция альбумина с мочой 20 мг/л. Исследованы ICA, GAD, результат отрицательный. Ультразвуковое исследование сердца, брахиоцефальных сосудов, брюшной полости не выявило особенностей. Пациентка ранее наблюдалась с диагнозом «СД 2 типа». На фоне диеты содержание глюкозы в крови натощак до 7 ммоль/л, постпрандиальное – до 11 ммоль/л. В связи с недостижением целевых показателей углеводного обмена пациентке назначен дополнительно гликлазид МВ 60 мг в сутки с положительным эффектом: концентрация глюкозы в крови натощак достигала 6,5 ммоль/л, через 2 часа после

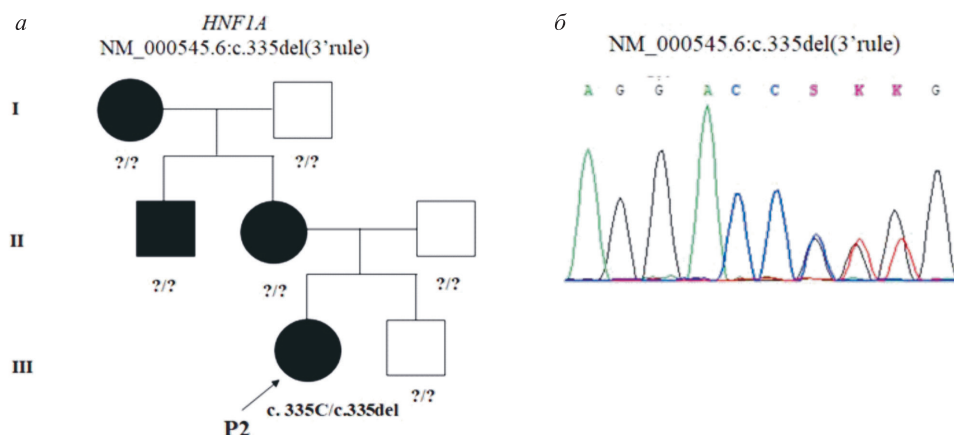


Рис. 2. А. Семейная история и вариант однонуклеотидной делеции С гена *HNF1A* в семье с наследственной формой СД (а: черным выделены члены семьи с СД; c.335C/c.335del – носитель однонуклеотидной делеции С в гетерозиготном варианте; ?/? – лица, генотипирование которых не проводилось). Электрофореграмма последовательности с мутантным вариантом NM_000545.8:c.335del(3'rule) в гене *HNF1A* (б)

Fig. 2. а – Family history and variant of a single nucleotide deletion C nucleotide in the *HNF1A* gene in a proband and her relatives with a hereditary form of diabetes mellitus. Family members with diabetes mellitus are highlighted in black. c.335C/c.335del – heterozygous carrier of a single nucleotide deletion C; ?/? – persons who have not been tested. б – Electrophoregram of DNA sequence with the single nucleotide deletion NM_000545.8:c.335del(3'rule) in the *HNF1A* gene

еды – до 8,5 ммоль/л, HbA1c через 3 месяца – 7 %. После верификации диагноза пациентке назначен розувастатин 10 мг в сутки, уровень ОХС снизился до 4,4 ммоль/л через 3 месяца, ХС ЛПНП – до 2,6 ммоль/л.

Генетический анализ. Учитывая особенности течения заболевания (семейная агрегация СД, нормальная масса тела пациентов и их родственников, сохраненный уровень С-пептида, наличие дислипидемии в молодом возрасте, отсутствие антиостровковых антител), высказано предположение о наличии MODY-диабета у обеих женщин. Обоим пробандам выполнено таргетное секвенирование.

Протокол исследования одобрен этическим комитетом НИИ терапии и профилактической медицины – филиала Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск, Россия), № 7 от 22.06.2008. После получения письменного информированного согласия на обследование и участие в исследовании выполнен забор венозной крови у обоих пробандов с последующим выделением ДНК методом фенол-хлороформной экстракции [6]. Количество и качество ДНК оценивали на микропланшетном спектрофотометре Epoch (BioTek, США). Первый этап подготовки библиотеки включал фрагментацию ДНК с использованием набора КАРА HyperPlus Kit (Roche, Швейцария) и последующую ее амплификацию. Гибридизацию амплифицированной библиотеки проводили с использованием библи-

отеки зондов SeqCap EZ Prime Choice (Roche, Швейцария). Целевые области включали кодирующие области и прилегающие сайты спосинга следующих MODY-ассоциированных генов: *HNF4A*, *GCK*, *HNF1A*, *PDX1*, *HNF1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *KCNJ11*, *ABCC8* и *APPL1*. Набор HyperCap Target Enrichment Kit (Roche, Швейцария) использовали для обогащения целевых фрагментов ДНК. Качество анализируемой ДНК и подготовленных библиотек оценивали с помощью системы капиллярного электрофореза Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies Inc., США).

