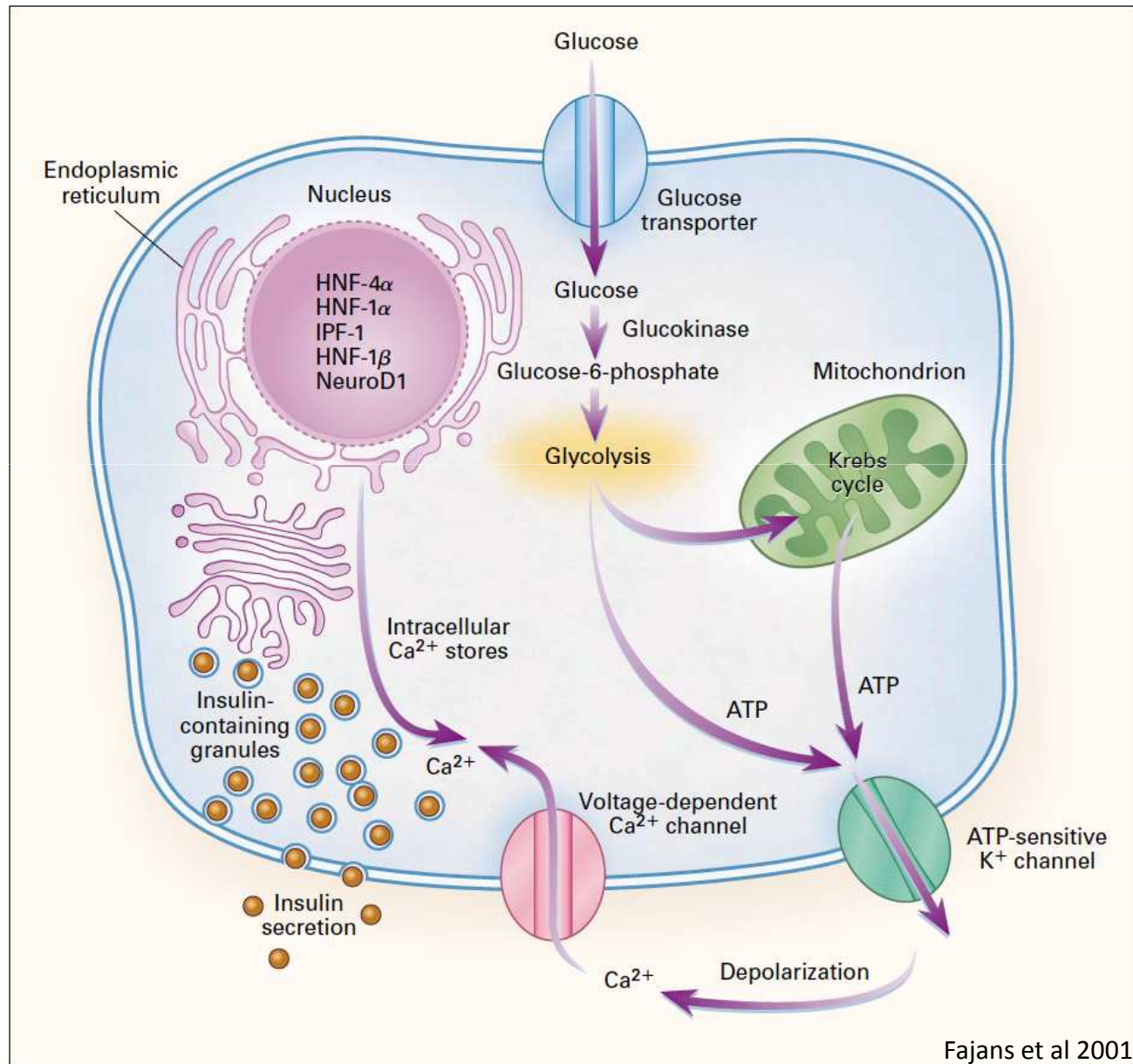
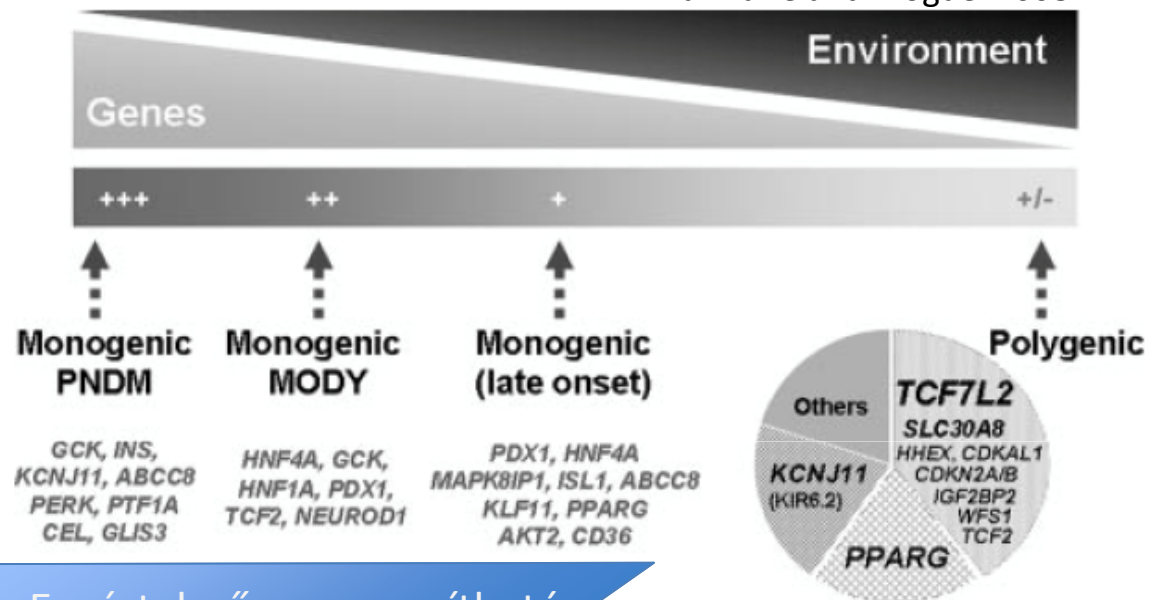


Monogénes diabetesek molekuláris genetikai vizsgálata



A diabetes spektruma genetikai szempontból

Vaxillaire and Froguel 2008



Egyértelműen azonosítható kóros mutációk: monogénes fenotípusok

Kockázat moduláló gyakori SNP-k: poligénes multifaktoriális fenotípus (II-es típusú DM)

MODY – Maturity-Onset Diabetes of the Young

	I-es típusú DM	II-es típusú DM	MODY
Előfordulás	Gyakori	Igen gyakori	Ritka
Öröklődés	Poligénes	Multifaktoriális	AD
Családi halmozódás	<15%	>50%	100%
Tünetek	Gyermekkor	Felnőttkor	<25 év
Ketosis	Gyakori	Ritka	Ritka
Obesitas	+/-	>90%	+/-
Autoimmun	+	-	-
Patofiziológia	β -sejt destrukció	Inzulin rezisztencia	β -sejt diszfunkció

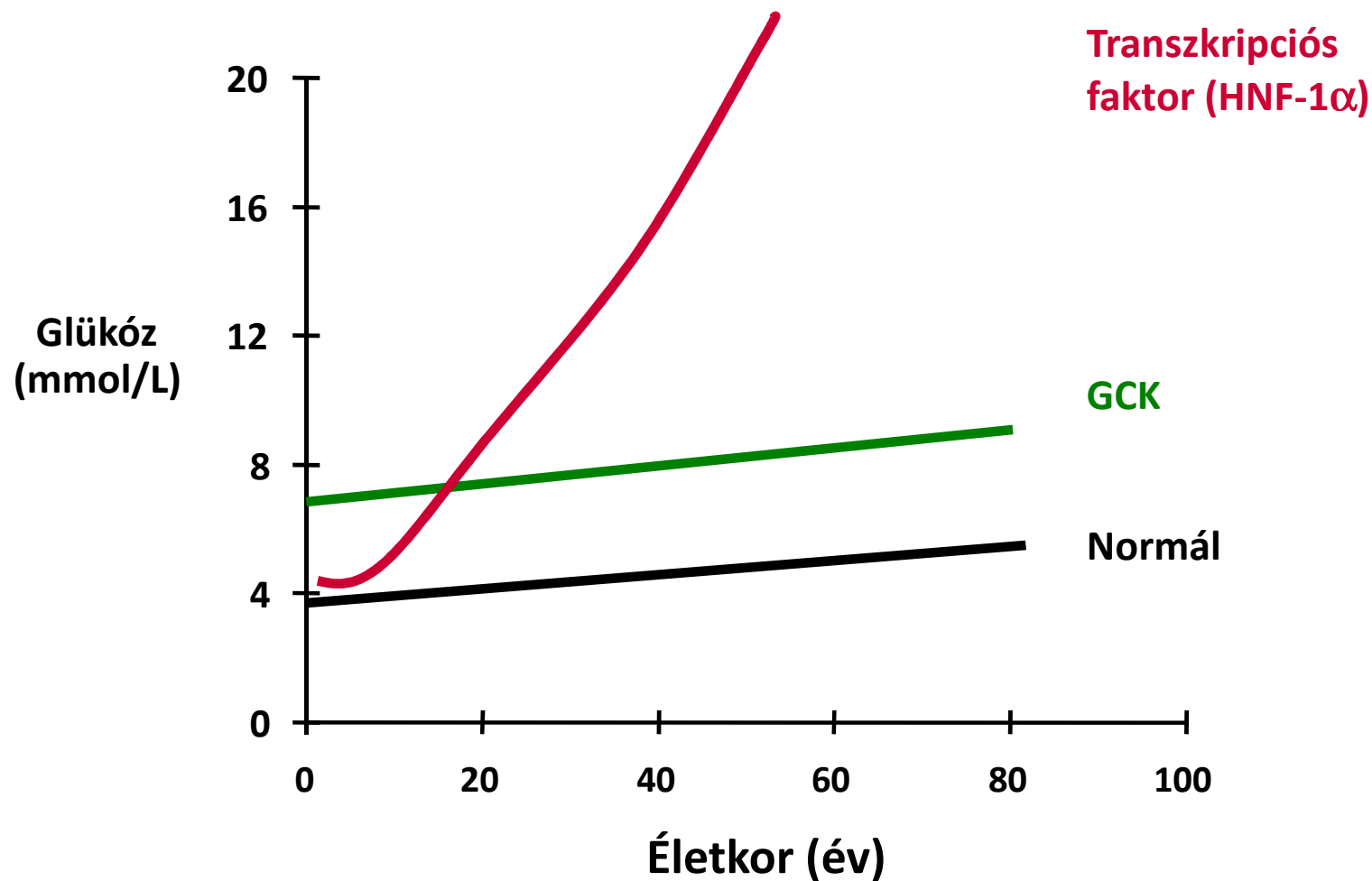
Nyunt et al 2009 alapján

A MODY jellemzői

- korai kezdet, általában 25 éves életkor előtt
- családi halmozódás, több generáció lehet érintett
- autoszomális domináns öröklődés
- nem inzulin-dependens diabetes
- az obesitas hiánya
- a béta-sejt-működés primer zavara
- az összes diabetes akár 1-2%-a is lehet Európában, gyakran nem kerül felismerésre
- klinikailag heterogén csoport

	Gene symbol (other symbol)					
	<i>GCK</i>	<i>HNF1A (TCF1)</i>	<i>HNF4A</i>	<i>PDX1 (IPF1)</i>	<i>NEUROD1</i>	<i>HNF1B (TCF2)</i>
Protein	Glucokinase	Hepatocyte nuclear factor-1 alpha	Hepatocyte nuclear factor-4 alpha	Insulin promoter factor-1	Neurogenic differentiation 1	Hepatocyte nuclear factor-1 beta
Chromosome locus	7p13	12q24.31	20q13.12	13q12.2	2q31.3	17q12
Gene Accession no.	NM_000162.2	NM_000545.4	NM_000457.3 ^a	NM_000209.2	NM_002500.2	NM_000458.1
OMIM * (Gene)	138079	142410	600281	600733	601724	189907
OMIM # (Phenotype)	125851	600496	125850	606392	606394	137920
Mutation frequency (%) (not known in ~20% of cases)	20–50	20–50	~5	<1	<1	~5

A MODY altípusok glükóz szintre gyakorolt hosszútávú hatása különböző



A MODY genetikai vizsgálatok célja

1. Diagnózis: a MODY klinikai diagnózisának alátámasztása.
2. Prognózis: az eltérő MODY szubtypusok nagymértékben eltérő prognózissal bírnak.
3. Korai beavatkozás: a MODY kóroki eltérés kimutatása korai felismerést tesz lehetővé (aszimptomatikus kaskád vizsgálatok). Diabetes komplikációk elkerülése/ késleltetése.
4. Adekvát terápia vagy a szükségtelen terápia elkerülése.

Molekuláris epidemiológia - hazánkban nem ismert a prevalencia, a mutációs spektrum, de még a betegség sem.

MODY fenotípust okozó gének

MODY1: hepatocyte nuclear factor-4-alpha gén (HNF4A).

MODY2: glükokináz gén (GCK).

MODY3: hepatocyte nuclear factor-1alpha gén (HNF1A).

MODY4: pancreas/duodenum homeobox protein-1 gén (PDX1).

MODY5: hepatic transcription factor-2 gén (TCF2) = HNF1B.

MODY6: NEUROD1 gén.

MODY7: KLF11 gén .

MODY8: diabetes-pancreatic exocrine dysfunction syndrome, CEL gén.

MODY9: PAX4 gén.

MODY10: inzulin gén (INS).

MODY11: BLK gén.

GCK-MODY (MODY2)

- Pancreas glükóz szenzor
- Születéstől emelkedett éhomi vércukor (5,5-9 mmol/L)
- OGTT: kicsi emelkedés (< 3mmol/L)
- Nincsenek extra-pancreatikus jellemzők
- Gyakran aszimptomatikus (gyakoriság a szűrési szokásoktól függ)
- Gyakran GDM-ként jelentkezik (terhesek automatikus szűrése!): a gestatos diabetes 5-6%-ának háttérében GCK MODY állhat
- Szövődmények nincsenek, kezelést általában nem igényel - fontos a felesleges terápia elkerülése

Table 2 Clinical criteria based on which a diagnostic genetic test for *GCK* MODY may be considered (from Ellard, S. et al, 2008 (22)).

