

Streszczenie

Wstęp.

Cukrzyca jest grupą chorób metabolicznych o zróżnicowanej etiopatogenezie, których wspólną cechą jest hiperglikemia spowodowana nieprawidłowym wydzielaniem i/lub obwodowym działaniem insuliny. Utrzymujący się podwyższony poziom glikemii prowadzi do przewlekłych mikro- i makroangiopatycznych powikłań cukrzycy. Prawidłowe leczenie pozwala na zmniejszenie ryzyka powikłań. Cukrzyca Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) spowodowana jest mutacją pojedynczego genu i stanowi ok. 1-2% wszystkich przypadków cukrzycy. Mutacje w obrębie trzech genów: HNF1A, GCK, HNF4A odpowiadają za ok. 85% przypadków MODY. Właściwe rozpoznanie MODY potwierdzone badaniem genetycznym pozwala często na wdrożenie celowanego leczenia, początkowo innego niż w najczęstszych formach cukrzycy - cukrzycy typu 2 (T2DM) oraz cukrzycy typu 1 (T1DM). Niestety, większość przypadków MODY jest błędnie rozpoznana jako T1DM lub T2DM i w związku z tym pacjenci z taką formą cukrzycy nie otrzymują optymalnego leczenia. Diagnostyka genetyczna jest kosztowna, a dostępność badań ograniczona, stąd kwalifikowanie do badań genetycznych powinno być bardzo staranne, aby zmaksymalizować odsetek osób, u których badanie genetyczne da wynik pozytywny przy równoczesnym zminimalizowaniu liczby osób z mutacją odpowiedzialną za rozwój cukrzycy, u których diagnostyka genetyczna nie będzie wykonana. Dotychczasowe badania dotyczące biomarkerów diagnostyki różnicowej nie przyniosły oczekiwanych rezultatów i żaden z biomarkerów nie znalazł szerokiego zastosowania w wstępnej diagnostyce i kwalifikowaniu pacjentów do badań genetycznych (np. 1,5-anhydroglucitol, hs-CRP, apolipoproteina M).

Cele pracy.

Ogólnym celem pracy było poszukiwanie nowych narzędzi diagnostyki różnicowej typów cukrzycy, w tym opartej na badaniu genetycznie uwarunkowanej zróżnicowanej odpowiedzi terapeutycznej, u pacjentów z cukrzycą MODY. Cele szczegółowe to: 1) ocena możliwości zastosowania oznaczenia poziomu greliny w diagnostyce różnicowej typów cukrzycy; 2) ocena użyteczności zastosowania MODY Probability Calculator u probantów z rodzin z autosomalnie dominującym modelem dziedziczenia cukrzycy o wczesnym początku; 3) ocena odpowiedzi na pojedynczą dawkę dapagliflozyny u pacjentów z cukrzycą HNF1A-MODY, GCK-MODY i T2DM. Realizacja poszczególnych celów badania stanowiła podstawę do przygotowania trzech artykułów oryginalnych.

Metody i wyniki.

Artykuł 1: Nowak N, Hohendorff J et al. Circulating ghrelin level is higher in HNF1A-MODY and GCK-MODY than in polygenic forms of diabetes mellitus. *Endocrine*. 2015 Dec;50(3):643-9.

Poziom greliny został oceniony w grupie 46 osób z HNF1A-MODY, 31 GCK-MODY, 55 T2DM, 42 T1DM oraz 51 osób bez cukrzycy. Krew do oznaczenia greliny pobierano na czczo. Oznaczenia wykonano metodą immunoenzymatyczną. Wykazano, że średni poziom greliny jest wyższy w HNF1A-MODY i GCK-MODY niż w T1DM i T2DM oraz niższy w HNF1A-MODY i GCK-MODY niż u osób bez cukrzycy. Zdolność dyskryminacyjna poziomu greliny wyrażona polem powierzchni pod krzywą ROC do rozróżnienia między HNF1A-MODY i T1DM wynosi 0,73 (95% CI 0,63-0,84), a GCK-MODY i T1DM 0,77 (95% CI 0,66-0,89), podczas gdy między HNF1A-MODY oraz GCK-MODY i T2DM wynosi odpowiednio 0,70 (95% CI 0,51–0,88) i 0,77 (95% CI 0,58–0,97).

