

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МОНОГЕННОГО САХАРНОГО ДИАБЕТА, ОБУСЛОВЛЕННОГО МУТАЦИЯМИ ГЕНА *INS*



© Ю.В. Тихонович^{1,2*}, Е.Е. Петряйкина^{1,3}, А.В. Тимофеев^{1,3}, Н.А. Зубкова⁴, А.А. Колодкина⁴, Е.Л. Соркина⁴, Е.В. Васильев⁴, В.М. Петров⁴, Е.А. Андрианова⁴, Л.И. Зильберман⁴, Г.Н. Светлова⁴, А.Л. Калинин⁴, П.М. Рубцов⁵, С.Л. Киселев⁶, А.В. Панова^{4,6}, Е.В. Шрёдер^{1,4}, Т.С. Краснова⁶, Б.П. Кулиева⁴, И.В. Гаряева¹, И.Г. Рыбкина¹, О.А. Малиевский⁷, А.Н. Тюльпаков^{3,8}

¹Морозовская детская городская клиническая больница, Москва

²Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва

³Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

⁴Национальный исследовательский медицинский центр эндокринологии, Москва

⁵Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта, Москва

⁶Институт общей генетики имени Н.И. Вавилова РАН, Москва

⁷Башкирский государственный медицинский университет, Уфа

⁸Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова, Москва

АКТУАЛЬНОСТЬ. Известно более 50 мутаций гена инсулина (*INS*), влияющих на различные этапы биосинтеза инсулина. В отечественной литературе имеются единичные описания пациентов с сахарным диабетом (СД), ассоциированным с гетерозиготными мутациями в кодирующем регионе гена *INS*. Мы представляем группу пациентов с различными клиническими формами СД, обусловленного мутациями как в кодирующем, так и в некодирующем регионах гена *INS*. Пациенты с мутацией в интроне гена *INS* описаны нами в отечественной литературе впервые

ЦЕЛЬ. Оценить распространенность мутаций *INS* у детей с неонатальным СД (НСД), у детей с неиммунным СД, манифестировавшим в возрасте 7–12 мес жизни, и у детей старше 1 года с фенотипом MODY; проанализировать особенности течения СД в перечисленных группах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. В исследование были включены 762 пациента в возрасте от 1 мес до 18 лет. Из них 60 пациентов с НСД, 52 пациента с манифестацией СД от 7 до 12 мес жизни включительно и отсутствием основных аутоиммунных маркеров СД 1 типа, 650 пациентов с фенотипом MODY.

Для молекулярно-генетического исследования использована технология высокопроизводительного параллельного секвенирования (NGS). Авторская панель «Сахарный диабет» включала 28 генов. Проведено молекулярно-генетическое обследование родственников пациентов с мутациями гена *INS*.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Идентифицировано 13 гетерозиготных мутаций у 16 пробандов и 9 родственников. Большинство мутаций было выявлено среди пациентов с перманентным НСД (18,75%) и с дебютом СД от 7 до 12 мес жизни (9,6%). В группе с фенотипом MODY мутации в гене *INS* были выявлены в 2 случаях (0,3%). У пациентов с транзиторным НСД мутации в гене *INS* выявлены не были. Анализ клинических данных у пациентов с перманентным НСД и дебютом СД от 7 до 12 мес жизни не показал существенных различий в течении заболевания. Отдельно представлена клиническая характеристика случаев MODY10 и СД, обусловленного мутацией в интроне гена *INS*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Проанализирован вклад мутаций гена *INS* в структуру НСД, MODY и СД с дебютом от 7 до 12 мес жизни на большой группе пациентов. Впервые в России представлена клиническая характеристика пациентов с СД, обусловленным мутацией в интроне гена *INS*.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: неонатальный сахарный диабет; моногенный сахарный диабет; MODY10; ген *INS*

CLINICAL, HORMONAL AND MOLECULAR-GENETIC CHARACTERISTICS OF MONOGENIC DIABETES MELLITUS ASSOCIATED WITH THE MUTATIONS IN THE *INS* GENE

© Yulia V. Tikhonovich^{1,2*}, Elena E. Petryaykina^{1,3}, Alexei V. Timofeev^{1,3}, Natalia A. Zubkova⁴, Anna A. Kolodkina⁴, Ekaterina L. Sorkina⁴, Evgeny V. Vasiliev⁴, Vasily M. Petrov⁴, Ekaterina A. Andrianova⁴, Lubov I. Zilberman⁴, Galina N. Svetlova⁴, Alexey L. Kalinin⁴, Petr M. Rubtsov⁵, Sergey L. Kiselev⁶, Alexandra V. Panova, Ekaterina V. Shreder^{1,4}, Tatiana S. Krasnova⁶, Balkiz P. Kulieva⁴, Irina V. Gariaeva¹, Irina G. Rybkina¹, Oleg A. Malievskiy⁷, Anatoliy N. Tyulpakov^{3,8}



¹Morozov Children's Municipal Clinical Hospital, Moscow, Russia

²Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

³Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

⁴Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

⁵Engelhardt Institute of Molecular Biology of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

⁶Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Science, Moscow, Russia

⁷Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

⁸Academician N.P. Bochkov Research Centre of Medical Genetics (RCMG) of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

BACKGROUND: Currently more than 50 mutations of the *INS* gene are known to affect the various stages of insulin biosynthesis in the beta cells of the pancreas. However only individual cases of diabetes mellitus (DM) associated with heterozygous mutations in the coding region of the *INS* gene were reported in Russian Federation. We report a group of patients with a clinical manifestation of DM caused by mutations in both coding and non-coding regions of the *INS* gene. The patients with a mutation in the intron of the *INS* gene are reported for the first time in Russian Federation

MATERIALS AND METHODS: 60 patients with an isolated course of neonatal DM (NDM), 52 patients with a manifestation of DM at the age of 7–12 months and the absence of the main autoimmune markers of type 1 DM, 650 patients with the MODY phenotype were included in the study. NGS technology was used for molecular genetic research. Author's panel of primers (Custom DNA Panel) was used for multiplex PCR and sequencing using Ion Ampliseq™ technology. The author's panel "Diabetes Mellitus" included 28 genes (13 candidate genes of MODY and other genes associated with DM).