Clinical criteria based on which a diagnostic genetic test for GCK MODY may be considered

Fasting Hyperglycaemia is ≥ 5.5 mmol/l, persistent and stable over a period of months or years

HbA1c just above upper limits of normal, rarely exceeds 7.5%

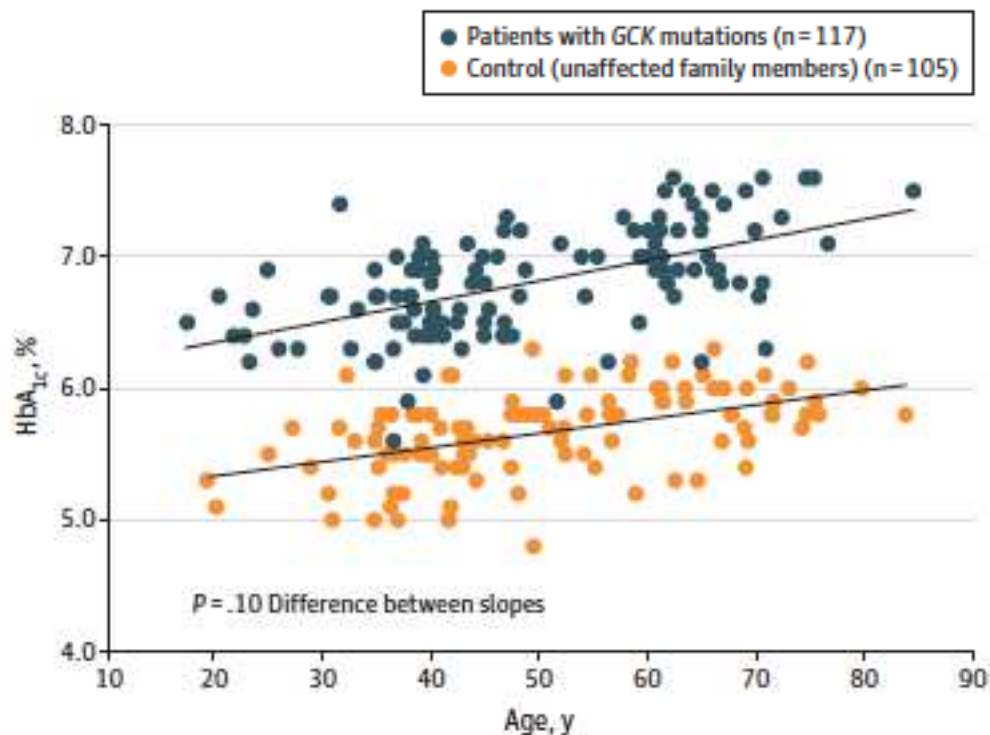
In an OGTT the increment is small (≤ 4.6 mmol/l)

Parents may have type 2 diabetes, with no complications, or may not be diabetic

Table 1. Characteristics of a Subgroup of Participants in the 3 Groups

Characteristics	Median (IQR)		
	GCK Group (n = 99)	Control Group (n = 91) ^a	YT2D Group (n = 83)
Men, No. (%)	20 (20)	41 (45)	52 (63)
Current age, y	48.6 (40.1-62.7)	52.2 (42.3-64.8)	54.7 (49.2-62.0)
BMI	26.1 (22.3-29.3)	28.0 (25.3-31.2)	32.2 (28.3-37.0)
Age hyperglycemia or diabetes diagnosis, y	33 (24-44)	NA	40 (35-42)

Figure. Scatterplot of glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}) by Age in Patients With GCK (n=117) Compared With Control (n=105)

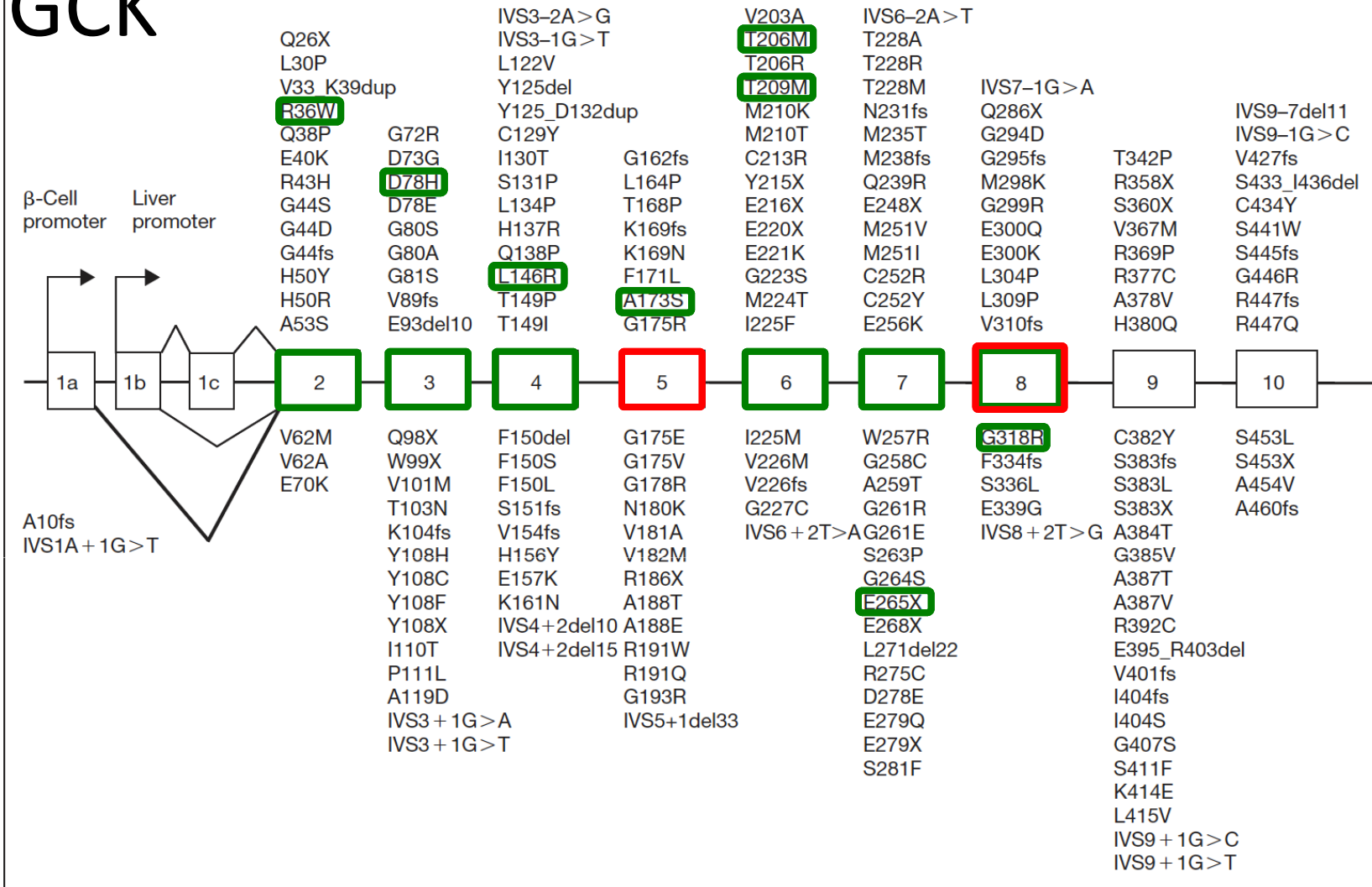


"By comparing GCK mutation carriers with unaffected relatives, it is as if the investigators had collaborated with nature to perform a randomized clinical trial of mild hyperglycemia, with randomization occurring at the time of allele assortment in meiosis."

Table 2. Prevalence and Severity of Complications in the 3 Groups

	No./Total (% [95% CI]) of Participants			P Value	
	GCK (n = 99)	Control (n = 91)	YT2D (n = 83)	GCK vs Control Groups	GCK vs YT2D Groups
Microvascular Complications					
Renal					
Persistent microalbuminuria	1/97 (1 [0.2-6])	2/89 (2 [0.2-8])	17/80 (21 [13-32])	.60	<.001
Proteinuria	0/97 (0 [0-4])	0/91 (0 [0-4])	8/80 (10 [4-19])	>.99	<.001
Retinal					
Any degree of retinopathy	27/90 (30 [21-41])	12/87 (14 [7-23])	52/83 (63 [51-73])	.007	<.001
Background retinopathy (all severities)	27/90 (30 [21-41])	12/87 (14 [7-23])	34/83 (41 [30-52])		
<5 Microaneurysms	22/27 (81 [62-94])	12/12 (100 [74-100])	13/34 (38 [22-56])	.02	.05
>5 Microaneurysms	5/27 (19 [6-38])	0/12 (0 [0-26])	21/34 (62 [44-78])		
Preproliferative retinopathy	0/90 (0 [0-4])	0/87 (0 [0-4])	7/83 (8 [3-17])	>.99	.005
Proliferative retinopathy	0/90 (0 [0-4])	0/87 (0 [0-4])	8/83 (10 [4-18])	>.99	.002
Maculopathy	0/90 (0 [0-4])	0/87 (0 [0-4])	17/83 (20 [12-31])	>.99	<.001
Advanced eye disease	0/90 (0 [0-4])	0/87 (0 [0-4])	3/83 (4 [1-10])	>.99	.005
Laser therapy for retinopathy	0/90 (0 [0-4])	0/87 (0 [0-4])	23/83 (28 [18-39])	>.99	<.001
Peripheral neuropathy ^a	2/93 (2 [0.3-8])	0/89 (0 [0-4])	24/83 (29 [20-50])	.16	<.001
Macrovascular Complications					
Vascular					
Intermittent claudication ^c	0/97 (0 [0-4])	0/91 (0 [0-4])	5/83 (6 [0-13])	>.99	.14
Significantly reduced ABPI (ABPI<5.0)	0/97 (0 [0-3])	0/91 (0 [0-3])	0/83 (0 [0-4])	>.99	>.99
Significantly increased ABPI (ABPI≥1.40)	1/97 (1 [0.2-6])	3/91 (3 [0.7-9])	9/83 (11 [5-20])	.30	.006
Amputation	0/97 (0 [0-4])	0/91 (0 [0-4])	4/83 (5 [1-12])	.10	.04
Peripheral vascular disease ^d	1/93 (1 [0-5])	3/89 (3 [0-9])	13/83 (16 [8-25])	.30	<.001
Angina ^e	4/93 (4 [1-10])	10/89 (11 [5-19])	18/83 (22 [13-32])	.07	<.001
Myocardial infarction	2/89 (2 [0.2-7])	2/97 (2 [0.2-8])	5/83 (6 [2-14])	.99	.16
Ischemic heart disease ^f	2/99 (2 [0.2-7])	5/91 (5 [2-13])	13/83 (16 [10-29])	.32	.001
Minnesota coding: coronary disease probable ^g	9/69 (13 [6-23])	20/81 (25 [16-36])	19/75 (25 [16-37])	.07	.06
Cerebral vascular events					
Stroke	0/99 (0 [0-4])	0/91 (0 [0-4])	4/83 (5 [1-12])	>.99	.04

GCK



c.106C>T, p.R36W (Nyíregyháza) – ismert mutáció

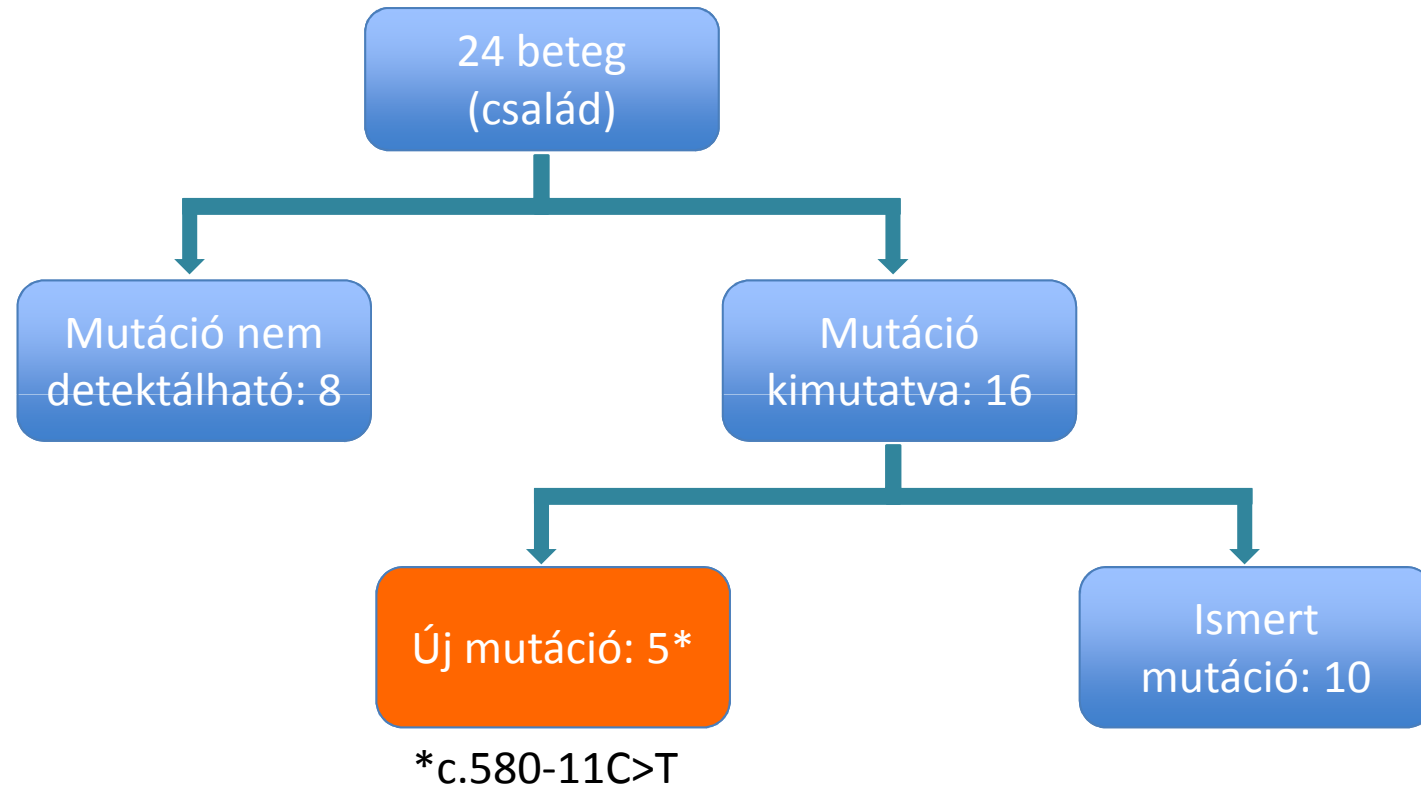
c.232G>C, p.D78H (Nyíregyháza) – ismert mutáció

c.467T>G, p.L146R (Nyíregyháza) – ismert mutáció

c.702C>A, p.Y234X (Budapest) – ismert mutáció

c.952G>C, p.G318R (Szentes/Hódmezővásárhely) – ismert mutáció

GCK - összefoglalás



Detektálási szenzitivitás: 16(15)/24.

