

Mitokondriel diabetes med fokus på maternally inherited diabetes and deafness

Reservelæge Anja Lisbeth Frederiksen, lektor Kirsten Ohm Kyvik & overlæge Per Heden Andersen

Sydvestjysk Sygehus, Esbjerg, Medicinsk Center, Endokrinologisk Afdeling, og Syddansk Universitet, Institut for Sundhedstjenesteforskning, Epidemiologi

Resumé

I denne artikel beskrives aktuel viden om diabetes forårsaget af mutationer i det mitokondrielle DNA med fokus på den hyppigst forekommende: punktmutationen mtDNA A3243G, tRNA, Leu (UUR), der bl.a. kan give syndromet *maternally inherited diabetes and deafness* (MIDD). Klinisk er MIDD kendetegnet ved maternel arvegang, udvikling af perceptivt høretab og diabetes med en progressiv insulinsekretionsdefekt samt store forskelle i den fænotypiske præsentation. I udenlandske studier angives MIDD at udgøre 0,5-2,8% af alle diabetestilfælde. Patienterne synes initialt at have en svækkelse af glukoseinduceret insulinsekretion frem for en insulinresistens, dog er den tilgrundliggende patofysiologi kompleks og kun delvis beskrevet. Diabetespatienter med hørenedsættelse og/eller maternel disposition for samme kan eventuelt screenes for mutationen. Hvorvidt MIDD-patienter får særlige senkomplikationer eller i øvrigt skal behandles efter andre retninglinjer, er på nuværende tidspunkt uvist.

Diabetes mellitus forårsages oftest af et samspil mellem arv og miljø. Det skønnes, at 2-5% af alle tilfælde er monogent arvelige [1], f.eks. *maturity onset diabetes of the young* (MODY).

Såvel mutationer i det nukleare DNA (nDNA) som det mitokondrielle DNA (mtDNA) kan føre til syndromer, hvor diabetes indgår som komorbiditet. Det sidste benævnes mitokondriel diabetes [2]. De enkelte syndromer er sjældne, og de-

res prævalens er ukendt. Som gruppe er de dog interessante, idet de som modeller kan bidrage med ny indsigt i den diabeteske patofysiologi.

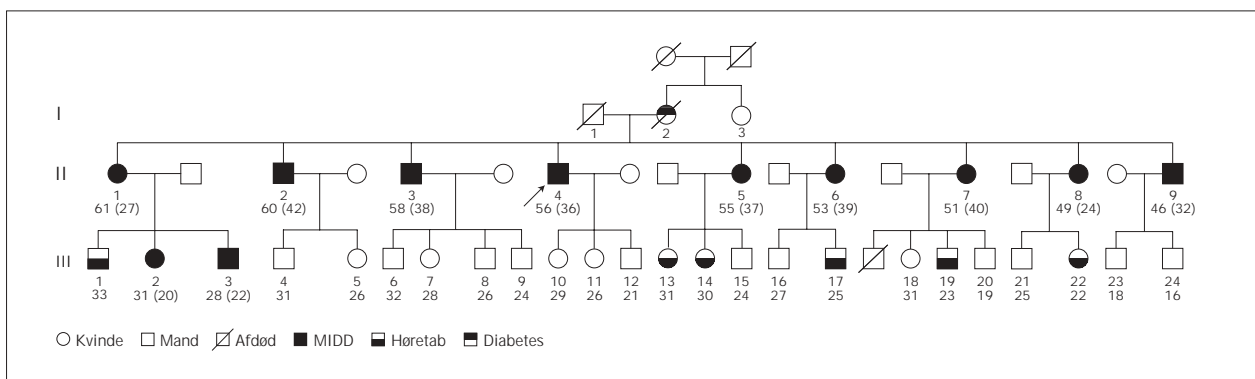
Formålet med artiklen er at beskrive den nuværende viden om diabetes forårsaget af mutationer i det mitokondrielle genom, med fokus på den hyppigste mutation: punktmutationen A3243G tRNA, Leu (UUR), hvor diabetes kan være et dominerende symptom. Denne mutation blev første gang påvist hos patienter med syndromet: *mitochondrial encephalo-myopati, lacto-acidosis and stroke-like episodes* (MELAS) i 1990. I 1992 fandt *van den Ouweland*, at mutationen var relateret til diabetes og hørenedsættelse: *maternally inherited diabetes and deafness* (MIDD) [3] (Figur 1).

