



Etiyolojide Sorumlu Olduğu Bilinen 11 Gende Mutasyon Tespit Edilmemiş Olan MODY Hastalarında Etiyolojide Sorumlu Yeni Genlerin Araştırılması

Aycan Z , Yılmaz AS, Ceylaner G

Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları EAH

Çocuk Endokrinoloji Kliniği

İntergen Genetik Merkezi

Giriş ve Amaç

- **MODY; OD , monogenik diyabet**
- **Klinik, lab ve genetik heterojen**
- **Yeni genler ve mutasyonlar**
- **Tanımlanmamış yeni genler olabilir**

Amaç

**Bu çalışmada MODY için bilinen
genlerde mutasyon tespit
edilemeyen hastalarda yeni
genlerin araştırılması amaçlandı**

Olgular ve Metod

- **Çalışma önceki projemizin devamı**
- **2012 yılı ARGE projemizde klinik ve lab olarak MODY düşünülen 43 hastada 11 gende mutasyon araştırıldı**
- **Yeni jenerasyon dizi analizi kullanıldı**

Olgular ve Metod

MODY Tanı Kriterleri

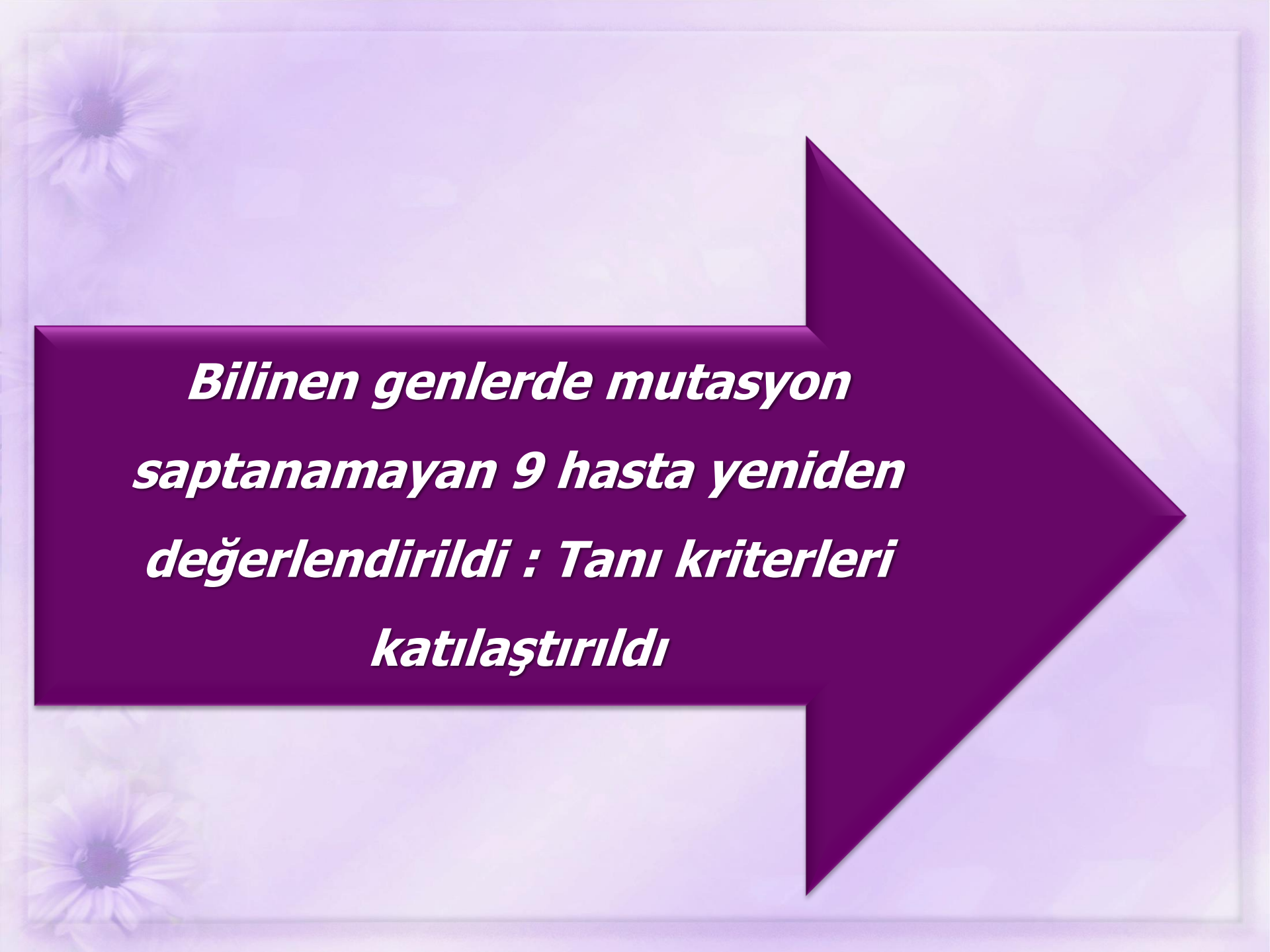
- Klasik Tip1 dm bulguları olmayan
- Klasik Tip2 dm bulguları olmayan
- Ailede ;2-3 kuşakta diyabet
- Adacık Ab negatif
- Tanıda C-peptid düşük olmayan