Lelet – MODY (GCK)

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
LABORATÓRIUMI MEDICINA
INTÉZET
4032 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.
Igazgató: Dr. Kappelmayer János egyetemi tanár
Web: www.kbmpi.hu



UNIVERSITY OF DEBRECEN
MEDICAL HEALTH SCIENCE CENTER
DEPARTMENT OF LABORATORY
MEDICINE
H-4032, Hungary Debrecen Nagyerdei krt. 98.
Chairman: János Kappelmayer M.D., Ph.D., DSc
Web: www.kbmpi.hu

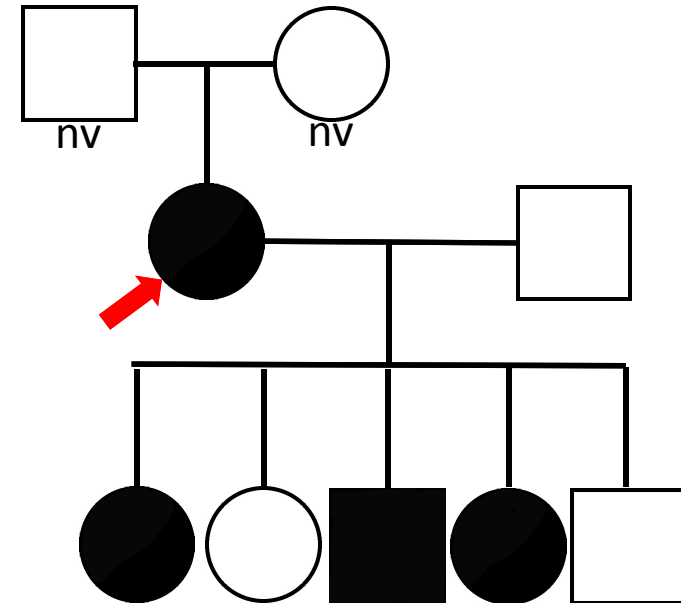
Laboratóriumi lelet

Név : ██████████ Rendelésazonosító : ██████████
Születési idő : 1968.07.13 TAJ/Belső AZ : ██████████
Cím : ██████████
Beküldő mh. : Székesfehérvár, Szt.György MKh CSECSEMO- ES GYERMEKGYOGYASZAT (20982)(070120528)
Beküldő orvos..... : Benn Orsolya Dr.(58624)
Beérkezés ideje : 2012.12.17 Leletezés időpontja..... : 2013.07.29 15:57
Iránydiagnózis..... : U9990

Vizsgálat	Eredmény
Molekuláris gen.vizsg.eredm.:	<p>A glükokináz gén molekuláris genetikai vizsgálata (GCK gén analízis)</p> <p>EREDMÉNY: Heterozigóta c.872A>T (p.K291M).</p> <p>MÓDSZERTAN: A GCK gén exonjait 9 PCR reakcióval amplifikáltuk. A PCR termékeket bidirekcionális DNS szekvenálással vizsgáltuk.</p> <p>INTERPRETÁCIÓ: 1. A c.872A>T a szakirodalomban korábban le nem írt eltérés, patogénitására utalhatnak az alábbi tények: - Az ember és számos állatfaj esetén a GCK gén 291. aminosav helye konzervatív. - A 291. aminosav helyen más aminosav cserével járó (p.K291E) MODY-t okozó eltérést már publikáltak (Osbak et al, Hum Mutat 2009;30:1512-26). - A GCK gén ezen régiójában, a 289-295-ös kodonig, minden egyes aminosav helyen, különböző aminosav cserével járó MODY-t okozó mutációt már leírtak. - A GCK génben a 197-es, a 251-es, és a 298-as aminosav helyen a metionin/lizin misszensz mutáció is igazoltan nagyon magas rizikójú predikciót jelent MODY-ra nézve. - A vér szerinti családtagok célzott molekuláris genetikai vizsgálata ██████████, ██████████, és ██████████ esetében a mutáció öröklődését igazolta heterozigóta formában, amely genetikai státusz tökéletesen korrelál a diabétessel, míg a nem érintett családtagok esetében a mutáció nincs jelen. 2. Az eredmény ██████████ esetében valószínűsíti a glükokináz MODY (MODY2) diagnózisát.</p> <p>JAVASOLT: 1. Genetikai tanácsadás. 2. A diabetes jelenleg alkalmazott terápiájának áttekintése.</p>

Elfogadta: Dr. Balogh István

AD



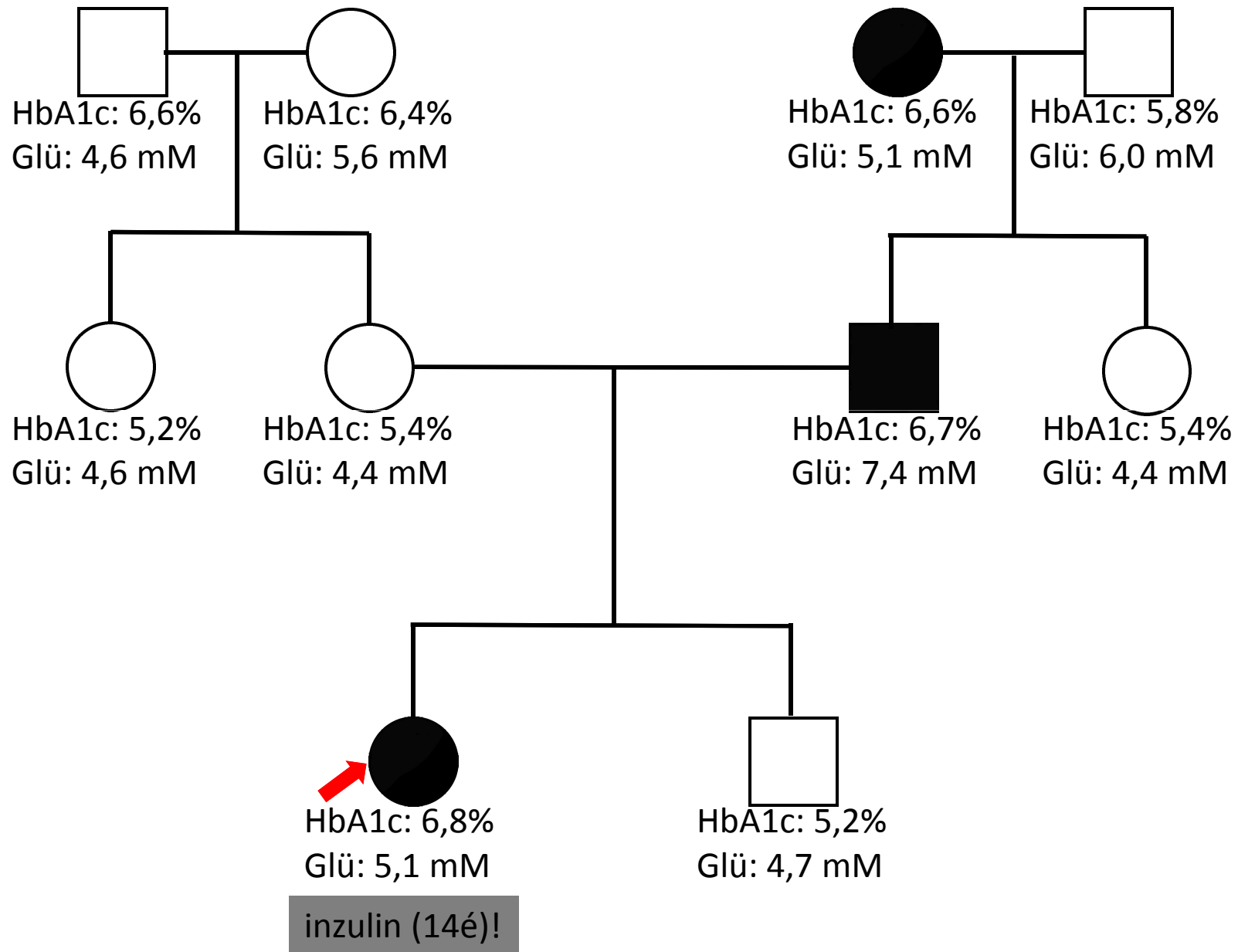


Laboratóriumi lelet

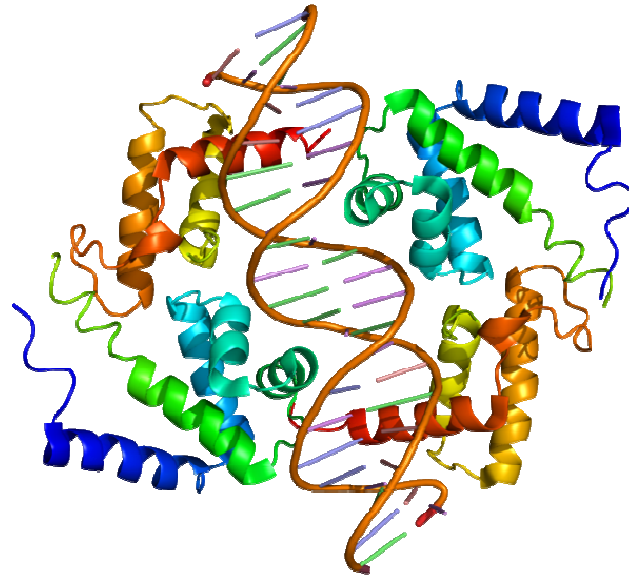
Név: [REDACTED] Rendelésazonosító : 20130805-0051
Születési idő : 1965.11.29 TAJ/Belső AZ : [REDACTED]
Cím: [REDACTED]
Beküldő mh. : Székesfehérvár, Szt.György MKh CSECSEMO- ES GYERMEKGYOGYASZAT (20982)(070120528)
Beküldő orvos..... : Benn Orsolya Dr.(58624)
Beérkezés ideje..... : 2013.08.05 Lelevezés időpontja..... : 2013.08.08 10:34
Iránydiagnózis.....: U9990

Vizsgálat	Eredmény
Molekuláris gen.vizsg.eredm.:	<p>A glükokináz gén molekuláris genetikai vizsgálata (GCK gén analízis)</p> <p>EREDMÉNY: Heterozigóta c.115_117delAAG (p.K39del).</p> <p>MÓDSZERTAN: A GCK gén 2-es exonját 1 PCR reakcióval amplifikáltuk. A PCR terméket bidirekcionális DNS szekvenálással vizsgáltuk.</p> <p>INTERPRETÁCIÓ: 1. A családnhoz tartozó, már vizsgált beteg, [REDACTED] heterozigóta a c.115_117delAAG mutációra nézve, így az analízis során célzott molekuláris genetikai vizsgálat történt. 2. A c.115_117delAAG kis deléció a szakirodalomban korábban nem leírt mutáció, patogénitása nem bizonyított, bár nagyon valószínű. 3. Az adott aminosav pozícióhoz legközelebb eső ismert patogén eltérés a c.118_120delGAG (p.E40del, Osbak et al Hum Mutat 2009). 4. Családon belüli öröklődés a MODY egyik sajátossága. 5. Az eredmény [REDACTED] esetében valószínűsíti a glükokináz MODY (MODY2) diagnózisát.</p> <p>JAVASOLT: 1. Genetikai tanácsadás. 2. A diabetes jelenleg alkalmazott terápiajának áttekintése.</p>

GCK p.K39del család



HNF1 α -MODY (MODY3)



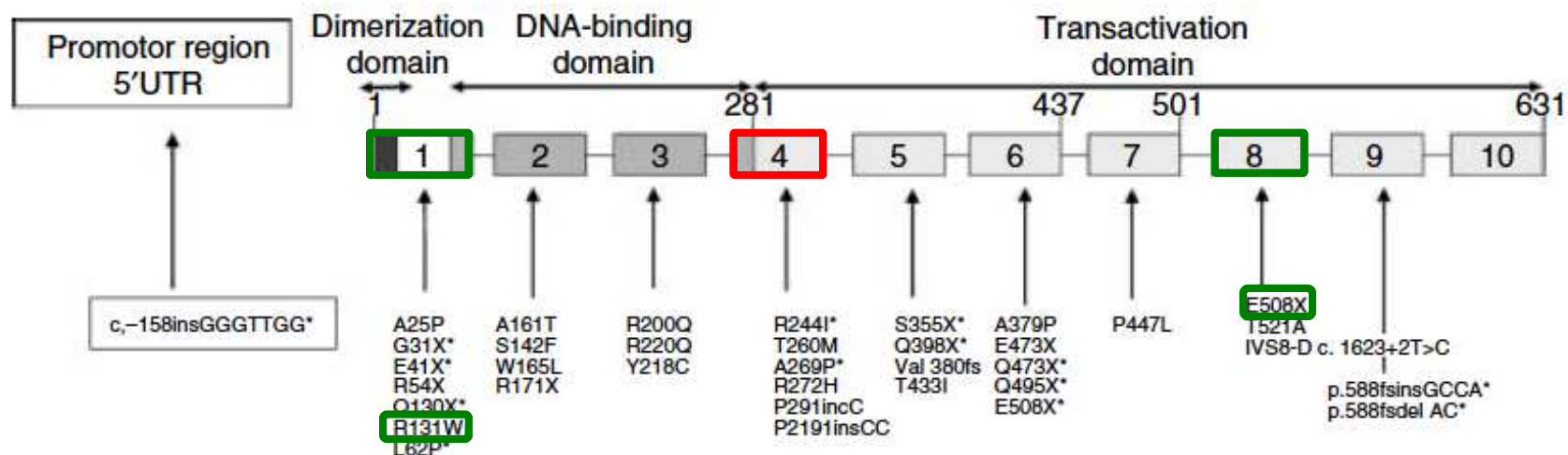
- A leggyakoribb MODY altípus
- Elsősorban máj és pancreas expresszió
- Kezdetben mérsékelt, később súlyosbodó hyperglykaemia
- Jellemző a glucosuria
- Microvasculáris komplikációk (nephro- és retinopáthia)
- a betegek nagyon érzékenyek a sulphonylurea terápiára

HNF1 α -MODY (MODY3)

Table 3 Clinical criteria based on which a diagnostic genetic test for *HNF1A* MODY may be considered (from Ellard, S. et al, 2008 (22)).