Baggrund

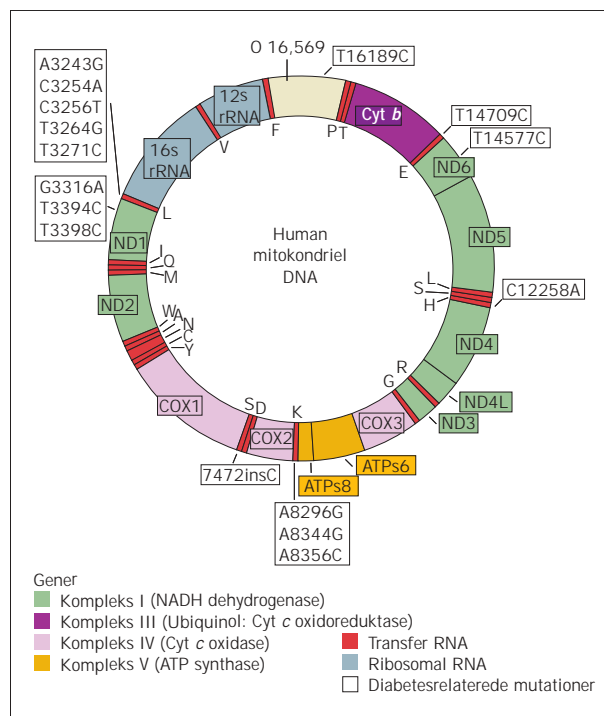
Mitokondrier er intracellulære organeller med en række karakteristiske kendetegn: De har eget genom, mtDNA: en lukket cirkulær dobbeltstrenget struktur bestående af 16.569 basepar, der koder for 13 polypeptider i respirationskæden, to ribosomal RNA (rRNA) og 22 transfer RNA (tRNA) (Figur 2).

Strukturen indeholder ingen introns og har en lav rekombinationsrate, men en høj mutationsrate pga. svage DNA-reparationsmekanismer, hvilket fører til udvikling af en høj grad af polymorfisme i genomet. Det er dog ofte neutrale polymorfier [5].

Mitokondrier har flere metaboliske funktioner, bl.a. oxidativ fosforylering via respirationskæden, hvorved der produceres energi: adenosintrifosfat (ATP). Mutationer i mtDNA vil kunne medføre påvirkning af en eller flere af mitokondriernes funktioner. Hvert mitokondrie indeholder 2-10 eksemplarer af mtDNA, og hver celle indeholder hundreder til tusinder af mitokondrier. Hver enkelt celle kan dermed have adskillige tusinde eksemplarer af det mitokondrielle genom.



Figur 1. Stamtræ over en hollandsk familie med *maternally inherited diabetes and deafness* [3].



Figur 2. Human mitokondrielt genom med diabetesrelaterede mutationer [4].

