

ПОИСК ГЕРМИНАЛЬНЫХ МУТАЦИЙ ПРИ ИНСУЛИНПРОДУЦИРУЮЩЕЙ ОПУХОЛИ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ



© М.Ю. Юкина^{1*}, Е.А. Трошина¹, Н.Ф. Нуралиева¹, С.В. Попов¹, О.Ю. Реброва^{1,2}, Н.Г. Мокрышева¹

¹Национальный медицинский исследовательский центр эндокринологии, Москва, Россия

²Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

Обоснование. Известно, что инсулинома приблизительно в 5% случаев ассоциирована с синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН1), при котором прогноз и тактика ведения больных детально разработаны. Установление диагноза при МЭН1 часто не требует генетического подтверждения, поскольку синдром имеет характерную клиническую картину. В то же время в литературе встречается комбинация данной опухоли с другими наследственными синдромами, которые характеризуются наличием злокачественных новообразований различных локализаций, первично-множественного поражения, гормональных и иных нарушений. Таким образом, актуален поиск генетических причин, обуславливающих развитие инсулиномы, помимо МЭН1.

Цель. Оценить частоты выявления генетических причин развития инсулинпродуцирующих опухолей поджелудочной железы, помимо МЭН1; проанализировать фенотипические особенности пациентов с такими новообразованиями.

Материалы и методы. На основании анализа литературы за период до 2020 г. разработана панель, включающая кодирующие области 10 генов (*MEN1*, *VHL*, *TSC1*, *TSC2*, *KRAS*, *YY1*, *CDKN2A*, *MLH1*, *ADCY1*, *CACNA2D2*), вовлеченных в развитие инсулиномы. 32 пациентам с диагнозом инсулиномы, верифицированным при патоморфологическом исследовании, с отсутствием клинических и/или генетических данных, указывающих на синдром МЭН1, проведено секвенирование панели генов с последующим анализом выявленных генетических вариантов и фенотипических данных, полученных из медицинской документации больных. У одного пациента выполнено дополнительное молекулярно-генетическое исследование панели «Эндом», выявляющей генетические варианты кодирующих регионов 377 генов, связанных с эндокринными заболеваниями.

Результаты. У 8 пациентов (25%, 95% ДИ (11%; 43%)) выявлено 9 вариантов, которые не были классифицированы как доброкачественные, причем у одного пациента выявлено два варианта в гене *TSC2*. Частоты генетических вариантов: *TSC2* — 13%, 95% ДИ (4%; 29%), *MEN1* — 6% (1%; 21%), *MLH1* — 3% (0%; 16%), *CDKN2A/P16^{INK4A}* — 3% (0%; 16%). При сравнении пациентов с выявленными вариантами, за исключением доброкачественных (n=8), и пациентов без мутации или с доброкачественной мутацией (n=24) различий по степени дифференцировки Grade, индексу пролиферации Ki67, частоте наличия сопутствующих опухолей, отягощенного анамнеза, множественного поражения поджелудочной железы или рецидива инсулиномы не выявлено, однако обнаружены статистические тенденции к меньшим значениям возраста пациента при манифестации инсулиномы и большим значениям размера опухоли у пациентов с герминальной мутацией. У пациента, которому выполнено дополнительное молекулярно-генетическое исследование с помощью новой панели «Эндом», выявлены ранее не описанные варианты генов (*APC* и *KIF1B*), ассоциированные с различными спорадическими опухолями, в том числе с эндокринными.

Заключение. Разработана панель из 10 генов, варианты мутаций которых ассоциированы с инсулиномой. Определена относительно высокая встречаемость генетически детерминированной инсулиномы (25% случаев), в половине случаев — на фоне туберозного склероза. Мы считаем актуальной оценку эффективности генетического тестирования для пациентов с инсулиномой. Мы полагаем, в первую очередь должны быть обследованы больные с высоким риском наследственной патологии: при манифестации заболевания в молодом возрасте и наличии опухоли больших размеров. Выявление генетической мутации позволит определить прогноз заболевания, оптимизировать алгоритм наблюдения с целью своевременного выявления сопутствующих заболеваний-компонентов наследственного синдрома, проводить генетическое консультирование семьи.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: инсулинома; генетические предикторы; герминальные мутации; наследственные синдромы.

SEARCH FOR GERMINAL MUTATIONS IN INSULIN-PRODUCING PANCREATIC TUMORS

© Marina Yu. Yukina^{1*}, Ekaterina A. Troshina¹, Nurana F. Nuralieva¹, Sergey V. Popov¹, Olga Yu. Rebrova^{1,2}, Natalia G. Mokrysheva¹

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russia

²National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.



BACKGROUND: It is known that insulinoma in approximately 5% of cases is associated with multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome (MEN1), in which the prognosis and management tactics of patients have been developed in detail. The diagnosis of MEN1 often does not require genetic confirmation, since the syndrome has a typical clinical picture. At the same time, a combination of this tumor with other hereditary syndromes is found in the literature, which are characterized by the presence of malignant neoplasms of various localizations, primary multiple lesions, hormonal and other disorders. Thus, it is relevant to search for the genetic causes that cause the development of insulinoma, in addition to MEN1.

AIM: to evaluate the frequency of detection of genetic causes of the development of insulin-producing tumors of the pancreas, in addition to MEN1; to analyze the phenotypic characteristics of patients with such tumors.

MATERIALS AND METHODS: Based on the analysis of literature for the period up to 2020, a panel has been developed that includes coding regions of 10 genes (*MEN1*, *VHL*, *TSC1*, *TSC2*, *KRAS*, *YY1*, *CDKN2A*, *MLH1*, *ADCY1*, *CACNA2D2*) involved in the development of insulinoma. In 32 patients diagnosed with insulinoma, verified by pathomorphological examination, with the absence of clinical and/or genetic data indicating MEN1 syndrome, a panel of genes was sequenced with subsequent analysis of the identified genetic variants and phenotypic data obtained from the medical records of patients. In one patient, an additional molecular genetic study of the «Endom» panel was performed, revealing genetic variants of coding regions of 377 genes associated with endocrine diseases.

RESULTS: In 8 patients (25%, 95% CI (11%; 43%)), 9 variants of mutations were identified that were not classified as benign, at that two mutations in the *TSC2* gene were detected in one patient. Frequencies of genetic variants: *TSC2* — 13%, 95% CI (4%; 29%), *MEN1* — 6% (1%; 21%), *MLH1* — 3% (0%; 16%), *CDKN2A/P16^{INK4A}* — 3% (0%; 16%). When comparing patients with the identified mutation, with the exception of benign (n=8), and patients without mutation or with a benign mutation (n=24), there were no differences in the Grade (degree of differentiation), Ki67 proliferation index, frequency of concomitant tumors, burdened history, multiple pancreatic lesions or recurrence of insulinoma, however, patients with germinal mutation were found at the level of statistical trend to be younger at the manifestation of insulinoma and to have bigger tumors. In a patient who underwent an additional molecular genetic study using the new «Endome» panel, previously undescribed gene variants (*APC* and *KIF1B*) associated with various sporadic tumors, including endocrine ones, were identified.

CONCLUSION: A panel of 10 genes has been developed, mutations of which are associated with insulinoma. A relatively high incidence of genetically determined insulinoma was determined (25% of cases), in half of cases — against the background of tuberous sclerosis. We consider it relevant to evaluate the effectiveness of genetic testing for patients with insulinoma. We believe that, first of all, patients with a high risk of hereditary pathology should be examined: with the manifestation of the disease at a young age and with a large tumor. The identification of a genetic mutation will make it possible to determine the prognosis of the disease, optimize the monitoring algorithm in order to timely identify concomitant diseases-components of the hereditary syndrome, and conduct genetic counseling of the family.

KEYWORDS: insulinoma; genetic predictors; germinal mutations; hereditary syndromes.

ВВЕДЕНИЕ

В практике эндокринолога основной причиной недиабетической гипогликемии (НДГ) является инсулинпродуцирующая опухоль поджелудочной железы (ПЖ) — инсулинома. Примерно в 5% случаев заболевание ассоциировано с синдромом множественных эндокринных неоплазий 1 типа (МЭН1), обусловленным нуклеотидной последовательности в гене *MEN1* [1–3]. В литературе описаны единичные клинические случаи инсулиномы при других наследственных синдромах — болезни фон Гиппеля–Линдау (вследствие мутации в гене *VHL*) и tuberозного склероза (вследствие мутации в генах *TSC1* и *TSC2*) [4–26]. Немало публикаций относительно найденных соматических мутаций в опухолях не только известных вышеперечисленных генов, но и таких, как *KRAS*, *YY1*, *CDKN2A*, *MLH1*, *ADCY1*, *CACNA2D2*, которые также, предположительно, ответственны за опухолегенез и гиперсекрецию инсулина при данной опухоли (табл. 1) [27]. Могут ли гены, мутации в которых определялись ранее только как соматические, являться причиной синдромальных наследственных нарушений, авторами не уточняется. Как мы знаем, высокая значимость генетического обследования для пациента обусловлена тем, что при известной герминальной мутации прогноз наследственного заболевания, как правило, уже изучен, а тактика ведения больных хорошо разработана. В связи с чем у пациентов с предположительно спорадической инсулиномой, т.е. не ассоциированной с известными наследственными син-

дромами, актуален поиск герминальных мутаций, обуславливающих развитие опухоли.

Большинство экспертов полагаются на несколько основных признаков, которые могут обуславливать наследственную природу опухоли (не только инсулиномы): отягощенный семейный анамнез и анамнез пациента относительно опухолевой патологии (особенно синдромальной), молодой возраст пациента, мультифокальность опухоли, рецидив после оперативного вмешательства, метастатическая опухоль [28].

С учетом вышесказанного, актуальны поиск новых генетических предикторов наследственной инсулиномы, в частности из числа генов, ранее ассоциированных только с соматическими мутациями, и оценка частоты выявления уже известных генетически детерминированных синдромов у пациентов с инсулиномой, помимо МЭН1.

Цель — оценить частоты выявления генетических причин развития инсулинпродуцирующих опухолей поджелудочной железы, помимо МЭН1; проанализировать фенотипические особенности пациентов с такими опухолями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для составления панели генов-кандидатов проводился анализ зарубежных и российских статей, опубликованных в базе PubMed и Elibrary до 31.12.20 г., включающих следующие ключевые слова: «insulinoma», «germinal mutation», «somatic mutation», «hereditary syndrome».