Приготовленные образцы ДНК секвенировали на платформе Illumina MiSeq (Illumina, США) в центре коллективного пользования «Протеомный анализ» (ФИЦ фундаментальной и трансляционной медицины, Новосибирск, Россия). Автоматизированная обработка и аннотирование полученных данных NGS проводились на платформе NGS Wizard (<https://genomenal.ru/>). Для анализа найденных вариантов использовались существующие данные о клинической значимости аннотированных однонуклеотидных вариантов (ОНВ), база данных мутаций генов человека (HGMD) [7], Лейденская открытая база данных вариаций (<https://www.lovd.nl/>) и литературные данные. Возможные функциональные и значимые эффекты ОНВ оценивались с помощью данных трех инструментов прогнозирования *in silico* (SIFT, PolyPhen2 и MutationTaster) и

данных о частотах этих вариантов в популяции. Варианты, описанные в ClinVar или предсказанные *in silico* как доброкачественные/ вероятные доброкачественные, а также варианты с частотой минорных аллелей выше 0,01 % согласно базам данных были исключены из анализа. Патогенность каждой новой мутации-кандидата оценивалась в соответствии с рекомендациями Американского колледжа медицинской генетики и геномики и Ассоциации молекулярной патологии [8]. Номенклатура выявленных вариантов проводилась согласно рекомендациям Sequence Variant Nomenclature (<http://varnomen.hgvs.org/>).

Гетерозиготная однонуклеотидная делеция NM_000457.4:c.153del(3'rule) обнаружена у пробанда P1 в гене *HNF4A*. У пробанда P2 выявлен вариант однонуклеотидной делеции NM_000545.8:c.335del(3'rule) в гене *HNF1A* в гетерозиготном состоянии. Оба варианта были локализованы в кодирующих частях гена, приводили к сдвигу рамки считывания и ранее в литературе и базах данных не описаны. Мы не обнаружили у пробандов других патологически значимых вариантов в генах *GCK*, *PDX1*, *HNF1B*, *NEUROD1*, *KLF11*, *CEL*, *PAX4*, *INS*, *BLK*, *KCNJ11*, *ABCC8* и *APPL1*.

Найденные делеции подтверждены секвенированием по Сэнгеру фрагмента ДНК, содержащего экзон 2 гена *HNF4A* и экзон 2 гена *HNF1A*, с использованием прямого и обратного праймеров: 5'-AGGAAGACGCAGACCCCTCAGAA-3' и 5'-GATGCTCTTCTTGGATTACAAAGTCT-3' для *HNF4A* и 5'-GCTCCATAACTGCTTTCATG CACAG-3' и 5'-GGATGGTGAAGCTTCCAG CCC-3' для *HNF1A*. Дизайн олигонуклеотидов выполнен в программе Primer-Blast (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Секвенирующая реакция проводилась на приборе ABI 3500 (Thermo Fisher Scientific, США) с помощью набора BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Последовательности анализировали с использованием программного обеспечения Chromas (<http://technelysium.com.au/wp/>) и Vector NTI® Advance (Thermo Fisher Scientific, США); фрагменты генов *HNF4A* (NC_000020) и *HNF1A* (NC_000012) служили эталонной последовательностью для выравнивания.

Обсуждение

Представленные случаи демонстрируют некоторые особенности течения диабета, связанные с мутациями NM_000457.4:c.153del(3'rule) гена *HNF4A* и NM_000545.8:c.335del(3'rule) гена *HNF1A*. У носителей мутаций в генах *HNF1A* и *HNF4A* тип СД нужно дифференцировать с СД

1 и 2 типов и другими моногенными формами СД [9], поэтому таким пациентам рекомендовано проведение молекулярно-генетического исследования с целью определения типа MODY. Верификация MODY позволяет выбрать правильную тактику лечения гипергликемии, обеспечить адекватное ведение беременности, дает возможность выполнить медико-генетическое консультирование в семьях пациентов [5].