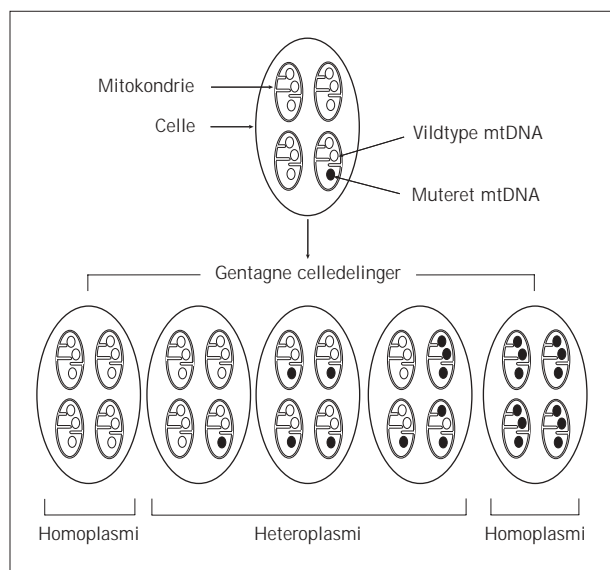
Arvegang og patogenese

Indtil for ganske nylig har man betragtet det mitokondrielle genom, og dermed mitokondrielt nedarvede lidelser, som praktisk talt udelukkende maternelt nedarvet. *M. Schwartz et al* [6] har i et nyere arbejde imidlertid påvist, at en mtDNA-deletion under endnu ukendte omstændigheder også kan nedarves paternelt.

Hvis der opstår mutationer i somatiske cellers mtDNA afficerer initialt kun én kopi af mtDNA. Ved mitotisk replikation og celledelinger fordeles mitokondrier med muteret og vildtype mtDNA tilsyneladende vilkårligt i dattercellerne, når cytoplasmaet deles. Den intracellulære ratio mellem muteret og vildtype mtDNA vil for nonpatogene mutationer efter adskillige celledelinger forskydes mod enten udelukkende muteret eller vildtype mtDNA: homoplasm.

Celler med patogene mutationer har derimod oftest intracellulær sameksistens af både patogent muteret og vildtype mtDNA i varierende ratioer. Dette begreb kaldes heteroplasm (Figur 3).

For patogene mtDNA-mutationer kan der forekomme store variationer i heteroplasmigraden såvel imellem forskellige vævstyper (f.eks. hjerne, muskel og leukocytter) som mellem individuelle celler i en vævstype [8]. I mtDNA kan der opstå punktmutationer, deletioner og duplikationer, og der kendes i dag over 100 forskellige mutationer. Mutationerne forårsager især symptomer fra væv med stor metabolisk aktivitet (muskel, hjerne, myokardie, nyre og pancreas) og er relateret til et bredt spektrum af kliniske symptomer. De hyppigst forekommende er: varierende grader af myopati, *exerci-*



Figur 3. Mitotisk segregation. Replikativ segregation fra heteroplasmiske celler med normal (vildtype) (åbne cirkler) og mutant (sorte cirkler) mtDNA. Kommende celledelinger kan have varierende mængde af henholdsvis vildtype og mutant mtDNA [7].

cise-intolerans [9], neurologiske symptomer, kardiomyopati, optisk retinopati, optalmoplegi, renal dysfunktion, diabetes mellitus og hørenedsættelse med store individuelle variationer i den enkelte mutations og i det enkelte syndroms fænotypiske præsentation. Disse fænotypiske forskelle forklares delvist ved variationer i heteroplasmisitetsgrad i de individuelle celler og væv. Symptombigende organer/væv har således ofte høj heteroplasmicitetsgrad, dvs. stor procentdel muteret mtDNA, f.eks. i β -cellerne i pancreas hos diabetespatienterne. Visse mutationer har tilsyneladende en »grænseværdi« for den »tilladelige« mængde af muteret mtDNA i den enkelte celle/det enkelte væv. Overstiges denne værdi, påvirkes bl.a. de mtDNA-kodede komplekser i respirationskæden, hvilket bl.a. resulterer i reduceret ilt (O_2)-optagelse samt reduceret oxidativ fosforylering med reduceret ATP-produktion til følge [10].

Prævalens

I udenlandske undersøgelser er det estimeret, at A3243G-mutationen forekommer hos 0,5-2,8% af diabetikere afhængigt af de kliniske kriterier, ud fra hvilke patienterne selekteres [11-15]. I et finsk epidemiologisk studie af 245.201 personer er bærerfrekvensen estimeret til >16,3 pr. 100.000 i den voksne population [16]. Ved haplotypeundersøgelser fandtes ni forskellige genotyper, hvilket indikerer, at der vedvarende opstår de novo-mutationer af A3243G.

