

НОВА МУТАЦИЈА ГЕНА ЗА ГЛУКОКИНАЗУ КОД ДЕЧАКА С АДУЛТНИМ ОБЛИКОМ ДИЈАБЕТЕС МЕЛИТУСА КОД МЛАДИХ

Татјана МИЛЕНКОВИЋ, Драган ЗДРАВКОВИЋ, Катарина МИТРОВИЋ

Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић”, Београд

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Адултни облик дијабетес мелитуса код младих особа је разнородна група поремећаја коју одликују рани почетак дијабетеса који не захтева примену инсулина, аутозомно доминантан начин наслеђивања и примарни поремећај на нивоу функције бета-ћелије панкреаса. У међународној литератури је за ову групу обољења прихваћен енглески назив *Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)*. Данас се разликује шест подтипова болести, од којих су најчешћи *MODY2* и *MODY3*. Подтип *MODY2* настаје као последица мутације гена за глукокиназу.

Приказ болесника Приказан је деветогодишњи дечак с интермитентним хипергликемијама за којег се на основу породичне анамнезе посумњало да болује од *MODY2*. Молекуларним анализама је доказано да је дечак хетерозигот за нову тзв. *missense* мутацију, *R250C*, у егзону 7 гена за глукокиназу. Као последица настаје супституција аминокиселине цистеин-аргинином на позицији 250 у полипептидном ланцу.

Закључак Дефинисање подтипа *MODY* на молекуларном нивоу значајно је због терапијског приступа и прогнозе болести, као и ради откривања чланова породице код којих постоји ризик да оболе од истог типа дијабетеса. На основу увида у домаћу литературу, ово је први болесник дечјег узраста са *MODY2* у Србији код којег је на молекуларном нивоу потврђена дијагноза. Испитивање других болесника с овим подтипом обољења код нас било би значајно како би се утврдиле учесталост поремећаја и мутације специфичне за нашу популацију.

Кључне речи: дијабетес; *MODY*; глукокиназа; нова мутација

УВОД

Адултни облик дијабетес мелитуса код младих особа је разнородна група поремећаја коју одликују рани почетак дијабетеса који не захтева примену инсулина, аутозомно доминантан начин наслеђивања и примарни поремећај на нивоу функције бета-ћелије панкреаса. Обично се открива у детињству, адолесценцији или код младих одраслих особа. У међународној литератури је за ову групу обољења прихваћен енглески назив *Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY)*. У домаћој литератури поремећај су први описали Банићевић и сарадници 1981. године [1], само седам година пошто су Хатерслеј (*Hattersley*) и Татерсал (*Tattersall*) [2] први пут претпоставили да је инсулин-независни дијабетес мелитус код деце и младих особа посебан ентитет изазван мутацијом гена.

Досад је препознато шест гена чије мутације могу да изазову болест, па се, према томе, разликује и шест подтипова *MODY*. Генетска истраживања упућују на чињеницу да постоји барем још један ген чије мутације доводе до настанка *MODY*. За разлику од *MODY2*, који настаје услед мутације гена за ензим глукокиназу, остали подтипови *MODY* настају услед мутација гена за транскрипционе факторе. Најчешћи су *MODY2* и *MODY3*, потом *MODY5*, док су остали подтипови веома ретки [3].

Болесници са *MODY2* пате од асимптоматске и непрогресивне хипергликемије, која се некада дијагностикује већ на рођењу. Код њих се ретко развијају микроваскуларне компликације, а дијета је најчешће једини начин лечења [4]. Молекуларна дијагноза *MODY* је веома значајна због прогнозе болести, терапијског

приступа и откривања других чланова породице код којих постоји ризик да оболе.

ПРИКАЗ БОЛЕСНИКА

Код деветогодишњег дечака је у узрасту од пет година, током благе инфекције дисајних органа, први пут забележен ниво гликемије од $7,4 \text{ mmol/l}$. Дечак није имао тегоба, нормално је пио и мокрио. Због дијагностиковања хипергликемије, у наредном периоду ниво гликемије је мерен два-три пута годишње, увек у јутарњим сатима, а вредности су биле у распону од $6,2$ до $7,3 \text{ mmol/l}$. Ради даљег испитивања, дечак је упућен у Институт за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић” у Новом Београду.