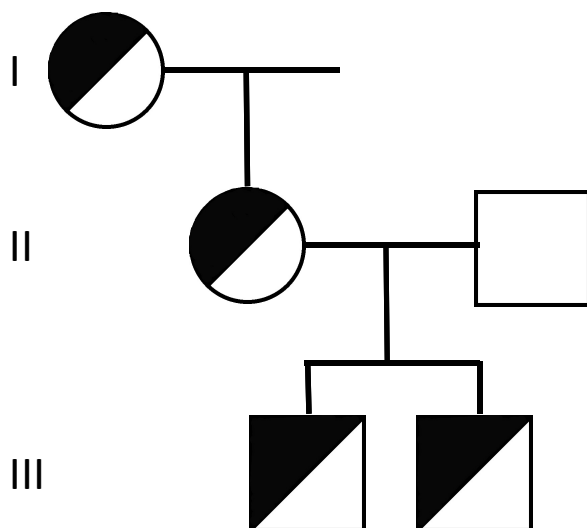
Clinical criteria based on which a diagnostic genetic test for <i>HNF1A</i> MODY may be considered
Young onset, usually before 25 years
Non-insulin-dependent outside the normal honeymoon period (3 years), e.g. not developing ketoacidosis in the absence of insulin, good glycaemic control on less than the usual replacement dose of insulin, or detectable C-peptide measured when on insulin with glucose >8 mmol/l.
Family history of diabetes (at least two generations). At least two individuals within the family would typically be diagnosed in their 20s or 30s.
OGTTs in early stages tend to show a very large glucose increment, usually >5 mmol/l. Some individuals may have a normal fasting level but a value within the diabetic range at 2 h.
The absence of pancreatic islet autoantibodies.
Glycosuria at blood glucose levels <10 mmol/l is often seen, as these patients have a low renal threshold
Marked sensitivity to sulfonylureas resulting in hypoglycaemia despite poor glycaemic control before starting sulfonylureas.
Several features suggesting monogenic diabetes rather than a diagnosis of young-onset type 2 diabetes should be considered: no marked obesity or evidence of insulin resistance in diabetic family members, absence of acanthosis nigricans and whether the family is from an ethnic background with a low prevalence of type 2 diabetes (e.g. of European descent).

HNF1A – ismert és új mutációk



c.391C>T, p.R131W (Veszprém, Nyíregyháza) – ismert mutáció

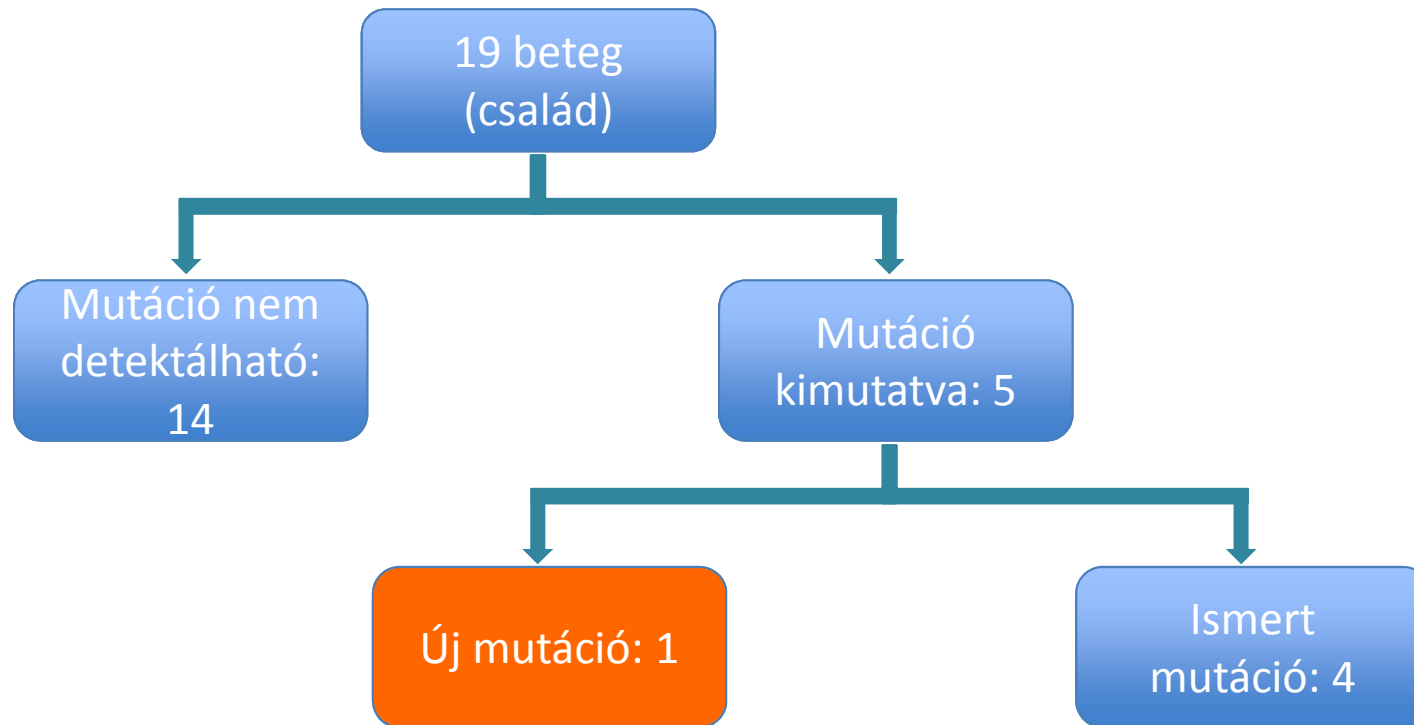
c.1522G>A, p.E508K (Hódmezővásárhely) – ismert mutáció



c.751G>A (p.A251T)

Családtag	Mutáció	Diabetes	Felismerése
I/1	+	+	25 évesen
II/1	+	+	39 évesen
II/2	-	-	-
III/1	+	+	19 évesen
III/2	+	-	- (23 éves)

HNF1A - összefoglalás



Detektálási szenzitivitás: 5/19.

Beküldők: Budapest, Debrecen, Hódmezővásárhely, Nyíregyháza, Pécs, Szolnok, Veszprém.

A CRP, mint HNF1A biomarker

Carlo Toniatti^{1,5}, Anna Demartis^{1,4},
Paolo Monaci^{2,5}, Alfredo Nicosia^{2,5} and
Gennaro Ciliberto^{1,3,5}

¹Dipartimento di Biochimica e Biotecnologie Mediche, II Facoltà di Medicina e Chirurgia, Via S. Pansini 5, 80131 Napoli, Italy,
²Meyerhofstrasse 1, 6900 Heidelberg, FRG and ³CEINGE, Centro di Ingegneria genetica, Via S. Pansini 5, 80131 Napoli, Italy.
⁴On leave of absence from Dipartimento di Fisiologia e Biochimica, Via Carducci 13, Ghezzano, Pisa, Italy
⁵Present address: IRBM Istituto di Ricerche di Biologia Molecolare, Via Pontina Km. 30,600 00040 Pomezia, Roma, Italy

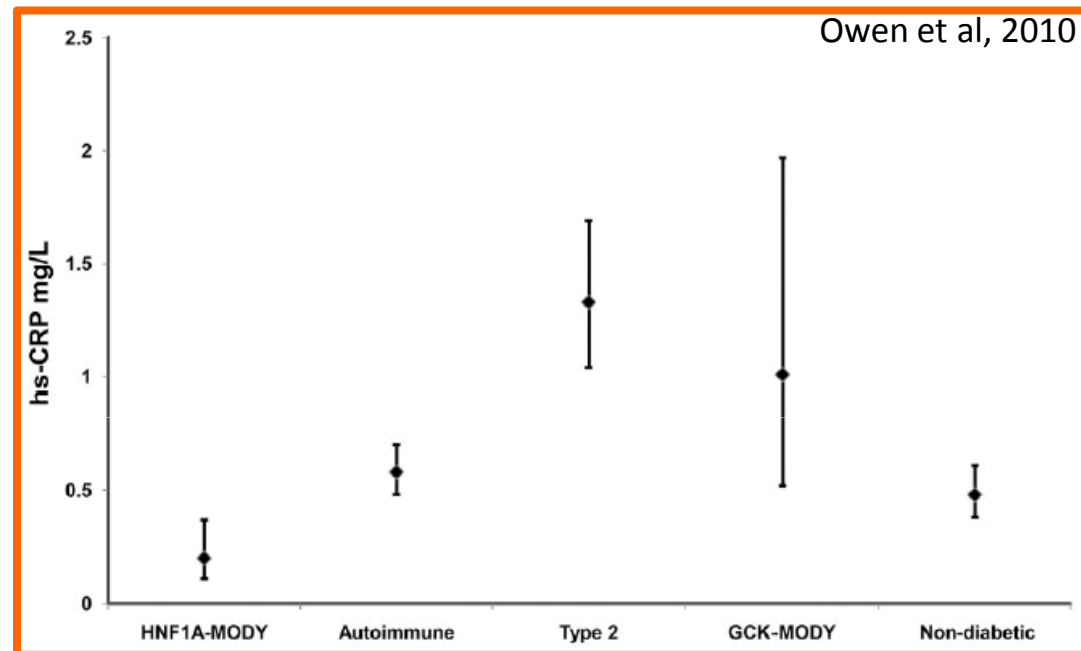
Communicated by G.Ciliberto

The promoter region of the human C-reactive protein (CRP) gene comprises two distinct regions (APREs, for Acute Phase Responsive Elements) each one containing information necessary and sufficient for liver specific and IL-6 inducible expression in human hepatoma Hep3B cells. In this paper we show that both APREs contain a low affinity binding site for the liver specific transcription factor HNF-1/LF-B1. The two sites are separated by ~80 bp. Mutations in either of the two sites abolish inducible expression. The same effect is specifically
EMBO, 1990

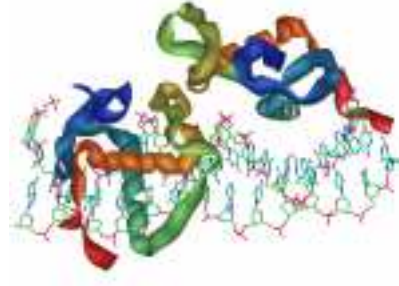
Polymorphisms of the *HNF1A* Gene Encoding Hepatocyte Nuclear Factor-1 α are Associated with C-Reactive Protein

Alexander P. Reiner,^{1,*} Mathew J. Barber,² Yongtao Guan,² Paul M. Ridker,³ Leslie A. Lange,⁴ Daniel I. Chasman,³ Jeremy D. Walston,⁵ Gregory M. Cooper,⁶ Nancy S. Jenny,⁷ Mark J. Rieder,⁶ J. Peter Durda,⁷ Joshua D. Smith,⁶ John Novembre,² Russell P. Tracy,⁷ Jerome I. Rotter,⁸ Matthew Stephens,² Deborah A. Nickerson,⁶ and Ronald M. Krauss⁹

AJHG, 2008

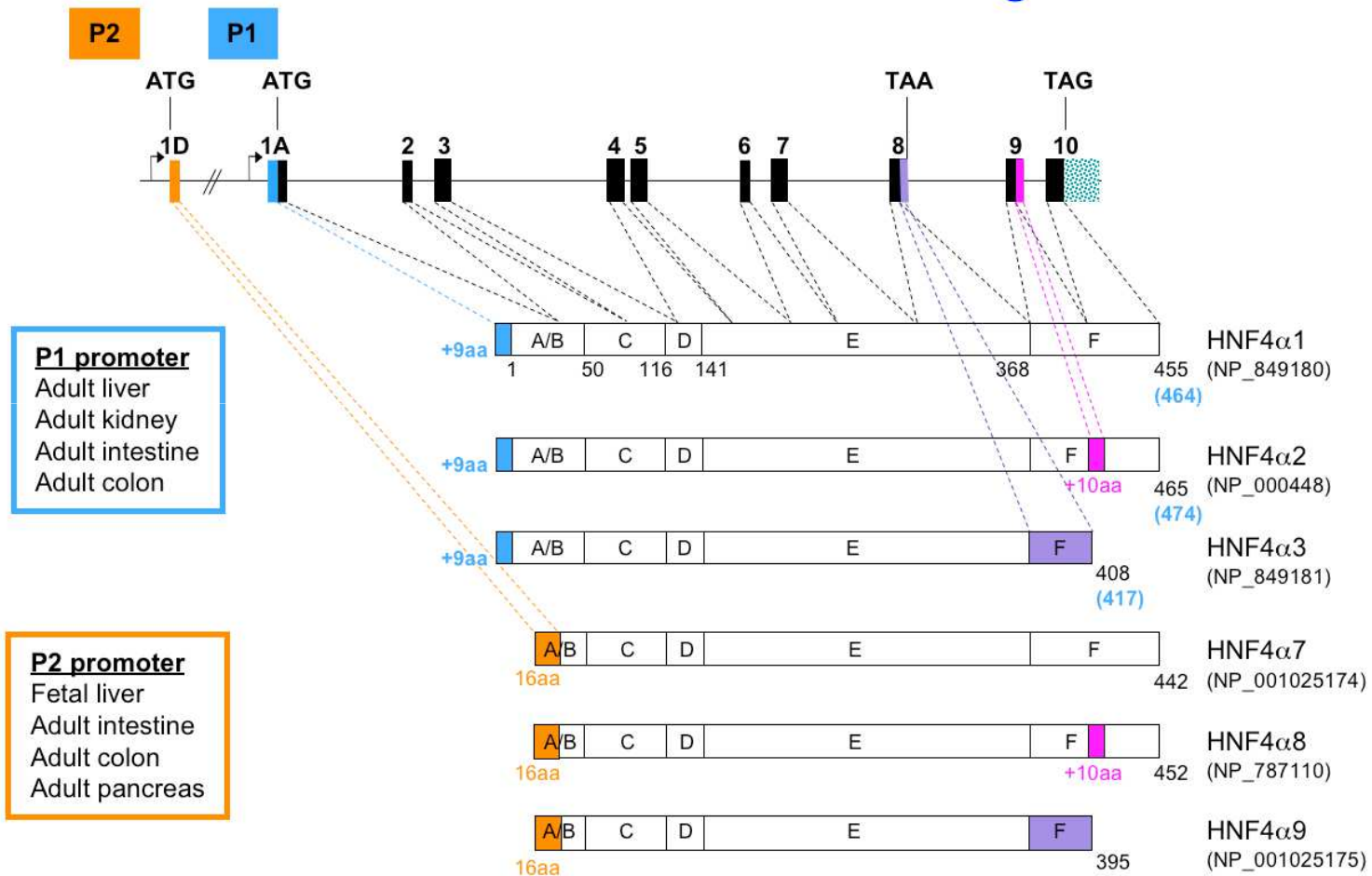


MODY1: hepatocyte nuclear factor-4-alpha gén (HNF4A).