**HNF4 α , GCK, HNF1 β , HNF1 α , PDx 1, TCF2,
NEUROD1, KLF11, CEL, Pax 4, INS, BLK**

Olgular ve Metod

- **43 hastanın 34'ünde genetik mutasyon bulundu: %80 mut+**

Yılmaz AS, Aycan Z, Çetinkaya S, et al. Maturity onset diabetes of youth(MODY) in Turkish children: sequence analysis of 11 causative genes by next generation sequencing. J Pediatr Endocrinol Metab; 2015



***Bilinen genlerde mutasyon
saptanamayan 9 hasta yeniden
değerlendirildi : Tanı kriterleri
katılaştırıldı***

Olgular ve Metod

MODY Tanı Kriterleri

- **3 kuşakta diyabet**
- **Tüm diyabet otoAb negatif**
- **Tanı;hiperglisemi/ketoz**
- **Serum C-peptid ;N**
- **İdrar Cpeptid /Kr>2,2 nmol/mmol**

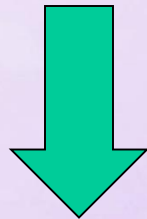
5 OLGU ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLDİ

Olgular ve Metod

Olgu	Tanı Yaşı	3 kuşak dm	VKİSD	Tanı	Tanı HbA1C	3 Ab	C-peptid
BY	20	+	1	RH	7,5	Yok	2,8
ED	11	+	0,6	Ketoz	14	Yok	0,9
MCK	2,5	+	0,9	RH	6,6	Yok	3
ZE	2,5	+	-1	Ketoz	10	Yok	0,9
RA	15,5	+	0,1	RH	13	yok	2,3

Olgular ve Metod

- **11 gende mutasyon bulunmayan
5 olgu**
- **Anne ve babalar**



DNA

**Tüm Exom Sekanslama
(Illumina Nextseq 500 cihazı)**

**Tüm exom sekanslama ile elde edilen veriler
Microsoft excel dosyasına aktarıldı**



Veri Tabanları

HGMD (mutasyon VT)

EXAC veri tabanı

1000 exom

veritabanı

Literatür verileri



Programlar

SIFT

**Mutation
Assessor ve
Polyphen 2**

Mutation tester

Olgular ve Metod

- **Bulunan değişikliklerden anlamlı olduğu tahmin edilenler aile bireylerinde sanger dizi analizi ile belirlendi**
- **Exom sekanslama ile bulunan aday gen ve değişiklikler için bu bölgelere yönelik özel primer tasarımlar yapılarak; hasta, anne, baba ve diyabetli aile bireylerinde bu değişiklik çalışıldı**
- **Exom çalışması sonucunda çıkan varyasyonlar tek tek değerlendirildi ve glukoz metabolizması ve diyabet ile ilişkili olabilecek genler araştırıldı**

