

Tomasz Klupa, James H. Warram, Anthony Antonellis, Marcus Pezolesi, Moonsuk Nam, Maciej T. Małecki, Alessandro Doria, Stephen S. Rich, Andrzej S. Krolewski

# Czynniki determinujące ujawnienie się cukrzycy (MODY 3) u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$

## Dowody na znaczenie płci rodzica, który przekazuje mutację

Determinants of the development of diabetes (maturity-onset diabetes of the young-3) in carriers of HNF-1 $\alpha$  mutations  
Evidence for parent-of-origin effect

Przedrukowano za zgodą z: *Diabetes Care* 2002, 25, 12, 2292-2301

### STRESZCZENIE

**WSTĘP.** Celem pracy była ocena rozkładu wieku badanych w chwili wystąpienia cukrzycy typu MODY 3 (*maturity-onset diabetes of the young-3*) oraz określenie czynników determinujących ujawnienie się cukrzycy u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ .

**MATERIAŁ I METODY.** Przebadano rodziny (n = 104) z cukrzycą typu 2, dziedziczną dominująco pod kątem występowania wywołującej ją mutacji HNF-1 $\alpha$ .

**WYNIKI.** Mutacje HNF-1 $\alpha$  współistniały z cukrzycą tylko w 13 rodzinach; we wszystkich przypadkach średni wiek chorych w chwili wystąpienia cukrzycy wynosił poniżej 35 lat. Obserwowano brak lub zmniejszenie wydzielania insuliny u nosicieli mutacji (n = 101). Do rozwoju cukrzycy doszło u 65% badanych w wieku do 25 lat, a u 100% do czasu ukończenia 50 lat. Jeśli cukrzyca była dziedziczona po matce, występowała w bardzo młodym wieku, zwłaszcza u osób które zostały poddane ekspozycji na tę chorobę już w środowisku wewnątrzmacicznym; u 57  $\pm$  8% cu-

krzyca ujawniła się do 15 roku życia, w porównaniu z 0,0% u osób niepoddanych tej ekspozycji ( $p < 7 \times 10^{-6}$ ). U osób w wieku 25 lat różnica ta uległa zmniejszeniu (odpowiednio 85  $\pm$  6 i 55  $\pm$  12%;  $p = 0,02$ ). Jeśli mutację odziedziczono po ojcu, cukrzyca rozwijała się u 52  $\pm$  8% do czasu ukończenia 25 lat. Okazało się, że wiek w chwili rozpoznania jest dziedziczny ( $h^2 = 0,47$ ;  $p = 0,003$ ). Po uwzględnieniu w analizie faktu, który z rodziców przekazał mutację, zakres udziału czynników genetycznych znacznie się zwiększył ( $h^2 = 0,91$ ).

**WNIOSKI.** Mutacje HNF-1 $\alpha$  odpowiadają za rozwój cukrzycy w niewielkim odsetku rodzin z dominującym sposobem dziedziczenia. Wiek w chwili rozwoju cukrzycy był znacznie zróżnicowany w poszczególnych rodzinach z MODY 3 i podlegał wpływowi czynników rodzinnych (łącznie z genami modyfikującymi) oraz zależał od rodzica, przekazującego mutację (czy nosiciel mutacji podlegał ekspozycji na cukrzycę w środowisku wewnątrzmacicznym).

**Słowa kluczowe:** cukrzyca MODY 3, mutacje HNF-1 $\alpha$ , wpływ czynników rodzinnych

Copyright © 2002 by American Diabetes Association, Inc.  
American Diabetes Association nie odpowiada za poprawność tłumaczenia z języka angielskiego

Diabetologia Praktyczna 2003, tom 4, nr 1, 75-87  
Tłumaczenie: dr med. Anna Korzon-Burakowska  
Wydanie polskie: Via Medica

### ABSTRACT

**INTRODUCTION.** To determine the distribution of the age at onset of diabetes (maturity-onset diabetes

of the young-3 [MODY 3]) and to identify determinants of the onset of diabetes in carriers of *HNF-1 $\alpha$*  mutations.

**MATERIAL AND METHODS.** Extended families (n = 104) with type 2 diabetes inherited in a dominant pattern were recruited and screened for diabetes-causing mutations in *HNF-1 $\alpha$* .

**RESULTS.** *HNF-1 $\alpha$*  mutations cosegregated with diabetes in only 13 families, all with a mean age at onset < 35 years. Insulin secretion was diminished or absent in mutation carriers (n = 101), and diabetes developed in 65% by age 25 years and in 100% by age 50 years. If the mutation was inherited from the mother, diabetes onset was very young in those exposed to diabetes in utero;  $57 \pm 8\%$  were affected by age 15 years as compared with 0,0% in those not exposed ( $p < 7 \times 10^{-6}$ ). By age 25 years, the difference was reduced ( $85 \pm 6$  and  $55 \pm 12\%$ , respectively;  $P = 0.02$ ). If the mutation was inherited from the father, diabetes developed in  $52 \pm 8\%$  by age 25 years. Age at diagnosis was shown to be highly heritable ( $h^2 = 0.47$ ,  $P = 0.003$ ). When parent of origin was included in the analyses, the magnitude of genetic contribution increased markedly ( $h^2 = 0.91$ ). **CONCLUSIONS.** Mutations in *HNF-1 $\alpha$*  accounts for diabetes in a small proportion of families with a dominant pattern of inheritance. Age at onset of diabetes in MODY 3 families varied widely and was influenced by familial factors (including modifying genes) and parent of origin (whether a mutation carrier was exposed to diabetes in utero).

**Key words:** MODY 3, *HNF-1 $\alpha$*  mutation, parent-of-origin effect

## Wstęp

Cukrzyca typu MODY (*maturity-onset diabetes of the young*) stanowi podtyp cukrzycy typu 2, który charakteryzuje się autosomalno-dominującym sposobem dziedziczenia i ujawnia się w młodym wieku, zwykle przed ukończeniem 25 roku życia [1, 2]. Górna granica wieku jest jednak ustalona arbitralnie i nie opiera się na danych epidemiologicznych, dotyczących penetracji (prawdopodobieństwa ujawnienia się fenotypu określanego przez dany genotyp). Ustalono 6 *loci* podatności na wystąpienie cukrzycy typu MODY [3–8]. Najczęstszą postacią jest cukrzyca typu MODY 3 (*maturity-onset diabetes of the young 3*), wywołana przez mutację genu czynnika jądrowego hepatocyta 1 $\alpha$  (*HNF-1 $\alpha$* ) [9].

Gen *HNF-1 $\alpha$*  jest zlokalizowany na chromosomie 12q24 i koduje białko jądrowe, ulegające eks-

presji w wątrobie, nerkach, komórkach  $\beta$  trzustki i wielu innych tkankach [10–13]. Jest to białko, składające się z 631 aminokwasów, tworzące homodimer lub heterodimer z *HNF-1 $\beta$* , które łączy się z jednostkami regulatorowymi wielu genów w celu nasilenia ich ekspresji [14–16]. Mutacja *HNF-1 $\alpha$* , polegająca na substytucji aminokwasów lub modyfikacji białek, kojarzy się u heterozygot z rozwojem cukrzycy typu 2, która ujawnia się w młodym wieku [4, 9, 17–21, ostatnie doniesienia — 22]. Jednak cukrzyca rozwija się u nosicieli mutacji *HNF-1 $\alpha$*  w różnym wieku i cechuje się różnym stopniem nasilenia. Dotychczas nie udało się wyjaśnić sposobu, w jaki zmienione białko powoduje rozwój cukrzycy. Nie poświęcono też wielu prac heterogenności MODY 3 u ludzi [23–25]. Choć jest ona dziedziczona według prostych reguł mendlowskich, na jej przebieg prawdopodobnie wpływają czynniki środowiskowe oraz dodatkowe geny modyfikujące. Dziedziczenie fenotypu MODY 3 ma więc charakter złożony, podobnie jak w wypadku innych „prostych” chorób mendlowskich [26, 27].

Autorzy przebadali rodziny, w których występowała cukrzyca typu 2, dziedziczona jako cecha autosomalno-dominująca mutacji *HNF-1 $\alpha$* . Rodziny wybrano bez względu na wiek w chwili rozpoznania cukrzycy, lecz tylko w wypadkach, kiedy cukrzycę rozpoznawano u osób w młodym wieku, stwierdzono występowanie mutacji. Na objawy choroby u nosicieli mutacji *HNF-1 $\alpha$*  wpływał fakt ekspozycji na cukrzycę w okresie płodowym oraz inne czynniki rodzinne, co z kolei wskazuje na złożoną etiologię MODY.

## Materiał i metody

### Dobór oraz badanie rodzin

W latach 1993–1999 zebrano i przebadano rodziny uczestniczące w badaniu *Joslin Study on Genetics of Type 2 Diabetes* [8, 18, 23, 28–30]. Autorzy stwierdzili, że w tej grupie u 2 rodzin występowały mutacje w *NEUROD 1* (MODY 6) [8], w 2 innych rodzinach mutacje w *HNF-4 $\alpha$*  (MODY 1) [29], a w 2 kolejnych cukrzyca była skojarzona z mutacjami w *IPF 1* (MODY 4) (M.T.M., A.S.K., dane niepublikowane). Nie było żadnej rodziny, w której cukrzyca kojarzyła się z *locus GCK* (MODY 2) (A.D., A. Bektas, dane niepublikowane).