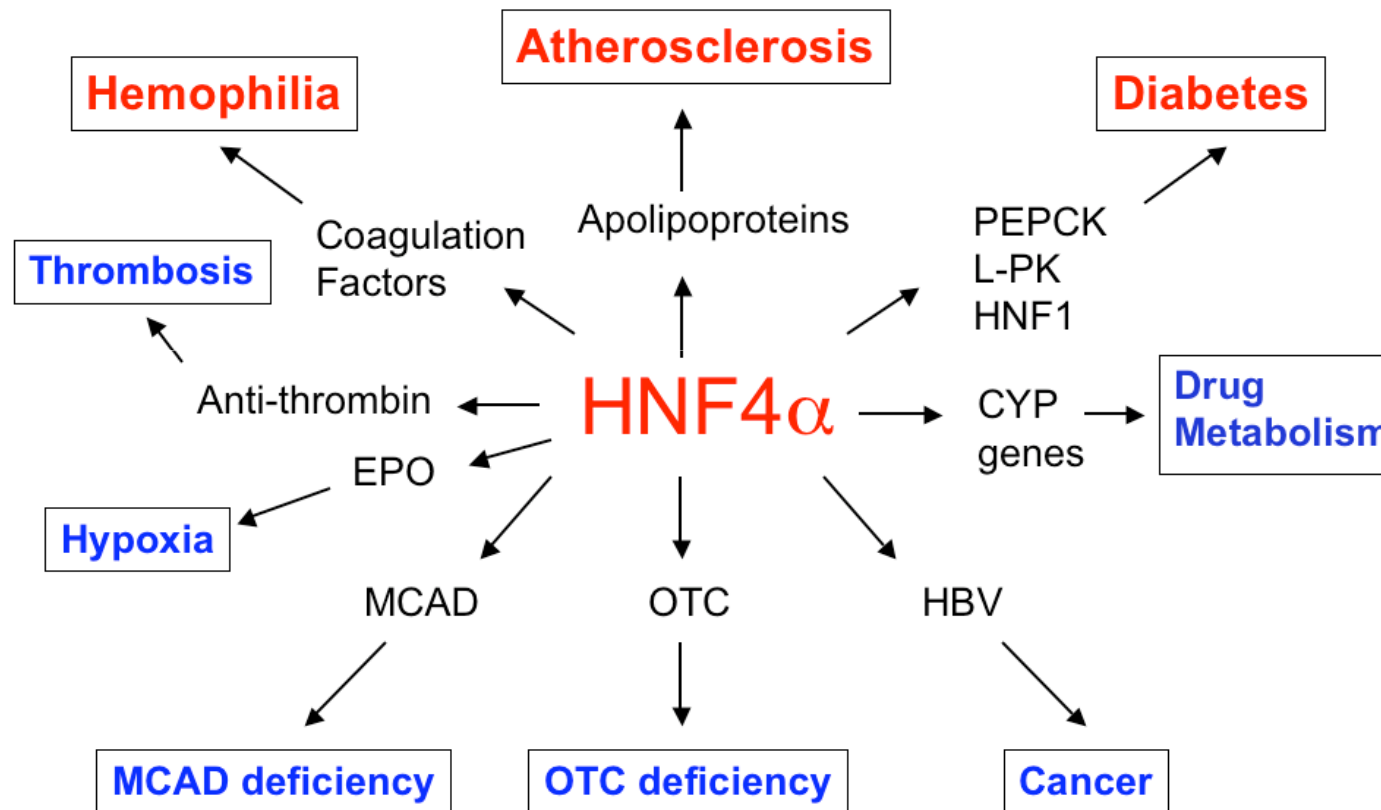


- HNF1 α expresszióját szabályozza
- Ritka, de a harmadik leggyakoribb MODY altípus
- Mutációja érinti a triglicerid és az apolipoprotein bioszintézisét: csökkent lipoprotein A1, A2 és HDL koleszterin
- macrosomia
- szintén érzékenyek sulphonylureára
- retinopathia

Structure of the *HNF4A* gene



HNF4 α and Human Disease



Hemophilia B Leyden: Substitution of Thymine for Guanine at Position - 21 Results in a Disruption of a Hepatocyte Nuclear Factor 4 Binding Site in the Factor IX Promoter

By Marlene J. Reijnen, Kathelijne Peerlinck, Diedka Maasdam, Rogier M. Bertina, and Pieter H. Reitsma

Hemophilia B Leyden is an X chromosome-linked bleeding disorder characterized by an altered developmental expression of blood coagulation factor IX. This form of hemophilia B has been found to be associated with a variety of single point mutations in the factor IX promoter region. We now describe a novel point mutation, T→G at position - 21, in two related patients with the hemophilia B Leyden phenotype. This mutation lies within the factor IX promoter region (- 40 to - 9) that contains overlapping binding sites for hepatocyte nuclear factor 4 (HNF-4) and androgen receptor. Transient transfection assays in HepG2 cells show that the - 21 mutation causes a significant reduction in factor IX promoter activity. Gel mobility shift assays and transient cotransfection experiments revealed that the HNF-4-binding site but not the androgen-responsive element is disrupted by the - 21 mutation. A comparison of the - 21 mutation with the previously described - 20 T→A mutation (associated with the hemophilia B Leyden phenotype) and - 26 G→C mutation (as-

sociated with severe hemophilia B throughout life) was made. It shows that the - 21 mutation reduced HNF-4 binding and transactivation to a similar level as the - 20 mutation, whereas the - 26 mutation completely abolished HNF-4 binding and transactivation. Mobility shift experiments indicate that there was no significant difference in binding affinity of recombinant androgen receptor protein for oligonucleotides containing wild-type and - 21 or - 20 mutated DNA. The binding affinity for the oligonucleotide containing the - 26 mutation was twofold lower. The results indicate that the disruption of the HNF-4-binding site by the - 21 T→G mutation is the cause of the bleeding disorder in these two patients. This study adds further support for the notion that the recovery from hemophilia at puberty may not only be related to an intact androgen-responsive element but also to the degree of disruption of the HNF-4-binding site.

© 1993 by The American Society of Hematology.

MODY5: hepatic transcription factor-2 gén (TCF2) = HNF1B.

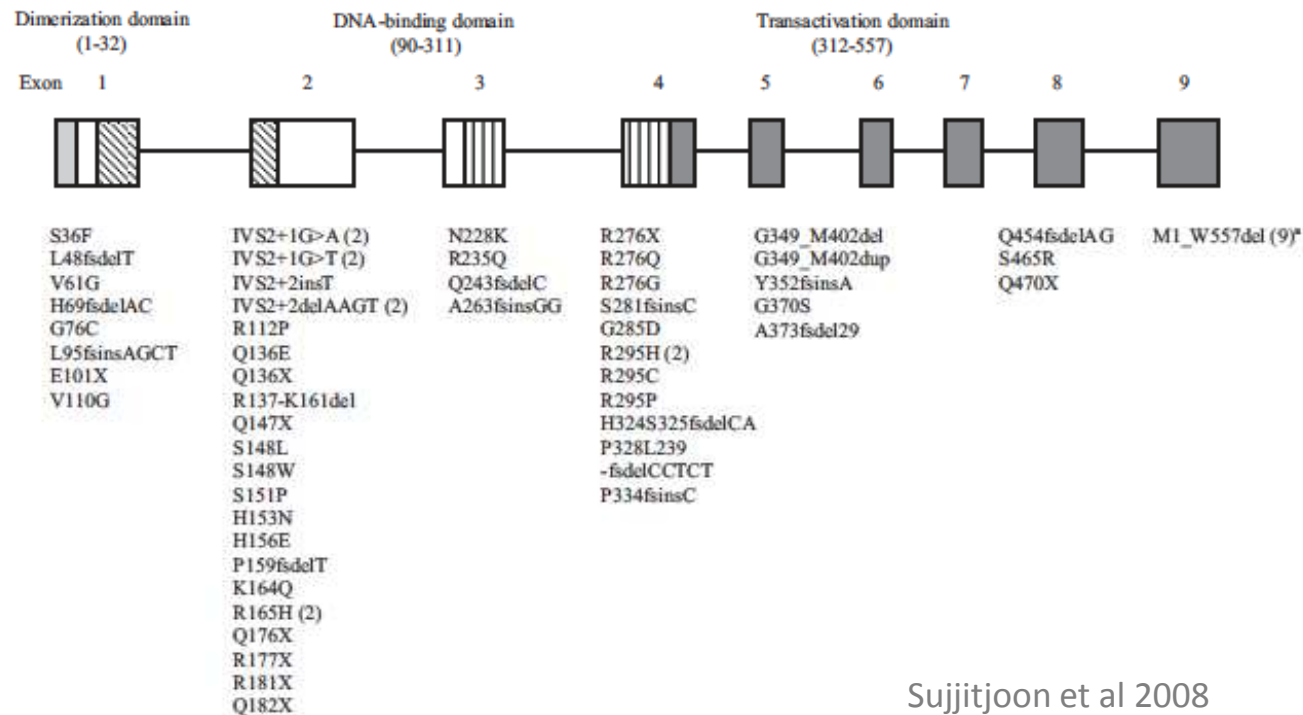
MODY5: széles klinikai spektrum. Diabetes, pancreas atrophia, progresszív nondiabetikus nephropathia, vese fejlődési rendellenességek, stb.

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) 5 is caused by mutations in the *TCF2* gene encoding the transcription factor hepatocyte nuclear factor-1 β . However, in 60% of the patients with a phenotype suggesting MODY5, no point mutation is detected in *TCF2*. We have hypothesized that large genomic rearrangements of *TCF2* that are missed by conventional screening methods may account for this observation. In 40 unrelated patients presenting with MODY5 phenotype, *TCF2* was screened for mutations by sequencing. Patients without mutations were then screened for *TCF2* rearrangements by the quantitative multiplex PCR of short fluorescent fragments (QMPSF). Among the 40 patients, the overall detection rate was 70%: 18 had point mutations, 9 had whole-gene deletions, and 1 had a deletion of a single exon. Similar phenotypes were observed in patients with mutations and in subjects with large deletions. These results suggest that MODY5 is more prevalent

than previously reported, with one-third of the cases resulting from large deletions of *TCF2*. Because QMPSF is more rapid and cost effective than sequencing, we propose that patients whose phenotype is consistent with MODY5 should be screened first with the QMPSF assay. In addition, other MODY genes should be screened for large genomic rearrangements. *Diabetes* 54:3126–3132, 2005

Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is characterized by the occurrence of nonketotic diabetes of early onset, typically before the age of 25, caused by primary insulin-secretion defects and inherited as an autosomal dominant trait. Currently, heterozygous mutations in six different genes have been identified as a cause of MODY. These genes encode the enzyme glucokinase (MODY2 subtype)

MODY5: hepatic transcription factor-2 gén (TCF2) = HNF1B.

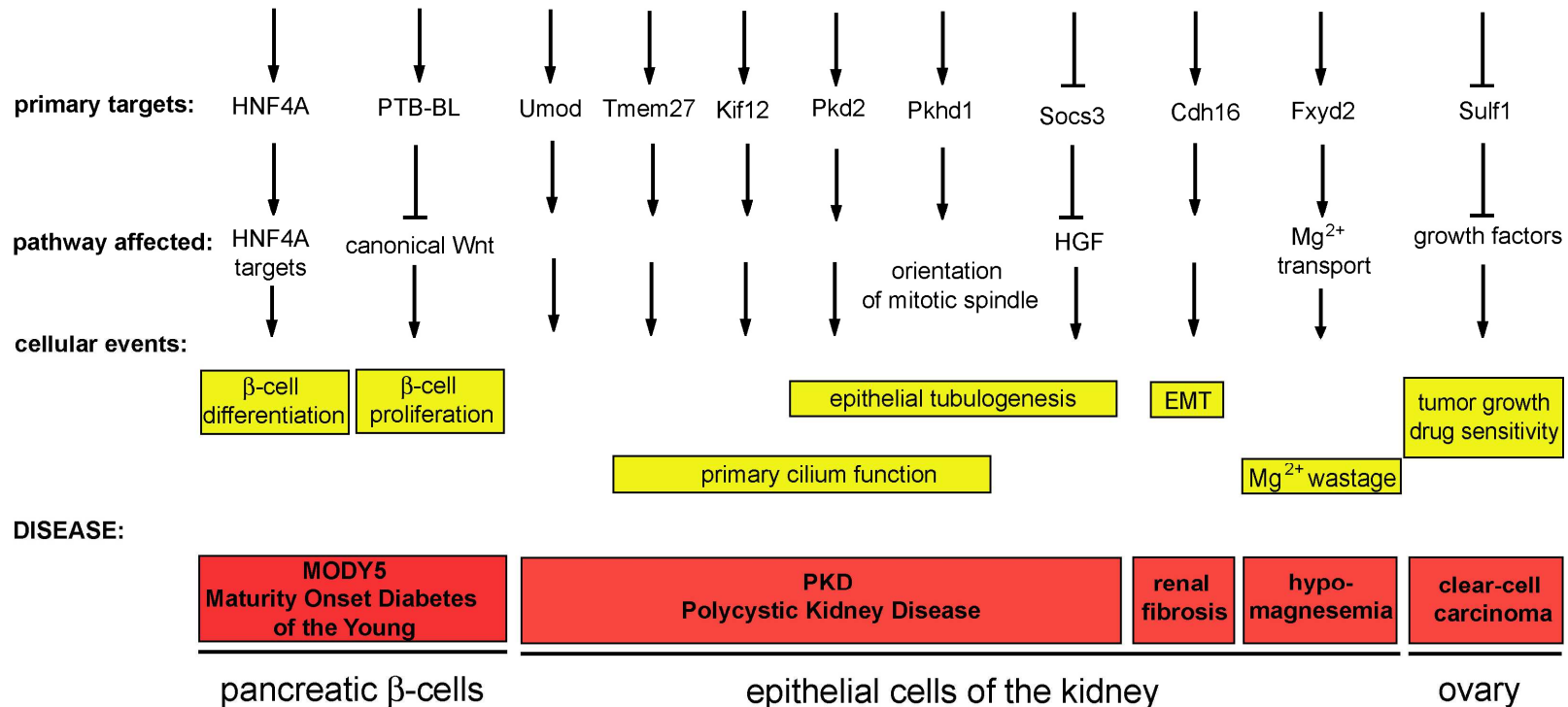


Sujitjoo et al 2008

MODY5: hepatic transcription factor-2 gén (TCF2) = HNF1B.