Таблица 1. Генетические дефекты, ассоциированные с инсулиномой
Table 1. Genetic defects associated with insulinoma

Наследственный синдром ¹	Распространенность ²	ОМIM ¹	Тип наследования ²	Ген	Кодируемый протеин	Вид генетического нарушения	Предполагаемая роль в tumorigenезе/ гиперсекреции инсулина при инсулиноме	Прочие состояния, с которыми могут быть ассоциированы дефекты в гене	Особенности инсулиномы при генетическом дефекте	Ссылки
Множественная эндокринная неоплазия 1 типа (МЭН1)	1/30000	131100	АД	<i>MEN1</i>	Ядерный протеин менин, (опухольный супрессор)	Герминальная мутация	Инактивация менина, регулирующего клеточную пролиферацию, репарацию ДНК и т.д.	Аденомы гипофиза и околощитовидных желез, НЭО ПЖ, опухоли щитовидной железы, надпочечников, кишечника, карциномы легких и др. органов, ангиофибромы, коллагеномы, липомы	5% всех случаев И. В 58% — первое проявление МЭН1; в 76–89% — множественные; в 8,1% — 3; диагностируются в молодом возрасте (30–35 лет ²)	4, 5, 29–38
Синдром фон Гиппеля–Линдау (VHL-синдром)	1/39000–91000	193300	АД	<i>VHL</i>	Опухолевый супрессор VHL	Герминальная мутация	Нарушение обмена кислорода в клетках, усиление образования факторов роста	НЭО и кисты ПЖ, карциномы и поликистоз почек, кисты печени, гемангиобластомы ЦНС и сетчатки, феохромоцитома, др. опухоли	Описан единственный случай	4–11
Туберозный склероз	1–5/10000	191100	АД	<i>TSC1</i>	Гамартин	Герминальная мутация	Изменения в сигнальном пути mTOR	Поражение ЦНС (корковые и субependимальные опухоли, атрофия коры ГМ, гидроцефалия, мальформация Арнольда–Киари, судорожные пароксизмы, ОНМК; аденомы гипофиза, 3 опухоли почек и ГМ, ангиомиолипомы; Д гамартомы и опухоли почек, легких, ПЖ низкой степени 3; изменения со стороны кожи (гипомеланотические макулы, ангиофибромы, «шагреневая кожа» и др.)	Всего описано 14 случаев, не манифестирует как первое проявление заболевания. И, как правило, Д. Только в одном [39] из описанных случаев указана обнаруженная мутация (в гене <i>TSC2</i>), в остальных публикациях мутация не уточняется	4, 10, 12–26, 39–44
		613254		<i>TSC2</i>	Туберин					
-	-	-	-	<i>KRAS</i> (онкоген)	ГТФаза <i>KRAS</i> ³	Соматические мутации	Активация серин/треонин-киназного каскада → нарушение клеточной пролиферации и дифференцировки	Соматические мутации: разные виды рака. Герминальные мутации: синдромы Нунан (АД или АД тип наследования), Костелло (АД тип наследования или НП), кардио-фацио-кутанеальный синдром (АД тип наследования)	Мутации обнаружены в 4/6 3 и 2/8 ДИ [45]; 5/15 ДИ, 0/7 3И, 1/1 печеночных метастазов [46]	45–52
-	-	-	-	<i>YY1</i>	Транскрипционный фактор YY1	Соматическая мутация	↑ транскрипционной активности YY1 усилением экспрессии <i>IDH3A</i> , <i>UCP2</i> , <i>COL1A1</i> ⁴ (?), <i>ADCY1</i> , <i>CACNA2D2</i> ⁵ (см. ниже)	Гиперэкспрессия YY1 коррелирует с неконтролируемой клеточной пролиферацией, опухоорогенезом и метастатическим потенциалом при многих видах 3 новообразований, в т. ч. эндокринных органов	До 33% спорадических И	53–60
-	-	-	-	<i>ADCY1</i>	Нейронспецифическая аденилат-циклаза <i>ADCY1</i> ⁶	Соматические изменения (усиление экспрессии)	Активация <i>ADCY1</i> при увеличении концентрации Ca^{2+} → ускорение синтеза цАМФ → поступление Ca^{2+} в клетку ⁷ → стимуляция секреции инсулина (вне зависимости от уровня глюкозы), пролиферация β-клеток	Герминальные гомозиготные варианты: наследственная тугоухость (АР тип наследования)	Усиление экспрессии <i>ADCY1</i> выявлено в 5/5 И с вариантами в YY1 и не выявлено в 6/6 И без вариантов в YY1	61

Продолжение таблицы 1

Наследственный синдром ¹	Распространенность ²	ОМIM ¹	Тип наследования ²	Ген	Кодируемый белок	Вид генетического нарушения	Предполагаемая роль в тулорогенезе/ гиперсекреции инсулина при инсулиноме	Прочие состояния, с которыми могут быть ассоциированы дефекты в гене	Особенности инсулиномы при генетическом дефекте	Ссылки
	-	-	-	<i>SACNA2D2</i>	Субединица потенциал-управляемых кальциевых каналов <i>SACNA2D2</i>	Соматические изменения (усиление экспрессии)	↑ концентрации Ca^{2+} в β -клетке → хроническая активация эктопической нейрональной ADCY1	Герминальная мутация: эпиплетическая энцефалопатия (АР тип наследования)	Усиление экспрессии <i>SACNA2D2</i> выявлено в 5/5 И с вариантами в YU1 и не выявлено в 6/6 И без вариантов в YU1	55, 62
	-	-	-	<i>CDKN2A / P16^{INK4a}</i> (онкосупрессор)	Протеин p16 (ингибитор циклин-зависимой киназы CDK4 ³)	Соматические изменения: Гомозиготная делеция Аберрантное метилирование промотора	Инактивация <i>CDKN2A</i> → остановка клеточного цикла на стадии G1	Герминальная мутация: наследственные меланомы, рак ПЖ, молочной железы, нейррофиброма, плоскоклеточный рак головы и шеи, опухоли нервной системы (АД тип наследования) — Ли-Фраумени-подобный синдром	0/14 ДИ и 1/3 ЗИ [63]; 0/9 ДИ и 0/1 ЗИ [64] 2/14 ДИ и 0/3 ЗИ [63]; 0/9 ДИ и 0/1 ЗИ [64]	63–69
	-	-	-	<i>MLH1</i> (онкосупрессор)	Белок репарации MLH1	Соматические изменения: метилирование промотора потеря гетерозиготности	сайленсинг гена → микросателлитная нестабильность ДНК	Герминальная мутация: семейный колоректальный рак (синдром Линча; АД тип наследования); у женщин: рак молочной железы	↓ экспрессии белка MLH1 ассоциировано со ЗИ 12/39 ДИ, 3/9 ЗИ 17/41 ДИ, 9/12 ЗИ	70–72

¹ Если применимо.² Приблизительно на 10 лет раньше, чем при спорадической опухоли.³ Относится к протеинам Ras, которые играют важную роль в сигнальных путях, контролирующих пролиферацию, дифференцировку и старение [73].⁴ Экспрессия *IDH3A*, *UCP2*, *COL1A1* в норме контролируется YU1. *IDH3A* кодирует изоцитрат-дегидрогеназу, увеличение экспрессии которой обнаружено при глоблостоме; *UCP2* кодирует митохондриальный разобщающий белок 2, гиперэкспрессия которого имеет место при многих видах рака; кроме того, варианты данного гена обнаружены у пациентов с врожденным гиперинсулинизмом; *COL1A1* кодирует белок альфа1-цепи коллагена I типа, клеточная экспрессия которого ассоциирована с риском метастазирования при раке молочной железы.⁵ Экспрессия *ADCY1* и *SACNA2D2* в норме не регулируются YU1.⁶ Не экспрессируется нормальной панкреатической тканью.⁷ В норме секреция инсулина стимулируется при увеличении внутриклеточной концентрации Ca^{2+} при поступлении пищи в желудочно-кишечный тракт, а также в процессе метаболизма глюкозы в β -клетках. При уменьшении уровня гликемии секреция инсулина подавляется.⁸ Участвует в клеточном цикле.**Примечание:** И — инсулинома, Д — доброкачественные, З — злокачественные, ↑ — увеличение, ↓ — уменьшение, АД — аутосомно-доминантный, АР — аутосомно-рецессивный, ЦНС — центральная нервная система, ГМ — головной мозг, НП — не применимо.^{*} Термин «злокачественная инсулинома» неправомошен. Согласно классификации Всемирной организации здравоохранения 2019 г., после патоморфологического исследования НЭО классифицируются по степени их дифференцировки, принимается во внимание также наличие метастазов и инвазия в соседние органы. Однако в данной статье для удобства восприятия текста мы будем пользоваться данным термином.**Note:** I — insulinoma, B — benign, M — malignant, ↑ — increase, ↓ — decrease, AD — autosomal dominant, AR — autosomal recessive, CNS — central nervous system, Br — brain, NA — not applicable.[#] The term "malignant insulinoma" is invalid. According to the classification of the World Health Organization in 2019, after a pathomorphological study, NET are classified according to the degree of their differentiation, the presence of metastases and invasion of neighboring organs is also taken into account. However, in this article, for the convenience of reading the text, we will use this term.

Место и время проведения исследования

Источник случаев: пациенты, проходившие обследование в ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ в период с 2017 по 2022 гг.

Изучаемые популяции

Набор пациентов проводился на основании следующих критериев включения: мужской или женский пол; возраст 18 лет и старше, подтвержденный данными патоморфологического исследования диагноз инсулин-продуцирующей опухоли (коды МКБ: C25.0–C25.4, C25.7–C25.8), отсутствие клинических или генетических данных за МЭН-1. Критериев исключения не было.

Способ формирования выборки из изучаемой популяции (или нескольких выборок из нескольких изучаемых популяций)

Использован сплошной способ формирования выборки.

Дизайн исследования

Данное исследование является наблюдательным одномоментным сравнительным.

Методы исследования

Выполнялись сбор анамнеза, оценка клинических показателей (возраст на момент обследования, пол, возраст манифестации инсулиномы, проведенное оперативное лечение, наличие рецидива инсулиномы, семейный анамнез, наличие сопутствующих опухолей; при выявлении генетического варианта — клинические проявления, соответствующие возможному генетическому синдрому). У одного пациента не удалось получить информацию о наследственности в связи с полным отсутствием информации о родственниках.

Патоморфологическое исследование.

Результаты патоморфологического исследования были получены из предоставленной пациентами медицинской документации. Проводилась оценка числа инсулинпродуцирующих опухолей, их расположения в пределах ПЖ и размера. Максимальный размер опухоли при наличии нескольких опухолей определялся как максимальный размер наибольшей опухоли.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ).

Результаты ИГХ были получены из предоставленной пациентами медицинской документации. Проводилась оценка степени дифференцировки по классификации Grade и индекса пролиферации Ki67. У одного пациента данные ИГХ были недоступны (пациент не предоставил соответствующую медицинскую документацию).

Молекулярно-генетическое исследование.