Белковые продукты генов *HNF1A* и *HNF4A* принадлежат к группе транскрипционных факторов, которые регулируют развитие органов, метаболизм глюкозы, аминокислот и липидов [10]. Оба гена имеют схожие паттерны экспрессии и могут активировать транскрипцию друг друга за счет синергического действия [11, 12].

В β -клетках поджелудочной железы *HNF4A* контролирует экспрессию генов, участвующих в глюкозо-стимулированной секреции инсулина, транспорте глюкозы и в метаболических процессах митохондрий [10, 13]. В отличие от *HNF4A*, который контролирует только функцию β -клеток, *HNF1A* регулирует также их рост, влияя на экспрессию генов, кодирующих переносчик глюкозы 2, пируваткиназу, коллектрин, активатор фактора роста гепатоцитов и ядерный фактор гепатоцитов 4 α (HNF4 α) [14]. В гепатоцитах HNF4 α необходим для конститутивной экспрессии нескольких ключевых генов печени, участвующих в транспорте и метаболизме липидов [15]. В экспериментах на модельных животных показано, что отсутствие печеночного HNF4 α приводит к тяжелому нарушению метаболизма липидов [13].

Ген *HNF4A* состоит из 10 экзонов, кодирующих гомеодомен-содержащий белок из 465 аминокислотных (ак) остатков. В своем составе он имеет два трансактивационных домена: AF-1 (ак с 1 по 24), функционирующий как конститутивный автономный активатор транскрипции, и AF-2 (ак 128–366), нарушение целостности которого влечет нарушение активности белка [16]. Последовательность ак 360–366 в HNF4 α содержит мотив, который является высококонсервативным среди транскрипционно активных ядерных рецепторов, и важен для активности AF-2, но не является необходимым для димеризации и связывания HNF4 α с ДНК [16]. Делеция участка, включающего ак 361–465 HNF4 α , также не влияет на эффективность связывания этого белка с ДНК [16].

У человека носительство инактивирующих мутаций в гене *HNF4A* ассоциировано с дефектной секрецией специфичных для печени белков, таких как аполипопротеины и липопротеины, а некоторые распространенные варианты этого гена ассоциированы с высоким

уровнем липидов в сыворотке крови и метаболическим синдромом [17]. В нашем исследовании обнаруженная делеционная мутация NM_000545.8:c.335del(3'rule) локализуется во втором экзоне гена *HNF4A* (изменяется последовательность ак с 52Asn по NM_000545.8), которая, по-видимому, приводит к образованию укороченной формы белка с отсутствующими функционально значимыми участками и нарушенной активностью.

HNF1 α преимущественно экспрессируется в гепатоцитах, регулируя в них экспрессию нескольких специфичных генов и играя важную роль в поддержании нормальной функции печени [18, 19]. HNF1 α ингибирует анаболизм липидов, способствует липолизу и активации пути передачи сигналов инсулина [20]. Метаболизм липидов отличается у носителей мутаций в гене *HNF1A* и пациентов с СД типа 2, у первых также повышен синтез желчных кислот [21, 22]. Транскрипционно *HNF1A* регулирует гены липидного обмена [23]. Малые некодирующие молекулы РНК (микроРНК) способны изменять экспрессию генов на посттрансляционном уровне и играют важную роль в развитии поджелудочной железы и печени. Одна из них, miR-122, представляет собой печеночно-специфичную микроРНК, которая регулирует дифференцировку и пролиферацию гепатоцитов, метаболизм липидов [24]. Достоверное снижение экспрессии miR-122 зафиксировано у пациентов с HNF1A-MODY по сравнению с лицами с СД 1 и 2 типов и здоровым контролем [25]. Потеря функции HNF1 α приводит к увеличению пролиферации гепатоцитов и аномальному метаболизму ХС в печени за счет подавления экспрессии miR-122 [24].

У человека полипептид HNF1 α состоит из 631 ак остатков. Первые 32 ак в полипептидной цепи образуют N-концевой димеризационный домен, далее следуют область кислых аминокислот (ак 71–80), гомеодомен ROU (ак 98–280) [26] и C-концевой трансактивационный домен (ак 282–631) [26]. Высококонсервативный домен ROU разделяется на два субдомена: специфический ROUs (ак 100–184) и ROUh (ак 198–281) [26]. ROUs способствует поддержанию стабильности белка, в то время как ROUh выступает в качестве инициатора взаимодействия между белком и ДНК [26].