Kryteria badań przesiewowych dla zgromadzonych rodzin były następujące: 1) uczestnik badania i co najmniej jeden brat lub siostra chorzy na cukrzycę typu 2, rozpoznaną w wieku 10–59 lat; 2) cukrzyca występująca przynajmniej w 3 pokoleniach oraz 3) przekazywanie cukrzycy w jednej linii. Cukrzycę u badanego określano jako typ 2 (insulinoniezależ-

ny), jeśli była leczona co najmniej przez 2 lata bez stosowania insuliny. Dodatkowym czynnikiem selekcji było posiadanie dużej liczby krewnych (z cukrzycą lub bez), mogących wziąć udział w badaniu. Zakwalifikowano 104 wielopokoleniowe rodziny z dominującym sposobem dziedziczenia cukrzycy typu 2 i przebadano 1054 członków tych rodzin. Protokół badania oraz procedury uzyskiwania świadomej zgody zostały zaakceptowane przez Komisję Etyki przy *Joslin Diabetes Center*.

### Metody laboratoryjne i diagnostyka

W celu wykonania badań biochemicznych oraz uzyskania DNA pobierano próbki krwi na czczo. W próbce krwi osób leczonych insuliną, pobranej na czczo, oznaczano stężenie glukozy oraz C-peptydu. W próbce krwi chorych leczonych lekami doustnymi lub tylko dietą oraz u osób bez cukrzycy badano stężenie glukozy, HbA<sub>1c</sub> oraz insuliny. Z wyjątkiem osób leczonych insuliną, pobierano dodatkową próbkę krwi od większości uczestników badania (86%) 2 godziny po doustnym obciążeniu 75 g glukozy w celu oznaczenia stężenia glukozy we krwi/osoczu oraz stężenia insuliny w surowicy krwi.

Glikemię mierzono we krwi żyłnej. Oznaczano ją rutynowo za pomocą glukometrów (Onetouch, Lifescan). W miarę możliwości stężenia glukozy w surowicy krwi oznaczano również w laboratorium *Joslin Clinic* za pomocą systemu Synchron CX Delta (Beckman Coulter Instruments, Fullerton, CA) [31]. W wypadku badań prowadzonych poza Nową Anglią stężenia glukozy we krwi lub surowicy określano w laboratoriach lokalnych i zapisywano stosowane metody. Wszystkie stężenia glukozy wyrażono następnie jako stężenia w osoczu krwi żyłnej (tak jak w laboratorium *Joslin Clinic*). Stężenie C-peptydu i insuliny w surowicy krwi mierzono metodą radioimmunologiczną w *Linco Research Laboratory* (St. Charles, MO). Metodę pomiaru stężenia insuliny charakteryzowała niewielka reaktywność krzyżowa (< 0,2%) z ludzką proinsuliną. Insulinemia oraz glikemia w 2 godzinie doustnego testu tolerancji glukozy (OGTT, *oral glucose tolerance test*) zostały połączone jako wskaźnik wrażliwości na insulinę (określony jako  $10^4 \times$  stężenie insuliny<sup>-1</sup>  $\times$  stężenie glukozy<sup>-1</sup>, gdzie stężenie glukozy wyrażono w mmol/l, a stężenie insuliny w j./ml) [32]. Stężenie anty-GAD w surowicy oraz przeciwciał dla związanego z *insulinoma* antygenu 2 (IA2) zmierzono metodą radioligandów z zastosowaniem rekombinowanych białek GAD oraz IA2 [33, 34]. Stężenie HbA<sub>1c</sub> mierzono w próbkach pełnej krwi za pomocą analizatora Tosoh 2.2 Plus (Foster City, CA) w laboratorium *Joslin Clinic*, gdzie oznaczano rów-

nież za pomocą systemu Synchron CX9 (Beckman Coulter Instruments) stężenie cholesterolu całkowitego, triglicerydów oraz cholesterolu frakcji HDL.

Cukrzycę rozpoznawano na podstawie jednego z następujących kryteriów: 1) leczenie insuliną lub lekami doustnymi oraz występowanie hiperglikemii, potwierdzone wynikami uzyskanymi podczas badania; 2) wartości glikemii uzyskane w czasie OGTT, spełniające kryteria rozpoznania cukrzycy według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) [glikemia na czczo  $\geq$  140 mg/dl (obecnie obowiązujące kryterium 126 mg/dl — przyp. tłum.) lub glikemia po 2 h  $\geq$  200 mg/dl] lub 3) stężenie HbA<sub>1c</sub>  $\geq$  7,0% (wartości prawidłowe < 6,1%) w wypadku osób, które nie wyraziły zgody na wykonanie OGTT lub nie były na czczo w chwili badania [35, 36]. Jeżeli, glikemia przekraczała wartości uznane przez WHO jako prawidłowe, ale nie spełniały one kryteriów rozpoznania cukrzycy, rozpoznawano upośledzoną tolerancję glukozy. Kobiety z prawidłowymi wartościami glikemii w chwili badania, ale z udokumentowaną cukrzycą, która wystąpiła podczas ciąży, klasyfikowano jako osoby chore na cukrzycę ciężarnych.

### Wykrywanie polimorfizmu/mutacji

Kwas dezoksyrybonukleinowy (DNA, *deoxyribonucleic acid*) uzyskano z próbek krwi na podstawie standardowego protokołu. W celu przeprowadzenia badań przesiewowych w kierunku polimorfizmu i mutacji w obszarze promotera i w 10 eksonach NHF-1 $\alpha$  użyto DNA 104 badanych (chorzy na cukrzycę, przez których zidentyfikowano rodziny). Primery PCR były zbliżone do opisywanych wcześniej [9, 37], zaś protokół dwukierunkowego sekwencjonowania opisano w innej publikacji [8]. Autorzy traktowali różnicę sekwencji DNA jako mutację związaną z cukrzycą, jeżeli jej skutkiem było nieprawidłowe kodowanie łańcucha aminokwasów i stwierdzono ją u badanych, lecz nie występowała u 72 niespokrewnionych osób bez cukrzycy (współmałżonkowie). Następnie wszystkich dostępnych krewnych z cukrzycą i bez zbadano pod kątem występowania takiej samej mutacji. W badaniach tych zastosowano metody bezpośredniego sekwencjonowania, oceny antysensownych oligonukleotydów oraz polimorfizmu długich fragmentów restrykcyjnych.

### Wiek w chwili rozpoznania cukrzycy

Wiek w chwili rozpoznania cukrzycy (definiowany również jako wiek, w którym doszło do rozwoju cukrzycy lub hiperglikemii) określono na podstawie daty rozpoznania cukrzycy przez lekarza zaj-

mującego się pacjentem, jeżeli podczas badania potwierdzono występowanie hiperglikemii. W rodzinie 11. rozpoznanie cukrzycy przez lekarza domowego było podstawą rekrutacji, ale diagnozy tej nie potwierdzono w testach przeprowadzonych w ramach badania, rozpoznano natomiast u badanych upośledzoną tolerancję glukozy (dlatego nie określono wieku rozpoznania cukrzycy). Wiek, w którym rozpoznano cukrzycę w poszczególnych rodzinach, scharakteryzowano dwoma sposobami: każde drzewo genealogiczne określono przez średni wiek w chwili rozpoznania cukrzycy u chorujących członków rodziny poddanych badaniu. Ponadto, 13 rodzin z mutacją HNF-1 $\alpha$  podzielono na rodziny jądrowe, a dla każdej rodziny jądrowej określono wiek, w którym wystąpiła cukrzyca. Status nosiciela był znany w wypadku każdego członka rodziny, ale nie każdy z nosicieli chorował. Ponieważ nie można było obliczyć średniego wieku w chwili rozpoznania cukrzycy, autorzy określili wiek rodzeństw w chwili ujawnienia się cukrzycy jako wiek, w którym 50% nosicieli mutacji, w tym rodzeństw, zachorowało.

### Analiza danych

Zastosowano 3 sposoby analizy danych, dotyczących 13 rodzin, w których występowała cukrzyca i mutacje HNF-1 $\alpha$ . Najpierw przeanalizowano dane w obrębie całego drzewa genealogicznego zgodnie z typem mutacji. Całe rodowody uwzględniano również w analizie składowych wariacji, w celu oszacowania dziedziczności wieku, w którym ujawnia się cukrzyca MODY 3. Następnie przeanalizowano dane poszczególnych nosicieli oraz osób niebędących nosicielami, jako niezależne grupy — badaną i kontrolną — w celu porównania cech klinicznych nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  po uwzględnieniu, od którego z rodziców pochodziła mutacja oraz od ekspozycji na cukrzycę w życiu płodowym. Rodziny podzielono na rodziny jądrowe w celu przeprowadzenia analizy przynależności do rodzeństw, by określić, czy pochodzenie mutacji od jednego z rodziców lub typ mutacji mają wpływ na wiek, w jakim ujawnia się cukrzyca MODY 3, niezależnie od rozmiaru i złożoności drzewa genealogicznego.