Klinisk/fænotypisk præsentation

A3243G-mutationens kliniske spektrum er bredt: fra asymptomatiske bærere til svært invaliderede individer med symptomer fra mange organsystemer. Der kan være udtalte fænotypiske variationer både mellem generationer og individer i

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

- Mutationer i mtDNA kan føre til syndromer, hvor diabetes indgår som komorbiditet.
- Den hyppigst forekommende mutation er A3243G tRNA(Leu,UUR), der nedarves fra moderen og som bl.a. kan give *maternally inherited diabetes and deafness* (MIDD).
- MIDD udgør 0,5-2,8 % af diabetestilfældene.
- Patienter med MIDD får en progressiv insulinsekretionsdefekt, men har ofte normal insulinsensitivitet.
- Den fænotypiske præsentation er meget varierende med symptomer fra bl.a. hjerne, muskler, endokrine kirtler, nyre og hjerte.

samme søskendeflok. Fænomenet kan delvist forklares ved, at der under oogenesis sker et tilfældigt genetisk skift med vilkårlig fordeling af mængden af muteret/vildtype mtDNA i de modne oocytter. En undersøgelse af procentfordelingen af muteret mtDNA i 82 primære oocytter hos en asymptomatisk A3243G mtDNA-positiv kvinde viste en binomial fordeling med mutationsfraktion fra 0% til 45% [17].

For patienter, der »kun« har MIDD, er debuttidspunkt og sværhedsgrad af symptomerne varierende. Ligeledes er der ikke fuld penitans for kombinationen af diabetes og døvhed. Generelt udvikler MIDD-patienter initialt ofte et bilateralt perceptivt høretab for de høje frekvenser. Hørenedsættelsen synes at være progressiv med et tab på 1,5-7,9 Hz pr. år [18] og kan debutere allerede i barndommen, mens diabetes ofte udvikles i 20-40-års-alderen. Patienterne har lavt/normalt *body mass index* (BMI) og er oftest Ø-celle- og glutaminsyre decarboxylase-antistof (GAD antistof)-negative. Insulinresistens er kun sjældent beskrevet [19]. De fleste kan initialt behandles med perorale antidiabetika, men grundet en progredierende insulinsekretionsdefekt [20] bliver mange insulinkrævende. Fænomenet synes at være uafhængig af HLA-DQ-fænotypen [21]. Således ligger der næppe en autoimmun reaktion til grund for denne progressive insulinsekretionsdefekt.

Insulinsekretionen er søgt karakteriseret i flere undersøgelser. Der er påvist et svækket/ophævet *first-phase*-insulinrespons ved intravenøs (i.v.) glukosetoleranstest, hvorimod der findes normalt insulinrespons ved i.v. arginestimulering [22]. Dette tyder på, at udviklingen af hyperglykæmi hos MIDD-patienter initialt skyldes en primær svækkelse i glukoseinduceret insulinsekretion [23] muligvis som følge af reduceret mitokondriel ATP-produktion og/eller reduktion i ADP/ATP-oscillationerne [24, 25].

For nuværende foreligger der ingen større undersøgelser af hyppigheden og sværhedsgraden af de sendiabetiske komplikationer hos denne gruppe patienter. Sammenlignet med type 1- og type 2-diabetikere synes MIDD-patienter at have en lavere prævalens og sværhedsgrad af diabetisk retinopati muligvis pga. en relativt god glykæmisk kontrol [26]. Derimod har patienterne i flere arbejder fået påvist den forholdsvis

Table 1. Oversigt over mitokondrielle DNA-punktmutationer, der er relateret til diabetes mellitus [25].