У всех включенных больных выполнен забор крови из локтевой вены вне зависимости от приема пищи в пробирки с консервантом этилендиаминтетраацетатом в концентрации 1,2–2,0 мг на 1 мл крови. Геномную ДНК экстрагировали с помощью роботизированной станцией MagNA Pure -96 (Roche (La Roche Ltd)) из периферической крови с использованием набора для

выделения геномной ДНК из цельной крови MagNA Pure 96 DNA and Viral Nucleic Acid Small Volume Kit. Качественную и количественную оценку выделенной ДНК проводили с помощью Quant-iT™ dsDNA HS Assay (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) и спектрофотометра Eppendorf Biospectrometer Fluorescence (Eppendorf AG, Germany) соответственно. Подготовку библиотек ампликонов и обогащение ДНК матрицы проводили в соответствии с протоколами производителей (Roche (La Roche Ltd)). Кастомная панель включала кодирующие области генов: *MEN1*, *VHL*, *TSC1*, *TSC2*, *KRAS*, *YY1*, *CDKN2A*, *MLH1*, *ADCY1*, *CACNA2D2* которые, по научным литературным данным и базе данных из OMIM, были описаны как связанные с развитием инсулиномы. Исследование было проведено методом массового параллельного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) на платформе Illumina методом парно-концевых прочтений (2x150 п.о.). Обработка данных секвенирования проводилась с использованием автоматизированного алгоритма, включающего выравнивание прочтений на референсную последовательность генома человека (HG38), постпроцессинг выравнивания, выявление вариантов и фильтрацию вариантов по качеству, а также аннотацию выявленных вариантов по всем известным транскриптам каждого гена из базы RefSeq с применением компьютерных алгоритмов предсказания патогенности вариантов с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS (SIFT, PolyPhen-2, PROVEAN, CADD и т.д.). Для оценки популяционных частот выявленных вариантов использованы данные международного проекта gnomAD Exomes для экзонных вариантов и базы gnomAD Genomes для интронных вариантов. Для предсказания эффекта изменений в сайтах сплайсинга и прилежащих к сайту сплайсинга интронных участках использованы программы SpliceAI и AdaBoost. Для оценки клинической релевантности выявленных вариантов использованы база данных OMIM, HGMD, специализированные базы данных по отдельным заболеваниям (при наличии) и литературные данные. Заключение о клинической значимости найденных вариантов дано с учетом рекомендаций American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) и российского руководства по интерпретации данных NGS. Анализировались панели, средняя глубина покрытия которых была не менее 70x, процент целевых нуклеотидов с эффективным покрытием >10x — не менее 97%. Стоит отметить, что метод NGS не позволяет достоверно выявлять инсерции и делеции длиной более 10 п.о., варианты в интронных областях (за исключением канонических сайтов сплайсинга), а также варианты в генах, у которых в геноме существует близкий по последовательности паралог (псевдоген). Методика NGS не предназначена для определения фазы пар гетерозиготных мутаций и выявления мутаций в состоянии мозаицизма.

По результатам проведенного секвенирования таргетной панели выполнен анализ генотип-фенотипических особенностей выявленных вариантов на основании данных медицинской документации больных (клинико-анамнестических данных, а также патоморфологии удаленной опухоли).

При дополнительном молекулярно-генетическом исследовании использовалась кастомная панель «Эндом», разработанная в «НМИЦ эндокринологии» в 2020 г. и выявляющая герминальные варианты кодирующих областей 377 генов, связанных с эндокринопатиями: AAAS, ABCA1, ABCC8, ABCD1, ACADM, ACAN, ADAMTSL2, AGL, AGPAT2, AIP, AIRE, AKR1C2, AKT2, ALB, ALDOB, ALG3, ALMS1, ALPL, AMH, AMHR2, ANGPTL3, ANOS1, AP2S1, APC, APOB, AR, ARMC5, ARNT2, ATP6V0A4, ATP6V1B1, ATR, BANF1, BBS1, BBS10, BBS12, BBS2, BBS4, BBS7, BBS9, BLK, BMP1, BMP15, BRCA1, BRCA2, BSCL2, BSND, CACNA1C, CACNA1D, CACNA1H, CASR, CAV1, CAVIN1, CBX2, CCDC8, CDC6, CDC73, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2C, CDKN2D, CDT1, CEL, CENPJ, CEP152, CEP63, CGA, CHD7, CHEK2, CIDEC, CILK1, CLCN5, CLCNKA, CLCNKB, COL1A1, COL1A2, COMP, CPT1A, CPT2, CRTAP, CUL3, CUL7, CYB5A, CYP11A1, CYP11B1, CYP11B2, CYP17A1, CYP24A1, CYP27B1, CYP2R1, DHCR7, DHH, DICER1, DIS3L2, DLK1, DMP1, DMRT1, DNA2, DNMT3L, DRD2, DUOX1, DUOX2, DUOX2A, DUSP6, EGLN1, EGLN2, EGR1, EIF2AK3, EMX2, ENPP1, EPAS1, EPHX2, ESR1, ESR2, ETFA, ETFB, ETFDH, FAH, FAM111A, FBN1, FBP1, FEZF1, FGD1, FGF17, FGF23, FGF8, FGF9, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FH, FKBP10, FKBP4, FLRT3, FOXA2, FOXE1, FOXF2, FOXL2, FOXP3, FSHR, GALNT3, GATA3, GATA6, GCG, GCGR, GCK, GCM2, GH1, GHR, GHRH, GHRHR, GHSR, GLI2, GLIS3, GLUD1, GMNN, GNA11, GNAS, GNRH1, GNRHR, GPC3, H3-3A, H6PD, HADH, HESX1, HK1, HMGA2, HMGCL, HNF1A, HNF1B, HNF4A, HOXA13, HRAS, HS6ST1, HSD11B1, HSD11B2, HSD17B3, HSD3B2, IFITM5, IGF1, IGF1R, IGSF1, IL17RD, INS, INSL3, INSR, IYD, KCNJ1, KCNJ11, KCNJ5, KCNQ1, KDM6A, KIF1B, KISS1, KISS1R, KL, KLF11, KMT2D, LEP, LEPR, LHB, LHCGR, LHX1, LHX3, LHX4, LHX9, LIPA, LIPE, LMNA, LMNB2, LRP5, MAMLD1, MAP3K1, MAX, MC1R, MC2R, MC3R, MC4R, MCM4, MCM9, MDH2, MEN1, MERTK, MET, MID1, MKKS, MKRN3, MKS1, MPI, MRAP, MRPS22, MTOR, MTPP, NEBL, NEUROD1, NF1, NFIX, NFKB2, NIN, NKX2-1, NKX2-5, NNT, NR0B1, NR3C1, NR3C2, NR5A1, NSD1, NSMF, NTRK2, NUP107, OBSL1, ORC1, ORC4, ORC6, OTX2, P3H1, PAPSS2, PAX4, PAX6, PAX8, PCNT, PCSK1, PDX1, PGM1, PHEX, PHOX2B, PIK3CA, PLIN1, PMM2, PNPLA6, POLD1, POLR3A, POLR3B, POMC, POR, POU1F1, PPARG, PPIB, PPP1R3A, PRKAR1A, PRKCA, PROK2, PROKR2, PROP1, PSMB8, PSMC3IP, PTEN, PTF1A, PTGDS, PTH1R, PTTG2, RBBP8, RBM28, RET, RFX6, RNF216, RNPC3, RNU4ATAC, RSP01, RXFP2, SCNN1A, SCNN1B, SCNN1G, SDHA, SDHAF2, SDHB, SDHC, SDHD, SECISBP2, SEMA3A, SERPINF1, SERPINH1, SH2B1, SHH, SIM1, SLC16A1, SLC16A2, SLC25A32, SLC26A3, SLC26A4, SLC2A2, SLC34A1, SLC34A3, SLC52A1, SLC52A2, SLC52A3, SLC5A5, SLC9A3R1, SOHLH1, SOX10, SOX2, SOX3, SOX9, SP7, SPRY4, SRD5A2, SRY, STAR, STAT5B, SUPT3H, TAC3, TACR3, TBC1D4, TBCE, TBX1, TBX19, TG, THRA, THRB, TMEM127, TMEM38B, TP53, TPO, TRAIP, TRH, TRHR, TSHB, TSHR, TSPYL1, TTC8, TTR, TUB, UBR1, UCP2, VDR, VHL, WDR11, WFS1, WNK4, WNT1, WNT4, WRN, WT1, ZFP57, ZFPM2, ZMPSTE24.

Статистический анализ.

Выполнялся с помощью с пакета STATISTICA v. 13 (TIBCO, США). Для количественных признаков в качестве описательных статистик приведены медиана, интерквартильный интервал, минимум и максимум, для качественных — абсолютные и относительные частоты. Для сравнения независимых групп по количественным признакам применялся U-критерий Манна–Уитни (U-тест); по качественным признакам — критерий Фримена–Холтона (КФХ) и двусторонний точный критерий Фишера (ТКФ₂). Доверительные интервалы для относительных

частот вычислялись методом Клоппера–Пирсона. Критический уровень статистической значимости был принят равным 0,05, выполнялась его коррекция на множественную проверку гипотез с использованием поправки Бонферрони. Статистическая тенденция определялась при значениях уровня значимости в интервале от скорректированного порогового уровня значимости до 0,05.

Этическая экспертиза

Исследование одобрено локальным этическим комитетом ФГБУ «НМИЦ эндокринологии» МЗ РФ (протокол №1 от 27.01.2016 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основании проведенного анализа литературы нами разработана панель генов-кандидатов, в которую включено 10 генов: *MEN1*, *VHL*, *TSC1*, *TSC2*, *KRAS*, *YY1*, *CDKN2A*, *MLH1*, *ADCY1*, *CACNA2D2* (табл. 1).

В исследование включены 32 пациента, в т.ч. 22 женщины и 10 мужчин, медианный возраст обследуемых — 41 год (диапазон от 18 до 69 лет). Результаты анамнестического исследования 32 пациентов и молекулярно-генетического исследования 9 пациентов, у которых выявлены различные варианты таргетных генов, представлены в таблицах 2 и 3.

В результате проведенного исследования у 9 пациентов (28%) выявлены 11 генетических вариантов (все гетерозиготные), из них 1 патогенный, 1 вероятно патогенный, 2 неопределенного значения, 5 вероятно доброкачественных и 2 доброкачественных. Выявлены генетические варианты следующих пяти генов (в порядке убывания частот):

- *TSC2* (всего 6, в т.ч. 1 вероятно патогенный, 1 неопределенного значения, 3 вероятно доброкачественные и 1 доброкачественный);
- *MEN1* (всего 2; 1 патогенный, 1 вероятно доброкачественный);
- *MLH1* (1 вероятно доброкачественный);
- *ADCY1* (1 доброкачественный);
- *CDKN2A/P16^{INK4A}* (1 вариант неопределенного значения).