**Analiza składowych wariacji.** Autorzy podali analizie za pomocą pakietu oprogramowania Solar dane, uzyskane od 13 poszerzonych rodzin MODY 3 [38]. Solar analizuje wariacje danych rodziny i rozkłada całkowitą wariację fenotypu (wiek ujawnienia się cukrzycy) na komponenty, które wiążą się ze skutkami addytywnymi (poligenicznymi), współzmiennymi mierzalnymi oraz niemierzalnymi (przypadkowymi) efektami. Do określenia dziedzicz-

ności wieku ujawnienia się cukrzycy zastosowano wiele modeli: bez uwzględniania współzmiennych albo biorąc pod uwagę serię takich zmiennych, jak: fakt, od którego z rodziców pochodziła mutacja, wiek i płeć. Znaczenie dziedziczności (z hipotezy zerowej  $h^2 = 0$ ) określono za pomocą testu współczynnika prawdopodobieństwa. Względny wkład czynników genetycznych w zmienność wieku ujawnienia się cukrzycy określa dziedziczność ( $h^2$ ), będącą stosunkiem addytywnej składowej genetycznej wariacji i rezydualnej (po usunięciu współzmiennych) zmienności fenotypowej. Znaczenie rezydualnej  $h^2$  w modelach określono przez stworzenie 95-procentowych przedziałów ufności (stosując SE  $h^2$ ) oraz stwierdzenie, czy występuje nakładanie się przedziałów. Znaczenie zmiany wielkości  $h^2$  w odniesieniu do danej współzmiennych określono, obliczając 2 log różnicę prawdopodobieństwa między modelem z wszystkimi współzmiennymi a modelem bez danej współzmiennych (z rozkładem  $\chi^2$  przy 1 stopniu swobody).

**Inne metody statystyczne.** Analizy statystyczne przeprowadzono za pomocą programu SAS (SAS/STAT Poradnik Użytkownika, wersja 8e; SAS, Cary, NC). Różnice między grupami zbadano za pomocą metod  $\chi^2$  (lub testu zgodności Fischera) dla zmiennych jakościowych i ANOVA bądź testu regresji dla zmiennych ilościowych. Skumulowane ryzyko cukrzycy w zależności od osiągniętego wieku oszacowano za pomocą metod z zastosowaniem tabel przeżycia. Znamienność statystyczną różnic skumulowanego ryzyka między grupami zbadano za pomocą analizy rang po przekształceniu logarytmicznym. Znamienność statystyczną różnic skumulowanego ryzyka w określonym wieku zbadano z zastosowaniem odchyłeń standardowych.

### Wyniki

#### Rodziny w badaniu *Joslin Study on Genetics of Type 2 Diabetes*

Zbadano 104 rodziny (94 rasy białej) z cukrzycą typu 2, dziedziczonej jako autosomalno-dominujące zaburzenie o silnej penetracji. Przebadano 1510 osób (14,5 osoby na rodzinę; 722 z cukrzycą i 106 z upośledzoną tolerancją glukozy lub cukrzycą ciężarnych). Średni wiek w chwili rozpoznania cukrzycy był różny w poszczególnych rodzinach. W 3 rodzinach średni wiek w chwili rozpoznania wynosił mniej niż 15 lat (najniższy — 11 lat), a w 5 rodzinach 55 lat lub więcej.

Ze względu na wiek w chwili rozpoznania cukrzycy rodziny podzielono na dwie grupy: 36 młodych rodzin (średni wiek w chwili rozpoznania  $\leq 35$  lat) oraz

Tabela 1. Charakterystyka rodzin oraz badanych członków rodzin w zależności od średniego wieku, w którym w danej rodzinie rozpoznawano cukrzycę

	Rodziny młode	Rodziny w średnim wieku
Rodziny		
n*	36	68
Badani członkowie rodzin	454	1056
Członkowie rodziny chorzy na cukrzycę	227	446
Członkowie rodzin z IGT lub GDM	31	70
Średnia liczba badanych chorych na cukrzycę na rodzinę (zakres)	6,3 (3–17)	6,6 (3–14)
Osoby z cukrzycą†		
Wiek (lata)	45 ± 18	58 ± 15
Wiek w chwili rozpoznania cukrzycy (lata)	27 ± 16	45 ± 15
IBW (%)	122 ± 24	140 ± 33
Leczenie cukrzycy (%)		
Insulina	53	45
Leki doustne	28	36
Dieta	19	19

\* Było 10 rodzin rasy innej niż biała: 4 rodziny afro-amerykańskie, 5 pochodzenia latynoskiego i 1 pochodząca z wysp Pacyfiku; † dane stanowią średnie ± SD; Młody — 11–35 lat, w średnim wieku — 36–57 lat; GDM (*gestational diabetes mellitus*) — cukrzyca ciężarnych; IBW (*ideal body weight*) — idealna masa ciała; IGT (*impaired glucose tolerance*) — upośledzona tolerancja glukozy

68 rodzin, w których rozpoznawano cukrzycę w średnim wieku (> 35 lat). Choć był to podział arbitralny, zyskał on potwierdzenie w obserwacjach dotyczących mutacji, które opisano poniżej oraz w danych dotyczących beztłuszczowej masy ciała chorujących członków „młodych” rodzin (tab. 1).

### Stwierdzenie polimorfizmu/mutacji w HNF-1 $\alpha$

Kwas DNA jednego członka rodziny (uczestnika badania) z każdej ze 104 rodzin zbadano za pomocą metody dwukierunkowego sekwencjonowania, w celu stwierdzenia polimorfizmu/mutacji promotera i w 10 eksonach HNF-1 $\alpha$ . Łącznie stwierdzono 32 różnice sekwencji, które następnie zbadano u 72 niespokrewnionych osób rasy białej bez cukrzycy. Łącznie stwierdzono 17 polimorfizmów, występujących z jednakową częstością u uczestników badania oraz u osób z grupy kontrolnej bez cukrzycy (dane nieprzedstawione). Piętnaście mutacji wystąpiło u 14 uczestników badania (2 były w sąsiadujących kodonach u 1 badanego). Jedną mutację, powodującą zmianę Thr na Ala w kodonie 196, stwierdzono u osoby należącej do rodziny mniejszościowej w eksonie 3, która nie była skojarzona z cukrzycą w tej rodzinie. Pozostałe mutacje podlegały segregacji z cukrzycą w 13 rodzinach rasy białej (tab. 2). W najstarszej z tych rodzin średni wiek ujawnienia się cukrzycy wynosił 31 lat. Dlatego w rodzinach, w których występował autosomalno-dominujący mo-

del ujawniania się cukrzycy, mutacje HNF-1 $\alpha$  były odpowiedzialne za występowanie cukrzycy u 13 (36%) z 36 młodych rodzin, ale w żadnej z rodzin w średnim wieku (tab. 1).

Opis mutacji HNF-1 $\alpha$  współistniejących z cukrzycą w 13 drzewach genealogicznych przedstawiono w tabeli 2. Występujące mutacje stanowiły delecje, insercje lub substytucje nukleotydów i powodowały albo zmianę aminokwasów, albo mutacje typu przesunięcia ramki odczytu w sekwencjach. Mutacje stwierdzane w domenach transaktywacji powodowały jedynie powstawanie skróconych form białek. Dla każdej mutacji przedstawiono liczbę nosicieli oraz informację dotyczącą cukrzycy w chwili badania. Zaburzenia metabolizmu węglowodanów u nosicieli kształtowały się różnie w zależności od rodziny, zwłaszcza w rodzinach 10. i 11., w których występowały takie same mutacje. U wszystkich nosicieli w 12. drzewie genealogicznym występowała jawna cukrzyca, oprócz rodziny 21. (tab. 2). Zakres wieku, w którym rozpoznano cukrzycę w obrębie rodziny, wahał się od minimum 3 lat do maksimum 40 lat (mediana 16 lat) (tab. 2).

