

Diabetes mellitus a jeho molekulárně genetická podstata

Průša R.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie 2. LF UK a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

SOUHRN

Genetické dispozice autoimunitní inzultidy diabetes mellitus 1. typu a LADA spočívají především v polymorfismech v HLA DR, DQ, promotorové oblasti genu pro inzulin a v genu pro cytotoxický T-lymfocytární antigen 4. Mutace v genu pro inzulin jsou velmi vzácné: mutace Chicago, Los Angeles, Kyoto. Samostatnou skupinu tvoří MODY 1 až 7, kde se jedná nejčastěji o mutace genů jaterních jaderných transkripčních faktorů nebo o mutace v genu glukokinázy. Nelze opomíjet ani specifické mutace v mitochondriální DNA zodpovědné za MIDM (např. mutace v genu pro Leu-tRNA). Přestože rozvoj inzulinové rezistence a diabetes mellitus 2. typu je značně závislý na způsobu života, byla zjištěna více než 90% konkordance u homozygotních dvojčat. Mezi genetické dispozice diabetes mellitus (DM) patří mimo jiné také mutace v genu pro HFE protein (hemochromatóza) a v genu pro CFTR (cystická fibróza). V současné době tedy známe nejméně 14 genů, jejichž defekt způsobuje monogenní formu diabetes mellitus.

Klíčová slova: diabetes mellitus, genová mutace, MODY, autoimunita, polymorfismus, IPEX, APECED.

SUMMARY

Průša R.: Molecular genetics of diabetes mellitus

Genetic dispositions to autoimmune insulinitis diabetes mellitus type 1 and LADA syndrom are based mainly on polymorphisms of HLA DR, DQ, promotor region of the insulin gene, and the gene of cytotoxic T-lymphocyte antigen 4. Any other mutations in insulin gene itself are very rare (Chicago, Los Angeles, Kyoto). A separate group of diabetes mellitus is MODY 1 to 7, where mutations in the glucokinase gene or in the hepatic nuclear transcription factors genes are involved. Special attention is required for mutations in mitochondrial DNA causing MIDM (eg. mutation in Leu-tRNA gene). Diabetes mellitus type 2 is obviously dependent on the life style, but still 90 % concordance in homozygous twins is evident. Genetic dispositions to diabetes mellitus include also mutations in HFE gene (hemochromatosis) and CFTR gene (cystic fibrosis). There are at least 14 genes known up to date responsible for monogenic form of diabetes mellitus.

Key words: diabetes mellitus, gene mutation, MODY, autoimmunity, polymorphism, IPEX, APECED.

Úvod

Diabetes mellitus 1. typu (T1) a diabetes mellitus 2. typu (T2) jsou závažná četná onemocnění a postihují v České republice přibližně 50 000 lidí (T1) a 600 000 lidí (T2). Přestože patogeneze a patobiochemie těchto onemocnění je velmi komplexní a různorodá, společným důsledkem je porucha metabolismu glukózy, charakterizovaná častou nebo trvalou hyperglykemií, která pak působí patologickou glykosylaci proteinů. Tento patobiochemický jev je následně příčinou celého spektra klinických a laboratorních symptomů diabetes mellitus. Porucha metabolismu glukózy projevující se hyperglykemií je buď vrozená (molekulárně geneticky podmíněná), nebo získaná dlouhodobým přetěžováním glukostatického metabolismu (často však vzniká také na podkladě genetiky podmíněných predispozic). Pokud se cukrovka manifestuje u pacienta na molekulárně genetickém základě, pak diabetes mellitus 1. i 2. typu může být podmíněn jak polygenně, tak monogenně. V následujícím přehledu budou uvedeny hlavní respektované změny v lidském genomu, jež se podílejí na vzniku diabetes mellitus u lidí.