RESULTS: 13 heterozygous mutations were identified in 16 probands and 9 relatives. The majority of mutations were detected in patients with PNDM (18.75%) and in patients with an onset of DM at the age of 7–12 months (9.6%). Mutations in the *INS* gene were detected in 2 patients (0.3%) in the group with the MODY phenotype. Mutations in the *INS* gene were not detected in patients with transient NDM (TNDM). Analysis of clinical data in patients with PND and onset of diabetes at the age of 7–12 months did not show significant differences in the course of the disease. The clinical characteristics of the cases of MODY10 and diabetes caused by a mutation in the intron of the *INS* gene are reported in details.

CONCLUSION: The role of *INS* gene mutations in NDM, MODY, and DM with an onset at the age of 7–12 months was analyzed in a large group of patients. The clinical characteristics of DM due to a mutation in the intron of the *INS* gene are reported for the first time in the Russian Federation.

KEYWORDS: neonatal diabetes mellitus; monogenic diabetes mellitus; MODY10; *INS* gene

ОБОСНОВАНИЕ

В последние годы все большее внимание уделяется моногенному сахарному диабету (МГСД), обусловленному дефектами гена *INS*.

В 1976 г. K. Gabbay и соавт. описали большую семью, у многих членов которой наблюдались гиперпроинсулинемия в сочетании с эпизодической гипогликемией либо нарушение толерантности к глюкозе или сахарный диабет (СД) легкого течения [1]. Исследователи предположили, что все эти нарушения обусловлены каким-то генетическим дефектом синтеза инсулина. Эта гипотеза подтвердилась в 1990 г., когда F. Barbetti и соавт. обнаружили у двух неродственных пациентов с семейной гиперпроинсулинемией одну и ту же мутацию гена *INS*, приводящую к замене аргинина на гистидин в положении 65 молекулы проинсулина [2].

В 2007 г. J. Стоу и соавт. [3] и в 2008 г. С. Colombo и соавт. [4] независимо друг от друга идентифицировали гетерозиготные мутации в кодирующем регионе *INS* у пациентов с перманентным неонатальным СД (ПНСД).

В 2008 г. E. Edghill и соавт. [5] выявили гетерозиготные мутации в гене *INS* у 2/86 (2,3%) пациентов с дебютом СД от 6 до 12 мес жизни, у 1/296 (0,3%) с фенотипом MODY и 1/463 (0,2%) с СД 2 типа. В то же время связь мутаций гена *INS* с фенотипом MODY была показана A. Molven и соавт. [6].

В 2010 г. I. Garin и соавт. [7] описали принципиально новый механизм развития неонатального СД (НСД) — нарушение биосинтеза инсулина у пациентов с гомозиготными мутациями *INS*. A. M. Liu и соавт. [8] для обозначения случаев неиммунного инсулинзависимого СД у молодых лиц, связанного с гетерозиготными мутациями в гене *INS*, предложили термин — MIDY (Mutant *INS*-gene-induced Diabetes of Youth).

В 2012 г. впервые была описана сплайсинг-мутация в терминальном интроне гена *INS*, ассоциированная с ПНСД у пробанда и его отца [9].

Таким образом, в мировой литературе на сегодняшний день описано более 50 мутаций гена *INS* у пациентов с гиперпроинсулинемией, транзиторным неонатальным СД (ТНСД), ПНСД, инсулинзависимым СД без признаков аутоиммунного процесса (СД тип 1В), MODY10 и СД 2 типа [10]. Понимание молекулярно-генетических основ возникновения СД на современном этапе является необходимым компонентом для разработки новых терапевтических подходов для успешной терапии заболевания [11].

Между тем в нашей стране имеются лишь единичные описания пациентов раннего возраста с СД, ассоциированным с гетерозиготными мутациями в кодирующем регионе гена *INS* [12–14].

Впервые в отечественной литературе мы представляем описание большой группы пациентов с различными

клиническими формами СД, обусловленного мутациями как в кодирующем, так и в некодирующем регионах гена *INS*. Пациенты с мутацией в интроне гена *INS* описаны впервые.

ЦЕЛЬ

1. Оценить распространенность мутаций гена *INS* у пациентов с НСД, дебютом СД от 7 до 12 мес жизни включительно, а также среди пациентов детского возраста с фенотипом MODY.
2. Проанализировать особенности течения СД в данных клинических группах.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Место и время проведения исследования

Клиническое и лабораторное обследование пациентов и их отбор для включения в исследование проводили во всех учреждениях — участниках работы. Поиск мутаций *INS* проводили в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ (Москва).

Исследование продолжалось с 12.2009 по 12.2019 г.

Исследуемые популяции

В исследование были включены 3 группы пациентов:

- 1-я группа — 60 пациентов с изолированным течением НСД (1а — 12 пациентов с ТНСД, 1б — 48 с ПНСД);
- 2-я группа — 52 пациента с манифестацией СД от 7 до 12 мес жизни включительно и отсутствием основных аутоиммунных маркеров СД 1 типа (отрицательные антитела к глутаматдекарбоксилазе (GAD), островковым клеткам (ICA), фосфотириозинфосфатазе (IA-2));
- 3-я группа — 650 пациентов с фенотипом MODY.

Возраст пациентов на момент проведения исследования варьировал от 1 мес до 18 лет. Медиана возраста пациентов на момент проведения исследования составила 9,8 года [11 мес; 12,3 года].

Критерии постановки диагноза MODY соответствовали рекомендациям ISPAD 2018 г.