Aby ocenić ryzyko rozwoju cukrzycy u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ , oszacowano skumulowaną zapadalność na tę chorobę w zależności od osiągniętego wieku za pomocą tabel przeżycia. Cukrzyca rozwinęła się u prawie wszystkich nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  między 8 a 49 rokiem życia (u połowy z tych osób przed

Tabela 2. Charakterystyka mutacji HNF-1 $\alpha$  wywołujących cukrzycę

Nr identyfikacyjny rodziny	Lokalizacja	Nukleotyd		Aminokwas		Kodon	Liczba nosicieli cukrzycy	Status nosicieli cukrzycy†	Wiek w chwili rozpoznania (lata)	
		pozycja*	Zmiana	Zmiana	Kodon				Średni	Zakres
Dimeryzacja oraz domena wiążąca DNA‡										
01	Ekson 1	70	Delekcja GA	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	24	4	4/-/-	20	14-28	
02	Ekson 1	130	Delekcja C	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	44	4	4/-/-	11	10-13	
03	Ekson 1	320	T→G	Leu→Arg	107	16	16/-/-	19	9-37	
04	Ekson 2	21	C→T	Ala→Val	116	9	8/-/1	29	13-48	
05	Ekson 2	64	C→T	Arg→Trp	131	11	9/1/1	21	11-41	
06	Ekson 2	110	C→A	Gln→Lys	146	5	5/-/-	15	10-24	
		114	A→G	His→Arg	147					
07	Ekson 4	5	G→C	Glu→Gln	240	8	4/2/1	25	19-35	
08	Ekson 4	102	G→A	Arg→His	272	6	6/-/-	22	17-34	
Domena transaktywacji										
09	Ekson 4	159	Delekcja C	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	291	3	3/-/-	13	10-18	
10	Ekson 4	159	Insercja C	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	291	13	13/-/-	20	8-48	
11	Ekson 4	159	Insercja C	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	291	5	-/4/1§	-	-§	
12	Ekson 6	29	Delekcja CT	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	379	6	6/-/-	19	13-26	
13	Ekson 7	19	Delekcja CA	Mutacja typu przesunięcia ramki odczytu	443	12	9/2/1	31	16-49	
Razem						101	87/9/5	21	8-49	

\* Liczba nukleotydów z końca 5' każdego eksonu; † cukrzyca (rozpoznana cukrzyca/upośledzona tolerancja glukozy w testach wykonanych w ramach badania lub cukrzyca ciężowa/normoglikemia w testach wykonanych w ramach badania, bez wcześniejszego rozpoznania cukrzycy lub cukrzycy ciężowej); ‡ HNF-1 $\alpha$  ma 3 odrębne domeny: domenę dimeryzacji obejmującą pierwsze 33 kodony, domenę wiążącą DNA określoną przez kodony 100-280 oraz domenę transaktywacji, która składa się z pozostałych 351 kodonów [10]; § u dwóch osób, u których wcześniej rozpoznawano cukrzycę na podstawie testów wykonywanych w ramach badania, stwierdzono jedynie upośledzoną tolerancję glukozy. Wiek 5 nosicieli w chwili badania wynosił 16-40 lat. Mutacje w rodzinach 03, 05, 08 i 10 opisano już we wcześniejszych publikacjach [18]

ukończeniem 20 rż.). Chociaż włączenie chorych osób wymagane w doborze rodzin (2 chorujących członków rodziny) mogło zawyżać dane szacunkowe, ogólne wyniki w tym wypadku nie zostały istotnie zmienione, a kumulacyjne ryzyko do 50 roku życia w obu przypadkach osiągnęło 100%. Innym zagadnieniem jest włączenie 9 przypadków nierozpoznanej cukrzycy, którą zdiagnozowano dopiero w czasie prowadzenia badań przesiewowych rodzin, mających wziąć udział w badaniu. Aby ocenić wpływ włączenia tych przypadków, sklasyfikowano je zgodnie ze stanem w dniu badania. Skumulowana zapadalność na cukrzycę osób do 50 roku życia zmniejszyła się ze 100 do tylko 93%. Dlatego wszystkich 101 nosicieli uwzględniono w kolejnych analizach. Cukrzyca wystąpiła u 65% osób do 25 roku życia, a u 79% do 35 roku życia.

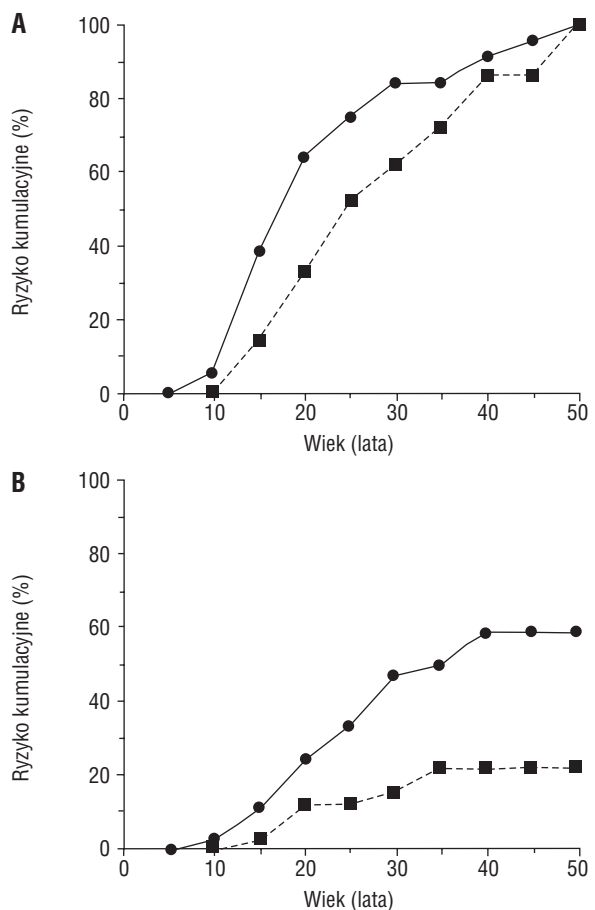
### Rodzina skłonność do wystąpienia cukrzycy w określonym wieku u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$

Aby określić wpływ czynników rodzinnych na wiek ujawnienia się cukrzycy, u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  zastosowano genetyczną analizę składowych wariacji. W 13 drzewach genealogicznych MODY 3 były 452 pary krewnych (nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ ), których można było uwzględnić w tej analizie. W modelu, w którym nie uwzględniono żadnych współzmiennych, dziedziczność wieku, w jakim ujawniała się cukrzyca, była umiarkowana ( $h^2 = 0,47 \pm 0,17$ ;  $p = 0,003$ ). Kiedy uwzględniono fakt, który z rodziców przekazał mutację jako współzmienną, dziedziczność znacznie się zwiększyła ( $h^2 = 0,91 \pm 0,20$ ;  $p = 0,08$  dla każdego przyrostu), chociaż obserwowano nakładanie się 95-procentowych przedziałów ufności i modeli bez współzmiennych i modeli z efektem rodzica przekazującego mutację. Po zbadaniu istotności statystycznej poszczególnych współzmiennych tylko fakt pochodzenia mutacji od jednego z rodziców okazał się istotną determinantą wieku ujawnienia się cukrzycy ( $\chi^2_1 = 46,9$ ;  $p < 0,0001$ ). Dlatego główne wnioski z analizy składowych wariacji są następujące: wiek ujawnienia się cukrzycy u nosicieli mutacji jest w znacznym stopniu dziedziczny, różni się on zależnie od tego, czy mutacja została odziedziczona po ojcu, czy po matce.

### Zależność wieku ujawnienia się cukrzycy od faktu, który z rodziców przekazuje mutację HNF-1 $\alpha$

W celu zobrazowania związku pochodzenia mutacji i wieku, w którym ujawnia się cukrzyca, obliczono skumulowaną zapadalność na cukrzycę w zależności od osiągniętego wieku oraz odziedziczenia mutacji po ojcu lub matce (ryc. 1A). Wśród nosicieli, którzy odziedziczyli mutację HNF-1 $\alpha$  po matce, cukrzyca u połowy z nich ujawniła się do 17 roku życia, podczas gdy u osób, które odziedziczyły mutację po ojcu, połowa zachorowała do 23 roku życia, co stanowi różnicę 6 lat ( $p = 0,011$ ).

Aby stwierdzić, czy ta różnica była spowodowana ściślejszą obserwacją dzieci matek chorych na cukrzycę oraz rozpoznaniem łagodnej hiperglikemii, celem obliczenia skumulowanej zapadalności zależnie od tego, który z rodziców przekazał mutację, rozpoznanie cukrzycy ograniczono do przypadków wymagających stosowania insuliny (ryc. 1B). Na przy-



**Rycina 1.** Kumulacyjne ryzyko wystąpienia cukrzycy u osób do 50 roku życia — nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ , zależnie od którego z rodziców została ona odziedziczona; ● nosiciele, którzy odziedziczyli mutację po matce; ■ nosiciele, którzy odziedziczyli mutację po ojcu; **A.** wiek, w którym ujawniła się cukrzyca u wszystkich uczestników badania, spełniających kryteria rozpoznania cukrzycy według WHO ( $p = 0,011$  dla porównania między nosicielami, którzy odziedziczyli mutację HNF-1 $\alpha$  po matce i po ojcu); **B.** wiek, w którym ujawniła się cukrzyca leczona insuliną (cukrzyca rozpoznawana jedynie u uczestników badania leczonych insuliną, za początek cukrzycy przyjęto datę rozpoczęcia insulinoterapii);  $p = 0,004$  dla porównania między nosicielami, którzy odziedziczyli mutację HNF-1 $\alpha$  po matce i po ojcu

kład, u osób w wieku 25 lat cukrzyca wymagająca leczenia insuliną rozwinęła się u  $33 \pm 7\%$  nosicieli, u których mutacja została odziedziczona po matce, ale tylko u  $12 \pm 5\%$  nosicieli mutacji odziedziczonych po ojcu ( $p = 0,016$ ). Przedział czasu od rozpoznania cukrzycy do rozpoczęcia leczenia insuliną również świadczył, że powyższa różnica nie wynikała ze szczególnego nadzoru matek z cukrzycą nad dziećmi. W ciągu 5 lat po rozpoznaniu leczenie insuliną rozpoczęto u  $33 \pm 7\%$  nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  przekazanej przez matkę, ale tylko u  $16 \pm 7\%$  nosicieli mutacji odziedziczonych po ojcu ( $p = 0,02$ ).