Autoimunitní diabetes mellitus (časná autoimunitní inzultida T1 a pozdní latentní LADA dospělých)

Autoimunitní proces, který ničí beta-buňky pankreatu, může být spuštěn řadou faktorů zevního prostředí,

s nimiž se dítě setkává ve velmi raném věku [1]. Patří sem především toxiny, některé složky potravy a infekční agens, zejména viry (rubeola, CMV, coxsackie B, myxo- a paramyxoviry), které mohou indukovat destrukci buněk pankreatických ostrůvků na podkladě molekulárních mimikrů. Diabetogenním faktorem u osob s genetickým rizikem může být časná expozice kravskému mléku nebo chybná suplementace vitamínem D u malých kojenců. Autoimunitní proces prokazujeme laboratorně v séru detekcí autoprotilátů proti inzulinu, proti dekarboxyláze kyseliny glutamové a proti transmembránové tyrosinové fosfatáze. Zatímco klasický diabetes mellitus 1. typu je podmíněn polygenně, nedávno se podařilo odlišit dva stavy způsobené defektem jediného genu [2]. Jsou vzácné, ale pomohly blíže porozumět podstatě centrální imunologické autotolerance.

APECED (autoimunitní polyendokrinopatie, kandidóza, ektodermální dystrofie) je způsoben autoimunitní destrukcí endokrinních žláz i neendokrinních orgánů zprostředkovanou T buňkami [3]. Příčinou je defekt genu AIRE (chromosom 21q22.3, např. mutace R257X, K83E). Jeho produkt – autoimunitní regulátor – je transkripčním faktorem, který zajišťuje přečtení molekulární sekvence všech potenciálních autoantigenů v thymu. Pokud selhává, nedojde k eliminaci potenciálně autoagresivních klonů T lymfocytů. Ty uniknou do periferie a mohou kdykoliv zaútočit na určitý autoantigen. Cílem útoku se mohou stát i beta-buňky.

IPEX syndrom (imunitní polyendokrinopatie a enteropatie vázaná na X chromosom) se projevuje již u no-

vorozenců a malých kojenců neonatálním diabetem, tyreoiditidou, průjmy, ekzémy a těžkými infekcemi [4]. Děti umírají v prvním roce života. Příznačná je trvalá aktivace CD4⁺ T lymfocytů, které se chovají autoagresivně. Příčinou je defekt genu FOXP3 (forkhead box P3, chromosom Xp11.23-q13.3), jehož produkt je nutný pro diferenciaci a správnou funkci CD4⁺CD25⁺ regulačních T lymfocytů. Při defektu FOXP3 genu nedojde k supresi CD4⁺ lymfocytů a důsledkem je fatální lymfoproliferativní onemocnění s řadou klinických projevů, včetně destrukce beta-buněk probíhající již *in utero*.

Základní molekulárně genetické změny, které jsou k dispozici pro vznik autoimunitní inzulitidy, jsou skryty v následujících třech genech:

- Chromosom 6p21, lokusy HLA DR beta 3/4 (eventuálně 4/4), DQ b-57 ala/val (respektive DQ beta asp57 homozygotně negativní), DQ a-52 arg, tj. alely DQ-b1.0302.a1.0301, naopak molekula alely DQa1.102/DQb1.602 se sklonem k narkolepsii reprezentuje silnou dominantně protektivní roli proti DM T1 [5, 6, 7, 8].
- Chromosom 11p15.5, gen pro inzulin, regulační sekvence upstream od exonu 1, tandemová opakování, I. třída 26–36 je riziková, III. třída 140–200 a více má dominantně protektivní charakter proti DM T1 [9].
- Chromosom 2q33, gen pro CTLA-4 (serinová esteráza), mutace v genu pro cytotoxický T-lymfocytární antigen-4 -CD28 inaktivních buněk [10, 11].
- Riziko vzniku diabetu lze snadno určit pomocí HLA typizace alel DR/DQ u příbuzných probanda prvního a druhého stupně a v běžné populaci. Například příbuzní prvního stupně s alelou DR3/4, DQ 0201/0302 mají vyšší pravděpodobnost rozvoje onemocnění (1 : 4), ve srovnání s rizikem 1 : 15 u běžné populace se stejným genotypem.