Болесник је друго дете из друге, одржаване трудноће. У трећем месецу трудноће је, због нивоа гликемије од $6,3 \text{ mmol/l}$, урађен *OGTT*, чији су налази били нормални. Порођај је био термински и протекао је нормално. Телесна маса детета на рођењу била је 3850 g , а дужина 56 cm . Досадашњи психомоторни развој дечака је нормалан.

Из породичне анамнезе се сазнало да мајка пати од дијабетес мелитуса, који јој је дијагностикован у 27. години, три године после трудноће с овим дететом. Највиша досад измерена вредност гликемије била је $8,5 \text{ mmol/l}$, а гликозилираног хемоглобина (*HbA1c*) $7,1\%$. Добру метаболичку контролу болести мајка је постигла дијетом и применом препарата сулфонилуреје. Деда по мајци такође болује од дијабетес мелитуса, који му је откривен у 30. години. Не лечи се. Има 77 година и нема већих здравствених проблема.

Због сумње да болује од *MODY2*, дечак је испитиван у Институту за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић” у узрасту од девет година. Клинички налаз је био нормалан. Резултати испитивања су показали следеће: *HbA1c* 6,3%, холестерол 3,86 *mmol/l*, триглицериди 0,79 *mmol/l*, налаз *OGTT* нормалан. У регионалном здравственом центру је у два наврата измерена концентрација *C*-пептида и оба пута је била нормална: пре јела 461,7 *pmol/l*, после јела 1377,0 *pmol/l* (референтне вредности 364-1655 *pmol/l*). Такође, неколико пута је одређиван ниво *HbA1c*, који није прелазио 7,0% (нормалне вредности 4,6-6,4%).

Ради испитивања етиологије болести на молекуларном нивоу, узорак крви послат је у лабораторију *Royal Devon and Exeter NHS Foundation Trust*, у Великој Британији. Изаолована је геномска ДНК из лимфоцита периферне крви болесника коришћењем стандардних поступака. Анализа ДНК рађена је методом *PCR* (енгл. *Polymerase Chain Reaction* – реакција ланчаног умножавања ДНК) уз коришћење једноланчаних олигонуклеотида (тзв. прајмера) за умножавање десет егзона и конзервисаних граничних места егзон-интрон гена за глукокиназу. Секвенца добијених *PCR* производа одређена је применом стандардних метода (капиларна електрофореза *ABI 3730-Applied Biosystems*). За обраду добијених података коришћен је програм *Mutation Surveyor v. 2.61* (<http://biogene.com>). Резултати ДНК анализе показали су да је дечак хетерозигот за нову тзв. *missense* мутацију (мутације које доводе до замене једне аминокиселине другом), означену као *R250C* (генотип *R250C/N*). Мутација је лоцирана у егзону 7 и представља замену само једног базног пара (цитозин са тимином) у нуклеотиду 748 (с.748 *C>T*). Ова замена за последицу има супституцију аминокиселине цистеин-аргинином на позицији 250 у полипептидном ланцу (*p.Arg250Cys*). Овај аргинински резидуални остатак је у бројним врстама идентичног састава, што значи да се није мењао током еволуције. Резултатом је потврђена дијагноза *MODY2*.

Дечаку су препоручене дијета без концентрованих угљених хидрата и редовна физичка активност.

ДИСКУСИЈА

Адултни облик дијабетес мелитуса код младих особа јавља се с учесталосту 3-5% у односу на целокупну популацију оболелих од дијабетеса. Како се код болесника с *MODY* прогноза болести и лечење битно разликују од прогнозе и лечења дијабетес мелитуса тип 1 и 2, специфична дијагноза је веома значајна. То исто важи и за различите подтипове *MODY*. Њихово препознавање је могуће једино захваљујући молекуларној дијагностици [3, 4]. Мутације у гену за глукокиназу, хепатоцитни нуклеусни фактор *1α* (*HNF-1α*), *HNF-4α* и *HNF-1β* чине 85% *MODY* мутација. Преосталих 10-15% *MODY* случајева настају због мутација у једном или више непознатих гена [3]. Стога сада-

шња комплетна молекуларна анализа *MODY* подразумева секвенцирање сва четири гена.