Cechy kliniczne nosicieli również potwierdzają wniosek, że fenotyp wymagający leczenia insuliną występował częściej, jeżeli mutacja została przekazana przez matkę (tab. 3). Wśród osób leczonych insuliną jej dawka (j./kg) była jednakowa, a częstość, z jaką występowała u osób, u których nie stwierdzano wydzielania endogennej insuliny, oraz osób z obecnymi przeciwciałami (anty GAD lub IA2) była

podobnie niska. Zwraca uwagę fakt, że u większości osób, u których występowały przeciwciała, czas trwania cukrzycy był długi (tab. 3, legenda). Wśród nosicieli mutacji nieleczonych insuliną rozkład innych sposobów leczenia (leki doustne, dieta lub bez leczenia) był podobny, a także zbliżone były wartości glikemii na czczo i 2 godziny po doustnym obciążeniu glukozą oraz stężenia insuliny (tab. 3). Jednak w porównaniu z rodzeństwem niebędącym nosicielami, u nosicieli mutacji obserwowano nieznacznie niższe stężenia insuliny na czczo, niezależnie od tego, czy mutacja pochodziła od ich matki, czy od ojca (odpowiednio  $p = 0,01$  i  $p = 0,006$ ) oraz większy niedobór insuliny w doustnym teście obciążenia glukozą (odpowiednio  $p = 0,0004$  i  $p = 0,005$ ). Ponadto, wskaźnik wrażliwości na insulinę był podobny u nosicieli i osób niebędących nosicielami mutacji (niechorujących na cukrzycę) niezależnie od tego, po którym z rodziców została ona odziedziczona. Wszystkie te wartości są względnie niskie w porów-

Tabela 3. Charakterystyka nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  w zależności od jej pochodzenia (od matki lub ojca)

	Mutacja odziedziczona		p
	Po matce	Po ojcu	
<b>Wszyscy nosiciele</b>			
n	56	45	
Cukrzyca rozpoznana do 20 rż. (%)	64	33	0,001
Autoprzeciwciała (%)*	4	10	NS
Cukrzyca leczona insuliną (%)	52	29	0,02
<b>Nosiciele leczeni insuliną</b>			
n	26†	10†	
Dawka insuliny [j./kg]	$0,44 \pm 0,24$	$0,39 \pm 0,16$	NS
Stężenie C-peptydu na czczo < 0,2 ng/ml (%)‡	15	10	NS
<b>Pozostali nosiciele</b>			
n	27	32	
Glikemia na czczo [mg/dl]	$116 \pm 42$	$134 \pm 45$	NS
Glikemia po 2 h [mg/dl]	$273 \pm 102$	$234 \pm 89$	NS
Stężenie insuliny na czczo [ $\mu$ U/ml]	$6,1 \pm 2,1$	$6,8 \pm 2,5$	NS§
Stężenie insuliny po 2 h [ $\mu$ U/ml]	$10,3 \pm 6,3$	$13,4 \pm 7,6$	NS§
2 h wskaźnik insulinowrażliwości	$93 \pm 73$	$103 \pm 110$	NS§
<b>Osoby niebędące nosicielami</b>			
n	17	27	
Glikemia na czczo [mg/dl]	$89 \pm 10$	$85 \pm 13$	NS
Glikemia po 2 h [mg/dl]	$100 \pm 21$	$92 \pm 26$	NS
Stężenie insuliny na czczo [ $\mu$ U/ml]	$8,9 \pm 4,8$	$12,0 \pm 9,0$	NS§
Stężenie insuliny po 2 h [ $\mu$ U/ml]	$38,6 \pm 29,0$	$30,4 \pm 38,5$	NS§
2 h wskaźnik insulinowrażliwości	$109 \pm 146$	$148 \pm 133$	NS§

\* 5 osób było GAD<sup>+</sup>, jedna IA2<sup>+</sup>. Tylko u jednego stwierdzano normoglikemię (wiek 14 lat), podczas gdy u pozostałych 5 cukrzycę leczono insuliną (u jednego z 5 nie stwierdzono endogennego wydzielania insuliny). Czas trwania cukrzycy był bardzo długi (30–50 lat) poza jednym wypadkiem, kiedy czas trwania cukrzycy wynosił 7 lat. Dla 13 osób wyniki oznaczania przeciwciał nie były dostępne. † dla 3 osób w każdej z grup dawka insuliny oraz stężenie C-peptydu nie były znane; ‡ brak endogennego wydzielania insuliny; § test zmienności przeprowadzony na danych przekształconych logarymicznie; || różnica między osobami będącymi i niebędącymi nosicielami istotna statystycznie ( $p < 0,05$ )



naniu z wartościami u młodych pacjentów chorujących na cukrzycę typu 2, u których nie występują mutacje HNF-1 $\alpha$  (dane nieprzedstawione).

Średni wiek nosicieli mutacji wyniósł  $34 \pm 15$  lat w chwili badania. Schorzenie w równym stopniu dotyczyło kobiet (52% badanych), jak i mężczyzn, 77% osób było szczupłych (% idealnej masy ciała  $< 120$ ). Te cechy nie ulegały zmianie w zależności od pochodzenia mutacji. Stężenie cholesterolu frakcji HDL było w tych rodzinach wysokie, choć nieznacznie niższe u osób, które odziedziczyły mutację po matce ( $52 \pm 12$  mg/dl), a nie po ojcu ( $59 \pm 18$  mg/dl). Stężenie triglicerydów było niskie w obu grupach (odpowiednio  $103 \pm 51$  oraz  $113 \pm 66$  mg/dl).

### Wpływ ekspozycji nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ w okresie płodowym na cukrzycę występującą u matki

Aby ocenić zależność między ekspozycją w okresie płodowym na cukrzycę występującą u matki a występowaniem cukrzycy u osób w młodszym wieku — nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ , odziedziczonych po matce, autorzy podzielili ich w zależności od występowania cukrzycy u matki w okresie ciąży (tab. 4). U osób, których matki miały cukrzycę ciężarnych, choroba ujawniała się szczególnie wcześnie. Skumulowane ryzyko rozwoju cukrzycy do czasu ukończenia 15 lat wynosiło  $57 \pm 8\%$  w porównaniu z 0,0% u osób, u których matek nie rozpoznawano cukrzycy ciężarnych ( $p < 7 \times 10^{-6}$ ). Do 25 roku życia różnica ryzyka uległa zmniejszeniu (odpowiednio  $85 \pm 6$

i  $55 \pm 12\%$ ), ale nadal pozostawała istotna statystycznie ( $p = 0,02$ ). Wyższa skumulowana zapadalność na cukrzycę, wymagającą leczenia insuliną, w grupie potomków matek chorujących na cukrzycę ciężarnych ( $p = 0,04$ ) tłumaczy częstsze występowanie cukrzycy u osób do 25 roku życia. Osoby, u których matek rozpoznawano cukrzycę ciężarnych, charakteryzowały się nieznacznie większą masą ciała w chwili badania, lecz nie była to różnica istotna statystycznie. U osób nieleczonych insuliną wartości glikemii na czczo i w 2 godzinie OGTT oraz stężenia insuliny były niemal jednakowe w obu grupach. Należy zauważyć, że skumulowane ryzyko do czasu ukończenia 25 roku życia u osób dziedziczących mutacje po matkach, ale będących potomkami matek niechorujących na cukrzycę ciężarnych ( $55 \pm 12\%$ ), odpowiadało ryzyku u osób, które odziedziczyły mutację po ojcu ( $52 \pm 8\%$ ).

### Czynniki wpływające na wiek wystąpienia cukrzycy w rodzinach jądrowych (rodzeństwa)

Poprzednie analizy obejmowały dane indywidualnych nosicieli, a na wyniki prawdopodobnie miał wpływ nierównomierny udział licznych i mniej licznych rodzeństw. Aby wyeliminować taką możliwość, autorzy podzielili 13 drzew genealogicznych na rodziny jądrowe. Znalazły się tam 54 rodzeństwa, wśród których był przynajmniej 1 chorujący nosiciel mutacji HNF-1 $\alpha$ . Aby scharakteryzować wiek ujawnienia się cukrzycy w rodzeństwach z więcej niż jednym chorującym nosicielem mutacji, zastosowano me-

Tabela 4. Charakterystyka osób będących nosicielami mutacji HNF-1 $\alpha$ , które odziedziczyły mutację po matce w zależności od tego, czy podczas ciąży matka chorowała na cukrzycę

Cecha	Cukrzyca u matki w czasie ciąży*		p
	Tak	Nie	
n	35	20	
Wiek w chwili badania (lata)	$34 \pm 15$	$34 \pm 16$	NS
Procent idealnej masy ciała w chwili badania	$115 \pm 18$	$105 \pm 19$	NS
Cukrzyca rozpoznana do czasu ukończenia			
15 lat (%)	$57 \pm 8$	$0 \pm 0$	0,000007
25 lat (%)	$85 \pm 6$	$55 \pm 12$	0,02
Insulinoterapia rozpoczęta do czasu ukończenia 25 lat (%)	$43 \pm 9$	$17 \pm 9$	0,04
Nosiciele mutacji nieleczeni insuliną			
Glikemia na czczo [mg/dl]	$119 \pm 35$	$111 \pm 53$	NS
Glikemia po 2 h [mg/dl]	$278 \pm 109$	$266 \pm 97$	NS
Stężenie insuliny na czczo [ $\mu$ U/ml]	$6,0 \pm 2,5$	$6,2 \pm 1,5$	NS†
Stężenie insuliny po 2 h [ $\mu$ U/ml]	$8,7 \pm 4,8$	$11,9 \pm 7,4$	NS†
2 h wskaźnik insulinowrażliwości	$113 \pm 94$	$70 \pm 25$	NS†