Выявленный вариант у пробанда P2 NM_000545.8:c.335del(3'rule) в гене *HNF1A* приводит к удалению одного из трех цитозинов, нарушая последовательность ак начиная с 112Pro (NM_000545.8) домена ROUs, что влечет за собой образование белка с измененной структурой

и появлением преждевременного стоп-кодона. Вероятнее всего, аберрантная форма белка нефункциональна, и ее синтез приводит к нарушению метаболизма ХС и развитию СД.

Заключение

Данные клинические случаи демонстрируют течение СД у двух пациенток молодого возраста с мутациями в генах *HNF4A* и *HNF1A*. Мутации NM_000457.4:c.153del(3'rule) гена *HNF4A* и NM_000545.8:c.335del(3'rule) гена *HNF1A* описаны впервые. При верификации у пациентов типов диабета MODY-HNF1A и MODY-HNF4A необходимо контролировать показатели липидного профиля (содержание ОХС, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП, триглицеридов) и назначать соответствующую медикаментозную терапию.

Литература

1. Lachanse C.H. Practical aspects of monogenic diabetes: a clinical point of view. *Can. J. Diabetes*, 2016; 40: 368–375. doi: 10.1016/j.cjcd.2015.11.004
2. Firdous P., Nissar K., Ali S., Ganai B.A., Shabir U., Hassan T., Masoodi S.R. Genetic testing of maturity-onset diabetes of the young current status and future perspectives. *Front. Endocrinol. (Lausanne)*, 2018; 9: 253. doi: 10.3389/fendo.2018.00253
3. Anik A., Zath G., Abaci A., Böber E. Maturity-onset diabetes of the young (MODY): an update. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2015; 28: 251–263. doi: 10.1515/jpem-2014-0384
4. Pearson E.R., Pruhova S., Tack C.J., Johansen A., Castleden H.A., Lumb P.J., Wierzbicki A.S., Clark P.M., Lebl J., Pedersen O. Molecular genetics and phenotypic characteristics of MODY caused by hepatocyte nuclear factor 4 α mutations in a large European collection. *Diabetologia*, 2005; 48: 878–885. doi: 10.1007/s00125-005-1738-y
5. Voevoda M.I., Ivanova A.A., Shakhthshneider E.V., Ovsyannikova A.K., Mikhailova S.V., Astrakova K.S., Voevoda S.M., Rymar O.D. Molecular genetics of maturity-onset diabetes of the young. *Terapevticheskiy arkhiv*, 2016; 88 (4): 117–124. (in Russ.). doi: 10.17116/terarkh2016884117-124. Воевода М.И., Иванова А.А., Шахтшнейдер Е.В., Овсянникова А.К., Михайлова С.В., Астракова К.С., Воевода С.М., Рымар О.Д. Молекулярная генетика MODY. *Терапевтический архив*, 2016; 88 (4): 117–124. doi: 10.17116/terarkh2016884117-124
6. Sambrook J., Russell D.W. Purification of nucleic acids by extraction with phenol: Chloroform. *Cold Spring Harb. Protoc.*, 2006; 2006: 4455. doi:10.1101/pdb.prot4455
7. Stenson P.D., Ball E.V., Mort M., Phillips A.D., Shiel J.A., Thomas N.S.T., Abeyasinghe S., Krawczak M., Cooper D.N. Human Gene Mutation Database (HGMD): 2003 update. *Hum. Mutat.*, 2003; 21: 577–581. doi: 10.1002/humu.10212
8. Richards S., Aziz N., Bale S., Bick D., Das S., Gastier-Foster J., Grody W.W., Hegde M., Lyon E., Spec-