Mutation	Fundet i enkelt (s) eller flere slægtninge (m) som hetero (het) eller homoplasmatisk (hom) mutation	Diabetes som dominerende (+) eller mindre (-) dominerende symptom
A3243G, tRNA(Leu,UUR)	m, het	+
C3554A, tRNA(Leu,UUR)	s, het	+
C3256T, tRNA(Leu,UUR)	s, het	+
T3264G, tRNA(Leu,UUR)	s, het	+
T3271C, tRNA(Leu,UUR)	m, het	-
G3316A, ND1	m, hom	-
T3394C, NADHdehydr	m, hom	+
T3398C, NADHdehydr	m, het	+
7472insertC, tRNA (Ser,AGY)	m, het	-
A8296G, tRNA(Lys)	m, het	+
A8344G, TRNA(Lys)	m, het	-
T8356C, tRNA(Lys)	m, het	-
C12258A, tRNA (Ser,AGY)	s, het	-
T14577C	s, het	+
T14709C, tRNA(Glu)	m, het	-
T16189C, hypervariabel region	m, het	- ^a

a) Relateret til insulinresistens.

sjældne asymptomatiske *macular pattern*-dystrofi med varierende grader af pigmenterede aflejringer i øjets macula [27].

Enkelte MIDD-patienter får et Alport-lignende syndrom med en ikkediabetisk nefropati. Dog har de hverken den obligate hæmaturi eller histologiske nyreparenkymforandringer forenelig med Alports syndrom [28]. Elektronmikroskopiske undersøgelser af nyrebiopsier fra disse patienter har vist fokal segmental glomerulosklerose.

Øvrige mitokondrielle mutationstyper relateret til diabetes

Deletioner og duplikationer i mtDNA kan ligeledes være relateret til diabetes og hørenedsættelse og derved klinisk ligne MIDD. En enkelt familie er beskrevet med en nedarvet 10,4 kb deletion, hvor de dominerende symptomer var diabetes og hørenedsættelse [29].

Wolframs syndrom, karakteriseret af diabetes insipidus, diabetes mellitus, optisk atrofi og døvhed (DIDMOAD), er oftest en autosomal recessiv lidelse forårsaget af mutation på kromosom 4p16, men kan ligeledes forårsages af mtDNA-arrangement [30]. Herudover har man kendskab til en række punktmutationer i mtDNA, der er relateret til DM (**Table 1**). På nuværende tidspunkt er de fleste beskrivelser kasuistiske, og der foreligger ikke større epidemiologiske undersøgelser af disse.

Hvem bør undersøges for mitokondriel diabetes?

De brogede fænotypiske præsentationer mht. symptomdebut, sværhedsgrad og øvrige komorbiditeter, der kan dominere det kliniske billede, vanskeliggør identifikationen af disse patienter.

Hos diabetespatienter med hørenedsættelse vil maternal disposition for diabetes og/eller hørenedsættelse styrke formodningen om MIDD. Det kan derfor overvejes at udrede disse patienter for A3243G-mutationen. En afficeret moder vil

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

videreføre mutationen til næsten alle sine børn, og af disse vil op mod 60% få diabetes inden de bliver 70 år [31]. Mitokondrielle mutationsundersøgelser foretages på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet, København.

Perspektiver

Der foreligger endnu ikke langtidsstudier af patientgruppen, og der er en lang række uafklarede spørgsmål, hvad angår karakterisering af diabetes' patofysiologi, udvikling af senkomplikationer og andre mutationsrelaterede symptomer. Hvorvidt mitokondriel diabetes skal behandles efter særlige strategier er ligeledes uvist. Enkelte mindre undersøgelser indikerer, at behandling af MIDD-patienter med antioksidanten ubiquinone, coenzym Q10 muligvis kan bedre insulinsekretionen, vurderet ud fra C-peptid-sekretion, og hæmme udviklingen af hørenedsættelse [32].