Таким образом, у 8 пациентов из 32 (25%, 95% ДИ 11–43%) выявлены варианты генов, не классифицированные как доброкачественные, со следующими частотами:

- *TSC2* (4/32=13% (4%; 29%))*;
- *MEN1* (2/32=6% (1%; 21%));
- *MLH1* (1/32=3% (0%; 16%));
- *CDKN2A/P16^{INK4A}* (1/32=3% (0%; 16%)).

Подчеркиваем, что доброкачественные варианты не учитывались в данном анализе, так как накопленные мировые данные достоверно свидетельствуют об отсутствии их ассоциации с развитием заболевания.

Далее мы разделили всех обследованных пациентов на две группы:

1. пациенты с герминальной мутацией, за исключением доброкачественных (n=8);
2. пациенты без герминальной мутации или с доброкачественной мутацией (n=24).

Описательная статистика и результаты сравнения групп приведены в табл. 4. Различия групп по изучаемым признакам не обнаружены. Имеются статистические

* У пациента №12 обнаружены две мутации в гене *TSC2*.

Таблица 2. Анамнестические данные пациентов (n=32)

Table 2. Anamnestic data of patients (n=32)

№ пациента	Возраст манифестации НДГ, лет	Возраст на момент обследования, лет	Пол	Объем оперативного вмешательства	Число инсулином	Размеры инсулиномы, см	Локализация инсулиномы	G	Симптомы гипогликемии после операции	Сопутствующая патология	Семейный анамнез
1	24	35 (рецидив)	ж	Энуклеация опухоли	2	1,6×1,0	Хвост ПЖ	НД	Да (рецидив)	Узловой зоб	Неотягощен
				Энуклеация опухоли (рецидив)		1,2×1,0×0,4 (рецидив)	Хвост ПЖ (рецидив)	1 (рецидив)	Нет		
2	55	57	м	Субтотальная резекция ПЖ	1	2,0	Хвост ПЖ	2	Нет	Рак сигмовидной кишки (радикальное лечение). Простые кисты печени. Кисты почек	Неотягощен
3	34	32	ж	Энуклеация опухоли	1	1,0×0,8×0,8	Головка ПЖ	1	Нет	Гормонально-неактивное объемное образование правого надпочечника, узловой зоб	Неотягощен
4	50	51	ж	Экстирпация головки ПЖ	1	1,0×0,9×0,9	Головка ПЖ	1	Нет	Аденоматозный полип желудка	Отец: рак легкого; мать: рак кишечника
5	39	41	ж	Дистальная резекция ПЖ	5	1,3×0,9×1,0; 0,1–0,4 (4 образования)	Хвост ПЖ	1	да	Гормонально-неактивная микроаденома гипофиза, полипы желчного пузыря	врожденные пороки развития у ребенка
				Оперативное лечение не выполнялось	2	1,5×0,9×1,6; 0,8×0,6×0,7	Головка ПЖ, перешеек ПЖ	НП	НП		
6	31	33	м	Энуклеация опухоли	1	1,9×1,6×1,0	Головка ПЖ	1	Нет	Липоматоз подкожной клетчатки предплечий и правого бедра, кисты печени	Дядя по материнской линии: опухоль ГМ
7	38	44	м	Энуклеация опухоли	1	2,0×2,6×1,9 ¹	Головка ПЖ ¹	1	Нет	Метастатическое поражение лимфоузла шеи слева неясного гистогенеза, гормонально- неактивная микроаденома гипофиза, объемное образование в области левого преддверно- улиткового нерва, очаговые структуры легких, кортикальная атрофия лобных, теменных долей больших полушарий ГМ, судорожный синдром, ОНМК, гидроцефалия, когнитивные нарушения, органическое расстройство личности	Мать: смерть в молодом возрасте в связи с несчастным случаем
8	57	61	ж	Энуклеация опухоли	1	2,0×2,0×1,7	Хвост ПЖ	2	Нет	Множественные кистозные образования головки и хвоста ПЖ, кисты почек, печени, узловой зоб	Отец: рак легких, щитовидной железы
9	55	69	ж	Дистальная резекция хвоста ПЖ	1	1,3	Хвост ПЖ	1	Нет	Гормонально-неактивная микроаденома гипофиза, гормонально-неактивное объемное образование правого надпочечника, кисты почек, печени	Отец и мать: заболевание щитовидной железы (название патологии указать затрудняется)

Продолжение таблицы 2

№ пациента	Возраст манифестации НДГ, лет	Возраст на момент обследования, лет	Пол	Объем оперативного вмешательства	Число инсулином	Размеры инсулиномы, см	Локализация инсулиномы	G	Симптомы гипогликемии после операции	Сопутствующая патология	Семейный анамнез
10	51	55	ж	Гастропанкреатодуоденальная резекция	2	1,0	Головка ПЖ	1	Нет	Гормонально-неактивное объемное образование ПЖ, ангиомиолипома левой почки, кисты почек	Дед: рак желудка
						0,4	Головка ПЖ	1			
11	27	29	ж	Панкреатодуоденальная резекция	1	0,5	Головка ПЖ	2	Нет	Нет	Неотягощен
12	16	18	м	Энуклеация опухоли	1	2,5×1,7×2,3	Хвост ПЖ	1	Нет	Нет	Неотягощен
13	23	23	ж	Энуклеация опухоли	1	1,2	Хвост ПЖ	2	Нет	Нет	Бабушка по отцовской линии: рак почки, молочной железы
14	40	41	м	Энуклеация опухоли	1	1,5	Хвост ПЖ	2	Нет	Нет	Неотягощен
15	58	59	ж	Энуклеация опухоли	1	2,3×2,0×2,2	Хвост ПЖ	2	Нет	Кавернозная ангиома правой теменной доли, рак правой почки, липома правой почки, паранеопластические кисты левой почки, объемное образование печени, ОНМК, гидроцефалия, узловый зоб	Неотягощен
16	23	37	м	Субтотальная дистальная резекция ПЖ	1	НД	Хвост ПЖ	НД	Да (через 14 лет)	Нет	Неотягощен
	37			Панкреатодуоденальная резекция, атипичная резекция 7 сегмента печени		0,9	Головка ПЖ (микродуоденотомия; метастаз НЭО в печени)	НД	Да	Очаги в легких, метастазы в печени, узловый зоб	
17	16	26	ж	Энуклеация опухоли	1	2,0×1,5×1,0	Граница хвоста и тела ПЖ	1	Нет	Мальформация Арнольда–Киари 1, узловый зоб	Дед: ОНМК в 49 лет
18	10	32	м	Энуклеация опухоли	3	2,5	Головка ПЖ	3	Да	Нет	Неотягощен
				Резекция головки и тела ПЖ		1,2	НД	3	Да	Нет	
				Субтотальная панкреатэктомия		0,6	НД	3	Да	Нет	
				Гастропанкреатодуоденальная резекция		1,5	Головка ПЖ	1	Да ²	Метастазы в печень и мезогастральные л/у (выявлены через 10 лет после оперативного лечения)	
19	30	48	м	Энуклеация опухоли	1	3,2×3,1×1,3	Тело ПЖ	1	Нет	Папиллярный рак щитовидной железы, кисты почек	Неотягощен
20	26	38	ж	Энуклеация опухоли	1	1,0×0,5×0,4	Головка ПЖ	2	Нет	Полип желудка, киста почки	Неотягощен

№ пациента	Возраст манифестации НДГ, лет	Возраст на момент обследования, лет	Пол	Объем оперативного вмешательства	Число инсулином	Размеры инсулиномы, см	Локализация инсулиномы	G	Симптомы гипогликемии после операции	Сопутствующая патология	Семейный анамнез
21	60	61	ж	Дистальная резекция ПЖ	1	1,4×1,3×1,3	Хвост ПЖ	1	Нет	Киста тела ПЖ, гормонально неактивное объемное образование правого надпочечника, образование сигмовидной кишки, кисты почек, узловой зоб	Неотягощен
22	42	43	ж	Дистальная резекция ПЖ	1	2,0×1,2×1,0	Тело ПЖ	2	Нет	Гепатоцеллюлярная аденома	ССЗ
23	33	34	м	Энуклеация опухоли	1	2,0×1,0×0,5	Хвост ПЖ	2	Нет	Киста печени, полипы желчного пузыря, новообразование кожи неясного генеза	Неотягощен
24	43	44	ж	Энуклеация опухоли	1	1,7×1,3×1,2	Головка ПЖ	1	Нет	Киста почки, липома почки, киста печени	Дед по материнской линии: рак легких
25	50	54	ж	Дистальная резекция ПЖ	1	3,0×2,7×1,5	Хвост ПЖ	2	Нет	Нет	Отец: рак прямой кишки
26	28	29	м	Субтотальная резекция ПЖ	1	1,5	Хвост ПЖ	2	Нет	Нет	Неотягощен
27	25	27	ж	Частичная (атипичная) резекция хвоста ПЖ	2	1,0×0,8×0,5	Хвост ПЖ	1	Нет	Гормонально-неактивное объемное образование правого надпочечника, узловой зоб	Неотягощен
						1,0					
28	54	65	ж	Дистальная резекция хвоста ПЖ	1	1,5	Хвост ПЖ	1	Нет	Образование в затылочной области	ССЗ
29	60	64	ж	Дистальная резекция хвоста ПЖ	2	1,5	Тело ПЖ	2	Нет	Гиперпаратиреоз. Менингиома правого мосто-мозжечкового угла. Субкапсулярная киста правой почки.	Неотягощен
						1,0	Хвост ПЖ				
30	37	37	ж	Энуклеация опухоли	1	1,5	Хвост ПЖ	1	Нет	Параовариальная киста, правосторонний узловой зоб	Отец: рак кожи, ССЗ, мать: рак мозга
31	26	38	ж	Субтотальная резекция ПЖ	1	1,0	Хвост ПЖ	1	Нет	Нет	Тетя: заболевание щитовидной железы (не уточняется)
32	61	63	ж	Резекция SVI печени	1	2,7×3,3×3,5	Печень (метастаз)	2	Да	Нет	Мать: рак желудка
		67		Оперативное лечение не выполнялось	1	1,6×1,1	Хвост ПЖ	НП	НП		

¹ По результатам инструментальных исследований.

² В послеоперационном периоде развился сахарный диабет, инициирована инсулинотерапия аналогами инсулина ультракороткого и длительного действия. На момент включения в исследование аналог инсулина длительного действия был отменен. Наиболее вероятно, имел место сочетанный генез гипогликемий – вследствие гиперсекреции инсулина метастазами, тяжелой органной недостаточности (печеночная; хроническая болезнь почек).

Примечания: м — мужской пол, ж — женский пол, НД — нет данных, НП — не применимо, НДГ — недиабетическая гипогликемия, ПЖ — поджелудочная железа, ССЗ — сердечно-сосудистое заболевание, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения, л/у — лимфатические узлы, ГМ — головной мозг, G — степень дифференцировки по классификации Grade.