- tor E., Voelkerding K., Rehm H.L., ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet. Med.*, 2015; 17 (5): 405–424. doi: 10.1038/gim.2015.30
9. Thanabalasingham G., Pal A., Selwood M.P., Dudley C., Fisher K., Bingley P.J., Ellard S., Farmer A.J., McCarthy M.I., Owen K.R. Systematic assessment of etiology in adults with a clinical diagnosis of young-onset type 2 diabetes is a successful strategy for identifying maturity-onset diabetes of the young. *Diabetes Care*, 2012; 35: 1206–1212. doi: 10.2337/dc11-1243
10. Odom D.T., Zizlsperger N., Gordon D.B., Bell G.W., Rinaldi N.J., Murray H.L., Volkert T.L., Schreiber J., Rolfe P.A., Gifford D.K., Fraenkel E., Bell G.I., Young R.A. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science*, 2004; 303 (5662): 1378–1381. doi: 10.1126/science.1089769
11. Hansen S.K., Parrizas M., Jensen M.L., Pruhova S., Ek J., Boj S.F., Johansen A., Maestro M.A., Rivera F., Eiberg H. Genetic evidence that HNF-1 α -dependent transcriptional control of HNF-4 α is essential for human pancreatic beta cell function. *J. Clin. Invest.*, 2002; 110: 827–833. doi: 10.1172/JCI15085
12. Kythar M.P., Bonner C., Bacon S., Kilbride S.M., Schmid J., Graf R., Prehn J.H., Byrne M.M. Effects of hepatocyte nuclear factor-1A and -4A on pancreatic stone protein/regenerating protein and C-reactive protein gene expression: implications for maturity-onset diabetes of the young. *J. Transl. Med.*, 2013; 11: 156. doi: 10.1186/1479-5876-11-156
13. Yin L., Ma H., Ge X., Edwards P.A., Zhang Y. Hepatic hepatocyte nuclear factor 4 α is essential for maintaining triglyceride and cholesterol homeostasis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2011; 31 (2): 328–336. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.217828
14. Yamagata K. Roles of HNF1 α and HNF4 α in pancreatic β -cells: lessons from a monogenic form of diabetes (MODY). *Vitam. Horm.*, 2014; 95: 407–423. doi: 10.1016/B978-0-12-800174-5.00016-8
15. Hayhurst G.P., Lee Y.H., Lambert G., Ward J.M., Gonzalez F.J. Hepatocyte nuclear factor 4 α (nuclear receptor 2A1) is essential for maintenance of hepatic gene expression and lipid homeostasis. *Mol. Cell. Biol.*, 2001; 21 (4): 1393–1403. doi: 10.1128/MCB.21.4.1393-1403.2001
16. Hadzopoulou-Cladaras M., Kistanova E., Evagelopoulou C., Zeng S., Cladaras C., Ladias J.A. Functional domains of the nuclear receptor hepatocyte nuclear factor 4. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272 (1): 539–550. doi: 10.1074/jbc.272.1.539
17. Weissglas-Volkov D., Huertas-Vazquez A., Suvio-lahti E., Lee J., Plaisier C., Canizales-Quinteros S., Tusie-Luna T., Aguilar-Salinas C., Taskinen M.R., Pajukanta P. Common hepatic nuclear factor-4 α variants are associated with high serum lipid levels and the metabolic syndrome. *Diabetes*, 2006; 55 (7): 1970–1977. doi: 10.2337/db06-0035
18. Pelletier L., Rebouissou S., Vignjevic D., Bioulac-Sage P., Zucman-Rossi J. HNF1 α inhibition triggers epithelial-mesenchymal transition in human liver cancer cell lines. *BMC Cancer*. 2011; 5: 11: 427. doi: 10.1186/1471-2407-11-427
19. Schrem H., Klempnauer J., Borlak J. Liver-enriched transcription factors in liver function and development. Part I: the hepatocyte nuclear factor network and liver-specific gene expression. *Pharmacol. Rev.*, 2002; 54 (1): 129–158. doi: 10.1124/pr.54.1.129
20. Tan J., Xu J., Wei G., Zhang L., Sun L., Wang G., Li F., Jiang F. HNF1 α controls liver lipid metabolism and insulin resistance via negatively regulating the SOCS-3-STAT3 signaling pathway. *J. Diabetes Res.*, 2019; 15: 2019: 5483946. doi: 10.1155/2019/5483946
21. St-Jean M., Boudreau F., Carpentier A.C., Hivert M.F. HNF1 α defect influences post-prandial lipid regulation. *PLoS One*, 2017; 12 (5): e0177110. doi: 10.1371/journal.pone.0177110
22. Ekholm E., Nilsson R., Groop L., Pramfalk C. Alterations in bile acid synthesis in carriers of hepatocyte nuclear factor 1 α mutations. *J. Intern. Med.*, 2013; 274 (3): 263–272. doi: 10.1111/joim.12082
23. Liu F., Zhu X., Jiang X., Li S., Lv Y. Transcriptional control by HNF-1: Emerging evidence showing its role in lipid metabolism and lipid metabolism disorders. *Genes Diseases*, 2021. [epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.gendis.2021.06.010
24. Hu M., Huang X., Han X., Ji L. Loss of HNF1 α function contributes to hepatocyte proliferation and abnormal cholesterol metabolism via downregulating miR-122: A novel mechanism of MODY3. *Diabetes Metab. Syndr. Obes.*, 2020; 13: 627–639. doi: 10.2147/DMSO.S236915
25. Huang X., Gong S., Ma Y., Cai X., Zhou L., Luo Y., Li M., Liu W., Zhang S., Zhang X., Ren Q., Zhu Y., Zhou X., Zhang R., Chen L., Gao X., Zhang F., Wang Y., Han X., Ji L. Lower circulating miR-122 level in patients with HNF1A variant-induced diabetes compared with type 2 diabetes. *J. Diabetes Res.*, 2018; 2018: 7842064. doi: 10.1155/2018/7842064
26. Mendel D.B., Hansen L.P., Graves M.K., Conley P.B., Crabtree G.R. HNF-1 α and HNF-1 β (vHNF-1) share dimerization and homeo domains, but not activation domains, and form heterodimers *in vitro*. *Genes Dev.*, 1991; 5 (6): 1042–1056. doi: 10.1101/gad.5.6.1042