Gen pro inzulin (chromosom 11p15.5), vzácné mutace:

- Mutace Chicago, Phe25Leu (beta-řetězec), fenotypicky vzniká T1;
- Mutace Wakayama, Val3Leu (alfa-řetězec), fenotypicky vzniká T2;
- Mutace Kyoto, Arg65Leu (alfa-řetězec, proinzulin), Arg65His, Arg65Pro;
- Mutace Los Angeles, Phe24Ser, fenotypicky vzniká MODY.

Inzulin rezistentní diabetes mellitus

Tato skupina DM, často sdružená s *acanthosis nigricans* a u žen se syndromem polycystických ovarií, je způsobena mutacemi v genu inzulinového receptoru (chromosom 19p13.2). Tzv. leprechaunismus je způsoben např. těmito mutacemi v genu pro inzulinový receptor: Gly996Val, Lys460Glu, Glu672stop, Arg735Ser, Phe382Val [12].

Diabetes mellitus 2. typu

Tento typ onemocnění je charakterizován periferní svalovou inzulinovou rezistencí a BMI nad 25, defektní sekrecí inzulinu, zvýšenou jaterní produkcí glukózy, nakonec sníženou tvorbou inzulinu [13, 14]. S nadsázkou je považován za příčinu určitý životní styl tzv. americký způsob života. Tak například Japonci v Japonsku: prevalence T2 1%; Japonci na Havajských ostrovech nebo na západním pobřeží USA: prevalence T2 je 10%;

Číňané v Číně: prevalence T2 je 1,6%; Číňané na Mauriciu: prevalence 13,1%. Přestože rozvoj inzulinové rezistence a DM 2. typu je značně závislý na způsobu života, byla zjištěna více než 90% konkordance u homozygotních dvojčat. Genetické dispozice budou hrát významnou roli. Vyšší výskyt cukrovky je sdružen např. s polymorfismem A-G (-3826) odpráhovacího UCP1 proteinu na vnitřní membráně mitochondrií nebo s polymorfismem Ala55Val UCP2 - homozygoti AA versus VV [15]. Signifikantní je také asociace mezi častou variantou mtDNA (T16189C) v nekódující oblasti a DM T2. Do tohoto výčtu však patří další publikované mutace sdružené s DM T2 v genech následujících proteinů: calpain-10, transportéry glukózy GLUT2 a GLUT4, mitochondriální glycerolfosfát dehydrogenáza 2 (chromosom 2q24.1), AKT2, resistin a mnohé další.

Diabetes mellitus typ MODY

Jedná se o velmi heterogenní skupinu s odlišnou genetickou podstatou, odlišnými klinickými projevy a různými nároky na terapii [16]. V České republice je diagnostikováno přibližně 100 rodin.

- Defekt jaterní nebo pankreatické **glukokinázy** (chromosom 7p13, celkem 12 exonů, exon 1a – pankreas, 1b, 1c – játra) **MODY 2** je spojen s celoživotní trvalou mírnou hyperglykemií od narození do stáří. Naláčno i postprandiálně je glykémie zvýšena o 2–3 mmol/l. Soudí se, že tato porucha nevyžaduje léčení, je však velmi významná z hlediska diferenciální diagnostiky. Známé publikované mutace: Glu40Lys, Gly44Asp, Phe150Leu, Cys220stop, Val226Met, Met251Val, Cys252Arg, Glu268stop, Gly318Arg, Cys434Tyr.
- „Diabetes transkripčních faktorů“ (MODY 1, 3, 4, 5, 6, 7) je způsoben defektem v jaderné transkripční regulační síti v jádrech beta-buňky a hepatocytu. Správná diagnóza přináší informaci o vysokém riziku těžkých forem diabetických komplikací a nutnosti dokonalé metabolické kontroly.

MODY 1 – HNF-4alfa (chromosom 20q12-q13.1), léčba vyžaduje perorální antidiabetika (PAD) a inzulin, 5 % MODY, velká progresse, není ketoacidóza, ale je diabetická nefro-, retino- a neuropatie. Známé mutace jsou Arg125Trp, Val121Ile, Arg244Gln, Arg225Trp (časná úmrtí – 21, 36 let, diabetická nefropatie).