Note: m — male, f — female, ND — no data, NA — not applicable, NDH — nondiabetic hypoglycemia, P — pancreas, CVD — cardiovascular disease, S — stroke, l/n — lymph nodes, B — brain, G — degree of differentiation according to the Grade classification.

Таблица 3. Результаты молекулярно-генетического обследования пациентов с выявленными вариантами таргетных генов (n=9)
Table 3. The results of a molecular genetic examination of patients with identified variants of targeted genes (n=9)

№ пациента	Предполагаемый генетический диагноз (дефектный ген)	Вариант	Классификация варианта по данным базы varsome [https://varsome.com/]	Зиготность	Прочие клинические проявления синдрома у пациента
6	Туберозный склероз (<i>TSC2</i>)	с.2098-55C>T (однонуклеотидная замена)	Д	Гетеро-	Липоматоз подкожной клетчатки предплечий и правого бедра
	МЭН1 (<i>MEN1</i>)	с.1201-42 1201-39delGAGT (индел)	Вероятно Д	Гетеро-	
7	Туберозный склероз (<i>TSC2</i>)	с.2071C>T (однонуклеотидная замена)	Неопределенного значения	Гетеро-	Метастатическое поражение лимфоузла шеи слева неясного гистогенеза, гормонально-неактивная микроаденома гипофиза, очаговые структуры легких, кортикальная атрофия лобных, теменных долей больших полушарий ГМ, судорожный синдром, ОНМК, гидроцефалия, когнитивные нарушения, органическое расстройство личности
12	Туберозный склероз (<i>TSC2</i>)	с.1443+37C>T (однонуклеотидная замена)	Вероятно Д	Гетеро-	-
		с.3131+8C>T (однонуклеотидная замена)	Вероятно Д	Гетеро-	
13	Синдром Линча (<i>MLH1</i>)	с.207+41A>G (однонуклеотидная замена)	Вероятно Д	Гетеро-	-
17	Туберозный склероз (<i>TSC2</i>)	с.1883G>A (однонуклеотидная замена)	Вероятно патогенный	Гетеро-	Мальформация Арнольда–Киари
18	МЭН1 (<i>MEN1</i>)	с.284 367del:p.95 123del (не описан)	Патогенный	Гетеро-	Первичный гиперпаратиреоз ¹
20	Наследственная тугоухость (<i>ADCY1</i>)	с.789+114A>G (однонуклеотидная замена)	Д	Гетеро-	-
23	Наследственные формы меланомы, рака ПЖ, молочной железы, саркомы (<i>CDKN2A/P16^{INK4A}</i>)	с.145C>G	Неопределенного значения	Гетеро-	Дерматофиброма
24	Туберозный склероз (<i>TSC2</i>)	с.1258-33G>A (однонуклеотидная замена)	Вероятно Д	Гетеро-	Липома почки

¹ До включения в настоящее исследование проведено позкзонное секвенирование по Сэнгеру гена *MEN1* — мутации не обнаружено.

Примечания: Д — доброкачественный, МЭН1 — множественная эндокринная неоплазия 1 типа, ПЖ — поджелудочная железа, ГМ — головной мозг, ОНМК — острое нарушение мозгового кровообращения.

Note: B — benign, MEN1 — multiple endocrine neoplasia type 1, P — pancreas, B — brain, S — stroke.

Таблица 4. Сравнительный анализ основных характеристик групп
Table 4. Comparative analysis of the main characteristics of the groups

Характеристики	Пациенты с герминальной мутацией (за исключением доброкачественных) n=8	Пациенты без герминальной мутации или с доброкачественной мутацией n=24	P**, тест
Возраст манифестации инсулиномы, лет*	27 [16; 36]	41 [28; 55]	0,015, U-тест
Отягощенный семейный анамнез, n	4***	11	0,685, ТКФ ₂
Максимальный размер опухоли, см*	2,0 [1,8; 2,5]	1,5 [1,0; 1,8]	0,022, U-тест
Множественное поражение ПЖ и/или рецидив инсулиномы, n	1	6	0,646, ТКФ ₂
Сопутствующие опухоли, n	5	18	0,654 ТКФ ₂
Инсулинома, n			
G1	6	12***	0,075, КФХ
G2	1	11	
G3	1	0	
Ki67 (G)			
<3% (G1)	6	12***	0,412, ТКФ ₂
≥3% (G2 и G3)	2	11	

Примечания: ПЖ — поджелудочная железа, G — степень дифференцировки по классификации Grade, Ki67 — индекс пролиферации.

* Me [Q1; Q3].

** Пороговый $P_c=0,05$; $7 \approx 0,007$ (поправка Бонферрони).

*** У одного пациента данные были недоступны.

Note: P — pancreas, G — degree of differentiation according to Grade classification, Ki67 — proliferation index.

тенденции к большим значениям возраста манифестации инсулиномы и меньшим максимальным размерам опухоли в группе 2.

В связи с отсутствием генетических нарушений у двух пациентов с метастатической инсулиномой (№16 и №32) по результатам секвенирования таргетной панели из 10 генов было интересно провести расширенное молекулярно-генетическое исследование у этих пациентов. У пациента №16 образец для дополнительного исследования был недоступен, а пациентке №32 проведено секвенирование расширенной панели «Эндом». Общая характеристика генов, выявленных у пациентки №32, и ее результаты молекулярно-генетического исследования представлены в таблицах 5 и 6 соответственно.

В результате проведенного дополнительного исследования у пациента №32 выявлены ранее не описанные варианты генов (*APC* с.5473G>T и *KIF1B* с.2882G>A), ассоциированные с различными спорадическими опухолями, в том числе с эндокринными, но не с наследственной инсулиномой.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время генетический скрининг заболеваний, ассоциированных с инсулиномой, в России не проводится или в лучшем случае ограничивается исследованием гена *MEN1*. Результаты нашей работы предполагают необходимость генетического обследования не только для исключения МЭН1, но и расширения спектра исследуемых генов.

Так, в общей когорте пациентов встречались варианты генов *TSC2*, *MEN1*, *MLH1*, *CDKN2A/P16^{INK4A}*. При этом важно отметить, что результаты нашей работы не отражают истинную частоту встречаемости МЭН1 у пациентов с инсулиномой, так как критерием включения

в настоящее исследование было отсутствие признаков синдрома МЭН1 и в первую очередь — отсутствие главного его компонента — первичного гиперпаратиреоза. Как бы то ни было, частота синдрома МЭН1 в обследованной когорте сопоставима с литературными данными (5%) [2, 3, 82].

У половины пациентов с наличием герминальной мутации (в общей когорте n=4, 13%) выявлены варианты (однонуклеотидные замены) в гене *TSC2* (не классифицированные как доброкачественные), это немногим меньше общего числа случаев, описанных в мировой литературе [16–22, 25, 39–44]. В связи с малочисленностью описанных ранее случаев в целом утверждение о неопределенном и вероятно доброкачественном значении выявленных вариантов можно поставить под серьезное сомнение. А наличие компонентов синдрома у пациента и у его родственников еще раз подтверждает этот факт. Таким образом, мы с большой долей уверенности можем предполагать наличие у пациентов туберозного склероза.

В связи с этим важно отметить, что с течением времени, по мере накопления новых клинических данных, вариант может быть «переклассифицирован». Так, на момент получения результатов генетического тестирования пациента №17 в 2020 г. вариант расценивался как «неопределенного значения», однако на момент подготовки статьи к публикации в 2023 г. его статус изменился на «вероятно патогенный».

У одного пациента (№12) инсулинома была единственным проявлением синдрома, у троих (№6, 17 и 24) — ведущим, а у больного №7 отмечались выраженные неврологические нарушения, характерные для туберозного склероза. С учетом относительно молодого возраста пациентов № 6, 12, 17 и 24 мы можем предполагать, что такие и другие нарушения могут проявиться у них в будущем.

Таблица 5. Общая характеристика генов, выявленных у пациентки №32 с помощью панели «Эндом»

Table 5. General characteristics of genes identified in patient No. 32 using the «Endom» panel

Ген	Наследственный синдром/патологическое состояние	Распространенность наследственного синдрома*	OMIM*	Тип наследования*	Кодируемый протеин	Вид генетического нарушения	Предполагаемая роль в опухоленезе	Компоненты синдрома*	Ссылки
<i>KIF1B</i> (локус <i>KIF1B</i> — онко-прессор)	Болезнь Шарко–Мари–Тута 2A1 типа	< 1 / 1000000	118210	АД	Кинезино-подобный белок KIF1B (содержит субъединицы α и β)	Герминальная мутация	-	Прогрессирующая слабость и атрофия дистальных мышц конечностей, снижение сухожильных рефлексов, деформация стоп и кистей, сенсорные нарушения	74, 75
	Феохромоцитома, парагангиома	-	-	-		Соматические мутации	Нарушение апоптоза	-	76
	Нейробластома	-	-	-		Потеря гетерозиготности (локуса <i>KIF1B</i>) в ткани			77
<i>APC</i>	Семейный аденоматозный полипоз	1–9 / 100000	175100	АД	Белок аденоматозного полипоза толстой кишки	Герминальная мутация	Нарушения регуляции wnt-сигнального пути	Остеомы черепа и нижней челюсти, аномалии зубов и фибромы на волосистой части головы, плечах, руках и спине в рамках синдрома Гарднера	78, 79
	Спорадический колоректальный рак	-	-	-		Соматические мутации		-	80
	Спорадические гастроэнтеро-панкреатические НЭО ¹	-	-	-		Потеря метилирования с нарушением экспрессии в ткани		-	81

¹ В исследование включено 26 образцов ткани инсулиномы.

* Если применимо.

Примечания: OMIM — Online Mendelian Inheritance in Man, АД — аутомно-доминантный, НЭО — нейроэндокринные опухоли.

Note: OMIM — Online Mendelian Inheritance in Man, AD — autosomal dominant, NET — neuroendocrine tumors.

Таблица 6. Результаты молекулярно-генетического исследования пациентки №32 с помощью панели «Эндом»

Table 6. Results of a molecular genetic study of patient No. 32 using the «Endom» panel

Предполагаемый генетический диагноз (дефектный ген)	Вариант	Классификация варианта по данным базы varsome [https://varsome.com/]	Зиготность	Прочие клинические проявления синдрома у пациента
Болезнь Шарко–Мари–Тута 2A1 типа (<i>KIF1B</i>)	c.2882G>A; не описан	Неопределенного значения	Гетеро-	Выраженная слабость в нижних конечностях
Семейный аденоматозный полипоз (<i>APC</i>)	c.5473G>T; не описан	Неопределенного значения	Гетеро-	Колоноскопия не проводилась

Также в нашем исследовании, как и по данным литературы [17–22, 25, 39–44], инсулинома у пациентов с предположительным диагнозом «туберозный склероз» была доброкачественной (степень дифференцировки G1).