HNF1B target genes implicated in human diseases



A MODY molekuláris genetikai vizsgálatok paraméterei

1. Analitikai validitás. A genetikai teszt képessége a pontos és megbízható genotipizálásra.

Minden típusú mutáció okozhat funkcióvesztést – módszertani kérdések : (mutációs szűrőmódszerek, DNS szekvenálás, MLPA).

Nincs forró pont (HNF1A: c.872delC, p.Pro291fs a leggyakoribb eltérés).

Drága és lassú.

Prediktív kaszkád tesztelés: a családi mutációra korlátozódik.

Átfedő fenotípusok miatt: GCK, HNF1A, HNF4A parallel szekvenálás, MODY5 esetén MLPA mindig.

2. Klinikai validitás. A genetikai teszt képessége a betegség pontos és megbízható előrejelzésére.

Az ismert MODY gének a MODY fenotípus 80-90%-át írják le. A beküldött minták 20-30%-a bizonyul mutáció hordozónak (GCK, HNF1A, HNF4A).

A MODY molekuláris genetikai vizsgálatok paramétere

2. Klinikai validitás (folytatás). A genetikai teszt képessége a betegség pontos és megbízható előrejelzésére.

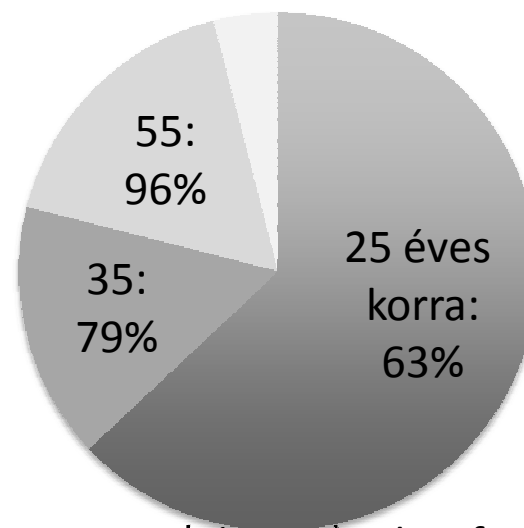
A HNF1A MODY penetranciája magas:

Anyai mutáció általában fiatalabb korban történő megjelenést eredményez.

HNF4A: szintén magas penetrancia.

Genotípus-fenotípus összefüggések. Még azonos mutáció is okozhat fenotípusbeli heterogenitást (azonos családon belül - GCK).

Segítik-e más tesztek a betegség előrejelzését? Vizelet glükóz mérés preszimptomatikus tesztelésre.



A MODY molekuláris genetikai vizsgálatok paraméterei

2. Klinikai használhatóság. A teszt hatása a klinikai következményekre (klinikai döntéshozatal segítése).

Diagnózis felállítása.

Az altípus definiálása.

Table 3. Making a diagnosis of genetic diabetes alters treatment in diabetes: the initial pharmacological treatment in the different subgroups. (from Hattersley, A.T. (19))

Diabetes aetiology	Treatment
Type 1	Insulin
Type 2	Metformin
MODY GCK	None
MODY HNF1 α	Low-dose sulphonylurea
Neonatal Kir6.2	High-dose sulphonylurea

GCK = glucokinase; HNF = hepatic nuclear factor; SU = sulphonylurea.

A MODY molekuláris genetikai vizsgálatok paramétereit

2. Klinikai használhatóság (folytatás).

A SU akár 25 éven át is jó glükóz kontrollt jelent HNF1A MODY esetén.

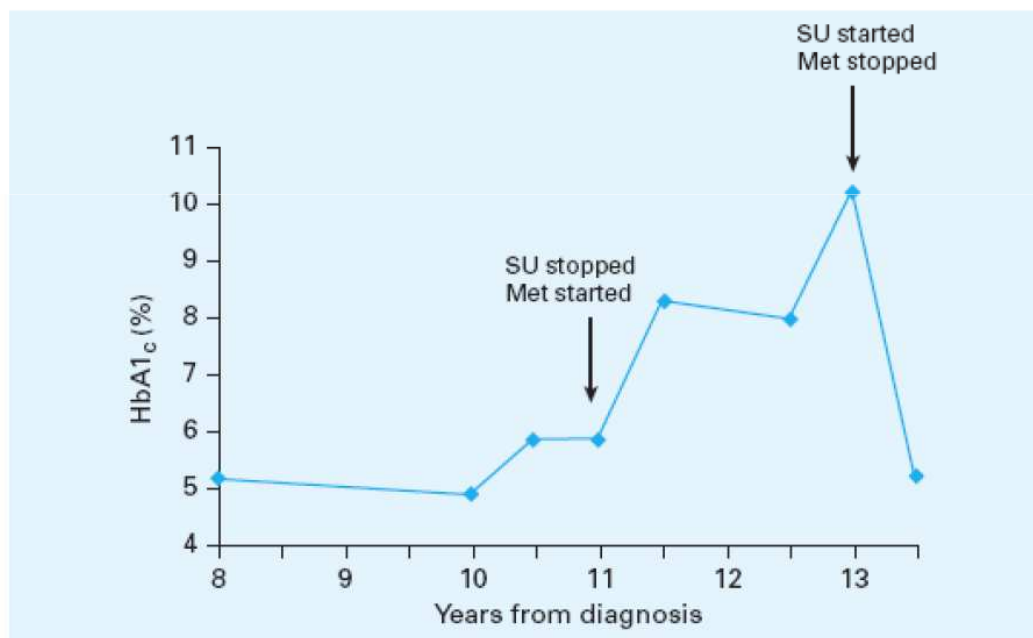


Figure 4. Sulphonylurea (SU) sensitivity in a patient with an hepatic nuclear factor (HNF)1 α mutation shown by deterioration in glycosylated haemoglobin (HbA1c) on stopping SUs and starting metformin (Met) and improvement of HbA1c on restarting SUs and discontinuing Met. (from Hattersley, A.T. (19))

A MODY molekuláris genetikai vizsgálatok paramétereit

2. Klinikai használhatóság (folytatás).

A metformin a 2-es típusú DM elsővonalbeli szerepe – de nem HNF1A MODY esetén.

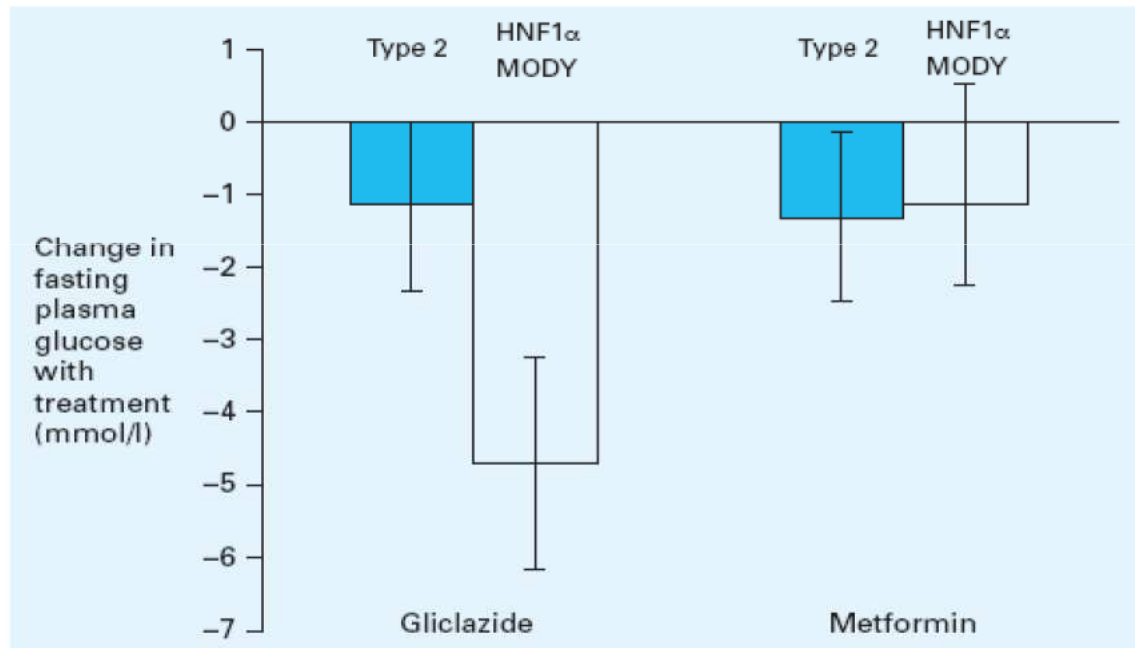


Figure 5. Hepatic nuclear factor (HNF)1 α MODY patients had a four-fold greater fall in fasting glucose on gliclazide than body mass index and glycaemia matched type 2 patients (shown on the left), while the response to metformin was similar (shown on the right) (from Hattersley, A.T. (19))

A MODY molekuláris genetikai vizsgálatok paramétereit

2. Klinikai használhatóság (folytatás).

A SU a HNF4A MODY esetén is használható szer.

A terápia váltás hatása (inzulin – SU) transzkripciós faktor MODY esetén.

Nem lebecsülendő az érzelmi/pszichológiai hatás. Inzulin injekció az élet része – félelem az elhagyástól, nehéz elhinni, hogy nem kell (minél hosszabb ideje használta, annál nehezebb).

A terápia váltás hatása (inzulin – semmi) GCK MODY esetén.

GCK MODY betegek nem igényelnek terápiát. Hospitalizációban és glükóz monitorozásban nagy csökkenés.

Eredményközlés

1. Érintett beteg vizsgálata, patogén mutáció (nonsense, frameshift, splicing hely, korábban igazolt missense).

'Eredményeink igazolják a MODY diagnózist (GCK, HNF1A, stb. altípus). A mutáció patogenitása igazolt. Családtagok célzott vizsgálata lehetséges.'

2. Érintett beteg vizsgálata, új mutáció (patogenitás valószínű).

'Eredményeink valószínűsítik a MODY diagnózist (GCK, HNF1A, stb. altípus). A mutáció új, patogenitására utalnak az alábbiak: XXX. Családtagok (diabetes/hiperglikaemia) célzott vizsgálata lehetséges.'

3. Érintett beteg vizsgálata, új mutáció (patogenitás nem valószínű).

'Új mutáció detektálva, de patogenitása nem valószínű. Az eredmények nem erősítik meg a MODY diagnózist. Szükség/lehetőség esetén további vizsgálatok ajánlása.'

4. Érintett beteg vizsgálata, mutáció nincs.

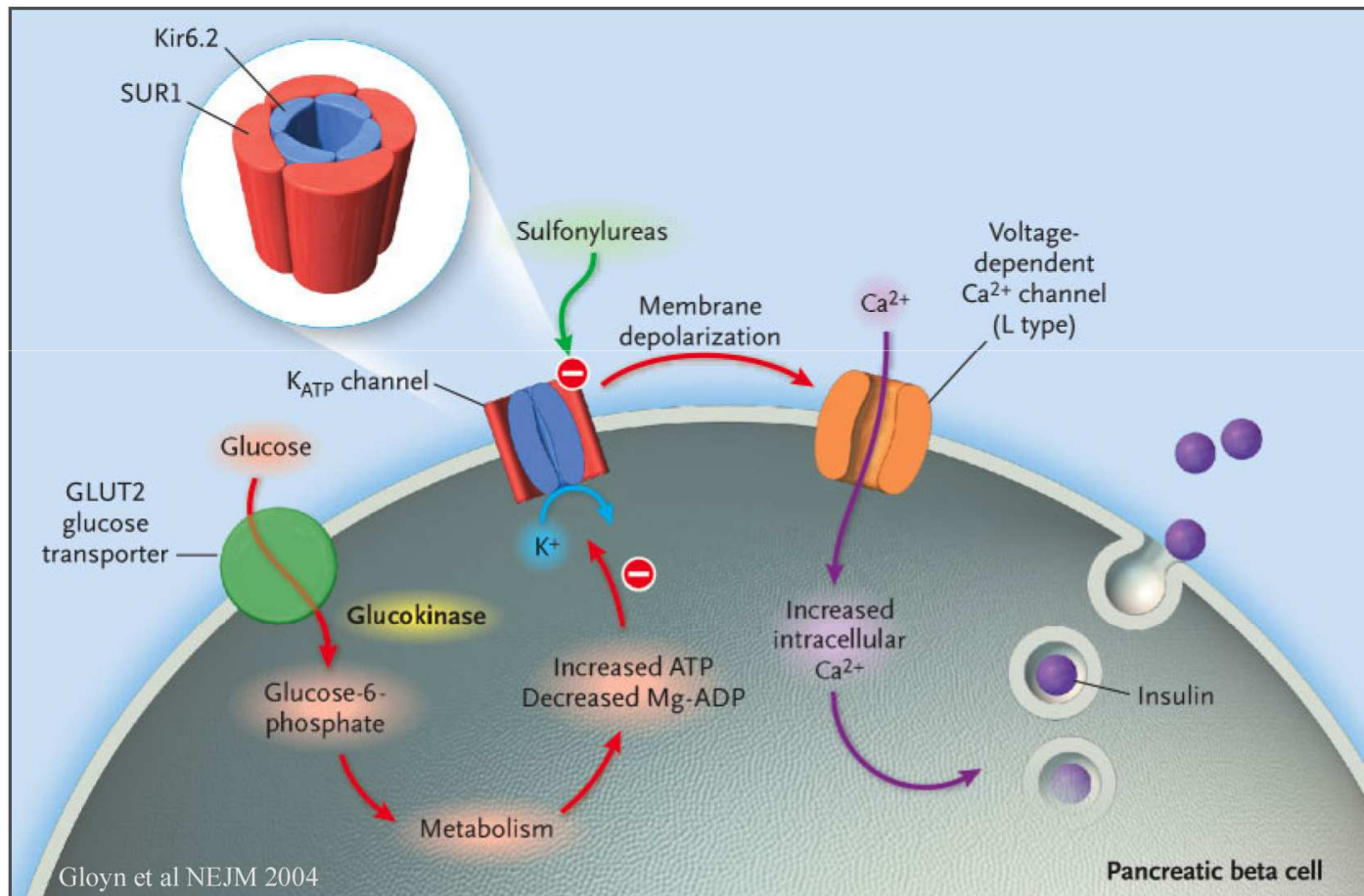
'Az eredmények nem erősítik meg a MODY diagnózist. Szükség/lehetőség esetén további vizsgálatok ajánlása.'