Efterhånden som vor viden om de genetiske forhold ved diabetes bliver større, vil vi formentlig kunne forbedre forebyggelse og målrettede behandlingstilbud til den enkelte diabetesstype. Man bør dog være opmærksom på de etiske problemstillinger, som genundersøgelser altid vil afføde. Netop for mitokondriel diabetes er det på nuværende tidspunkt ikke muligt at forudsige, hvorledes de forskellige fænotypiske symptombilleder vil udvikles hos den enkelte patient.

Korrespondance: Anja L. Frederiksen, Endokrinologisk Afdeling, Medicinsk Center, Esbjerg Centralsygehus, DK-6700 Esbjerg. E-mail: alfr@ribeamt.dk

Antaget: 10. marts 2004
Interessekonflikter: Ingen angivet

Ovenstående artikel bygger på en større litteraturgennemgang end litteraturlistens 32 numre. En fuldstændig litteraturliste kan fås ved henvendelse til forfatterne.

Litteratur

1. Velho G, Froguel P. Genetic, metabolic and clinical characteristics of maturity onset diabetes of the young. *Eur J Endocrin* 1998;138:233-9.
2. Gerbitz KD, van den Ouweland JMW, Maassen JA et al. Mitochondrial diabetes mellitus: a review. *Biochem Biophys Acta* 1995;1281:253-60.
3. Van den Ouweland JMW, Lemkes HHPJ, Ruitenbeek W et al. Mutation in mitochondrial tRNA_{Leu(UUR)} gene in a large pedigree with maternally transmitted type II diabetes and deafness. *Nat Genet* 1992;1:368-71.
4. Maechler P, Wollheim CB. Mitochondrial function in normal and diabetic beta-cells. *Nature* 2001;414:807.
5. Wallace DC. Mitochondrial DNA sequence variation in human evolution and disease. *Proceed Nat Acad Science* 1994;91:8739-46.
6. Schwartz M, Vissing J. Paternal inheritance of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 2002;347:576-80.
7. Rötig A, Bonnefont JP, Munnich A. Mitochondrial diabetes mellitus. *Diabetes Metab* 1996;22:291-8.
8. Macmillan MC, Lach MB, Shoubrigde PEA. Variable distribution of mutant mitochondrial DNAs (tRNA_{Leu[3243]}) in tissues of symptomatic relatives with MELAS: the role of mitotic segregation. *Neurology* 1993;43:1586-90.
9. Vissing J, Hill GS, Haller RG. Exercise fuel mobilization in mitochondrial myopathy: a metabolic dilemma. *Ann Neurol* 1996;40:655-62.
10. Van den Ouweland JMW, Maechler P, Wollheim CB et al. Functional and morphological abnormalities of mitochondria harbouring the tRNA_{Leu(UUR)} mutation in mitochondrial DNA derived from patients with maternally inherited diabetes and deafness (MIDD) and progressive kidney disease. *Diabetologia* 1999;42:485-92.
11. Saker PJ, Hattersley AT, Barrow B et al. UKPDS 21: low prevalence of the mitochondrial transfer RNA gene (tRNA_{Leu(UUR)}) mutation at position 3243bp in UK Caucasian type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 1997;14:42-5.
12. Newkirk JE, Taylor RW, Howell N et al. Maternally inherited diabetes and deafness: prevalence in a hospital diabetic population. *Diabet Med* 1997;14:457-60.
13. Lehto M, Wipemo C, Ivarsson SA et al. High frequency of mutations in MODY and mitochondrial genes in Scandinavian patients with familial early-onset diabetes. *Diabetologia* 1999;42:1131-7.
14. Holmes-Walker DJ. Prevalence of maternally inherited diabetes and deafness in Australian diabetic subjects. *Diabetologia* 1999;42:1028-9.
15. Ng MCY, Yeung VTF, Chow CC et al. Mitochondrial DNA A3243G mutation in patients with early- or late-onset type 2 diabetes mellitus in Hong Kong Chinese. *Clin Endocrin* 2000;52:557-64.