Варианты гена *MEN1* обнаружены у двух пациентов обследованной когорты. При этом у пациента №6 выявленный вариант классифицирован как вероятно доброкачественный и сочетался с доброкачественным вариантом с.2098-55C>T в гене *TSC2*. Никаких значимых клинических признаков МЭН1 у пациента не было, но отмечалось наличие множественных образований кожи — предположительно липом, которые могут встречаться при МЭН1 [83].

Генетический вариант с.284 367del:p.95 123del в гене *MEN1* у пациента №18 является патогенным и описан впервые. Особенностью данного клинического случая является манифестация множественной злокачественной инсулиномы в детском возрасте с развитием гипогликемического синдрома, резистентного к терапии диазоксидом. Примечательно, что пациенту №18 ранее выполнялся безуспешный поиск вариантов в гене *MEN1* методом сэнгеровского поззонного секвенирования, в связи с чем он не противоречил «критериям включения» нашего исследования.

Вместе с тем у ряда пациентов с фенотипом МЭН, но без первичного гиперпаратиреоза (с аденомой гипофиза (n=3: №5, 7 и 9)), вариантов в гене *MEN1* не были обнаружены. Эти данные согласуются с результатами исследования других научных групп: приблизительно у 5–10% пациентов с фенотипическими компонентами МЭН1 не выявляется никаких мутаций в гене *MEN1* [84–86]. Для таких случаев в будущем целесообразно расширить таргетную генетическую панель зондов, включив в нее гены, герминальные мутации в которых ответственны за фенотип синдрома: *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN2B*, *CDKN2C*, *CDC73*, *CASR*, *RET* и *AIP* [87].

Остальные выявленные нами герминальные варианты ранее были описаны в литературе только как соматические. Так, у пациентки №13 выявлен вариант гена *MLH1*, признаков синдрома Линча у самой больной не было (с учетом результата генетического анализа пациентке проведено обследование для исключения колоректального рака и рака молочной железы — не обнаружены), но наследственность отягощена по раку молочной железы. В сообщении Nance M.E. и соавт. [88] описан случай инсулиномы в рамках генетически доказанного МЭН1 и синдрома Линча у брата пробанда, что свидетельствует о возможной взаимосвязи генов *MEN1* и *MLH1*; в пользу данного предположения свидетельствует случай развития соматической мутации (с.1546_1547insC) в *MEN1* (в ткани аденомы гипофиза) у пациента с синдромом Линча [89].

Так же, как и у пациента №13, у пациентов №20 и 23 значимых клинических признаков, ассоциированных с герминальной мутацией в генах *ADCY1* и *CDKN2A/P16^{INK4A}*, выявлено не было. Так, согласно литературным данным, в ткани опухоли с соматической мутацией гена *YY1* отмечается усиление экспрессии гена *ADCY1* [56]. Однако у пациента №20 изменений в гене *YY1* не обнаружено. Также больной не сообщал о нарушении слуха, с которым, по данным литературы, ассоциирован вариант (с.3112C>T (p.Arg1038*)) в гене *ADCY1* [61]. Возможно дан-

ные герминальные варианты, при которых описаны достаточно тяжелые фенотипические проявления, у наших пациентов манифестируют не полностью и проявляются только в виде инсулин-продуцирующей опухоли. Следовательно, клиническое значение выявленных изменений требует уточнения.

По аналогии клиническое уточнение требуется и для пациента №32. Более того, об ассоциации изменений в *KIF1B* с инсулиномой ранее не сообщалось, а обнаруженные мутации (*APC* с.5473G>T и *KIF1B* с.2882G>A) описаны нами впервые. Примечательно, что патогенные мутации гена *KIF1B* вызывают развитие болезни Шарко–Мари–Тута 2A1 типа, в то время как пациентка жаловалась на выраженную слабость в нижних конечностях (является одним из клинических проявлений данной патологии) [75]. Если о соматических изменениях гена *APC* в гастроэнтеропанкреатических НЭО, включая инсулиному, ранее сообщалось в литературе [81], то герминальная мутация у пациента с инсулинпродуцирующей опухолью нами описана впервые. Учитывая ассоциацию варианта *APC* с семейным аденоматозным полипозом, пациентке рекомендовано проведение колоноскопии. У больной отягощен наследственный анамнез по раку желудка (относительно семейного аденоматозного полипоза родственники не обследовались).

Таким образом, в нашем исследовании у 28% пациентов с инсулиномой выявлены гетерозиготные герминальные мутации, и у 4 из 7 из них встречался отягощенный семейный анамнез, ассоциированный с синдромальной патологией. Учитывая полученные результаты, мы считаем крайне актуальным внедрение генетического тестирования для пациентов с инсулиномой. В первую очередь должны быть обследованы больные с высоким риском наследственной патологии, а именно: молодого возраста и с большим размером опухоли. Выявление генетической мутации позволит определить прогноз заболевания, оптимизировать алгоритм наблюдения с целью своевременного выявления сопутствующих заболеваний-компонентов наследственного синдрома, проводить генетическое консультирование семьи.

Подчеркнем, что количественный состав генов панели нуждается в регулярном дополнении с включением новых генов-кандидатов, связанных с инсулиномой, и это подтверждает случай пациентки №32, у которой были обнаружены вышеописанные варианты в генах *APC* и *KIF1B* с использованием панели «Эндом». Также, в работе 2021 г. [87] для выявления наследственной причины заболевания было предложено секвенирование и анализ генов *CDKN1A*, *CDKN1B*, *CDKN2B*, *CDKN2C*, *CDC73*, *CASR*, *RET*, *AIP*. Таким образом, с целью поиска генетических вариантов в известных генах-кандидатах целесообразно проводить полноэкзомное секвенирование. При отрицательном результате полноэкзомного секвенирования в последующем возможен повторный анализ ранее секвенированного образца с исследованием новых драйверных генов, впервые описанных в ассоциации с инсулиномой. Кроме того, при наличии в лаборатории мощностей высокопроизводительного секвенирования такой дизайн является экономически более выгодным в сравнении с исследованием небольшой кастомной панели. Целесообразен также поиск новых генов-предикторов заболевания с помощью полноэкзомного или, что

предпочтительнее, полногеномного секвенирования в большей популяции пациентов с инсулиномой, в том числе в ядерных семьях. Анализ всего генома полезен для выявления клинически значимых вариантов, расположенных в некодирующих областях, включая интронные и межгенные области. Накопление такого пула данных необходимо для более четкой характеристики фенотип-генотипических особенностей опухолей и корректного определения патогенности выявленных вариантов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые в России проведено исследование, направленное на поиск новых генетических (герминальных) предикторов инсулиномы.

Одним из результатов нашей работы стала составленная на основании анализа литературы за период до 2020 г. панель из 10 генов, мутации которых ассоциированы с инсулиномой: *MEN1*, *VHL*, *TSC1*, *TSC2*, *KRAS*, *YY1*, *CDKN2A*, *MLH1*, *ADCY1*, *CACNA2D2*. Варианты генов, не классифицированные как доброкачественные, выявлены у 26%, 95% ДИ (12%; 45%) пациентов. Определена относительно высокая (13%, (4%; 30%)) встречаемость инсулиномы на фоне такой наследственной опухолевой патологии, как tuberous sclerose. Может ли она достигать показателей сочетания инсулиномы и МЭН-1, остается предметом дальнейших исследований.

При сравнении пациентов с герминальной мутацией, за исключением доброкачественных, и пациентов без герминальной мутации или с доброкачественной мутацией, различий по степени дифференцировки Grade, индексу пролиферации Ki67, частоте наличия сопутствующих опухолей, отягощенному анамнезу, множественного поражения поджелудочной железы или рецидива инсулиномы не выявлено. Однако обна-

ружены статистические тенденции к меньшим значениям возраста пациента при манифестации инсулиномы и большим значениям размера опухоли у пациентов с герминальной мутацией.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках НИР 123021300096-3 «Новые генетические предикторы (варианты) опухолевых и неопухолевых эндокринных заболеваний у взрослых, определяемые методом полногеномного секвенирования, в том числе в ядерных семьях» (2023–2025 гг.).

Конфликт интересов. Работа выполнена в соавторстве с членами редакционной коллегии журнала «Ожирение и метаболизм» Трошиной Е.А., Мокрышевой Н.Г. Остальные авторы статьи заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с содержанием настоящей статьи.

Вклад авторов: Юкина М.Ю. — анализ литературных данных; разработка концепции и дизайна исследования; проведение обследования пациентов; сбор материала; участие в проведении лабораторных исследований; получение, анализ и интерпретация результатов; написание статьи; Трошина Е.А. — помощь в разработке концепции и дизайна исследования; внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи; одобрение финальной версии рукописи; Нуралиева Н.Ф. — помощь в сборе материала; подготовка статьи к публикации; Попов С.В. — проведение генетического исследования пациентам; Реброва О.Ю. — внесение существенной (важной) правки в анализ и интерпретацию результатов; Мокрышева Н.Г. — внесение в рукопись существенной (важной) правки с целью повышения научной ценности статьи, одобрение финальной версии рукописи.