TUBİTAK 1001 projesi

Bulgular

- **4 hastada hastalığı açıklayacak değişiklik bulunmadı**

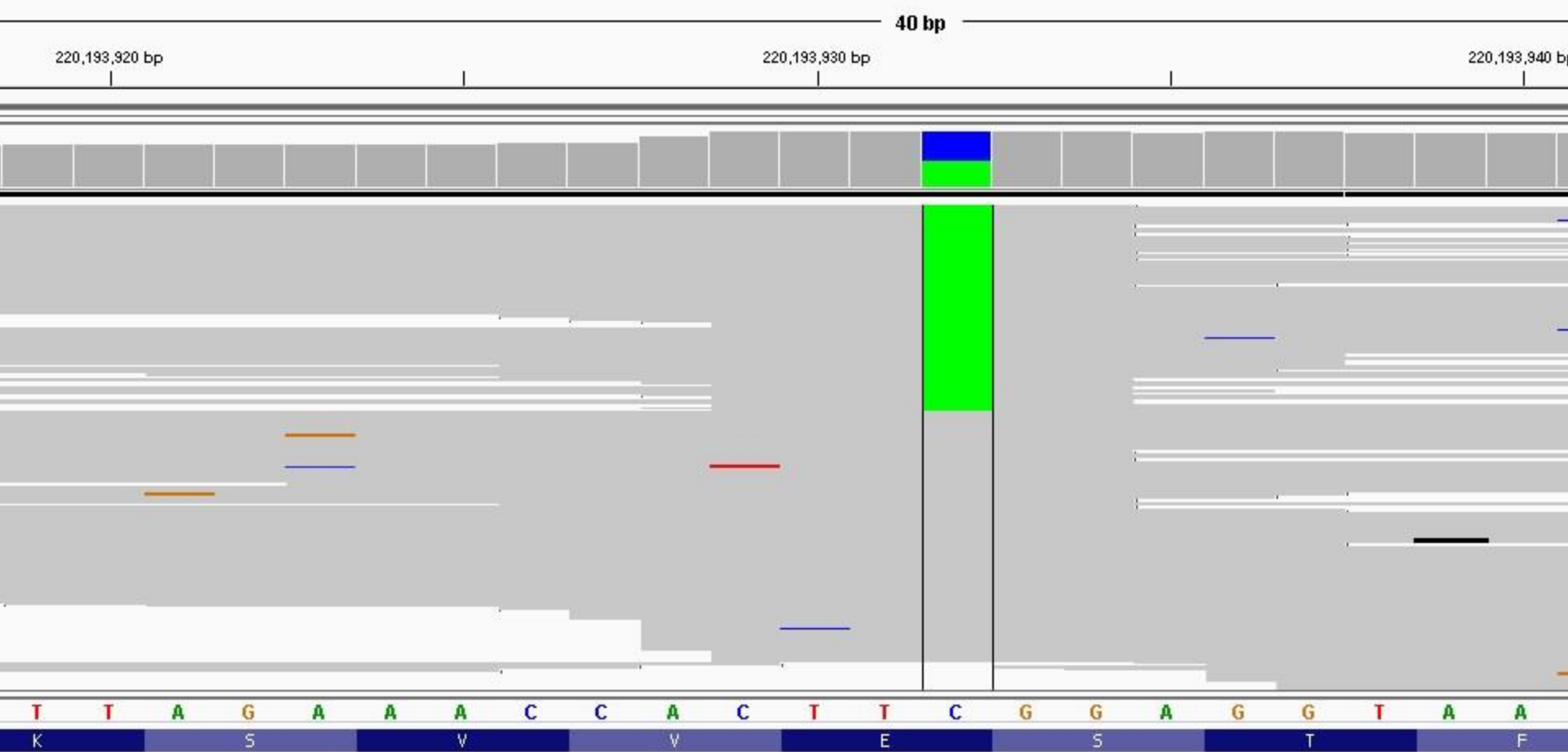
- **1 hastada;**

RESP18 geninde rs183914238 kodu ile dbSNP veri tabanına kayıtlı NM-0010070833:c508G>T(p.Glu170) değişikliği bulundu

Anne, anneanne, teyze; aynı değiş.

Bulgular

- **RESP 18 geni : 7 exon (2q35)
228 aa. oluşmakta**
- **Hastamızda 5. exonda erken stop kodon oluşturan bir değişiklik var**
- **228 aa.lik proteinde 170. aa de stop kodon**



RESP18

RESP18
chr2:220192131-220197899
id = NM_001007089

Exon number: 5
Amino acid coding number: 170
chr2:220193885-220193974

Olgu:RA-Kız

- **Tanı yaşı: 14 yıl**
- **Şikayet; karın ağrısı araştırılırken KŞ: 411mg/dl**
- **1 ay önce evde KŞ:300-400mg/dl**
- **Anne: 33yaş**
- **Teyze:40 yaş**
- **Anneanne: 60 yaşında diyabet tanısı almış/ insülin kullanıyor**

Olgu:RA-FM/Lab

Boy:157 cm(-0,5SD) VA: 50 kg (-,6SD)

Puberte: Evre 5

Sistemik muayene :Normal

Tanı ;

