

# Применение NGS для повышения эффективности молекулярно-генетической диагностики моногенных форм сахарного диабета у детей

Глотов О.С.<sup>1,2</sup>, Серебрякова Е.А.<sup>1</sup>, Туркунова М.Е.<sup>3</sup>, Башнина Е.Б.<sup>4</sup>, Глотов А.С.<sup>1,5</sup>, Барбитов Ю.А.<sup>1,5</sup>, Полев Д.Е.<sup>6</sup>, Иващенко Т.Э.<sup>1</sup>, Федяков М.А.<sup>2</sup>, Сарана А.М.<sup>5</sup>, Щербак С.Г.<sup>2,5</sup>, Баранов В.С.<sup>1,5</sup>

1 — ФГБНУ «НИИ Акушерства, гинекологии и репродуктологии им. Д.О. Отта»  
199034, г. Санкт-Петербург, Менделеевская линия, д.3

2 — СПбГБУЗ Городская больница №40  
197706, Санкт-Петербург, г. Сестрорецк, ул. Борисова, д.9

3 — ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет»  
194100, г. Санкт-Петербург, ул. Литовская, 2

4 — ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова»  
191015, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д.41

5 — Санкт-Петербургский Государственный Университет  
199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., д.7/9

6 — ООО «Сербалаб»  
199106, г. Санкт-Петербург, Большой пр. Васильевского острова, 90-2

Исследованы образцы ДНК 60 пациентов с подозрением на наличие моногенного сахарного диабета (МСД-MODY) путем секвенирования NGS панели 13 генов *MODY* и 22 гена «неонатального» диабета и синдромальных форм диабета. МСД был подтвержден у 55% (n=33). Из 33 пациентов 27 (81,8%) имели мутации (варианты) в *MODY* генах. Наиболее часто встречались варианты в гене *GCK*-31,6% (n=19). Спектр вариантов в гене *GCK* включал 13 миссенс мутаций, 3 нонсенс, 4 со сдвигом рамки считывания и 1 в промоторной области. Были также выявлены варианты в других генах: *HNF1A* (n=3), *WFS1* (n=4), *PAX4* (n=1), *EIF2AK3* (n=1, гомозигота), *GATA6* (n=1), *KCNJ11* (n=1), *ABCC8* (n=1), *SLC19A2* (n=2), *BLK* (n=2). Из 38 детектированных вариантов 15 оказались новыми. Высокая выявляемость может быть связана как с особенностями нашей группы, так и с использованным биоинформатическим подходом. Молекулярно-генетическая верификация диагноза при помощи NGS секвенирования позволяет повысить эффективность диагностики, прогнозировать течение заболевания и вносить коррективы в лечение СД.

**Ключевые слова:** NGS, молекулярно-генетическая диагностика моногенных форм сахарного диабета у детей, генетические варианты

**Для цитирования:** Глотов О.С., Серебрякова Е.А., Туркунова М.Е., Башнина Е.Б., Глотов А.С., Барбитов Ю.А., Полев Д.Е., Иващенко Т.Э., Федяков М.А., Сарана А.М., Щербак С.Г., Баранов В.С. Применение NGS для повышения эффективности молекулярно-генетической диагностики моногенных форм сахарного диабета у детей. *Медицинская генетика* 2020; 19(5): 86-88.

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.05.86-88

**Автор для корреспонденции:** Глотов Олег Сергеевич, e-mail: olglotov@mail.ru

**Финансирование:** Исследование поддержано Фондом «КАФ» в рамках программы «Альфа-эндо», грантом РНФ №14-50-00069.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие конфликта интересов.

**Поступила:** 20.05.2020.

## Application of NGS to improve the effectiveness of molecular genetic diagnostics of monogenic forms of diabetes in children

Glotov O.S.<sup>1,2</sup>, Serebryakova E.A.<sup>1</sup>, Turkunova M.E.<sup>3</sup>, Bashnina E.B.<sup>4</sup>, Glotov A.S.<sup>1,5</sup>, Barbitoff Yu.A.<sup>1,5</sup>, Polev D.E.<sup>6</sup>, Ivashchenko T.E.<sup>1</sup>, Fedyakov M.A.<sup>2</sup>, Sarana A.M.<sup>5</sup>, Scherbak S.G.<sup>2,5</sup>, Baranov V.S.<sup>1,5</sup>

1 — D.O. Ott Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology  
Mendeleevskaya line, 3, St. Petersburg, 199034, Russia