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

1. Davi MV, Boninsegna L, Dalle Carbonare L, et al. Presentation and outcome of pancreaticoduodenal endocrine tumors in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome. *Neuroendocrinology*. 2011;94(1):58-65. doi: <https://doi.org/10.1159/000326164>
2. Marini F, Falchetti A, Monte F Del, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1(1):38. doi: <https://doi.org/10.1186/1750-1172-1-38>
3. Vantyghem M-C, Kottler M-L. Endocrinologie. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2007;68(1):1. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ando.2007.01.003>
4. Online Mendelian Inheritance in Man [Internet]. *An online catalog of human genes and genetic disorders* [cited 23.12.2023]. Available from: <https://www.omim.org/>
5. Jensen RT, Berna MJ, Bingham DB, Norton JA. Inherited pancreatic endocrine tumor syndromes: advances in molecular pathogenesis, diagnosis, management, and controversies. *Cancer*. 2008;113(7):1807-1843. doi: <https://doi.org/10.1002/cncr.23648>
6. Binderup MLM, Galanakis M, Budtz-Jørgensen E, et al. Prevalence, birth incidence, and penetrance of von Hippel-Lindau disease (vHL) in Denmark. *Eur J Hum Genet*. 2017;25(3):301-307. doi: <https://doi.org/10.1038/ejhg.2016.173>
7. The National Center for Biotechnology Information [Internet]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7428#general-protein-info>
8. Binkovitz LA, Johnson CD, Stephens DH. Islet cell tumors in von Hippel-Lindau disease: increased prevalence and relationship to the multiple endocrine neoplasias. *Am J Roentgenol*. 1990;155(3):501-505. doi: <https://doi.org/10.2214/ajr.155.3.1974734>
9. Mikhail MI, Singh AK. *Von Hippel Lindau Syndrome*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
10. Vezzosi D, Bennet A, Maiza JC, et al. Diagnosis and Treatment of Insulinomas in the Adults. *Basic and Clinical Endocrinology Up-to-Date*. 2011;(155):501-505. doi: <https://doi.org/10.5772/17452>
11. Kim YH, Jung HL, Yang A, et al. A case of Von Hippel-Lindau disease presented with multiple pancreatic cysts and medullary hemangioblastoma. *Clin Pediatr Hematol*. 2020;27(1):67-71. doi: <https://doi.org/10.15264/cpho.2020.27.1.67>
12. Orpha.net [Internet]. *The portal for rare diseases and orphan drugs* [cited 23.12.2023]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=GB&Expert=805
13. Zamora EA, Aeddula NR. *Tuberous Sclerosis*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.
14. Kingswood C, Bolton P, Crawford P, et al. The clinical profile of tuberous sclerosis complex (TSC) in the United Kingdom: A retrospective cohort study in the Clinical Practice Research Datalink (CPRD). *Eur J Paediatr Neurol*. 2016;20(2):296-308. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejpn.2015.11.011>
15. Grilli G, Moffa A, Perfetto F, et al. Neuroimaging features of tuberous sclerosis complex and Chiari type I malformation: A rare association. *J Pediatr Neurosci*. 2018;13(2):224. doi: https://doi.org/10.4103/JPN.JPN_76_17
16. Eledrisi MS, Stuart CA, Alshanti M. Insulinoma in a patient with tuberous sclerosis: is there an association? *Endocr Pract*. 2002;8(2):109-112. doi: <https://doi.org/10.4158/EP8.2.109>
17. Boubaddi NE, Imbert Y, Tissot B, et al. Secreting insulinoma and Bourneville's tuberous sclerosis. *Gastroenterol Clin Biol*. 1997;21(4):343.
18. Comninou AN, Yang L, Abbara A, et al. Frequent falls and confusion: recurrent hypoglycemia in a patient with tuberous sclerosis complex. *Clin Case Rep*. 2018;6(5):904-909. doi: <https://doi.org/10.1002/ccr3.1483>

19. Gutman A, Leffkowitz M. Tuberous sclerosis associated with spontaneous hypoglycaemia. *Br Med J*. 1959;2(5159):1065-1068. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.2.5159.1065>
20. Kang MY, Yeoh J, Pondicherry A, et al. Insulinoma and tuberous sclerosis: A possible mechanistic target of rapamycin (mTOR) pathway abnormality? *J Endocr Soc*. 2017;1(9):1120-1123. doi: <https://doi.org/10.1210/js.2017-00160>
21. Kim H, Kerr A, Morehouse H. The association between tuberous sclerosis and insulinoma. *AJNR*. 1995;16(7):1543-1544.
22. Davoren PM, Epstein MT. Insulinoma complicating tuberous sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1992;55(12):1209. doi: <https://doi.org/10.1136/jnnp.55.12.1209>
23. Al-Saleem T, Wessner LL, Scheithauer BW, et al. Malignant tumors of the kidney, brain, and soft tissues in children and young adults with the tuberous sclerosis complex. *Cancer*. 1998;83(10):2208-2216. doi: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19981115\)83:10<2208::AID-CNCR21>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19981115)83:10<2208::AID-CNCR21>3.0.CO;2-K)
24. Yapici Z, Dörtcan N, Baykan BB, et al. Neurological aspects of tuberous sclerosis in relation to MRI/MR spectroscopy findings in children with epilepsy. *Neural Res*. 2007;29(5):449-454. doi: <https://doi.org/10.1179/016164107X163996>
25. Saredo AT, Flores A, Giaccaglia S, et al. Association of tuberous sclerosis complex (tsc) and insulinoma in a pediatric patient. *ESPE Abstracts* [Internet]. 2019;(92):P1-240. Available from: <https://abstracts.eurospe.org/hrp/0092/hrp0092p1-240>
26. Regazzo D, Gardiman MP, Theodoropoulou M, Scaroni C, Occhi G, Ceccato F. Silent gonadotroph pituitary neuroendocrine tumor in a patient with tuberous sclerosis complex: evaluation of a possible molecular link. *Endocrinol Diabetes Metab Case Reports*. 2018;2018. doi: <https://doi.org/10.1530/EDM-18-0086>
27. Юкина М.Ю., Нуралиева Н.Ф., Трошина Е.А. Генетические предикторы инсулинпродуцирующей опухоли поджелудочной железы // *Альманах клинической медицины*. — 2019. — Т. 47. — №2. — С. 149-155. [Yukina MY, Nuralieva NF, Troshina EA. Genetic predictors of insulin-producing pancreatic tumor. *Alm Clin Med*. 2019;47(2):149-155. (In Russ.)]. doi: <https://doi.org/10.18786/2072-0505-2019-47-019>
28. Borson-Chazot F, Cardot-Bauters C, Mirallie É, Pattou F. Insulinoma of genetic aetiology. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2013;74(3):200-202. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jando.2013.05.006>
29. U.S. National Library of Medicine [Internet]. *Multiple endocrine neoplasia* [cited 25.12.2023]. Available from: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/multiple-endocrine-neoplasia/#frequency>
30. Kamilaris CDC, Stratakis CA. Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1): An update and the significance of early genetic and clinical diagnosis. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019;10:1-15. doi: <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00339>
31. Jensen RT, Cadiot G, Brandi ML, et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms: functional pancreatic endocrine tumor syndromes. *Neuroendocrinology*. 2012;95(2):98-119. doi: <https://doi.org/10.1159/000335591>
32. Jyotsna VP, Malik E, Birla S, Sharma A. Novel MEN 1 gene findings in rare sporadic insulinoma—a case control study. *BMC Endocr Disord*. 2015;15(1):44. doi: <https://doi.org/10.1186/s12902-015-0041-2>
33. Sakurai A, Yamazaki M, Suzuki S, et al. Clinical features of insulinoma in patients with multiple endocrine neoplasia type 1: analysis of the database of the MEN consortium of Japan. *Endocr J*. 2012;59(10):859-866. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ12-0173>
34. Kwon EB, Jeong HR, Shim YS, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1 presenting as hypoglycemia due to insulinoma. *J Korean Med Sci*. 2016;31(6):1003-1006. doi: <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.6.1003>
35. Akhtar Y, Verardo A, Crane JL. Multiple endocrine neoplasia type 1 presenting with concurrent insulinoma and prolactinoma in early-adolescence. *Int J Pediatr Endocrinol*. 2018;2018(1):7. doi: <https://doi.org/10.1186/s13633-018-0061-6>
36. Fabbri HC, Mello MP de, Soardi FC, et al. Long-term follow-up of an 8-year-old boy with insulinoma as the first manifestation of a familial form of multiple endocrine neoplasia type 1. *Arq Bras Endocrinol Metabol*. 2010;54(8):754-760. doi: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302010000800016>
37. Goudet P, Dalac A, Le Bras M, et al. MEN1 disease occurring before 21 years old: a 160-patient cohort study from the Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(4):1568-1577. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3659>
38. Vezzosi D, Cardot-Bauters C, Bouscaren N, et al. Long-term results of the surgical management of insulinoma patients with MEN1: a Groupe d'étude des Tumeurs Endocrines (GTE) retrospective study. *Eur J Endocrinol*. 2015;172(3):309-319. doi: <https://doi.org/10.1530/EJE-14-0878>
39. Librandi K, Grimaldi S, Catalano S, et al. Insulinoma in pediatric tuberous sclerosis complex: a case report. *Front Pediatr*. 2023;11:1216201. doi: <https://doi.org/10.3389/fped.2023.1216201>
40. Qahtani Mohammed SAL, Bojal Shoukat A, Alqarzaie Abdullah A, Alqahtani Abdulaziz A. Insulinoma in tuberous sclerosis: An entity not to be missed. *Saudi Med J*. 2021;42(3):332-337. doi: <https://doi.org/10.15537/smj.2021.42.3.20200490>
41. Le Berre J-P, Bey Boeglin M, Duverger V, et al. Seizure and Bourneville tuberous sclerosis: think about insulinoma. *Rev Med Interne*. 2009;30(2):179-80. doi: <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2008.04.010>
42. Piskinpas H, Dogansen SC, Metin D, et al. Is there a relationship between tuberous sclerosis complex and insulinoma? *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2022;18(3):350-354. doi: <https://doi.org/10.4183/aeb.2022.350>
43. Davidson SI. A Case of tuberous sclerosis with hypoglycemia attacks. *Dapim Refuim*. 1960;(19):70-73.
44. Simon J, Pitre J, Chapuis Y, et al. Hypoglycémie chez une patiente atteinte de sclérose tubéreuse de Bourneville. *Revue de Méd Interne*. 1995;17:172.
45. Pavelic K, Hrascan R, Kapitanovic S, et al. Molecular genetics of malignant insulinoma. *Anticancer Res*. 1996;16(4A):1707-1717.
46. Hrascan R, Pećina-Slaus N, Martić TN, et al. Analysis of selected genes in neuroendocrine tumours: insulinomas and pheochromocytomas. *J Neuroendocrinol*. 2008;20(8):1015-22. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2008.01755.x>
47. Gremer L, Merbitz-Zahradnik T, Dvorsky R, et al. Germline KRAS mutations cause aberrant biochemical and physical properties leading to developmental disorders. *Hum Mutat*. 2011;32(1):33-43. doi: <https://doi.org/10.1002/humu.21377>
48. Duerr EM, Chung DC. Molecular genetics of neuroendocrine tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2007;21(1):1-14. doi: <https://doi.org/10.1016/j.beem.2006.12.001>
49. The National Center for Biotechnology Information [Internet]. KRAS proto-oncogene, GTPase [Homo sapiens (human)]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3845#general-protein-info>
50. The portal for rare diseases and orphan drugs [Internet]. Noonan syndrome. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=en&Expert=648
51. The portal for rare diseases and orphan drugs [Internet]. Costello syndrome. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Expert=3071
52. The portal for rare diseases and orphan drugs [Internet]. Cardiofaciocutaneous syndrome. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=GB&Expert=1340
53. Wang H, Bender A, Wang P, et al. Insights into beta cell regeneration for diabetes via integration of molecular landscapes in human insulinomas. *Nat Commun*. 2017;8(1):767. doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00992-9>
54. Irshad K, Jyotsna VP, Agarwal S, et al. T372R mutation status in Yin Yang 1 gene in insulinoma patients. *Horm Metab Res*. 2017;49(6):452-456. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0043-107244>
55. Cao Y, Gao Z, Li L, et al. Whole exome sequencing of insulinoma reveals recurrent T372R mutations in YY1. *Nat Commun*. 2013;4(1):2810. doi: <https://doi.org/10.1038/ncomms3810>
56. Cromer MK, Choi M, Nelson-Williams C, et al. Neomorphic effects of recurrent somatic mutations in Yin Yang 1 in insulin-producing adenomas. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015;112(13):4062-4067. doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.1503696112>
57. Liu J, Shen J-X, Wu H-T, et al. Collagen 1A1 (COL1A1) promotes metastasis of breast cancer and is a potential therapeutic target. *Discov Med*. 2018;25(139):211-223.
58. Stegh A. CSIG-21. IDH3 promotes glioblastoma growth through regulation of one carbon metabolism. *Neuro Oncol*. 2017;19(S6):vi54. doi: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox168.215>
59. Liu CH, Huang ZH, Dong XY, et al. Inhibition of uncoupling protein 2 enhances the radiosensitivity of cervical cancer cells by promoting the production of reactive oxygen species. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020(S6):1-13. doi: <https://doi.org/10.1155/2020/5135893>
60. González-Barroso MM, Giurgea I, Bouillaud F, et al. Mutations in UCP2 in congenital hyperinsulinism reveal a role for regulation of insulin secretion. *PLoS One*. 2008;3(12):e3850. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003850>