KŞ: 411mg/dl,keton ve asidoz yok

HbA1C: %13

C-peptid: 2,3 ng/ml

Adacık ve GAD Ab:negatif

Çölyak/ hashimato: yok

Olgu:RA- İzlem

- **Tedavi: İnsülin/ 3 ay sülfanilüre**
- **İzlem süresi: 4 yıl**
- **İzlemde HbA1C: %10....12**
- **Tedavi uyumu çok kötü/arasıra insülini kullanmıyor**
- **İzlemde ketoasidoz yok**
- **İzlemde C-peptid: 0,9 –1,6 ng/ml**
- **Komplikasyon: yok**

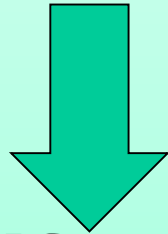
Tartışma

RESP 18 genindeki değişiklik hastalık nedeni mi?

- **RESP 18 özellikle pankreasta exprese olmakta**
- **Kedi, fare, maymun, şempaze gibi diyabet gözlenebilen yüksek canlılarda bu bölge korunmakta**

1990....2000 hayvan çalışmaları

- **RESP18 ilk rat hipofizinde göst.**
- **Pankreas alfa, beta, gama hücrelerinde elde edilmiş**
- **IA-2: tirozin fosfat transmembran proteini**



- **Biyoinformatif çalışmalarda; IA-2 proteininin luminal domaini ile RESP18 proteini ile homolog**

**RESP18, a homolog of the luminal domain IA2, is found in dense core vesicles in pancreatic islet cells and is induced by high glucose.
Zhang G et al. J of Endocrinology-2007**

- **RESP18: genomik yapısı
hücre içi lokalizasyonu
glukoz infüzyonuna yanıt**



DEĞERLENDİRİLDİ

RESP18, a homolog of the luminal domain IA2, is found in dense core vesicles in pancreatic islet cells and is induced by high glucose.

Zhang G et al. J of Endocrinology-2007

- **RESP18 pankreas adacık hücrelerinde exprese olmakta; adacık hücre veziküllerde, ER,golgi**
- **RESP18 ve IA2: 2. krom/35. bölgede ve ortak domainleri kullanıyor: genomik yapıları benzer**
- **Glukoz infüzyonu sonrası RESP18 ekspresyonu 6-10 kat artıyor**

**RESP18, a homolog of the luminal domain IA2, is found in dense core vesicles in pancreatic islet cells and is induced by high glucose.
Zhang G et al. J of Endocrinology-2007**

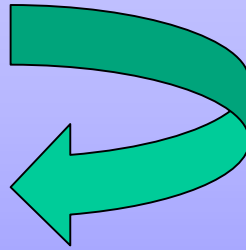
- **RESP18- IA2 ile ilişkili ve evrimsel olarak IA-2 ailesinin bir üyesi olarak ortaya çıkmış olabilir**
- **RESP18 intrasellüler sinyalizasyonda da rol alıyor olabilir**

**Biochemical, biophysical, and functional properties
of ICA512/IA-2 RESP18 homology domain**
Sosa L, et al. Biochim Biophys Acta 2016

- **ICA512/IA-2; tirozin reseptör proteini Beta hücrelerinde exprese edilir ve sekretuar granüllerde lokalizedir; insülinin formasyonu, depolanması ve ekzositozunda görevli**
- **Farelerde ICA512 gen delesyonunda glukoz uyarısına insülin sekresyonunda azalma gösterilmiş**

**Biochemical, biophysical, and functional properties of
ICA512/IA-2 RESP18 homology domain
Sosa L, et al. Biochim Biophys Acta 2016**

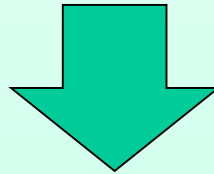
- **ICA512 /RESP 18 humolog domain
delesyonunun hücrelerdeki
işleyişi bozduğu gösterilmiş**