1. Наличие СД или гипергликемии натощак у родственников 1-й линии в 2–3 поколениях.
2. Отсутствие признаков аутоиммунного процесса (отрицательный титр антител IAA, ICA, GADA, Zn8) в дебюте заболевания.
3. Сохранная секреция С-пептида и низкая потребность в экзогенном инсулине в течение 5 лет от начала заболевания.
4. Отсутствие выраженного ожирения и/или признаков инсулинорезистентности.

Критерии исключения

1. Наличие аутоиммунных маркеров СД 1 типа.
2. Синдромальные формы СД.

Дизайн исследования

Схема исследования: однократное молекулярно-генетическое обследование пациентов с ПНСД и ТНСД, пациентов с манифестацией СД в возрасте от 7 до 12 мес и пациентов с фенотипом MODY на предмет выявления мутаций *INS*. Вид исследования: наблюдательное поперечное.

Описание медицинского вмешательства

Взятие крови из периферической вены для молекулярно-генетического исследования.

Основной исход исследования

Обнаружение и молекулярно-генетическая характеристика мутации *INS* у пациента.

Дополнительные исходы исследования

Особенности клинической картины СД и лабораторных показателей у пациента с мутацией *INS*. Обнаружение и молекулярно-генетическая характеристика мутаций *INS* у родственников пациента.

Методы

Молекулярно-генетический анализ проводился в лаборатории отделения наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» Минздрава России.

Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови стандартным методом (набор PureLink, Genomic DNA MiniKit, LifeTechnologies, США). Для молекулярно-генетического анализа применялся метод NGS.

Использовалась разработанная в отделении наследственных эндокринопатий ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» панель праймеров для мультиплексной ПЦР и секвенирования с применением технологии IonAmpliseq™ Custom DNA Panel (LifeTechnologies, США). Секвенирование осуществлялось на полупроводниковом секвенаторе PGM (IonTorrent, LifeTechnologies, США).

Биоинформатическая обработка результатов секвенирования проводилась с помощью программного модуля TorrentSuite 4.2.1 (IonTorrent, LifeTechnologies, США) и пакета программ Annovar (версия 2014Nov12). В качестве референсных последовательностей кДНК генов-кандидатов использовались ссылки Genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>). Интерпретация результатов исследований и оценка патогенности нуклеотидных изменений проводились согласно международным рекомендациям [15]. Все единичные нуклеотидные варианты с частотой минорного аллеля более чем 0,001 были исключены из последующего анализа [16]. Обозначение мутаций проводилось в соответствии с рекомендациями J. den Dunnen и S. Antonarakis [17].

Все выявленные мутации и полиморфизмы были подтверждены методом Сэнгера. Секвенирование по Сэнгеру проводилось на автоматическом секвенаторе ABI GeneticAnalyzer 3130 (Applied Biosystems, США).

Статистический анализ

Статистический анализ проводился в программе RStudio (Version 1.1.463-2009-2018 RStudio, Inc) с использованием пакета R версии 3.4.4). Нормальность распределения количественных признаков оценивалась по тесту Шапиро–Уилка. Описательная статистика представлена медианами с границами межквартильного интервала. Номинальные данные описывались с указанием абсолютных значений и процентных долей.

Этическая экспертиза

Информированное согласие об участии в исследовании и согласие на молекулярно-генетическое исследование было подписано родителями всех пациентов.

Протокол исследования был одобрен в локальном этическом комитете (протокол № 22 от 29.10.2009 года; ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В гене *INS* мы идентифицировали 13 гетерозиготных мутаций (12 миссенс-мутаций, 1 сплайсинг-мутация) у 16 пробандов и 9 родственников. В 10 случаях мутации возникли *de novo*, в 6 — были унаследованы от одного из родителей с СД.

Все миссенс-мутации (A22P, L30R, L30P, C31W, G32S, E37K, L41P, V42G, R46P, F48C, R89C, C96Y) были расположены в кодирующей части гена *INS*, сплайсинг-мутация (с.188–31G>A) — в интроне.

Наиболее часто встречалась мутация G32S: выявлена у 3 пробандов и 2 родственников.

Мутации A22P, L30R, C31W, E37K, L41P, V42G ранее не были описаны.

Спектр нуклеотидных изменений, выявленных в гене *INS*, представлен в табл. 1.

Подавляющее большинство мутаций было выявлено среди пациентов с ПНСД (9/48, 18,75%) и с дебютом СД от 7 до 12 мес жизни (5/52; 9,6%). В группе с фенотипом MODY мутации в гене *INS* были выявлены у 2 пациентов (2/650, 0,3%). У пациентов с ТНСД мутации в гене *INS* выявлены не были.

Анализ клинических данных у пациентов 1б и 2 групп не показал существенных различий в течении заболевания. В подавляющем большинстве случаев отмечались нормальные весовые показатели при рождении, отражающие достаточную внутриутробную секрецию инсулина; высокий уровень гликемии наряду с неопределяемым уровнем С-пептида при манифестации СД; значительная потребность в инсулинотерапии (табл. 1).

Диабетический кетоацидоз (ДКА) в дебюте заболевания был зарегистрирован у одного пациента с ПНСД и у 2/5 пациентов с манифестацией заболевания от 7 до 12 мес жизни.

Описание клинических случаев

Мутация с.188–31G>A в интроне гена *INS* была найдена у 2 пациентов с манифестацией СД в 2 и 7 мес жизни.

В первом случае (пациент №15, табл. 1) отмечалось типичное течение ПНСД с кетозом, гипергликемией до 18 ммоль/л в дебюте заболевания и высокой потребностью в инсулинотерапии (0,9 Ед/кг/сут).

У второго пробанда (№16) на фоне полного здоровья при плановом обследовании в возрасте 7 мес была выявлена глюкозурия.