61. Santos-Cortez RLP, Lee K, Giese AP, et al. Adenylate cyclase 1 (ADCY1) mutations cause recessive hearing impairment in humans and defects in hair cell function and hearing in zebrafish. *Hum Mol Genet.* 2014;23(12):3289-3298. doi: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu042>
62. Pippucci T, Parmeggiani A, Palombo F, et al. A novel null homozygous mutation confirms CACNA2D2 as a gene mutated in epileptic encephalopathy. *PLoS One.* 2013;8(12):e82154. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0082154>
63. Bartsch DK, Kersting M, Wild A, et al. Low frequency of p16(INK4a) alterations in insulinomas. *Digestion.* 2000;62(2-3):171-177. doi: <https://doi.org/10.1159/000007810>
64. Lubomierski N, Kersting M, Bert T, et al. Tumor suppressor genes in the 9p21 gene cluster are selective targets of inactivation in neuroendocrine gastroenteropancreatic tumors. *Cancer Res.* 2001;61(15):5905-5910.
65. Jouenne F, de Beauchene IC, Bollaert E, et al. Germline CDKN2A/P16INK4A mutations contribute to genetic determinism of sarcoma. *J Med Genet.* 2017;54(9):607-612. doi: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2016-104402>
66. Jiao Y, Feng Y, Wang X, et al. Regulation of tumor suppressor gene CDKN2A and encoded p16-INK4a protein by covalent modifications. *Biochemistry.* 2018;83(11):1289-1298. doi: <https://doi.org/10.1134/S0006297918110019>
67. Borg A, Sandberg T, Nilsson K, et al. High frequency of multiple melanomas and breast and pancreas carcinomas in CDKN2A mutation-positive melanoma families. *J Natl Cancer Inst.* 2000;92(15):1260-1266. doi: <https://doi.org/10.1093/jnci/92.15.1260>
68. Bartsch DK, Sina-Frey M, Lang S, et al. CDKN2A germline mutations in familial pancreatic cancer. *Ann Surg.* 2002;236(6):730-737. doi: <https://doi.org/10.1097/0000658-200212000-00005>
69. Chan SH, Lim WK, Michalski ST, et al. Germline hemizygous deletion of CDKN2A-CDKN2B locus in a patient presenting with Li-Fraumeni syndrome. *npj Genomic Med.* 2016;1(1):16015. doi: <https://doi.org/10.1038/npjgenmed.2016.15>
70. Mei M, Deng D, Liu T-H, et al. Clinical implications of microsatellite instability and MLH1 gene inactivation in sporadic insulinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(9):3448-3457. doi: <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0173>
71. Momma T, Gonda K, Akama Y, et al. MLH1 germline mutation associated with Lynch syndrome in a family followed for more than 45 years. *BMC Med Genet.* 2019;20(1):67. doi: <https://doi.org/10.1186/s12881-019-0792-0>
72. Harkness EF, Barrow E, Newton K, et al. Lynch syndrome caused by MLH1 mutations is associated with an increased risk of breast cancer: a cohort study. *J Med Genet.* 2015;52(8):553-556. doi: <https://doi.org/10.1136/jmedgenet-2015-103216>
73. Online Mendelian Inheritance in Man [Internet]. *An online catalog of human genes and genetic disorders* [cited 25.12.2023]. Available from: <https://www.omim.org/entry/190070>
74. KIF1B kinesin family member 1B [Homo sapiens (human)]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/23095#general-protein-info>
75. Федорова В.С., Смочилин А.Г., Куляхтин А.И., и др. Болезнь Шарко-Мари-Тутса: описание двух клинических случаев заболевания у членов одной семьи (отца и дочери) // *Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.* — 2020. — Т. 27. — №2. — С. 63-71. [Fedорова VS, Smochilin AG, Kulyakhtin AI, et al. Charcot-Marie-Toots disease: description of 2 clinical cases of the disease in members of the same family (father and daughter). *Sci Notes Pavlov Univ.* 2020;27(2):63-71. (In Russ.).] doi: <https://doi.org/10.24884/1607-4181-2020-27-2-63-71>
76. Evenepoel L, Helaers R, Vroonen L, et al. KIF1B and NF1 are the most frequently mutated genes in paraganglioma and pheochromocytoma tumors. *Endocr Relat Cancer.* 2017;24(8):L57-L61. doi: <https://doi.org/10.1530/ERC-17-0061>
77. Munirajan AK, Ando K, Mukai A, et al. KIF1B functions as a haploinsufficient tumor suppressor gene mapped to chromosome 1p36.2 by inducing apoptotic cell death. *J Biol Chem.* 2008;283(36):24426-24434. doi: <https://doi.org/10.1074/jbc.M802316200>
78. APC regulator of WNT signaling pathway. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/324>
79. FAMILIAL ADENOMATOUS POLYPOSIS 1; FAP1. Available from: <https://omim.org/entry/175100>
80. Fodde R. The APC gene in colorectal cancer. *Eur J Cancer.* 2002;38(7):867-871. doi: [https://doi.org/10.1016/S0959-8049\(02\)00040-0](https://doi.org/10.1016/S0959-8049(02)00040-0)
81. Arnold CN, Sosnowski A, Schmitt-Gräff A, et al. Analysis of molecular pathways in sporadic neuroendocrine tumors of the gastro-entero-pancreatic system. *Int J Cancer.* 2007;120(10):2157-2164. doi: <https://doi.org/10.1002/ijc.22569>
82. Davi MV, Boninsegna L, Dalle Carbonare L, et al. Presentation and outcome of pancreaticoduodenal endocrine tumors in multiple endocrine neoplasia type 1 syndrome. *Neuroendocrinology.* 2011;94(1):58-65. doi: <https://doi.org/10.1159/000326164>
83. Li J, Zeng L, Yang Y, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1 presenting multiple lipomas and hypoglycemia onset. *Am J Case Rep.* 2012;(13):224-229. doi: <https://doi.org/10.12659/AJCR.883383>
84. Lee M, Pellegata NS. Multiple endocrine neoplasia type 4. *Front Horm Res.* 2013;(41):63-78. doi: <https://doi.org/10.1159/000345670>
85. Şimşir İY, Ertan Y, Sözbilen M, et al. Multiple endocrine neoplasia type 4 (MEN4) syndrome. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2015;7(S2):77-92
86. Thakker RV. Multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) and type 4 (MEN4). *Mol Cell Endocrinol.* 2014;386(1-2):2-15. doi: <https://doi.org/10.1016/j.mce.2013.08.002>
87. Brandi ML, Agarwal SK, Perrier ND, et al. Multiple endocrine neoplasia type 1: Latest insights. *Endocr Rev.* 2021;42(2):133-170. doi: <https://doi.org/10.1210/edrv/bnaa031>
88. Nance ME, Verma R, DeClue C, et al. Imaging and diagnostic challenges in a patient with refractory hypoglycemia caused by insulinomas related to multiple endocrine neoplasia type 1. *Cureus.* 2020;12(5):e8208. doi: <https://doi.org/10.7759/cureus.8208>
89. Uraki S, Ariyasu H, Doi A, et al. Atypical pituitary adenoma with MEN1 somatic mutation associated with abnormalities of DNA mismatch repair genes; MLH1 germline mutation and MSH6 somatic mutation. *Endocr J.* 2017;64(9):895-906. doi: <https://doi.org/10.1507/endocrj.EJ17-0036>

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ [AUTHORS INFO]:

*Юкина Марина Юрьевна, к.м.н. [Marina Yu. Yukina, MD, PhD]; адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11 [address: 11, Dm. Ulyanova street, 117036 Moscow, Russia]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8771-8300>; Researcher ID: P-5181-2015; Scopus Author ID: 57109367700; eLibrary SPIN: 4963-8340; e-mail: kuronova@yandex.ru

Трошина Екатерина Анатольевна, д.м.н., профессор [Ekaterina A. Troshina, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8520-8702>; eLibrary SPIN: 8821-8990; e-mail: troshina.ekaterina@endocrincentr.ru

Нуралиева Нурана Фейзуллаевна [Nurana F. Nuralieva, MD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6876-3336>; eLibrary SPIN: 7373-2602; e-mail: nuralieva.nurana@endocrincentr.ru

Попов Сергей Владимирович, к.б.н. [Sergey V. Popov, PhD in biology]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1172-3557>; e-mail: popov.sergei@endocrincentr.ru

Реброва Ольга Юрьевна, д.м.н. [Olga Yu. Rebrova, MD, PhD]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6733-0958>; eLibrary SPIN: 7360-3254; e-mail: rebrova.olga@endocrincentr.ru

Мокрышева Наталья Георгиевна, д.м.н., профессор [Natalia G. Mokrysheva, MD, PhD, Professor]; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9717-9742>; eLibrary SPIN: 5624-3875; e-mail: mokrysheva.natalia@endocrincentr.ru

*Автор, ответственный за переписку / Corresponding author.

ЦИТИРОВАТЬ:

Юкина М.Ю., Трошина Е.А., Нуралиева Н.Ф., Попов С.В., Реброва О.Ю., Мокрышева Н.Г. Поиск герминальных мутаций при инсулинпродуцирующей опухоли поджелудочной железы // Ожирение и метаболизм. — 2023. — Т. 20. — №4. — С. 338-354. doi: <https://doi.org/10.14341/omet13068>

TO CITE THIS ARTICLE:

Yukina MYu, Troshina EA, Nuralieva NF, Popov SV, Rebrova OYu, Mokrysheva NG Search for germinal mutations in insulin-producing pancreatic tumors *Obesity and metabolism*. 2023;20(4):338-354. doi: <https://doi.org/10.14341/omet13068>