MODY 3 – HNF-1alfa (chromosom 12q24.1) vyžaduje léčbu PAD a inzulinem, 30–75 % MODY, velká progresse. Bylo popsáno více než 120 mutací, mezi častější patří P291fsinsC, Pro379fsdelCT, Arg229stop, Arg203His, Arg272His, Arg200Gly.

MODY 4 – IPF-1 (chromosom 13q12.1) objeven v roce 1997, vzácný, provázen agenezí pankreatu, publikované mutace: P63fsdelC-X, C18R, D76N, R197H.

MODY 5 – HNF-1beta (chromosom 17cen-q21.3) objeven v roce 1998, velmi vzácný, vyžaduje terapii inzulinem, mezi známé mutace tohoto faktoru patří R177X, R137del75.

MODY 6 – NeuroD1-beta2 (chromosom 2q32) objeven v roce 1999, exprimován v CNS, GIT a v beta-buňkách pankreatu, protein neurogení diferenciace, publikované mutace: R111L, 206fsinsC.

MODY 7 – Isl-1 (chromosom 5q) objeven v roce 2000, transkripční faktor s motivem LIM 2, také ovlivňuje expresi inzulinového genu, známá je mutace Q310X.

Monogenně podmíněn je také sekundární diabetes mellitus při cystické fibróze (mutace v CFTR genu), **hemochromatóze** (mutace C282Y, H63D v HLA-H genu HFE proteinu) či **mitochondriální diabetes T1** nebo T2 (heteroplasmie) sdružený s hluchotou při defektu mitochondriální DNA – delece nebo substituce A3243G v genu pro Leu-tRNA, tzv. Ballingerův-Wallaceův syndrom (17). Defekt genu KCNJ11 (chromosom 11p15.1, např. mutace Arg201His), který kóduje Kir6.2 podjednotku **kaliového kanálu** spojeného se sulfonyleurovým receptorem, vede k permanentnímu neonatálnímu diabetes mellitus – PNDM [18].

Diabetes mellitus provází celou řadu **genetických syndromů**, které jsou uvedeny v následujícím výčtu bez dalšího komentáře:

- Downův syndrom.
- Stiff-man syndrom (autoimunitní choroba).
- Klinefelterův syndrom.
- Turnerův syndrom.
- Wolframův syndrom.
- Lawrence-Moon-Biedlův syndrom.
- Rogersův syndrom.
- Hermannův syndrom.
- Rabsonův-Mendenhallův syndrom (mutace v intracelulární doméně inzulinového receptoru Asn15Lys, Arg1000stop).
- Prader-Willy syndrom.
- Fridreichova ataxie.
- Huntingtonova chorea.
- Myotonická dystrofie (alterovaný splicing inzulinového receptoru v exonu 11).
- Kongenitální porfyrie.
- Leprechaunismus (mutace v genu pro inzulinový receptor).
- Lipoatrofický diabetes.

Molekulárně geneticky je také studována asociace mnoha dalších různých polymorfismů a mutací různých genů s onemocněním diabetes mellitus. V současné době známe nejméně 14 genů, jejichž defekt způsobuje monogenní formu diabetes mellitus. Rozumíme lépe tomu, jak beta-buňka rozpoznává glykémii, jak řídí syntézu inzulinu a jak reguluje jeho výdej do krevního oběhu. A částečně také chápeme, jakým způsobem je chráněna před škodlivým působením vlastního imunitního systému.

Literatura

1. **Tisch, R., McDevitt, H.** Insulin-dependent diabetes mellitus. *Cell*, 1996, 85, p. 291–297.
2. **Cox, N. J., Wapelhorst, B., Morrison, V. A. et al.** Seven regions of the genome show evidence of linkage to type 1 diabetes in a consensus analysis of 767 multiplex families. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001, 69, p. 820–830.
3. **Bjorses, P., Halonen, M., Palvimo, J. J. et al.** Mutations in the AIRE gene: effects in subcellular location and transactivation function of the autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy protein. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000, 66, p. 378–392.
4. **Bennett, C. L., Christie, J., Ramsdell, F. et al.** The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked

syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nature Genet.*, 2001, 27, p. 20–21.