5. Prediktív teszt, mutáció detektálva. 'Igazolt genetikai predispozíció.'

6. Prediktív teszt, mutáció nincs. 'Diabetes kialakulásának valószínűsége a populációéval azonos.'

TP NDM

Glükóz metabolizmus - (ATP-szenzitív kálium-csatorna) - inzulin szekréció



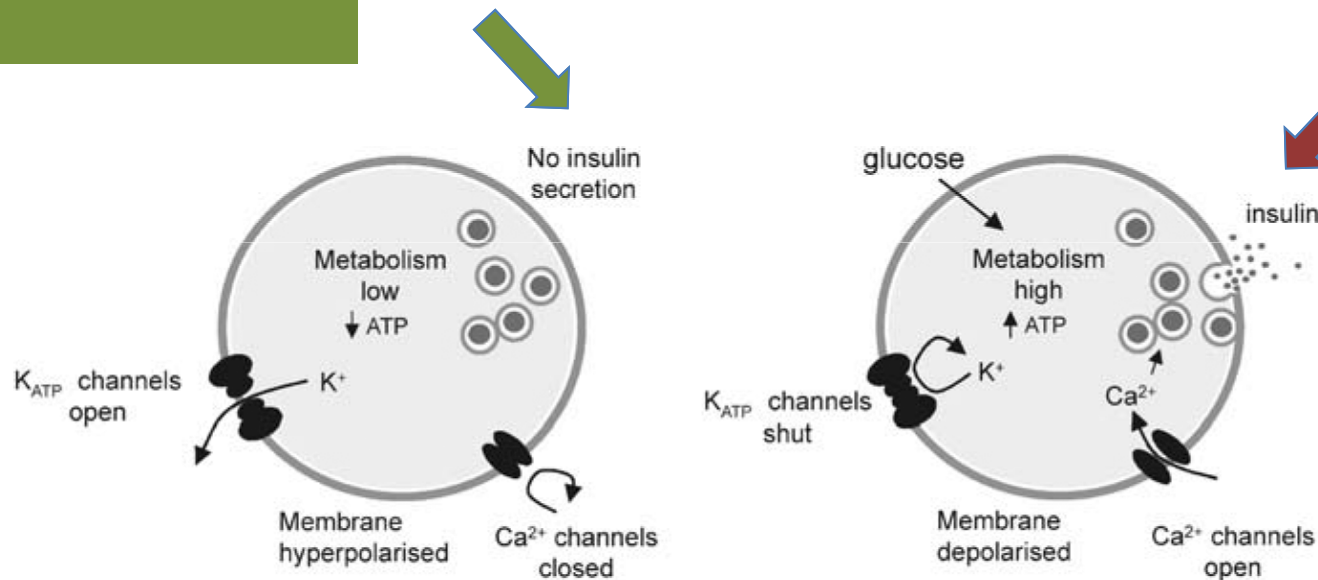
1. A glukóz bejut (GLUT2 transzporter).
2. Metabolizmus.
3. ATP cc \uparrow .
4. A K_{ATP} csatorna bezár.
5. A K^+ kiáramlás megszűnik.
6. Membrán depolarizáció.
7. A feszültségfüggő Ca^{2+} csatorna kinyit.
8. Ca^{2+} beáramlás.
9. Inzulin exocytosis.

(Szulfonilurea hatásmechanizmus: direkt kötődés a SUR1 alegységhez – zárás, stb.)

Az ATP-szenzitív kálium-csatornát alkotó fehérjék génjeiben bekövetkező mutációk igen különböző fenotípussal járnak

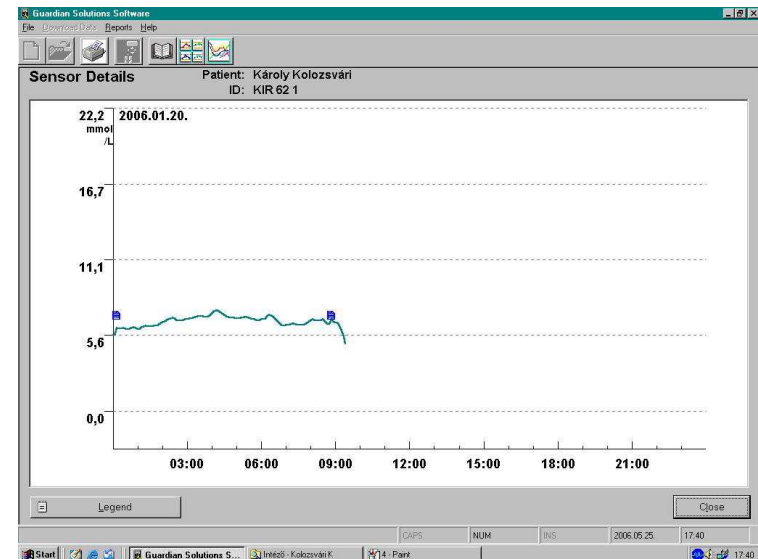
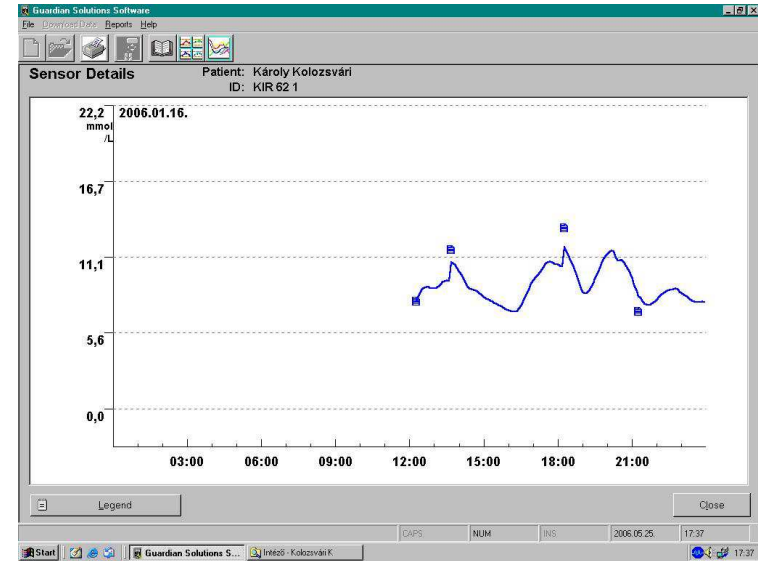
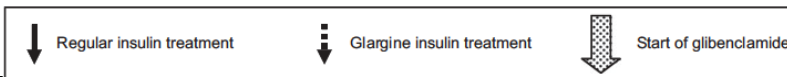
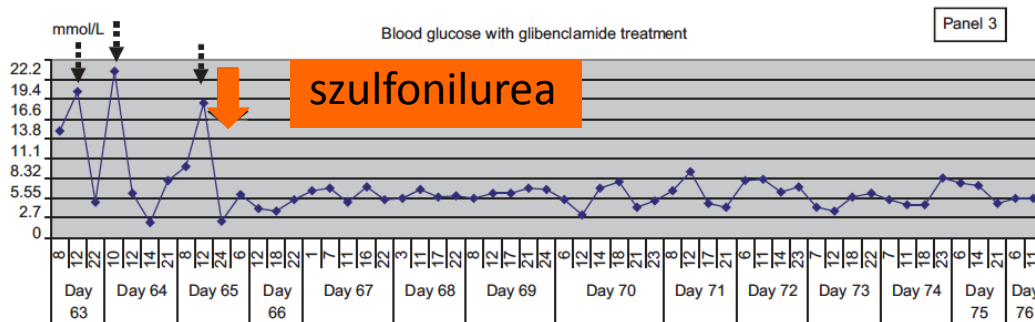
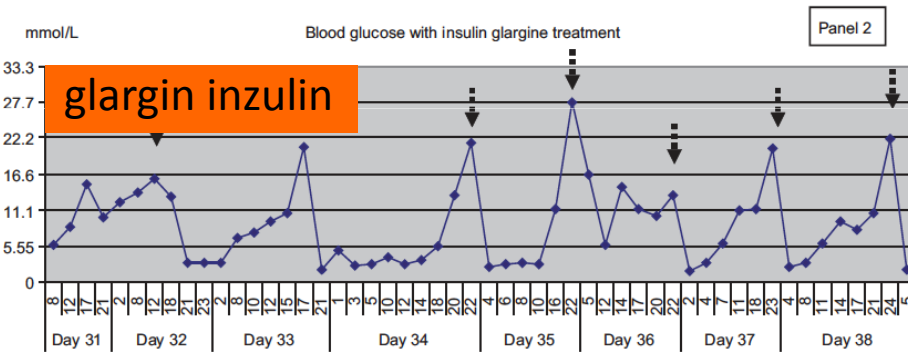
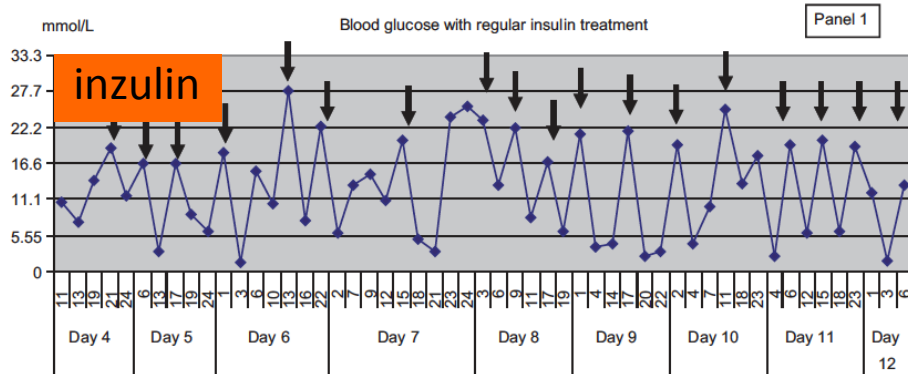
Gain-of-function
(abnormális funkció)
mutációk

Loss-of-function
(funkcióvesztő)
mutációk



c.917_919delTTC

Glükóz szintek különböző terápiákban KCNJ11 mutáció esetén



Eset

Beteg: súlyos, életet veszélyeztető diabetes. Felismerve: 3 hónapos korban.

Terápia: inzulin (injekció).

Jelenlegi kor: 18 év.

Molekuláris genetikai háttér felderítése (KCNJ11 gain-of-function mutáció).

A génhiba megtalálása lehetőséget teremt szulfonilurea használatára és az inzulin teljes elhagyására.

Életminőség nagymértékű javulása, egészségügyi költségek nagymértékű csökkenése.

OBSERVATIONS

Sulfonylurea Use During Entire Pregnancy in Diabetes Because of *KCNJ11* Mutation: A Report of Two Cases

Mutations of the *KCNJ11* gene are a common cause of permanent neonatal diabetes (PNDM) (1,2) and sometimes result in other diabetic phenotypes (2). Sulfonylureas (SUs) are effective and safe in most diabetic *KCNJ11* mutation carriers (3). However, their application risk is sometimes uncertain. We have previously described glibenclamide use in a pregnant woman with *KCNJ11*-related PNDM (4); for the first time, we report two cases treated with SU throughout the entire pregnancy.

The first case was a Hungarian woman with the E229 K *KCNJ11* mutation resulting in relapsing neonatal diabetes. The patient experienced remission between the ages of 3 and 10 years, at which point insulin was restarted. At the age of 13, after genetic testing, the patient was switched to gliclazide 60 mg/day. The woman became pregnant at the age of 16 years. When she was referred to the clinic in the 11th week of pregnancy, HbA_{1c} was 8.2%. Because diabetes was brittle during the insulin treatment on which she had been earlier, it was decided to continue gliclazide; the Bioethical Committee was informed. She was normoglycemic (HbA_{1c} 5.8, 5.2, and 5.2%) on a stable SU dose. Cesarean delivery was performed in the 38th week. The Apgar score of the baby girl (birth weight 3,010 g) was 10 at the first minute; the neonatal period was uneventful. Genetic testing from the umbilical cord blood showed the E229 K mutation. So far, the baby, currently 18 months old, has not been diagnosed with diabetes and is developing normally.

The second case, a previously reported R201H *KCNJ11* mutation carrier with multiple diabetes complications from Poland (4,5) became pregnant again at the age of 39 years when she was on glibenclamide 45 mg/day. Informed about the risks, she ruled out switching to insulin and decided to continue SU. HbA_{1c} at the

5th month of pregnancy was 5.8%. The amniocentesis in the 16th week showed the fetal DNA without chromosomal abnormalities or the R201H mutation. The woman delivered prematurely in the 33rd week via Cesarean section; the indication was the mother's status: edema, proteinuria, and renal function impairment. The latter was probably responsible for the need for glibenclamide dose reduction (10 mg/day). The Apgar score of the newborn (birth weight 2,720 g, >90 percentile) was 7 at the first minute. The baby girl presented with decreased muscle tension and cyanosis. She was also diagnosed with hypoglycemia requiring intravenous glucose, hyperbilirubinemia (treated with phototherapy), and respiratory acidosis. The latter was initially treated with continuous positive airway pressure and then, for 2 days, noninvasive mechanical ventilation. The recovery was uneventful. No birth defects were recorded. The child's development at the 18th month was normal.

In summary, we provide evidence that SUs constitute an alternative to insulin in pregnant women with Kir6.2-related diabetes, particularly in those refusing standard treatment or not adherent to this approach. The use of SUs did not result in developmental abnormalities. As in the first pregnancy (4), transient complications occurred in the baby of the mother with the R201H mutation receiving glibenclamide. Nevertheless, one should be careful with attributing them to the specific drug because they are common in prematurity.