2 — City hospital №40  
Borisova str., 9, St. Petersburg, Sestroretsk, 197706, Russia

3 — St. Petersburg State Pediatric Medical University  
Litovskaya str., 2, St. Petersburg, 194100, Russia

4 — North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov  
Kirochnaya str., 41, St. Petersburg, 191015, Russia

5 — Sankt-Saint Petersburg State University  
Universitetskaya nab., 7 / 9, 191015, Russia

6 — LLC «Serbalab»  
Bolshoy pr. VO, 90-2, St. Petersburg, 199106, Russia

The present study included 60 unrelated Russian children with non-type 1 diabetes mellitus diagnosed before the age of 18 years. Genetic variants were analyzed using whole-exome sequencing (WES) in a panel of 35 genes causative of maturity onset diabetes of the young (MODY) and transient or permanent neonatal diabetes. Verification of the WES results was performed using PCR-direct sequencing. A total of 38 genetic variants were identified in 33 out of 60 patients (55%). The majority of patients (27/33, 81.8%) had variants in MODY-related genes: *GCK* (n=19), *HNF1A* (n=2), *PAX4* (n=1), *ABCC8* (n=1), *KCNJ11* (n=1), *GCK+HNF1A* (n=1), *GCK+BLK* (n=1) and *GCK+BLK+WFS1* (n=1). A total of 6 patients (6/33, 18.2%) had variants in MODY-unrelated genes: *GATA6* (n=1), *WFS1* (n=3), *EIF2AK3* (n=1) and *SLC19A2* (n=1). A total of 15 out of 38 variants were novel, including *GCK*, *HNF1A*, *BLK*, *WFS1*, *EIF2AK3* and *SLC19A2*. To summarize, the present study demonstrates a high frequency and a wide spectrum of genetic variants causative of monogenic diabetes in Russian children with non-type 1 diabetes mellitus. The spectrum includes previously known and novel variants in MODY-related and unrelated genes, with multiple variants in a number of patients. The prevalence of *GCK* variants indicates that diagnostics of monogenic diabetes in Russian children may begin with testing for MODY2. However, the remaining variants are present at low frequencies in 9 different genes, altogether amounting to ~50% of the cases and highlighting the efficiency of using WES in non-*GCK*-MODY cases.

**Keywords:** NGS, molecular genetic diagnostics, MODY, genetic variants

**For citation:** Glotov O.S., Serebryakova E.A., Turkunova M.E., Bashnina E.B., Glotov A.S., Barbitoff Yu.A., Polev D.E., Ivashchenko T.E., Fedyakov M.A., Sarana A.M., Scherbak S.G., Baranov V.S. Application of NGS to improve the effectiveness of molecular genetic diagnostics of monogenic forms of diabetes in children. *Medical genetics*. 2020; 19(5): 86-88. (In Rus)

**DOI:** 10.25557/2073-7998.2020.05.86-88

**Corresponding author:** Glotov Oleg Sergeevich, e-mail: olglotov@mail.ru

**Funding.** Research was supported by the KAF Foundation in the framework of the Alpha-endo program, with the RPF grant no. 14-50-00069.

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

**Accepted:** 20.05.2020.

**Цель исследования** — определить выявляемость и спектр мутаций у детей с моногенным сахарным диабетом (МСД-MODY) и оценить эффективность диагностики методом NGS.

### Методы и материалы

В исследование были включены 60 пациентов с СД, манифестировавшим в возрасте первых 6 месяцев жизни, а также группа пациентов с «мягким» течением СД, сохраненной секрецией инсулина, отсутствием диабетогенных аутоантител.

При исследовании ДНК пациентов использовался метод полноэкзомного секвенирования. Для изучения

кодирующих регионов генов МСД была разработана NGS панель, включающая 35 генов: 13 генов MODY (*HNF4A* (MODY1), *GCK* (MODY2), *HNF1A* (MODY3), *PDX1* (MODY4), *HNF1B* (MODY5), *NEUROD1* (MODY6), *KLF11* (MODY7), *CEL* (MODY8), *PAX4* (MODY9), *INS* (MODY10), *BLK* (MODY11), *ABCC8* (MODY12), и *KCNJ11* (MODY13)) и 22 гена «неонатального» диабета и синдромальных форм диабета (*EIF2AK3*, *RFX6*, *WFS1*, *ZFP57*, *FOXP3*, *AKT2*, *PPARG*, *APPL1*, *PTF1A*, *GATA4*, *GATA6*, *GLIS3*, *IER3IP1*, *LMNA*, *NEUROG3*, *PAX6*, *PLAGL1*, *SLC19A2*, *SLC2A2*, *SH2B1*, *SERPINB4*, и *MADD*). Биоинформационный фильтринг результатов секвенирования образцов ДНК проводили с помощью программ: «GeneTalk» (<https://www.gene-talk>).