\* W przypadku 1 nosiciela nie wiadomo, czy matka podczas ciąży chorowała na cukrzycę; † test zniemności, przeprowadzony na danych przekształconych logarytmicznie

**Tabela 5. Rodzeństwa, w których występował przynajmniej jeden nosiciel mutacji HNF-1 $\alpha$ , pogrupowane na podstawie mediany wieku, w którym ujawniła się cukrzyca u nosiciela mutacji, w zależności od rodzica, po którym odziedziczono mutację oraz od typu mutacji**

	Mediana wieku, w którym ujawniła się cukrzyca u nosiciela*			
	8–15	17–22	26–48	Razem
Rodzic, po którym została odziedziczona mutacja†				
Matka	13 (72)	9 (50)	6 (33)	28 (52)
Ojciec	5 (28)	9 (50)	12 (67)	26 (48)
Domena mutacji				
Transaktywacja	7 (39)	6 (33)	6 (33)	19 (35)
Wiązanie	11 (61)	12 (67)	12 (67)	35 (65)
Razem	18 (100)	18 (100)	18 (100)	54 (100)

Dane stanowią liczbę rodzeństw (%); \* było 58 rodzeństw z co najmniej jednym nosicielem mutacji (31 z jednym nosicielem, 17 z dwoma, 4 z trzema i 6 z czterema); 4 rodzeństwa zostały pominięte, ponieważ jedyny nosiciel nie miał cukrzycy; w grupach, w których chorowały dwa lub więcej rodzeństw, były dwa, w których u pary chorującego rodzeństwa cukrzycę rozpoznano w tym samym roku kalendarzowym; w 3 rodzeństwach diagnozę postawiono w odstępie 2 lat, w 4 w odstępie 3–5 lat, w 8 rozpoznano dzieliło 6–10 lat, a w przypadku 3 rodzeństw 11–15 lat; w 3 rodzeństwach rozpoznanie postawiono w odstępie ponad 15 lat (maksymalnie 27 lat); †  $\chi^2$  dla tendencji liniarnej u rodzica przekazującego mutację = 5,35; p = 0,02

dianę wieku w chwili rozpoznania. Po analizie wieku wystąpienia cukrzycy u rodzeństw wyodrębniono trzy grupy o jednakowej wielkości: 8–15, 17–22 i 26–48 lat (tab. 5).

Proporcja rodzeństw dziedziczących mutację po matce zmniejszała się wraz ze starszym wiekiem, w którym rozpoznano cukrzycę ( $\chi^2$  dla tendencji liniarnej = 5,35; p = 0,02). Najmłodsza grupa składała się prawie całkowicie z rodzeństw dziedziczających mutację HNF-1 $\alpha$  po matce i będących potomkami matek chorujących na cukrzycę w czasie ciąży. Rodzeństwa, w których mutacja była dziedziczona po ojcu, znajdowały się głównie w grupie, w której cukrzyca ujawniała się w starszym wieku. Natomiast proporcja rodzeństw z mutacjami w domenie transaktywacji była stała niezależnie od wieku, w jakim rozpoznano cukrzycę (tab. 5), podobnie jak w przypadku częstości mutacji, których skutkiem były odcięte formy białek.

## Wnioski

W przedstawionej pracy autorzy badali rolę mutacji HNF-1 $\alpha$  w rozwoju cukrzycy w dużej grupie rozszerzonych rodzin, w których cukrzyca była dziedziczona w sposób autosomalno-dominujący z silną penetracją. W przeciwieństwie do innych doniesień, obecne badanie objęło duże rodziny, w obrębie których wiek w chwili rozpoznania cukrzycy wynosił nawet do 57 lat. Przez bezpośrednie sekwencjonowanie stwierdzono występowanie mutacji HNF-1 $\alpha$ , która u heterozygot (efekt dominujący) wywołała cukrzy-

cę u 13 rodzin rasy białej. Wywołującą cukrzycę mutację HNF-1 $\alpha$  stwierdzono w 13 z 36 rodzin (36%), w których cukrzycę rozpoznawano w młodym wieku (średni wiek w chwili rozpoznania cukrzycy w obrębie rodziny  $\leq$  35 lat). Występowania mutacji nie stwierdzono w żadnej z pozostałych 68 rodzin, w których cukrzycę rozpoznawano w średnim wieku. W 13 rodzinach cukrzyca typowo ujawniała się u nosicieli mutacji przed ukończeniem przez nich 25 roku życia, jednak u 35% nosicieli dopiero po osiągnięciu późniejszego wieku (do 49 r.). Stopień nasilenia cukrzycy również był zróżnicowany. Obserwacje te mają znaczenie dla kryteriów diagnostycznych cukrzycy typu MODY [39] i stwarzają pytanie: „Jakie są czynniki determinujące/mechanizmy tak zróżnicowanej, zależnej od wieku ekspresji fenotypu cukrzycowego w tym, przypuszczalnie, monogenicznym zaburzeniu?”.

W kolejnej części omówiono obserwacje autorów w odniesieniu do 3 determinant, które zbadano pod kątem związku z wiekiem ujawnienia się cukrzycy lub z jej nasileniem u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ : spektrum mutacji HNF-1 $\alpha$ , rodzica przekazującego mutację oraz innych czynników rodzinnych (środowiskowych i genetycznych).

Zakres mutacji HNF-1 $\alpha$  wywołujących cukrzycę w przedstawionym badaniu jest podobny do opisywanego wcześniej [22]. Autorzy stwierdzili 7 mutacji w eksonach kodujących domenę wiążącą DNA. Wszystkie były substytucjami pojedynczych nukleotydów, których wynikiem była zmiana aminokwasów.

Dwie mutacje były zlokalizowane w eksonie 1 (jedna w obrębie, a jedna poza domeną dimeryzacji), a ich skutkiem były skrócone formy białek, wywołane przez mutację typu przesunięcia ramki odczytu. Ani typ (skrócone białko vs. mutacja typu *missense*), ani lokalizacja (3 domeny) mutacji nie miały wpływu na przebieg kliniczny MODY 3. Są to wyniki przeciwne do uzyskanych w badaniach *in vitro*, gdzie powstanie skróconych form białek, będące wynikiem mutacji w domenie transaktywacji, ma wpływ dominująco-negatywny, podczas gdy mutacja typu *missense*, zlokalizowana w innych domenach, powoduje tylko częściową utratę funkcji [40, 41]. Obserwacje autorów są zgodne z ostatnimi doniesieniami z Wielkiej Brytanii, dotyczącymi braku związku genotyp/fenotyp w rodzinach MODY 3 [24].

Zwraca uwagę fakt, że klinicznie cukrzyca była bardziej nasiloną u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  odziedziczonej po matce niż po ojcu. Jeżeli mutacja pochodziła od matki, cukrzyca ujawniała się wcześniej oraz istniało większe prawdopodobieństwo, że będzie wymagała leczenia insuliną. Mechanizmy leżące u podłoża tej zależności nie są jasne. W ogólnej populacji dane dotyczące roli dziedziczenia po matce w rozwoju cukrzycy typu 2 są sprzeczne. Wyniki badań przekrojowych wykazują, że u rodziców chorych na cukrzycę typu 2 schorzenie to występuje częściej u matek niż u ojców [42–45]. Badania prospektywne, w których ryzyko błędu systematycznego jest mniejsze, nie potwierdzają tych obserwacji. Najszersze badanie prospektywne *Framingham Offspring Study* wykazało, że występowanie cukrzycy typu 2 u matki lub ojca wiązało się z podobnym ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2 u potomka [46]. Ostatnio autorzy opublikowali podobne obserwacje, dotyczące rodzin włączanych na podstawie danych pacjentów *Joslin Clinic* [47].

Sugerowano, że zaburzenia metaboliczne, występujące podczas ciąży u kobiety chorej na cukrzycę, mogą zwiększać ryzyko wystąpienia cukrzycy u potomka. Na przykład, przeprowadzone ostatnio wśród Indian Pima badania wykazały, że cukrzyca u matki podczas ciąży zwiększała ryzyko wystąpienia cukrzycy typu 2 oraz otyłości u jej dziecka po osiągnięciu przez nie dorosłości [48]. Przeciwnie, w przypadku rasy białej, u potomków matek ze źle wyrównaną cukrzycą typu 1 nie dochodzi do rozwoju cukrzycy typu 1 ani 2. Cukrzycę rozpoznaje się znacznie częściej u potomków, jeżeli na cukrzycę typu 1 choruje ojciec, a nie matka, i w ogóle nie wchodziła w rachubę ekspozycja na cukrzycę *utero* [49]. A więc zaburzenia metaboliczne, związane z cukrzycą u ciężar-

nej, są jedynym czynnikiem wpływającym na ryzyko wystąpienia cukrzycy u wszystkich potomków. Najwyraźniej zależy to od pewnej podatności uwarunkowanej genetycznie.