При обследовании в условиях эндокринологического отделения уровень гликемии натощак составил 6,8 ммоль/л, средний уровень гликемии в течение дня — 8,0 ммоль/л, отмечались эпизодические подъемы до 12,0–14,5 ммоль/л после еды, HbA_{1c} — 7,2% (норма до 6%); С-пептид — 566,1 пмоль/л (343–742), инсулин — 12,15 мкМЕ/мл (2,0–25,0); антитела к β-клеткам, GAD, IA-2 — отрицательные.

Учитывая сохранную секрецию инсулина, отказ родителей от инсулинотерапии, была рекомендована диета с ограничением углеводов с высоким гликемическим индексом. На этом фоне через 4 мес: HbA_{1c} 8,7%, С-пептид

2,2 нг/мл (1,1–4,4), инсулин 8,5 мкМЕ/мл (2,3–26,4). В связи со стойкой декомпенсацией углеводного обмена инициирована инсулинотерапия по базис-болюсной схеме.

В группе с фенотипом MODY мутации в гене *INS* были выявлены у 2 пациентов (2/650, 0,3%). В обоих случаях заболевание носило семейный характер. Приводим описание одной семьи.

Мутация E37K выявлена у пробанда (дебют СД в 4 года), матери пробанда (СД с 11 лет), родной тети по линии матери (СД с 12 лет), двоюродной сестры по материнской линии (СД с 8 лет). У дедушки пробанда по линии матери СД был диагностирован в 18 лет, генетическое исследование не проводилось.

У пробанда СД манифестировал в 4 года с классических симптомов (слабость, утомляемость, жажда), выявлено повышение гликемии до 9,3 ммоль/л. По месту жительства установлен диагноз СД 1 типа, назначена инсулинотерапия по базис-болюсной схеме (лизпро, гларгин).

До 9 лет течение заболевания стабильное на фоне инсулинотерапии 0,6 Ед/кг/сут, HbA_{1c} 7,5–7,8%.

В возрасте 9 лет обследована в связи с жалобами на головные боли, утомляемость, снижение остроты зрения. По данным МРТ головного мозга выявлено объемное образование хиазмально-селлярной области (краниофарингиома), в послеоперационном периоде диагностирован пангипопитуитаризм (СТГ-дефицит, вторичный гипотиреоз, вторичный гипокортицизм, несахарный диабет).

В послеоперационном периоде течение СД лабильное, HbA_{1c} около 9–10%, достижение компенсации углеводного обмена затруднено в связи с неконтролируемым чувством голода, прогрессирующей прибавкой массы тела, приемом глюкокортикоидов.

В возрасте 13 лет при плановом обследовании в ФБГУ «НМИЦ эндокринологии», учитываяотягощенный семейный анамнез по СД, проведено молекулярно-генетическое обследование. В гене *INS* выявлена гетерозиготная мутация E37K.

Клинические характеристики пациентов представлены в табл. 1.

ОБСУЖДЕНИЕ

Нуклеотидная последовательность гена *INS* впервые была расшифрована G. Bell и соавт. [18] в 1980 г.

Ген *INS* картирован на коротком плече хромосомы 11p15.5, состоит из 3 экзонов (экзон 1 — некодирующий) и двух интронов. Второй экзон кодирует сигнальный пептид, В-цепь и часть С-пептида; третий экзон кодирует остаток С-пептида и А-цепь.

Все мутации в гене *INS* можно разделить на две большие группы: наследуемые по аутосомно-доминантному (АД) и аутосомно-рецессивному типам (АР).

АР-мутации локализованы преимущественно в зоне промотора *INS*.

Данный тип мутаций вызывает нарушение биосинтеза инсулина на уровне как транскрипции, так и трансляции с помощью различных механизмов, включающих делецию гена, потерю иницирующего сигнала трансляции и нарушение стабильности мРНК [7, 19].

Часть мутаций приводит к делеции зоны промотора *INS*, которая регулируется MAFA и NEUROD1, или к разрушению ДНК-связывающих сайтов для других

Таблица 1. Сведения о пациентах — носителях мутаций гена *INS*

№	Нуклеотидная замена	Аминокислотная замена	Пол	Масса тела при рождении, г	Клинические и лабораторные данные пациента на момент манифестации СД				Отягощенность семейного анамнеза по СД		
					Фенотип	Возраст ^a	Кетоз или ДКА в дебюте СД	Гликемия в дебюте, ммоль/л ^b		С-пептид в сыворотке, нг/мл ^b	Терапия ^c
1	c.64G>C	p.A22P	м	3550	ПНСД	3 мес	Кетоз	18,9	0,2	ИТ (0,9)	Нет
2	c.89T>C	p.L30P	м	3480	ПНСД	1,5 мес	Кетоз	21,8	0,15	ИТ (1,1)	Нет
3	c.89T>G	p.L30R	ж	3000	СД	7 мес	ДКА	20,7	0,3	ИТ (0,9)	Нет
4	c.93C>G	p.S31W	м	3120	MODY10	6,5 года	Нет	9,0	0,9	Гликлазид	Отец: СД с 6 лет, ИТ + ПССП Бабушка* по линии отца: СД, ПССП
5	c.94G>A	p.G32S	м	2637	СД	8 мес	Нет	15,4	0,25	ИТ (0,5)	Мать: ПНСД с 5 мес, ИТ
6	c.94G>A	p.G32S	м	3100	ПНСД	2 мес	Нет	18,7	0,18	ИТ (1,0)	Нет
7	c.94G>A	p.G32S	м	3050	ПНСД	6 мес	Нет	19,2	0,35	ИТ (0,5)	Отец: СД с 9 мес, ИТ
8	c.109G>A	p.E37K	ж	3700	MODY10	4 года	Нет	13,0	0,7	ИТ (0,6)	Мать: СД с 11 лет; тетя: СД с 12 лет; двоюродная сестра: СД с 8 лет; дед* по линии матери: СД с 18 лет
9	c.122T>C	p.L41P	м	3060	СД	8 мес	ДКА	16,3	0,2	ИТ (0,8)	Нет
10	c.125T>G	p.V42G	ж	2450	ПНСД	5 мес	Нет	20,1	0,1	ИТ (0,9)	Нет
11	c.137G>C	p.R46P	м	2080	ПНСД	4,5 мес	Нет	24,3	0,15	ИТ (0,8)	Мать: СД с 9 мес, ИТ
12	c.143T>G	p.F48C	ж	3190	ПНСД	1,5 мес	Нет	17,2	0,25	ИТ (1,0)	Нет
13	c.265C>T	p.R89C	ж	3230	СД	12 мес	Нет	20,5	0,2	ИТ (0,8)	Мать: СД с 3 лет, ИТ; сестра: СД с 18 мес, ИТ
14	c.287G>A	p.C96Y	м	1790	ПНСД	3 мес	ДКА	17,9	0,3	ИТ (1,0)	Нет
15	c.18831G>A	Нет ^d	ж	2600	ПНСД	2 мес	Кетоз	18,0	0,1	ИТ (0,9)	Нет
16	c.18831G>A	Нет ^d	ж	3060	СД	7 мес	Нет	19,2	0,15	ИТ (0,4)	Нет