16. Majamaa K, Moilanen JS, Uimonen S et al. Epidemiology of A3243G, the mutation for mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes: prevalence of the mutation in an adult population. *Am J Hum Genet* 1998;63:447-54.
17. Brown DT, Samuels DC, Michael EM et al. Random genetic drift determines the level of mutant mtDNA in human primary oocytes. *Am J Hum Genet* 2001;68:533-6.
18. Yamasoba T, Oka Y, Tsukuda K et al. Auditory findings in patients with maternally inherited diabetes and deafness harboring a point mutation in the mitochondrial transfer RNA_{Leu(UUR)} gene. *Laryngoscope* 1996;106:49-53.
19. Gebhart SS, Shoffner JM, Koontz D et al. Insulin resistance associated with maternally inherited diabetes and deafness. *Metabolism* 1996;45:526-31.
20. Velho G, Byrne MM, Clement K et al. Clinical phenotypes, insulin secretion, and insulin sensitivity in kindreds with maternally inherited diabetes and deafness due to mitochondrial tRNA_{Leu(UUR)} gene mutation. *Diabetes* 1995;45:478-87.
21. Van Essen EHR, Roep BO, Hart LM et al. HLA-DQ polymorphism and degree of heteroplasmy of the A3243G mitochondrial DNA mutation in maternally inherited diabetes and deafness. *Diabet Med* 2000;17:841-7.
22. Brändle MM, Lehmann MR, Maly PFE et al. Diminished insulin secretory response to glucose but normal insulin and glucagon secretory responses to arginine in a family with maternally inherited diabetes and deafness caused by mitochondrial tRNA_{Leu(UUR)} gene mutation. *Diabet Care* 2001;24:1253-8.
23. Becker R, Laube H, Linn T et al. Insulin resistance in patients with the mitochondrial tRNA_{Leu(UUR)} gene mutation at position 3243. *Exp Clin Endocrin Diabet* 2002;110:291-7.
24. Holmes-Walker DJ, Ward GM, Boyages SC. Insulin secretion and insulin sensitivity are normal in non-diabetic subjects from maternal inheritance diabetes and deafness families. *Diabet Med* 2001;18:381-7.
25. Maassen JA, Janssen GMC, Lemkes HHJP. Mitochondrial diabetes mellitus. *J Endocrin Invest* 2002;25:477-84.
26. Holmes-Walker DJ, Mitchell P, Boyages SC. Does mitochondrial genome mutation in subjects with maternally inherited diabetes and deafness decrease severity of diabetic retinopathy. *Diabet Med* 1998;15:946-52.
27. Massin MP, Virally-Monod MM, Vialettes MB et al. Prevalence of macular pattern dystrophy in maternally inherited diabetes and deafness. *Ophthalmology* 1999;106:1821-7.
28. Hotta O, Inogue CN, Miyabayashi S et al. Clinical and pathologic features of focal segmental glomerulosclerosis with mitochondrial tRNA_{Leu(UUR)} gene mutation. *Kidney Int* 2001;59:1236-43.
29. Ballinger SW, Shoffner JM, Hedaya EV et al. Maternally transmitted diabetes and deafness associated with 10.4 kb mitochondrial DNA deletion. *Nat Genet* 1992;1:11-5.
30. Rotig A, Cormier V, Chatelain P et al. Deletion of mitochondrial DNA in a case of early-onset diabetes mellitus, optic atrophy, and deafness (Wolfram syndrome, MIM 222300). *J Clin Invest* 1993;91:1095-8.
31. Maassen JA, Jansen JJ, Kadowaki T et al. The molecular basis and clinical characteristics of maternally inherited diabetes and deafness (MIDD), a recently recognized diabetic subtype. *Exp Clin Endocrin Diabet* 1996;104:205-11.
32. Suzuki HKY, Atsumi Y, Hosokawa K et al. A case of diabetic amyotrophy associated with 3243 mitochondrial tRNA_{Leu(UU)} mutation and successful therapy with coenzyme Q10. *Endocrin J* 1995;42:141-5.