W przedstawionym badaniu stwierdzono istotny związek między ekspozycją na cukrzycę w życiu płodowym a wiekiem, w którym dochodzi do ujawnienia się cukrzycy u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ . Wpływ cukrzycy ciężarnych może tłumaczyć różnicę związaną z faktem, który z rodziców przekazał mutację. Należy podkreślić, że przeciwnie do obserwacji poczynionych u Indian Pima, w badaniu autorów nosiciele będący potomkami matek zarówno chorujących, jak i niechorujących na cukrzycę w czasie ciąży nie mieli nadwagi i nie różnili się pod względem wydzielania insuliny oraz wrażliwości na insulinę. Obserwacje te sugerują, że ekspozycja na cukrzycę w życiu płodowym powoduje zmianę funkcji komórek  $\beta$  trzustki lub ich masy specyficznie u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ . Skutkiem tego jest rozwój cukrzycy w 2. dekadzie życia, podczas gdy u nosicieli, których matki nie chorowały na cukrzycę podczas ciąży, choroba ta rozwija się 5–10 lat później. Obecnie mechanizm zmian w obrębie komórek  $\beta$  nie jest znany, choć istnieje wiele hipotez [50, 51].

Stosując analizę składowych wariacji, stwierdzono w badanych rodzinach istotną dziedziczność wieku, w którym ujawnia się cukrzyca typu MODY 3. Po uwzględnieniu wpływu rodzica, od którego pochodzi mutacja, rezydualna dziedziczność wieku, w którym ujawnia się cukrzyca, była bardzo wysoka. Sugeruje to silny wpływ czynników rodzinnych na wiek ujawnienia się cukrzycy. Mogą do nich należeć: występowanie w rodzinie czynników środowiskowych, takich jak otyłość (choć ani nosiciele, ani osoby niebędące nosicielami w rodzinach badanych przez autorów nie mieli nadwagi) oraz aktywność fizyczna. Oba te czynniki wpływają na wrażliwość na insulinę, a także mogą powodować zaburzenie równowagi między wydzielaniem a zapotrzebowaniem na insulinę. Rodzinna skłonność do ujawniania się cukrzycy w tym samym wieku nie była wynikiem jednoczesnego grupowania testów przesiewowych w kierunku cukrzycy w obrębie rodzeństw, po wykryciu cukrzycy u jednego z rodzeństwa. Tylko u 2 par rodzeństw rozpoznano cukrzycę w tym samym lub następnym roku. U większości rodzeństw cukrzycę rozpoznawano w odstępie powyżej 5 lat (tab. 5).

Powodem wysokiej dziedziczności wieku, w którym ujawnia się cukrzyca, mogą być jednak dodatkowe czynniki genetyczne (poza mutacją HNF-1 $\alpha$ ), które wpływają albo na insulinoporność, albo na wy-

dzielanie insuliny. Na podstawie wstępnych wyników badań genomów, przeprowadzonych w 13 dużych rodzinach, autorzy stwierdzili istnienie przekonujących dowodów związku między wiekiem, w którym ujawnia się cukrzyca typu MODY 3, a dwoma regionami chromosomalnymi (A.D., S.H. Kim, X. Ma, S.S.R., dane niepublikowane). Jeżeli obserwacje te się potwierdzą, wskazywałoby to zatem, że cukrzyca typu MODY 3 stanowi złożone zaburzenie, obejmujące poza HNF-1 $\alpha$  inne modyfikujące geny, jak również czynnik narażenia na cukrzycę u matki w życiu płodowym, które łącznie wywołują pełne objawy cukrzycy w młodym wieku. U transgenicznych myszy stworzono kompleksowe modele, które powodują cukrzycę [52], a u ludzi wykazano, że fenotypy pewnych „prostych” zaburzeń mendelowskich mają charakter złożony [26, 27].

Należy również wziąć pod uwagę pewne ograniczenia badania autorów. Po pierwsze, badania przesiewowe w kierunku występowania mutacji HNF-1 $\alpha$  ograniczały się do proksymalnego promotera, wszystkich eksonów oraz obszarów granicznych ekson/intron. Nie dokonano sekwencjonowania dystalnych końców 5' i 3' ani intronów tego genu, gdzie mogą się znajdować nieznane elementy regulacyjne. Jednak w żadnej z pozostałych młodych rodzin nie wykazano dowodów na istnienie związku cukrzycy z mikrosatelitarnymi wskaźnikami zlokalizowanymi w regionach przylegających do HNF-1 $\alpha$  (A.D., S.H. Kim, A. Bektas, dane niepublikowane). Jest zatem mało prawdopodobne, aby negatywne wyniki protokołów przesiewowych, dotyczących mutacji wywołujących cukrzycę, były wynikami fałszywie ujemnymi.

Po drugie, autorzy badali tylko rodziny z autosomalno-dominującym sposobem dziedziczenia oraz pionową transmisją cukrzycy przez wiele pokoleń. Dlatego szacunkowa ocena kumulacyjnego ryzyka cukrzycy u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  jest prawdopodobnie wyższa niż gdyby rodziny były dobierane na podstawie jednego chorującego nosiciela. Jednak sposób dziedziczenia może nie mieć istotnego wpływu na fakt, który z rodziców przekazał mutację HNF-1 $\alpha$ .

Po trzecie, badanie cechuje się ograniczoną precyzją określania wieku, w którym ujawniła się cukrzyca. U niektórych osób (dokładna liczba nie jest znana) rozpoznanie cukrzycy zostało opóźnione do czasu wystąpienia objawów hiperglikemii, co może jednak nie mieć znaczącego wpływu na zależną od wieku penetrację cukrzycy u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$ . Dziewięć przypadków cukrzycy, którą rozpoznano dopiero podczas badania autorów, miało jednakowoży rozkład zależnie od rodzica przekazującego mutację. Nie zmieniły one zatem zasadniczej obserwa-

cji, dotyczącej wpływu rodzica przekazującego mutację. Ponadto, gdy przeanalizowano ryzyko rozwoju cukrzycy u nosicieli mutacji HNF-1 $\alpha$  zależnie od tego, czy odziedziczyli oni mutację od ojca, czy od matki, różnica nadal utrzymywała się przy traktowaniu wieku, w którym rozpoczęto insulinoterapię, jako wieku ujawnienia się cukrzycy typu MODY 3.

## Podziękowania

Badanie było finansowane z grantów *National Institutes of Health* DK-47475 (dla A.S.K.), DK-55523 (dla A.D.) i DK-36836 (dla Grupy Genetycznej *Diabetes & Endocrinology Research Center at the Joslin Diabetes Center*).

Dziękujemy rodzinom uczestniczącym w badaniu za poświęcony czas i współpracę.

Wyrazy wdzięczności dla Cheryl O'Keeffe, Jill Dreyfus, Susan Scotti, Liz Fields i Betsy Palecek za pomoc w rekrutacji i badaniach rodzin oraz dla Lindy Hanna i Adama Smilesa za opracowanie i nadzór nad bazą danych genotypów i fenotypów.

## PIŚMIENNICTWO

1. Tattersall R.B.: Mild familial diabetes with dominant inheritance. *Q. J. Med.* 1974; 43: 339–357.
2. Fajans S.S.: Maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Diabetes Metab. Rev.* 1989; 5: 579–606.
3. Froguel P., Vaxillaire M., Sun F. i wsp.: Close linkage of glucokinase locus on chromosome 7p to early onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Nature* 1992; 356: 162–164.
4. Yamagata K., Oda N., Kaisaki P.J. i wsp.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY 3). *Nature* 1996; 384: 455–458.
5. Yamagata K., Furuta H., Oda N. i wsp.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4a gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY 1). *Nature* 1996; 384: 458–460.
6. Stoffers D.A., Ferrer J., Clarke W.L., Habener J.F.: Early onset type II diabetes mellitus (MODY 4) linked to IPF 1. *Nat. Genet.* 1997; 17: 138–139.
7. Horikawa Y., Iwasaki N., Hara M. i wsp.: Mutation in hepatocyte nuclear factor-1a gene (TCF 2) associated with MODY. *Nat. Genet.* 1997; 17: 384–385.
8. Malecki M.T., Jhala U.S., Antonellis A.: Mutations in *NEUROD 1* are associated with the development of type 2 diabetes mellitus. *Nat. Genet.* 1999; 23: 323–328.
9. Frayling T.M., Bulamn M.P., Ellard S. i wsp.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1a gene are a common cause of maturity-onset diabetes of the young in the U.K. *Diabetes* 1997; 46: 720–725.
10. Bach I., Pontoglia M., Yaniv M.: Structure of the gene encoding hepatocyte nuclear factor 1 (HNF 1). *Nucleic. Acid. Res.* 1992; 20: 4199–4204.
11. Emens L.A., Landers D.W., Moss L.G.: Hepatocyte nuclear factor 1a is expressed in a hamster insulinoma line and transactivates the rat insulin I gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1992; 89: 7300–7304.
12. Lazzaro D., De Simone V., De Magistris S., Lehtonen E., Cortese R.: LFB 1 and LFB 3 homeoproteins are sequentially expressed during kidney development. *Development* 1992; 114: 469–474.