5. **Khalil, I., d'Auriol, L., Gobet, M. et al.** A combination of HLA-DQ-beta asp57-negative and HLA DQ-alpha arg52 confers susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus. *J. Clin. Invest.*, 1990, 85, p. 1315–1319.
6. **Baisch, J. M., Weeks, T., Giles, R., Hoover, M., Stastny, P., Capra, J. D.** Analysis of HLA-DQ genotypes and susceptibility in insulin-dependent diabetes mellitus. *New Eng. J. Med.*, 1990, 322, p. 1836–1841.
7. **Morel, P. A., Dorman, J. S., Todd, J. A., McDevitt, H. O., Trucco, M.** Aspartic acid at position 57 of the HLA-DQ beta chain protects against type I diabetes: a family study. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1988, 85, p. 8111–8115.
8. **Siebold, C., Hansen, B. E., Wyer, J. R. et al.** Crystal structure of HLA-DQ0602 that protects against type 1 diabetes and confers strong susceptibility to narcolepsy. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 2004, 101, p. 1999–2004.
9. **Lucassen, A. M., Julier, C., Beressi, J. P. et al.** Susceptibility to insulin dependent diabetes mellitus maps to a 4.1 kb segment of DNA spanning the insulin gene and associated VNTR. *Nature Genet.*, 1993, 4, p. 305–310.
10. **Lang, K. S., Recher, M., Junt, T. et al.** Toll-like receptor engagement converts T-cell autoreactivity into overt autoimmune disease. *Nature Med.*, 2005, 11, p. 138–145.
11. **Nervi, S., Atlan-Gepner, C., Kahn-Perles, B. et al.** Specific deficiency of p56(lck) expression in T lymphocytes from type 1 diabetic patients. *J. Immunol.*, 2000, 165, p. 5874–5883.
12. **Kadowaki, T., Kadowaki, H., Rechler, M.M. et al.** Five mutant alleles of the insulin receptor gene in patients with genetic forms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.*, 1990, 86, p. 254–264.
13. **Tuomi, T., Carlsson, A., Li, H. et al.** Clinical and genetic characteristics of type 2 diabetes with and without GAD antibodies. *Diabetes* 48, 1999, p. 150–157.
14. **Ghosh, S., Watanabe, R. M., Valle, T. T. et al.** The Finland-United States investigation of non-insulin-dependent diabetes mellitus genetics (FUSION) study. I. An autosomal genome scan for genes that predispose to type 2 diabetes. *Am. J. Hum. Genet.*, 2000, 67, p. 1174–1185.
15. **Yu, X., Jacobs, D. R. Jr., Schreiner, P. J., Gross, M. D., Steffes, M. W., Fornage, M.** The uncoupling protein 2 ala55val polymorphism is associated with diabetes mellitus: The CARDIA study. *Clinical Chemistry*, 51, 2005, 8, p. 1451–1456.
16. **Fajans, S. S., Bell, G. I., Polonsky, K. S.** Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *New Eng. J. Med.*, 2001, 345, p. 971–980.
17. **Ballinger, S. W., Shoffner, J. M., Gebhart, S., Koontz, D. A., Wallace, D. C.** Mitochondrial diabetes revisited. (Letter) *Nature Genet.*, 1994, 7, p. 458–459.
18. **Proks, P., Antcliff, J. F., Lippiat, J., Gloyn, A. L., Hattersley, A. T., Ashcroft, F. M.** Molecular basis of Kir6.2 mutations associated with neonatal diabetes or neonatal diabetes plus neurological features. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 101, 2004, p. 17539–17544.

Do redakce došlo 4. 10. 2005.

Adresa pro korespondenci:

Doc. MUDr. Richard Průša, CSc.

Ústav klinické biochemie a patobiochemie, 2. LF UK a FN Motol

V úvalu 84, 150 06 Praha 5

e-mail: richard.prusa@lfmotol.cuni.cz