Сведения об авторах:

Динара Евгеньевна Иваношук, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, ФИЦ ИЦиГ СО РАН; научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, ORCID: 0000-0002-0403-545X, e-mail: dinara2084@mail.ru

Алла Константиновна Овсянникова, д-р мед. наук, старший научный сотрудник лаборатории клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, ORCID: 0000-0002-9669-745X, e-mail: aknikolaeva@bk.ru

Светлана Васильевна Михайлова, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, ORCID: 0000-0002-0897-5473, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru

Елена Владимировна Шахтшнейдер, канд. мед. наук, руководитель сектора изучения моногенных форм распространенных заболеваний человека, ИЦиГ СО РАН; зам. руководителя филиала по научной работе, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, ORCID: 0000-0001-6108-1025, e-mail: 2117409@mail.ru

Эмиль Салаватович Валеев, студент, сектор геномных механизмов онтогенеза, ORCID: 0000-0003-3480-3963, e-mail: emil@bionet.nsc.ru

Оксана Дмитриевна Рymar, д-р мед. наук, зав. лабораторией клинко-популяционных и профилактических исследований терапевтических и эндокринных заболеваний, ORCID: 0000-0003-4095-0169, e-mail: orymar23@gmail.com

Павел Сергеевич Орлов, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной генетики человека, ИЦиГ СО РАН; научный сотрудник лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний, НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН, ORCID: 0000-0001-9371-2178, e-mail: orlovpavel86@gmail.com

Михаил Иванович Воевода, д-р мед. наук, проф., академик РАН, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: mvovoda@ya.ru

Information about the authors:

Dinara E. Ivanoshchuk, junior researcher in the laboratory of human molecular genetics, Institute of Cytology and Genetics, SB RAS; researcher in the laboratory of molecular genetic investigations of therapeutic diseases, RIIPM – Branch ICG SB RAS, ORCID: 0000-0002-0403-545X, e-mail: dinara2084@mail.ru

Alla K. Ovsyannikova, PhD, MD, a senior researcher in the laboratory of clinical and populational preventive research of therapeutic and endocrine diseases, ORCID: 0000-0002-9669-745X, e-mail: aknikolaeva@bk.ru

Svetlana V. Mikhailova, PhD, head of the laboratory of human molecular genetics, ORCID: 0000-0002-0897-5473, e-mail: mikhail@bionet.nsc.ru

Elena V. Shakhtshneider, PhD, MD, head of the laboratory monogenic form of common diseases, ICG SB RAS; leader researcher in the laboratory of molecular genetic investigations of therapeutic diseases, RIIPM – Branch ICG SB RAS, ORCID: 0000-0001-6108-1025, e-mail: 2117409@mail.ru, shakhtshneyderev@bionet.nsc.ru

Emil S. Valeev, student, ORCID: 0000-0003-3480-3963, e-mail: @bionet.nsc.ru

Oksana D. Rymar, PhD, MD, head of the laboratory of clinical and population preventive research of therapeutic and endocrine diseases, ORCID: 0000-0003-4095-0169, e-mail: orymar23@gmail.com

Pavel S. Orlov, junior researcher in the laboratory of human molecular genetics, ICG SB RAS; researcher in the laboratory of molecular genetic investigations of therapeutic diseases, RIIPM – Branch ICG SB RAS, ORCID: 0000-0001-9371-2178, e-mail: orlovpavel86@gmail.com

Mikhail I. Voevoda, a member of the Russian Academy of Sciences, PhD, MD, ScD, Professor, head of the department of human molecular genetics, ICG SB RAS, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: mvovoda@ya.ru

Статья поступила 30.11.2021

Принята к печати 09.12.2021

Received 30.11.2021

Accepted 09.12.2021