Подтип *MODY2* настаје услед мутације гена за глукокиназу. Глукокиназа функционише као глукозни сензор за лучење инсулина. Због мутације, активност глукокиназе је ослабљена и ниво гликемије који представља праг за лучење инсулина се са 5 *mmol/l* повећава на 6-7 *mmol/l*. Лучење инсулина код особа са *MODY2* је смањена и обично износи око 60% лучења инсулина здраве особе за дати ниво глукозе у крви [4].

Када је реч о биохемијском фенотипу, тј. хипергликемији, пенетрантност *MODY2* је 100%, што је забележено и у породици приказаног болесника. Метаболички поремећаји *MODY2* могу да се испоље већ на рођењу. Због смањеног лучења инсулина током периода фетуса, код новорођенчади са *MODY2* се чешће бележи интраутерусни застој у расту, па се деца рађају мала за гестационо доба. Ако мајка има исти облик болести, матернална хипергликемија компензује ефекат мутације код фетуса и онда је телесна маса новорођенчета нормална, што се десило и код приказаног болесника [5].

Клиничко испољавање болести је обично благо, као што је и у породици приказаног болесника. Хипергликемија је стабилна, односно са годинама се најчешће не погоршава. Мање од 50% свих особа са *MODY2* испуњава критеријуме за дијабетес. Тако је и код приказаног болесника забележен нормалан налаз на *OGTT* и ниво *HbA1c* на горњој граници нормалних вредности. Према анамнестичким подацима о доброј контроли дијабетеса, као и досадашњем надзору дечака, претпоставља се да ће дугогодишња задовољавајућа метаболичка контрола болести бити могућа без медикамената, односно само уз примену дијете без концентрованих угљених хидрата. Изостанак касних микроангиопатских компликација код мајке и деде по мајци је такође у складу с искуствима код особа са *MODY2* [6].

Код болесника је утврђена нова мутација у егзону 7 гена за глукокиназу. Ово откриће не изненађује будући да су нове мутације гена за глукокиназу веома честе [7, 8]. Иако је у нашој средини појам адултног дијабетес мелитуса код младих особа познат дуже од 25 година, ово је први болесник дечјег узраста у Србији код којег је на молекуларном нивоу потврђен подтип *MODY2*. С обзиром на број особа, како деце и младих, тако и одраслих, који болују од дијабетеса у Србији, сасвим је сигурно да има много породица са фенотипом *MODY* који се лече под погрешним дијагнозама дијабетес мелитуса тип 1, тип 2 или гестационог дијабетеса. То је највероватније последица непрепознавања болести, као и немогућности да се генетске анализе ураде у земљи. С обзиром на то да је дијагноза на молекуларном нивоу изузетно значајна за прогнозу подтипа *MODY*, евентуалну примену инсулина у будућности и познавање ризика од настанка касних компликација, потребно је да се свакој породици чији чланови имају фенотип *MODY* ураде ге-

нетске анализе у некој од специјализованих лабораторија. Анализа се ради само једанпут у животу, па нема понављаних трошкова, а узимање и слање узорка је једноставно. Тиме би се сазнале учесталост појединих подтипова и врсте мутација које су типичне за нашу популацију, а може да се користи и за пренаталну дијагнозу.

Адултни облик дијабетес мелитуса код младих особа је редак облик дијабетеса. Ипак, на овај поремећај треба мислити када више од једног члана уже породице болује од дијабетеса, поготову ако се болест јавља у две или више узастопних генерација. Од свих подтипова најчешћи је *MODY2*. Дијагностиковање подтипа на молекуларном нивоу омогућава адекватан приступ у лечењу и дугорочну прогнозу. Такође, познавање мутације гена омогућава раније откривање болести код других чланова породице, а може да се користи и за пренаталну дијагнозу.

ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујемо колегама из лабораторије *Royal Devon & Exeter NHS Foundation Trust* из Ексетера, у Великој Британији, на молекуларној анализи гена за глукокиназу и сугестијама приликом спремања приказа болесника. Захваљујемо и проф. Марији Шћекић и Да-

нијели Радивојевић, молекуларним биолозима генетске лабораторије Института за здравствену заштиту мајке и детета Србије „Др Вукан Чупић“ на помоћи приликом превођења на српски језик резултата генетске анализе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Banićević M, Joksimović I, Zdravković D. Adultni tip dijabetes melitusa u mladih osoba. (Mason syndrome – Mejsonov sindrom). *Sr Arh Celok Lek* 1981; 109(12):1631-9.
2. Hattersley AT, Tattersall RB. Maturity-onset diabetes of the young. *Bailliere's Clin Paediatr* 1996; 4:663-80.
3. Olek K. Maturity-onset diabetes of the young: an update. *Clin Lab* 2006; 52(11):593-8.
4. Timsit J, Bellane-Chantelot C, Dubois-Laforgue D, Velho G. Diagnosis and management of maturity-onset diabetes of the young. *Treat Endocrinol* 2005; 4(1):9-18.
5. Velho G, Hattersley AT, Froguel P. Maternal diabetes alters birth weight in glucokinase-deficient (*MODY2*) kindred but has no influence on adult weight, height, insulin secretion or insulin sensitivity. *Diabetologia* 2000; 43:1060-3.
6. Barrio R, Bellane-Chantelot C, Moreno JC, et al. Nine novel mutations in maturity-onset diabetes of the young (*MODY*) candidate genes in 22 Spanish families. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87(6):2532-9.
7. Mantovani V, Salardi S, Cerreta V, et al. Identification of eight novel glucokinase mutations in Italian children with maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mutat* 2003; 22(4):338.
8. Pruhova S, EK J, Sumnik Z, et al. Genetic epidemiology of *MODY* in the Czech republic: new mutations in the *MODY* genes *HNF-4alpha*, *GCK* and *HNF-1alpha*. *Diabetologia* 2003; 46(2):291-5.

NOVEL GLUCOKINASE MUTATION IN A BOY WITH MATURITY-ONSET DIABETES OF THE YOUNG

Tatjana MILENKOVIĆ, Dragan ZDRAVKOVIĆ, Katarina MITROVIĆ
Mother and Child Healthcare Institute of Serbia "Dr Vukan Čupić", Belgrade

INTRODUCTION Maturity-onset diabetes of the young (*MODY*) is a heterogenous group of disorders characterized by an early onset of insulin-independent diabetes mellitus, an autosomal dominant mode of inheritance and a primary defect in beta-cell. There are six subtypes of *MODY*. *MODY2* and *MODY3* are the most frequent.

CASE OUTLINE We present a nine-year-old boy with intermittent hyperglycaemia. According to family history, the diagnosis of *MODY2* was suspected. Molecular analysis revealed novel missense mutation R250C in exon 7 of glucokinase gene. Mutation (c.748 C>T) is the result of substitution of aminoacid cysteine by arginine (p.Arg250Cys). This is the first paediatric patient with *MODY2* in Serbia whose diagnosis is established at molecular level.

CONCLUSION Molecular diagnosis of *MODY* has important consequences in terms of prognosis, therapy and family screening of the disorder. Investigation of other patients with *MODY2* in our country is important to establish prevalence and nature of mutations in glucokinase gene.

Key words: diabetes; *MODY*; glucokinase; novel mutation

Tatjana MILENKOVIĆ
Institut za zdravstvenu zaštitu majke
i deteta Srbije „Dr Vukan Čupić“
Radoja Dakića 8, 11070 Beograd
Tel.: 011 3108 109
Faks: 011 2697 232
E-mail: tanjamil@eunet.rs

* Рукопис је достављен Уредништву 8. 8. 2007. године.