ZSOLT GAAL, MD,¹
TOMASZ KLUPA, MD, PHD,²
IRENE KANTOR, MD,³
WOJCIECH MLYNARSKI, MD, PHD,⁴
LASZLO ALBERT, MD,⁵
JUSTYNA TOLLOCZKO, MD, PHD,⁶
ISTVAN BALOGH, MD, PHD,⁷
KRZYSZTOF CZAKOWSKI, MD, PHD,⁸
MACIEJ T. MALECKI, MD, PHD²

From the ¹4th Department of Medicine, Josa Andras Teaching Hospital, Nyiregyhaza, Szabolcs-Szatmár-Bereg, Hungary; the ²Department of Metabolic Diseases, Jagiellonian University Medical College and University Hospital, Krakow, Malopolskie, Poland; the ³Department of Pediatrics, Josa Andras Teaching Hospital, Nyiregyhaza, Szabolcs-Szatmár-Bereg, Hungary; the ⁴Department of Pediatrics, Medical University of Lodz, Lodz, Lodzkie, Poland; the ⁵Department of Obstetrics and Gynecology, Josa Andras Teaching Hospital, Nyiregyhaza, Szabolcs-Szatmár-Bereg, Hungary; the ⁶Department of Neonatology and Neonatal Intensive Care, Warsaw Medical University, Warsaw, Mazowieckie, Poland; the ⁷Department of Laboratory Medicine, University of Debrecen, Debrecen, Hajdu-Bihar,

Hungary; and the ⁸2nd Department of Obstetrics and Gynecology, Warsaw Medical University, Warsaw, Mazowieckie, Poland.

Corresponding authors: Maciej T. Malecki, malecki_malecki@yahoo.com, and Zsolt Gaal, drgz@josa.hu.

DOI: 10.2337/dc12-0163

Z.G. and T.K. contributed equally to this work.

© 2012 by the American Diabetes Association.

Readers may use this article as long as the work is properly cited, the use is educational and not for profit, and the work is not altered. See <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/> for details.

Acknowledgments—This study was supported by the EU Framework 7 CEED3 Grant (HEALTH-F2-2008-223211), by funds from the Jagiellonian University Medical College (to M.T.M.), and by the TAMOP 4.2.1./B-09/1/KONV-2010-0007 project (to I.B.).

No potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

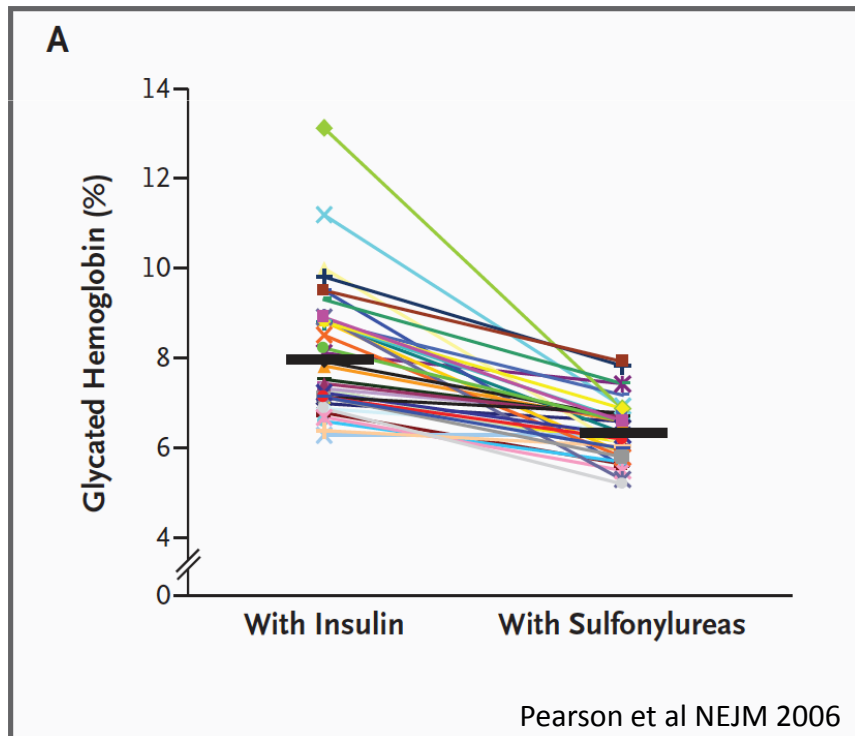
Z.G. and M.T.M. interpreted data, critically revised the manuscript for important intellectual content, and approved the final version to be submitted. T.K. researched data and contributed to writing the manuscript. I.K., W.M., L.A., J.T., I.B., and K.C. researched data. M.T.M. is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

The authors thank the subjects who participated in the study. The authors also acknowledge the editorial assistance of Aleksandra Malecka, Warsaw University, Warsaw, Poland.

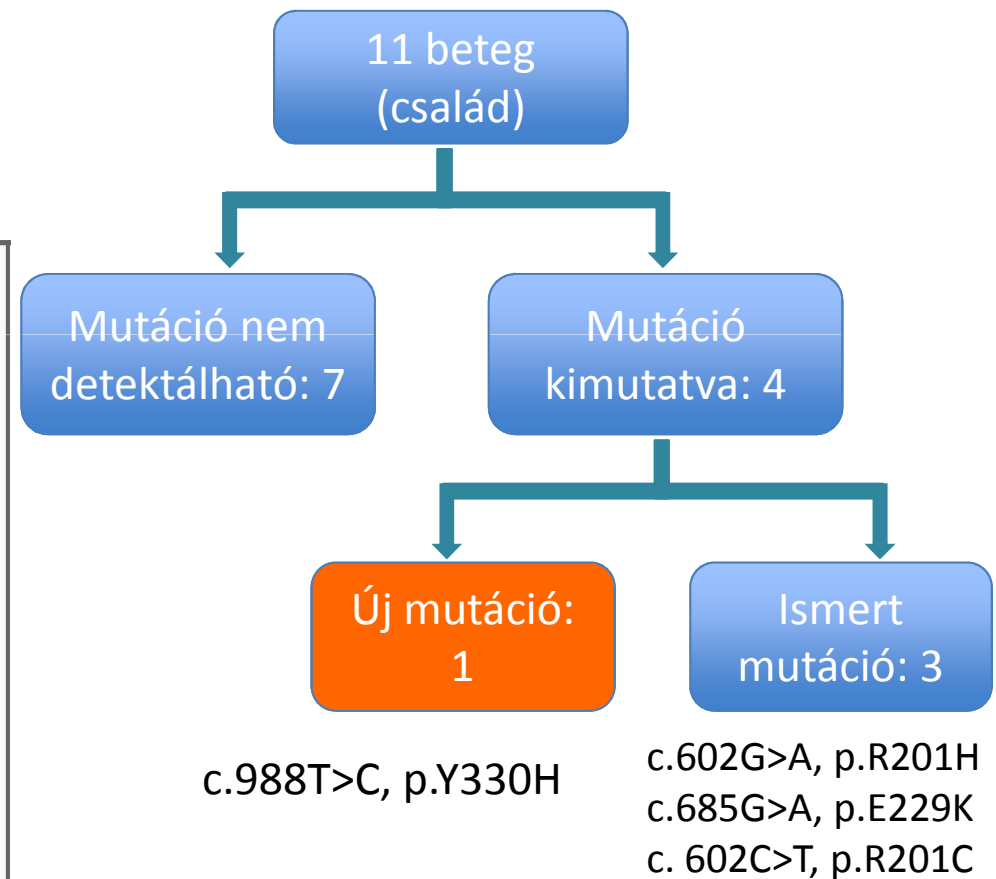
References

- Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF, et al. Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med* 2004;350:1838–1849
- Gloyn AL, Reimann F, Girard C, et al. Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in *KCNJ11*. *Hum Mol Genet* 2005;14:925–934
- Klupa T, Edghill EL, Nazim J, et al. The identification of a R201H mutation in *KCNJ11*, which encodes Kir6.2, and successful transfer to sustained-release sulphonylurea therapy in a subject with neonatal diabetes: evidence for heterogeneity of beta cell function among carriers of the R201H mutation. *Diabetologia* 2005;48:1029–1031
- Klupa T, Kozek E, Nowak N, et al. The first case report of sulphonylurea use in a woman with permanent neonatal diabetes mellitus due to *KCNJ11* mutation during a high-risk pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:3599–3604
- Klupa T, Skupien J, Mirkiewicz-Sieradzka B, et al. Diabetic retinopathy in permanent neonatal diabetes due to Kir6.2 gene mutations: the results of a minimum 2-year follow-up after the transfer from insulin to sulphonylurea. *Diabet Med* 2009;26:663–664

HbA1c különböző terápiaikban KCNJ11 mutáció esetén



KCNJ11 mutáció analízis - saját eredmények -



Beküldők: Debrecen, Miskolc, Nyíregyháza.

Lelet - neonatális diabetes

DEBRECENI EGYETEM
ORVOS- ÉS EGÉSZSÉGTUDOMÁNYI CENTRUM
LABORATÓRIUMI MEDICINA
INTÉZET
4032 Debrecen, Nagyterdei krt. 98.
Igazgató: Dr. Kappelmayer János egyetemi tanár
Web: www.kbmpi.hu



UNIVERSITY OF DEBRECEN
MEDICAL HEALTH SCIENCE CENTER
DEPARTMENT OF LABORATORY
MEDICINE
H-4032, Hungary Debrecen Nagyterdei krt. 98.
Chairman: János Kappelmayer M.D., Ph.D., DSc
Web: www.kbmpi.hu

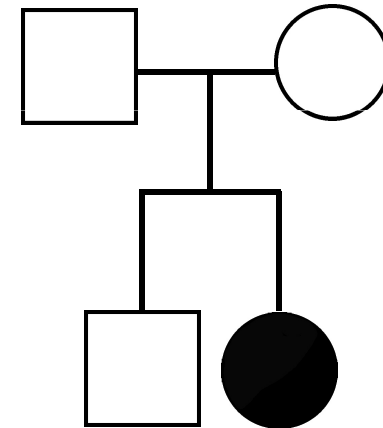
Laboratóriumi lelet

Név : ██████████ Rendelésazonosító : ██████████
Születési idő : 2001.06.05 TAJ/Belső AZ : ██████████
Cím : ██████████
Beküldő mh. : Gyermek Diabetes szr/amb(GYC 094023007)
Beküldő orvos..... : Felszeghy Enikő Noémi(53366)
Beérkezés ideje..... : 2013.01.29 Lelekezés időpontja..... : 2013.04.03 08:58
Iránydiagnózis..... : E1090 Insulin-dependens cukorbetegség szövődmények né

Vizsgálat	Eredmény
Molekuláris gen.vizsg.eredm.:	<p>Neonatális diabetes molekuláris genetikai vizsgálata (KCNJ11 gén analízis)</p> <p>EREDMÉNY: Heterozigóta c.601C>T (p.R201C), (HGVS c.[601C>T]).</p> <p>MÓDSZERTAN: A KCNJ11 gén exonját 6 PCR reakcióval amplifikáltuk. A PCR termékeket bidirekcionális DNS szekvenálással vizsgáltuk.</p> <p>INTERPRETÁCIÓ:</p> <ol style="list-style-type: none"> A c.9601C>T a szakirodalomban szerepel, korábban leírt mutáció (Gloyn et al NEJM 2004;350:1838-49.). Eredményeink megerősítik ██████████ esetében a neonatális diabetes diagnózisát. <p>JAVASOLT:</p> <ol style="list-style-type: none"> Genetikai tanácsadás. A szülői minták célzott analízise alapján a genetikai eltérés öröklődése vagy de novo volta igazolást nyerhet. Vér szerinti családtagok célzott molekuláris genetikai vizsgálata.

Elfogadta: Dr. Balogh István

AD



Következmény: inzulin elhagyása, a diabetes nagy dózisú szulfonilureával történő kezelése.



Igazgató: Dr. Kappelmayr János egyetemi tanár

Chairman: János Kappelmayr M.D., Ph.D., DSc

Laboratóriumi lelet

Név : ██████████ Rendelésazonosító : 20110812-0020
Születési idő : 1993.08.18 TAJ/Belső AZ : ██████████
Cím : ██████████
Beküldő mh. : Nyíregyháza, Jósza A. Megyei Kh, GYERMEK D(150120503)
Beküldő orvos..... : Kántor Irén(51510)
Beérkezés ideje..... : 2011.08.12 Leletezés időpontja..... : 2011.08.30 14:44
Iránydiagnózis..... : E1090

Vizsgálat	Eredmény
Molekuláris gen.vizsg.eredm.:	<p>A vérmintából DNS izolálás történt. A genomiális DNS-t PCR módszerrel amplifikáltuk a KCNJ11 gén megfelelő primerjei segítségével. Az amplifikált terméket DNS szekvenálással vizsgáltuk.</p> <p>A vizsgált mintában a KCNJ11 génben c.988T>C (p.Y330H) mutációt detektáltuk heterozigóta formában. A mutáció korábban le nem írt, a szakirodalomban nem szerepel. Patogenitására utalnak az alábbiak:</p> <ol style="list-style-type: none">1. A 330. aminosav helyet érintő, más aminosav cserével járó mutációkat már leírtak: p.Y330C (Vaxillaire et al, Diabetes 2004), illetve p.Y330S (Flanagan et al, Diabetologia 2006), melyeket 200 normál kromoszómán nem találtak meg.2. A 330. aminosav hely a Kir6.2 fehérje az ATP kötő régiójában található, így hozzájárulhat a csökkent ATP szenzitivitáshoz (és következményesen az inzulin szekréció elmaradásához).3. A 330. aminosav hely evolúciósan igen konzervált pozíció (ember, kutya, egér, tyúk, zebradánió). <p>Fentiek alapján eredményeink megerősítik a permanens neonatális diabetes diagnózisát. A p.Y330S mutációt hordozó beteg esetében a szulfanilureára átállítás sikeres volt (Pearson et al, NEJM 2006).</p>

Elfogadta: Dr. Balogh István

A monogénes diabetes genetikai vizsgálatok jelentősége

1. Diagnózis: a monogénes diabetes klinikai diagnózisának alátámasztása.
2. Prognózis: az eltérő MODY szubtypusok nagymértékben eltérő prognózissal bírnak (HNF vs GCK).
3. Korai beavatkozás: a MODY kóroki eltérés kimutatása korai felismerést tesz lehetővé (aszimptomatikus kaszkád vizsgálatok). Diabetes komplikációk elkerülése/ késleltetése.
4. Adekvát terápia (HNF – szulfonilurea gyakran elég) vagy a szükségtelen terápia elkerülése (GCK – terápiát nem igényel).
5. Életminőség javulása, egészségügyi költségek jelentős csökkentése (KCNJ11).