^a Возраст пациента на момент манифестации СД.

^b Уровень гликемии на момент первой госпитализации.

^c Уровень базального С-пептида в дебюте СД, определенного при первой госпитализации. Референтные значения: 1,1–4,4 нг/мл.

^d Терапия, назначенная при первой госпитализации. Для инсулинотерапии указаны суточные дозы инсулина (Ед/кг/сут).

^e Мутация в интроне.

ДКА — диабетический кетоацидоз; ИТ — инсулинотерапия; ПССП — пероральные сахароснижающие препараты.

* — молекулярно-генетическое исследование не проводилось.

регуляторных белков, обеспечивающих клеточную специфичность и скорость транскрипции инсулина [7, 10].

На сегодняшний день гомозиготные мутации в гене *INS* описаны преимущественно при НСД и также являются наиболее частой причиной ПНСД без экстрапанкреатических проявлений у пациентов, рожденных от близкородственных браков, однако редко встречаются у пациентов с НСД из неродственных семей [7, 10, 14].

Все мутации, выявленные у наших пациентов, относятся к гетерозиготным миссенс- и сплайсинг-мутациям и расположены как в нетранслируемых областях гена *INS* (сплайсинг-мутация), так и в кодирующей последовательности (12 миссенс-мутаций), включая область сигнального пептида, А- и В-цепи инсулина и сайт протеолитического расщепления между А-цепью и С-пептидом.

Подавляющее большинство найденных мутаций локализовано во 2-м (L30P, L30R, C31W, G32S, E37K, L41P, V42G, R46P, F48C) и 3-м (C96Y, R89C) экзонах *INS*, кодирующих критические регионы В-цепи в области формирования эволюционно консервативных дисульфидных связей В7–А7 и В19–А20. Известно, что мутации такого типа приводят к некорректному замыканию дисульфидных связей и нарушению фолдинга молекулы проинсулина [3, 4]. Избыточная экспрессия мутантного проинсулина провоцирует развитие стресса эндоплазматического ретикулума (ЭР) и преждевременный апоптоз β -клеток [3, 20–22].

В настоящее время появляется все больше данных, что в дополнение к цитотоксическому эффекту накопление мутантного проинсулина блокирует выход проинсулина дикого типа из ЭР панкреатических β -клеток, тем самым уменьшая его продукцию с неповрежденной аллели, что также приводит к дефициту инсулина [8].

Мутации L30R, L41P, C31W, E37K, V42G, A22P ранее не были описаны. В пользу патогенности мутаций L30R, L41P, C31W, E37K, V42G свидетельствует локализация мутаций в критических регионах В-цепи (в частности, описаны миссенс-мутации L30P/V/M/Q, затрагивающие тот же кодон, что и мутация L30R, и мутация C31Y в том же кодоне, что и C31W, ассоциированные с СД) [23], а также (для мутаций C31W и E37K) выявление идентичных мутаций в нескольких поколениях родственников, страдающих СД.

Мутация A22P локализована в сигнальном пептиде и, вероятнее всего, приводит к нарушению отщепления сигнального пептида от препроинсулина с последующим нарушением фолдинга проинсулина и развитием стресса ЭР [24, 25].

Клинически для пациентов с гетерозиготными мутациями в кодирующем регионе гена *INS* было характерно изолированное нарушение углеводного обмена (в подавляющем большинстве случаев — инсулинзависимый СД) с дебютом заболевания как в течение первого полугодия жизни, так и в более старшем возрасте.

Подавляющее большинство мутаций было выявлено у пациентов с ПНСД, что согласуется с данными литературы. Наименьшее количество случаев — в группе пациентов с фенотипом MODY, что еще раз подчеркивает, что MODY10 является редкой формой моногенного СД.

Интересно, что идентичные мутации были найдены среди пациентов из разных возрастных групп.

Существует мнение, что разный возраст начала СД у пациентов с идентичной мутацией может быть связан с индивидуальной скоростью β -клеточного апоптоза,

способностью клеток к регенерации и влиянием факторов окружающей среды [26].

Наибольший интерес, на наш взгляд, представляет группа пациентов с манифестацией СД от 7 до 12 мес жизни. Процент выявленных мутаций в гене *INS* в данной группе достаточно высокий (9,6%), при этом пациенты не подходят ни под возрастные критерии НСД, ни под клинические критерии MODY: в 4 из 5 случаев картина заболевания соответствовала СД 1 типа: острое начало (в 2 случаях — тяжелый диабетический кетоацидоз), выраженное снижение С-пептида, значительная потребность в заместительной инсулинотерапии (0,8–1,0 Ед/кг). Причинами для проведения генетического исследования у этих пациентов послужили относительно раннее начало СД (до 12 мес жизни), наличие СД у одного из родителей (в 2 случаях) и отсутствие основных аутоиммунных маркеров СД 1 типа.