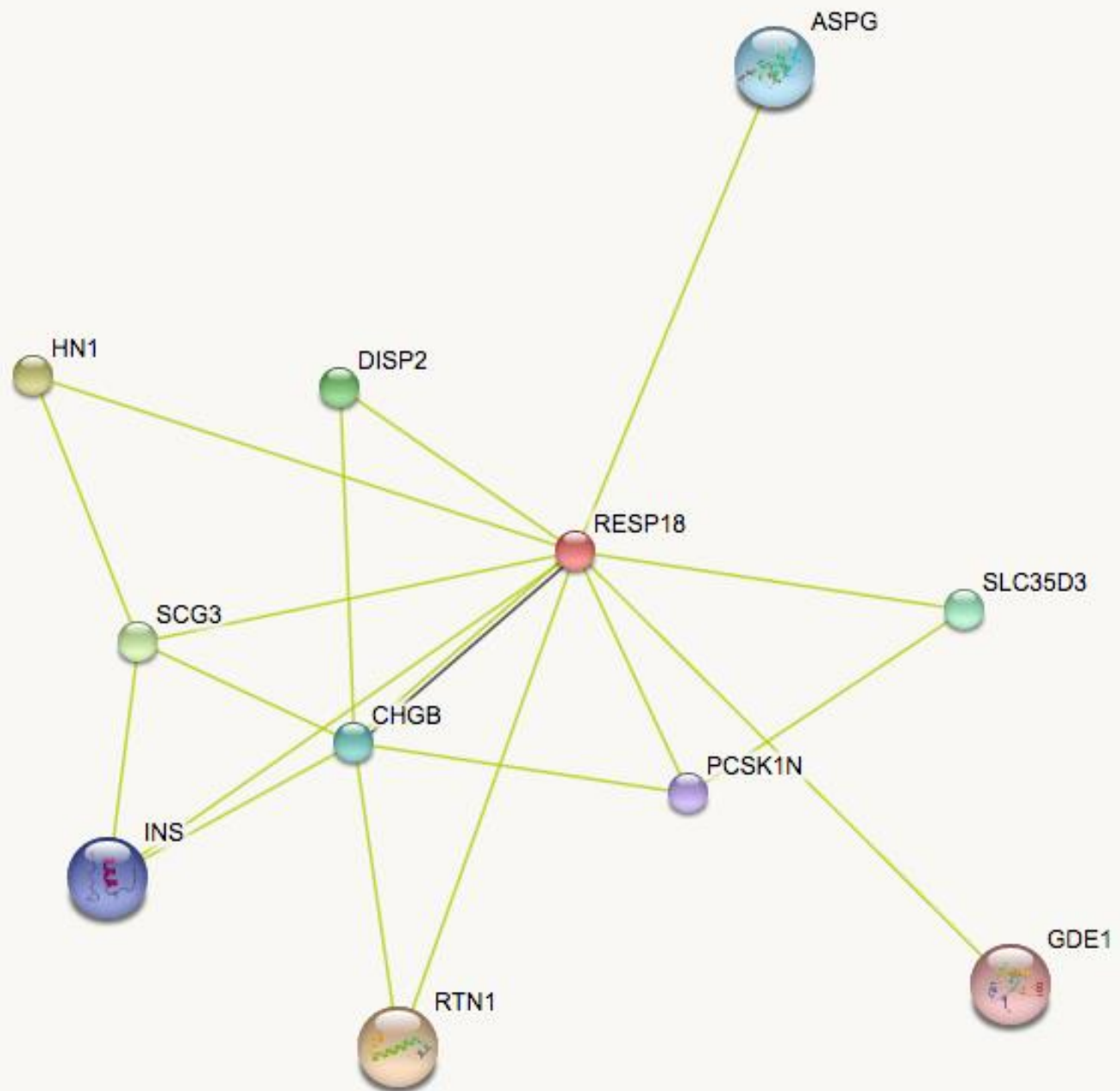
İNSÜLİN YAPIMINDA DÜŞME

RESP 18 genindeki değişiklik hastalık nedeni mi?

- **RESP18c508G>T(p.glu170)
değişikliğin veri tabanındaki toplum
sıklığı 126.000 de 2 kişi ve Kuzey
Asya kökenlilerde bildirilmiş**



**Toplum sıklığı düşük bir değişiklik
Hastalık nedeni olma olasılığı yüksek**



Aday gen?

Resp 18 gen ve mutasyonun özellikleri

Mutation taster skoru	Hastalık nedeni;0,9999999...
Mutasyon türü	Trunkasyon (Erken stop kodon)
Korunmuşluk	Yüksek canlılarda korunan bölge
Protein üzerine etkisi	228 aa lik proteinin 170.stop kodon Mutasyon endokrin fonk ile ilişkili domainde yerleşik
İlişkide olduğu gen ve proteinler	İNS,HNF, Neuroendokrin spesifik protein, amylo1,6 glukosidaz
Toplum sıklığı	Düşük

Sonuç-Öneri

- **Resp18 geni MODY etiyolojisinde yeni bir aday gen olabilir**
- **Kesinlik: Fonksiyon çalışmaları**
- **Bilinen mutasyonların tarandığı hastalar Resp 18 geni; tüm gen dizi analizi ile taranabilir**