13. Tronche F., Bach I., Chouard T. i wsp.: Hepatocyte nuclear factors 1 (HNF 1) and liver gene expression. W: Tronche F., Yaniv M. (red.). *Liver Gene Expression*. Austin, TX, RG Landes, 1994; 155–181.
14. Rhee K.H., Stier G., Becker P.B., Suck D., Sandaltzopoulos R.: The bifunctional protein DCoH modulates interactions of the homeodomain transcription factor HNF 1 with nucleic acids. *J. Mol. Biol.* 1997; 200: 20–29.
15. Ktistaki E., Talianidis I.: Modulation of hepatic gene expression by hepatocyte nuclear factor 1. *Science* 1997; 227: 109–112.
16. Tomei L., Cortese R., De Francesco R.: A POU-A related region dictates DNA binding specificity of LFB 1/HNF 1 by orienting the two XL-homeodomains in the dimer. *EMBO J.* 1992; 11: 4119–4129.
17. Kaisaki P.J., Menzel S., Lindner T. i wsp.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  gene in MODY and early-onset NIDDM: evidence for a mutational hotspot in exon 4. *Diabetes* 1997; 46: 528–535.
18. Glucksmann M.A., Lehto M., Tayber O. i wsp.: Novel mutations and a mutational hotspot in the MODY 3 gene. *Diabetes* 1997; 46: 1081–1086.
19. Iwasaki N., Oda N., Ogata M. i wsp.: Mutations in the hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$ /MODY 3 gene in Japanese subjects with early- and late-onset NIDDM. *Diabetes* 1997; 46: 1504–1508.
20. Vaxillaire M., Rouard M., Yamagata K. i wsp.: Identification of nine novel mutations in the hepatocyte nuclear factor 1 alpha gene associated with maturity-onset diabetes of the young (MODY 3). *Hum. Mol. Genet.* 1997; 6: 583–586.
21. Yamada S., Nishigori H., Onda H. i wsp.: Identification of mutations in hepatocyte nuclear factor (HNF)-1 $\alpha$  gene in Japanese subjects with IDDM. *Diabetes* 1997; 46: 1643–1647.
22. Ellard S.: Hepatocyte nuclear factor 1 alpha (HNF-1 $\alpha$ ) mutations in maturity-onset diabetes of the young. *Hum. Mutat.* 2000; 16: 377–385.
23. Doria A., Yang Y., Malecki M. i wsp.: Phenotypic characteristics of early-onset autosomal-dominant type 2 diabetes unlinked to known maturity-onset diabetes of the young (MODY) genes. *Diabetes Care* 1999; 22: 253–261.
24. Frayling T.M., Evans J.C., Bulman M.P. i wsp.:  $\beta$ -cell genes and diabetes: molecular and clinical characterization of mutations in transcription factors. *Diabetes* 2001; 50 (supl. 1): S94–S100.
25. Pearson E.R., Velho G., Clark P. i wsp.:  $\beta$ -cell genes and diabetes: quantitative and qualitative differences in the pathophysiology of hepatic nuclear factor-1 $\alpha$  and glucokinase mutations. *Diabetes* 2001; 50 (supl. 1): S101–S107.
26. Dipple K.M., McCabe R.B.: Phenotypes of patients with “simple” Mendelian disorders are complex traits: thresholds, modifiers, and systems dynamics. *Am. J. Hum. Genet.* 2000; 66: 1729–1735.
27. Weatherall D.J.: Phenotype-genotype relationship in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nature Rev.* 2001; 2: 245–255.
28. Ji L., Malecki M., Warram J.H., Yang Y., Rich S.S., Krolewski A.S.: New susceptibility locus for NIDDM is localized to human chromosome 20q. *Diabetes* 1997; 46: 876–881.
29. Malecki M.T., Yang Y., Antonellis A., Curtis S., Warram J.H., Krolewski A.S.: Identification of new mutations in the hepatocyte nuclear factor 4 alpha gene among families with early onset type 2 diabetes mellitus. *Diabet. Med.* 1999; 16: 193–200.
30. Klupa T., Malecki M.T., Pezolesi M. i wsp.: Further evidence for a susceptibility locus for type 2 diabetes on chromosome 20q13.1–q13.2. *Diabetes* 2000; 49: 2212–2216.
31. Kadish A.H., Little R.L., Sternberg J.C.: A new and rapid method for determination of glucose by measurement of rate oxygen consumption. *Clin. Chem.* 1968; 144: 116–121.
32. Hanson R., Hanson R.L., Pratley R.I. i wsp.: Evaluation of simple indices of insulin sensitivity and insulin secretion for use in epidemiologic studies. *Am. J. Epidemiol.* 2000; 151: 190–198.
33. Grubin C.E., Daniels T., Toivola B. i wsp.: A novel radioligand binding assay to determine diagnostic accuracy of isoform-specific glutamic acid decarboxylase antibodies in childhood IDDM. *Diabetologia* 1994; 37: 344–350.
34. Christie M.R., Vohra G., Champagne D., Delovitch T.L.: Distinct antibody specificities to a 64-kD islet cell antigen in type I diabetes as revealed by trypsin treatment. *J. Exp. Med.* 1990; 172: 789–794.
35. Bennett P.H.: Definition, diagnosis, and classification of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance. W: Kahn C.R., Weir G.C. (red.). *Joslin’s Diabetes Mellitus*. Wyd. 13. Philadelphia, Lea and Febiger, 1994; 193–200.
36. Peters A.L., Davidson M.B., Schriger D.L., Hasselblad V.: A clinical approach for the diagnosis of diabetes mellitus: an analysis using glycosylated hemoglobin levels: Meta-Analysis Research Group on the Diagnosis of Diabetes Using Glycated Hemoglobin Levels. *JAMA* 1996; 276: 1246–1252.
37. Ellard S., Bulman M.P., Frayling T.M. i wsp.: Allelic drop-out in exon 2 of the hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  gene hinders the identification of mutations in families with maturity-onset diabetes of the young. *Diabetes* 1999; 48: 921–923.
38. Almasy L., Blangero J.: Multipoint quantitative-trait linkage analysis in general pedigrees. *Am. J. Hum. Genet.* 1998; 62: 1198–1211.
39. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1183–1197.
40. Yamagata K., Yang Q., Yamamoto K. i wsp.: Mutation P291fsinsC in the transcription factor hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  is dominant negative. *Diabetes* 1998; 47: 1231–1235.
41. Vaxillaire M., Abderrahmani A., Boutin P. i wsp.: Anatomy of a homeoprotein revealed by the analysis of human MODY 3 mutations. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 35 639–35 646.
42. Alcolado J.C., Alcolado R.: Importance of maternal history of non-insulin dependent diabetic patients. *BMJ* 1991; 302: 1178–1180.
43. Mitchell B.D., Valdez R., Hazuda H.P., Haffner S.M., Monterrosa A., Stern M.P.: Differences in the prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance according to maternal or paternal history of diabetes. *Diabetes Care* 1993; 16: 1262–1267.
44. Thomas F., Balkau B., Vauzelle-Kervroedan F., Papoz L.: Maternal effect and familial aggregation in NIDDM: the CODIAB Study CODIAB-INSERM-ZENECA Study Group. *Diabetes* 1994; 43: 63–67.
45. Young C.A., Kumar S., Young M.J., Boulton A.J.: Excess maternal history of diabetes in Caucasian and Afro-origin non-insulin-dependent diabetic patients suggests dominant maternal factors in disease transmission. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1995; 28: 47–49.
46. Meigs J.B., Cupples L.A., Wilson P.W.: Parental transmission of type 2 diabetes: the Framingham Offspring Study. *Diabetes* 2000; 49: 2201–2207.
47. Weijnen C.F., Rich S.S., Meigs J.B., Krolewski A.S., Warram J.H.: Risk of diabetes in siblings of index cases with type 2 diabetes: implications for genetic studies. *Diabet. Med.* 2001; 19: 41–50.
48. Dabelea D., Hanson R.L., Lindsay R.S. i wsp.: Intrauterine exposure to diabetes conveys risks for type 2 diabetes and obesity: a study of discordant sibships. *Diabetes* 2000; 49: 2208–2211.
49. el-Hashimy M., Angelico M.C., Martin B.C., Krolewski A.S., Warram J.H.: Factors modifying the risk of IDDM in offspring of an IDDM parent. *Diabetes* 1995; 44: 295–299.
50. Fowden A.L., Hill D.J.: Intra-uterine programming of the endocrine pancreas. *Br. Med. Bull.* 2001; 60: 123–142.
51. Van Assche F.A., Holemans K., Aerrts L.: Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. *Br. Med. Bull.* 2001; 60: 173–182.
52. Kahn C.R., Bruning J.C., Michael M.D., Kulkarni R.N.: Knockout mice challenge our concepts of glucose homeostasis and the pathogenesis of diabetes mellitus. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2000; 13 (supl. 6): 1377–1384.