Патогенные мутации в некодирующем регионе гена *INS* впервые были описаны в зарубежной литературе в 2012 г. [8]. В нашей стране нами впервые была идентифицирована гетерозиготная сплайсинг-мутация: с.188–31G>A (n=2) в интроне гена *INS*.

Мутация с.188–31G>A была впервые описана I. Garin и соавт. [9] в 2012 г. у двух пациентов с НСД (пробанд и его отец). Данная мутация локализована в терминальном интроне гена и вызывает нарушение сплайсинга путем инсерции 29 нуклеотидов из интронной последовательности в мРНК. Среди наших пациентов мутация с.188–31G>A была найдена у 2 пациентов с манифестацией СД в 2 и 7 мес жизни. Интересно, что в первом случае отмечалось типичное течение ПНСД с кетозом, гипергликемией до 18 ммоль/л в дебюте заболевания и высокой потребностью в заместительной инсулинотерапии (0,9 Ед/кг/сут) с момента манифестации заболевания. Во втором случае заболевание было выявлено в возрасте 7 мес в доклинической стадии при плановом обследовании ребенка (глюкозурия). Инсулинотерапия была назначена только спустя 4 мес от момента установки диагноза и составила 0,3 Ед/кг/сут.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В статье проанализирован вклад мутаций гена *INS* в структуру НСД, MODY и СД с дебютом от 7 до 12 мес жизни на большой группе пациентов. Проведен анализ клинической картины заболевания. Впервые в России представлена клиническая характеристика случаев СД, обусловленного мутацией в интроне гена *INS*.

Полученные данные еще раз подчеркивают необходимость анализа гена *INS* не только у пациентов с ПНСД и фенотипом MODY, но и среди пациентов с манифестацией СД от 7 до 12 мес жизни и отсутствием аутоиммунных маркеров СД 1 типа. Причем отсутствие изменений в кодирующем регионе гена *INS* является поводом для активного поиска мутаций в интроне.

Еще несколько лет назад результаты генетического исследования у пациентов с мутациями в гене *INS* могли быть использованы преимущественно для прогнозирования дальнейшего течения заболевания и проведения медико-генетического консультирования в вопросах планирования семьи. Понимание молекулярно-генетических основ возникновения СД на современном этапе является необходимым компонентом для разработки новых терапевтических подходов для успешной терапии заболевания.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Исследование было проведено при содействии Фонда поддержки и развития филантропии «КАФ», гранта РФФИ №17-75-30035, бюджетных средств лечебно-профилактических учреждений — участников исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с настоящей публикацией.

Благодарность. Авторы выражают благодарность Фонду поддержки и развития филантропии «КАФ» за помощь в проведении генетического исследования. Выражаем благодарность пациентам и их семьям за участие в исследовании, а также всем региональным эндокринологам России за помощь в проведении обследования пациентов.

Участие авторов: Тихонович Ю.В., Тюльпаков А.Н. — концепция и дизайн исследования; Тихонович Ю.В., Тюльпаков А.Н., Соркина Е.Л., Тимофеев А.В. — написание текста; Тихонович Ю.В., Зубкова Н.А., Гаряева И.В., Рыбкина И.Г., Петрайкина Е.Е., Соркина Е.Л., Тимофеев А.В., Киселев С.Л., Панова А.В., Андрианова Е.А., Светлова Г.Н., Зильберман Л.И., Калинин А.Л., Кулиева Б.П., Малиевский О.А., Колодкина А.А., Шрёдер Е.В. — сбор материала, анализ полученных данных; Тюльпаков А.Н., Васильев Е.В., Петров В.М., Краснова Т.С. — проведение молекулярно-генетического исследования. Рецензия и одобрение рукописи к печати: А.Н. Тюльпаков, А.В. Тимофеев, Е.Е. Петрайкина, С.Л. Киселев, П.М. Рубцов. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией, выразили согласие нести ответственность за все аспекты работы, подразумевающую надлежащее изучение и решение вопросов, связанных с точностью или добросовестностью любой части работы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