de/), «UGENE» (<http://ugene.unipro.ru/>), «Ion Reporter» (<https://ionreporter.lifetechnologies.com/ir/>), «SIFT» (<http://sift.jcvi.org/>), «PolyPhen2» (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>), «PAPi» (<http://papi.unipr.it/>). Для ранжирования вариантов использована оригинальная ранее разработанная метрика. Верификацию полученных данных проводили методом прямого секвенирования на приборе «Genetic Analyzer 3500» («Applied Biosystems», США).

## Результаты

Были исследованы образцы ДНК 60 пациентов с подозрением на наличие МСД. МСД был подтвержден у 55% (n=33). Из 12 пациентов, у которых были проанализированы родители, только у одного была обнаружена мутация *de novo*. Из 33 пациентов 27 (81,8%) имели мутации (варианты) в *MODY* генах. Наиболее часто встречались варианты в гене *GCK* – 31,6% (n=19). Спектр вариантов в гене *GCK* включал 13 миссенс мутаций, 3 нонсенс, 4 со сдвигом рамки считывания и 1 в промоторной области. Были также выявлены варианты в других генах: *HNFI1A* (n=3), *WFS1* (n=4), *PAX4* (n=1), *EIF2AK3* (n=1, гомозигота), *GATA6* (n=1), *KCNJ11* (n=1), *ABCC8* (n=1), *SLC19A2* (n=2), *BLK* (n=2). Среди 38 детектируемых вариантов 15 оказались новыми. Интересно отметить наличие генетических вариантов у трех пациентов сразу в нескольких генах. Так, у одного были выявлены варианты в *GCK* и *HNFI1A*, у второго – в *GCK* и *BLK* и у третьего – в *GCK*, *WFS1* и *BLK*. Кумулятивный эффект патогенных вариантов отсутствовал, все они имели клиническую картину *MODY2*.

## Заключение

Частота выявляемости моногенных форм СД в нашей группе выше, чем описано в литературе, и составляет 55%. Высокая выявляемость может быть связана как с особенностями нашей группы, так и с использованным биоинформатическим подходом. Отсутствие кумулятивного эффекта патогенных вариантов в разных генах, скорее всего, связано с разным возрастом манифестации различных форм *MODY*. Молекулярно-генетическая верификация диагноза с использованием NGS секвенирования позволяет повысить эффективность диагностики (с 30 до 55%), прогнозировать течение заболевания и вносить коррективы в лечение СД.

## Литература/References

1. Barbitoff Y.A., Polev D.E., Shcherbakova I.V., Serebryakova E.A., Kiselev A.M., Kostareva A.A., Glotov O.S., Predeus A.V. Systematic dissection of biases in whole-exome and whole-genome sequencing reveals major determinants of coding sequence coverage. *Sci Rep* 2020; 10: 2057. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59026-y>
2. Barbitoff Y.A., Bezdvornyykh I.V., Polev D.E., Serebryakova E.A., Glotov A.S., Glotov O.S., Predeus A.V. Catching hidden variation: systematic correction of reference minor alleles in clinical variant calling. *Genetics in Medicine*. 2018; 20(3):360–364. doi: 10.1038/gim.2017.168.
3. Glotov O.S., Serebryakova E.A., Turkunova M.S., Efimova O.A., Glotov A.S., Barbitoff Y.A., Nasykhova Y.A., Predeus A.V., Polev D.E., Fedyakov M.A., Polyakova I.V., Ivashchenko T.E., Shved N.Yu., Shabanova E.S., Romanova O.M., Sarana A.M., Pendina A.A., Scherbak S.G., Musina E.V., Petrovskaya-Kaminskaya A.V., Lonishin L.R., Ditkovskaya L.V., Zhelenina L.A., Tyrtova L.V., Berseneva O.S., Suspitsin E.N., Bashnina E.B., Baranov V.S. Whole-exome sequencing for monogenic diabetes in Russian children reveals wide spectrum of genetic variants in *MODY*-related and unrelated genes. *Molecular Medicine Reports*, 2019 ;20(6):4905–4914. doi: 10.3892/mmr.2019.10751