- Gabbay KH, DeLuca K, Fisher JN, et al. Familial hyperproinsulinemia. An autosomal dominant defect. *N. Engl. J. Med.* 1976;294:911-915. doi: <https://doi.org/10.1056/nejmi197604222941701>
- Barbetti F, Raben N, Kadowaki T, et al. Two unrelated patients with familial hyperproinsulinemia due to a mutation substituting histidine for arginine at position 65 in the proinsulin molecule: identification of the mutation by direct sequencing of genomic DNA amplified by polymerase chain reaction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990;71(1):164-169. doi: <https://doi.org/10.1210/jcem-71-1-164>
- Stoy J, Edghill EL, Flanagan SE, et al. Neonatal Diabetes International Collaborative Group. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2007;104 (38):15040-15044. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0707291104>
- Colombo C, Porzio O, Liu M, Massa O, et al. Early Onset Diabetes Study Group of the Italian Society of Pediatric Endocrinology and Diabetes (SIEDP). Seven mutations in the human insulin gene linked to permanent neonatal/infancy-onset diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.* 2008;118(6):2148-2156. doi: <https://doi.org/10.1172/jci33777>
- Edghill EL, Flanagan SE, Patch AM, et al. Insulin mutation screening in 1,044 patients with diabetes: mutations in the INS gene are a common cause of neonatal diabetes but a rare cause of diabetes diagnosed in childhood or adulthood. *Diabetes.* 2008;57(4):1034-1042. doi: <https://doi.org/10.2337/db07-1405>
- Molvén A, Ringdal M, Nordbo AM, et al. Mutations in the insulin gene can cause MODY and autoantibody-negative type 1 diabetes. *Diabetes.* 2008;57(4):1131-1135. doi: <https://doi.org/10.2337/db07-1467>
- Garin I, Edghill EL, Akerman I, et al. Recessive mutations in the INS gene result in neonatal diabetes through reduced insulin biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107(7):3105-3110. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.0910533107>
- Liu M, Haataja L, Wright J, et al. Mutant INS-gene induced diabetes of youth: proinsulin cysteine residues impose dominant-negative inhibition on wild-type proinsulin transport. *PLoS One.* 2010;5(10):e13333. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013333>
- Garin I, Perez de Nanclares G, Gastaldo E, et al. Permanent neonatal diabetes caused by creation of an ectopic splice site within the INS gene. *PLoS One.* 2012;7(1):e29205. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0029205>
- Liu M, Sun J, Cui J, et al. Insulin-gene mutations: from genetics and beta cell biology to clinical disease. *Mol Aspects Med.* 2015;42:3-18. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2014.12.001>
- Panova A, Klementieva N, Goliosova D, et al. Generation of patient-specific iPSC disease model of neonatal diabetes with insulin mutation. *FEBS Open Bio.* 2019;9:22-002. doi: <https://doi.org/10.1002/2211-5463.12675>
- Тихонович Ю.В., Петрайкина Е.Е., Рыбкина И.Г., и др. Моногенный сахарный диабет, обусловленный мутацией в гене инсулина (INS) // *Проблемы Эндокринологии.* — 2013. — Т. 59. — №2. — С. 45-48. [Tikhonovich YV, Petraykina EE, Rybkina IG, et al. Monogenic diabetes mellitus associated with a mutation in the insulin gene (INS). *Problems of endocrinology.* 2013;59(2):45-48. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/probl201359245-48>
- Тихонович Ю.В., Зубкова Н.А., Тюльпаков А.Н. Персонализированный подход к терапии неонатального сахарного диабета в зависимости от генетического дефекта // *World Journal of Personalized Medicine.* — 2017. — Т. 1. — №1. — С. 36-39. [Tikhonovich YV, Zubkova NA, Tiulpakov AN. The personalized approach to neonatal diabetes therapy depending on the genetic defect. *World Journal of Personalized Medicine.* 2017;1(1):36-39 (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/WJPM9304>
- Атанесян Р.А., Углова Т.А., Вдовина Т.М., и др. Клинический случай неонатального сахарного диабета, обусловленного мутацией гена INS // *Сахарный диабет.* — 2019. — Т. 22. — №2. — С. 170-176. [Atanesyan RA, Uglova TA, Vdovina TM, et al. A clinical case of neonatal diabetes caused by INS gene mutation. *Diabetes mellitus.* 2019;22(2):170-176. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM9876>
- Richards S, Aziz N, Bale S, et al. 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: <https://doi.org/10.1038/gim.2015.30>
- Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. *Nature.* 2016;536:285-291. doi: <https://doi.org/10.1038/nature19057>
- Den Dunnen JT, Dalgleish R, Maglott DR, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants: 2016 Update. *Hum Mutat.* 2016;37(6):564-569. doi: <https://doi.org/10.1002/humu.22981>
- Bell GI, Pictet RL, Rutter WJ et al. Sequence of the human insulin gene. *Nature.* 1980;284(5751):26-32. doi: <https://doi.org/10.1038/284026a0>
- Raile K, O'Connell M, Galler A, et al. Diabetes caused by insulin gene (INS) deletion: clinical characteristics of homozygous and heterozygous individuals. *Eur J Endocrinol.* 2011;165(2):255-260. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-11-0208>
- Wang J, Takeuchi T, Tanaka S, et al. A mutation in the insulin 2 gene induces diabetes with severe pancreatic beta-cell dysfunction in the Mody mouse. *J Clin Invest.* 1999;103(1):27-37. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI4431>
- Ron D. Proteotoxicity in the endoplasmic reticulum: lessons from the Akita diabetic mouse. *J Clin Invest.* 2002;109(4):443-445. doi: <https://doi.org/10.1172/JCI15020>
- Калмыкова З.А., Кононенко И.В., Смирнова О.М., Шестакова М.В. Сигнальные пути гибели β-клеток при сахарном диабете 2 типа: роль врожденного иммунитета // *Сахарный диабет.* — 2020. — Т. 23. — №2. — С. 174-184. [Kalmykova ZA, Kononenko IV, Smirnova OM, Shestakova MV. Signaling pathways of β-cell death in type 2 diabetes mellitus: the role of innate immunity. *Diabetes mellitus.* 2020;23(2):174-184. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.14341/DM10242>
- Moritani M, Yokota I, Tsubouchi K, et al. Japanese Study Group of insulin therapy for childhood and adolescent diabetes (JSGIT). Identification of INS and KCNJ11 gene mutations in type 1B diabetes in Japanese children with onset of diabetes before 5 years of age. *Pediatr Diabetes.* 2013;14(2):112-20. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-5448.2012.00917>
- Liu M, Wright J, Guo H, et al. Proinsulin entry and transit through the endoplasmic reticulum in pancreatic beta cells. *Vitam Horm.* 2014;95:35-62. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800174-5.00002-8>
- Rapoport TA. Protein translocation across the eukaryotic endoplasmic reticulum and bacterial plasma membranes. *Nature.* 2007;450(7170):663-669. doi: <https://doi.org/10.1038/nature06384>
- Bonfanti R, Colombo C, Nocerino V, et al. Insulin Gene Mutations as Cause of Diabetes in Children Negative for Five Type 1 Diabetes Autoantibodies. *Diabetes Care.* 2009;32(1):123-5. doi: <https://doi.org/10.2337/dc08-0783>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]

*Тихонович Юлия Викторовна, к.м.н. [Yulia V. Tikhonovich, MD, PhD]; адрес: Россия, 119881, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 19 [address: 19, B. Pirogovskaya street, 119881 Moscow, Russia];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7747-6873>; eLibrary SPIN: 6492-6790; e-mail: yuliatikhonovich@mail.ru

Тюльпаков Анатолий Николаевич, д.м.н., профессор [Anatoliy N. Tyulpakov, MD, PhD, professor];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8500-4841>; eLibrary SPIN: 8396-1798; e-mail: anatolytulpakov@gmail.com

Зубкова Наталья Анатольевна, к.м.н., в.н.с. [Natalia A. Zubkova, MD, PhD, leading research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1346-7545>; eLibrary SPIN: 5064-9992; e-mail: zunata2006@yandex.ru

Колодкина Анна Александровна, к.м.н., с.н.с. [Anna A. Kolodkina, MD, PhD, senior research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7736-5372>; eLibrary SPIN: 6705-6630; e-mail: anna_kolodkina@mail.ru

Петряйкина Елена Ефимовна, д.м.н., профессор [Elena E. Petryaykina, MD, PhD, Professor];
ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8520-2378>; eLibrary SPIN: 5997-7464; e-mail: lepet_morozko@mail.ru

Рыбкина Ирина Георгиевна [Irina G. Rybkina, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5591-813X>;
e-mail: ribkinairina@mail.ru

Гаряева Ирина Викторовна [Irina V. Gariaeva, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4648-2936>;
e-mail: irinagar1981@mail.ru

Тимофеев Алексей Валентинович, к.б.н. [Alexei V. Timofeev, PhD in Biology];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6861-9630>; eLibrary SPIN: 1117-6599; e-mail: alvaltim@gmail.com

Малиевский Олег Артурович, д.м.н., профессор [Oleg A. Malievskiy, MD, PhD, Professor];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2599-0867>; eLibrary SPIN: 6813-5061; e-mail: malievsky@list.ru

Васильев Евгений Витальевич, к.б.н., в.н.с. [Evgeny V. Vasiliev, PhD in Biology, leading research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1107-362X>; eLibrary SPIN: 5767-1569; e-mail: vas-evg@yandex.ru

Петров Василий Михайлович, к.х.н., в.н.с. [Vasily M. Petrov, PhD in Chemistry, leading research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0520-9132>; eLibrary SPIN: 4358-2147; e-mail: petrov.vasily@gmail.com

Соркина Екатерина Леонидовна, к.м.н., с.н.с. [Ekaterina L. Sorkina, MD, PhD, senior research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7006-0664>; eLibrary SPIN: 7777-0248; e-mail: sorkina@bk.ru

Кулиева Балкыз Пахватудиновна [Balkiz P. Kulieva, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3952-2362>;
eLibrary SPIN: 2084-9850; e-mail: dr.kulieva@yandex.ru

Зильберман Любовь Иосифовна, к.м.н., в.н.с. [Lubov I. Zilberman, MD, PhD, leading research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0316-8314>; eLibrary SPIN: 4488-7724; e-mail: zilbermanl@yandex.ru

Светлова Галина Николаевна, к.м.н., в.н.с. [Galina N. Svetlova, MD, PhD, leading research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4328-2090>; eLibrary SPIN: 9356-2673; e-mail: g_svetlova@mail.ru

Андрианова Екатерина Андреевна, к.м.н. [Ekaterina A. Andrianova, MD, PhD];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6611-8170>; eLibrary SPIN: 7496-4580; e-mail: katandr13@list.ru

Калинин Алексей Леонидович, н.с. [Alexey L. Kalinin, MD, research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4142-4355>; eLibrary SPIN: 3543-7179; e-mail: kalinin.sh@gmail.com

Панова Александра Витальевна, к.м.н., с.н.с. [Alexandra V. Panova, PhD, senior research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1102-2374>; eLibrary SPIN: 9871-3456; e-mail: a.v.panova@mail.ru

Киселев Сергей Львович, д.б.н., профессор [Sergey L. Kiselev, PhD in Biology, Professor];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7921-6987>; eLibrary SPIN: 9311-3403; e-mail: sl_kiselev@yahoo.com

Рубцов Петр Михайлович, д.б.н., г.н.с. [Petr M. Rubtsov, PhD in Biology, chief research associate];
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9867-2344>; eLibrary SPIN: 8227-7362; e-mail: rubtsov@eimb.ru

Шрёдер Екатерина Владимировна [Ekaterina V. Shreder, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0031-1389>;
eLibrary SPIN: 7997-2501; e-mail: evshreder@bk.ru

Краснова Татьяна Станиславовна [Tatiana S. Krasnova]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5931-7959>;
eLibrary SPIN: 4824-289; e-mail: tkrasnova24@mail.ru

ЦИТИРОВАТЬ:

Тихонович Ю.В., Петряйкина Е.Е., Тимофеев А.В., Зубкова Н.А., Колодкина А.А., Соркина Е.Л., Васильев Е.В., Петров В.М., Андрианова Е.А., Зильберман Л.И., Светлова Г.Н., Калинин А.Л., Рубцов П.М., Киселев С.Л., Панова А.В., Шрёдер Е.В., Краснова Т.С., Кулиева Б.П., Гаряева И.В., Рыбкина И.Г., Малиевский О.А., Тюльпаков А.Н. Молекулярно-генетические и клинико-лабораторные характеристики моногенного сахарного диабета, обусловленного мутациями гена INS // *Сахарный диабет*. — 2021. — Т. 24. — №5. — С. 414-421. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12737>

TO CITE THIS ARTICLE:

Tikhonovich YV, Petryaykina EE, Timofeev AV, Zubkova NA, Kolodkina AA, Sorkina EL, Vasiliev EV, Petrov VM, Andrianova EA, Zilberman LI, Svetlova GN, Kalinin AL, Rubtsov PM, Kiselev SL, Panova AV, Shreder EV, Krasnova TS, Kulieva BP, Gariaeva IV, Rybkina IG, Malievskiy OA, Tyulpakov AN. Clinical, hormonal and molecular-genetic characteristics of monogenic diabetes mellitus associated with the mutations in the INS gene. *Diabetes Mellitus*. 2021;24(5):414-421. doi: <https://doi.org/10.14341/DM12737>