Artykuł 2: Hohendorff J et al. The utility of MODY Probability Calculator in probands of families with early-onset autosomal dominant diabetes from Poland. *Minerva Medica*. 2019 [w druku].

Ocenę użyteczności MODY Probability Calculator u probantów rodzin z autosomalnie dominującym modelem dziedziczenia cukrzycy o wczesnym początku przeprowadzono retrospektywnie w grupie 64 pacjentów z GCK-MODY, 37 HNF1A-MODY, 3 HNF4A-MODY oraz 51 pacjentów, u których badaniem sekwencjonowania nowej generacji (Next-Generation Sequencing, NGS) nie zidentyfikowano mutacji w obrębie 28 genów związanych z cukrzycą monogenową (NGS-Neg). Wartość prawdopodobieństwa MODY (PPV, positive predictive value) obliczono na stronie www.diabetesgenes.org/content/mody-probability-calculator. Wykazano, że wartość PPV była istotnie wyższa w grupie GCK-MODY niż w HNF1A-MODY i NGS-Neg. Nie stwierdzono różnicy w PPV między HNF1A-MODY i NGS-Neg. Zdolność dyskryminacyjna wyrażona polem powierzchni pod krzywą ROC dla PPV do rozróżnienia między MODY i NGS-Neg wyniosła 0,62 (95% CI 0,52-0,71) z odpowiadającą czułością 71,2% i swoistością testu 51,0%.

Artykuł 3: Hohendorff J et al. A single dose of dapagliflozin, an SGLT-2 inhibitor, induces higher glycosuria in GCK- and HNF1A-MODY than in type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 2017 Aug;57(2):272-279.

W badaniu wzięło udział 14 pacjentów z HNF1A-MODY, 19 GCK-MODY oraz 12 T2DM. Jednorazowa pojedyncza poranna dawka 10 mg dapagliflozyny była podawana dodatkowo do stosowanego leczenia. Oceniono zmianę w stosunku glukozy do kreatyniny w porannej próbce moczu (glucose to creatinine ratio, GCR), zmianę w poziomie 1,5-anhydroglucitolu (1,5-AG) w surowicy oraz zmianę w poziomie glikemii na czczo. Materiał do oznaczeń laboratoryjnych pobierano w dniu podania leku oraz dzień po podaniu leku.

Po podaniu dapagliflozyny wskaźnik GCR wzrósł bardziej w grupie osób z HNF1A-MODY i GCK-MODY niż u osób z T2DM. Znaczącą zmianę w poziomie 1,5-AG stwierdzono jedynie w grupie osób z T2DM. Analiza w podgrupach wykazała, że podanie pojedynczej dawki dapagliflozyny skutkowało istotną statystycznie redukcją glikemii na czczo jedynie w grupie GCK-MODY.

Wnioski.

1. Poziom greliny w osoczu jest związany z typem cukrzycy.
2. Zdolność dyskryminacyjna poziomu greliny jest zbyt mała, aby taki test mógł być samodzielnie stosowany w praktyce klinicznej w diagnostyce różnicowej typów cukrzycy.
3. Zastosowanie MODY Probability Calculator u probantów rodzin z autosomalnie dominującym modelem dziedziczenia cukrzycy o wczesnym początku nie poprawiłoby efektywności kwalifikowania pacjentów do badań genetycznych na podstawie kryteriów klinicznych.
4. Potencjalnie poprawa efektywności kwalifikowania do badań genetycznych mogłaby się wiązać z nowym modelem MODY Probability Calculator obejmującym cechy kliniczne oraz równoczesne oznaczenie wielu biomarkerów.
5. Dapagliflozyna wydaje się być skuteczna u pacjentów z GCK-MODY, co mogłoby być wykorzystane w hipoglikemizującej terapii doustnej u części pacjentów z GCK-MODY, którzy wymagają farmakoterapii, niemniej wymaga to potwierdzenia w długotrwałym badaniu klinicznym.
6. Wyniki testu różnicującego typy cukrzycy opartego na zastosowaniu jednorazowej dawki dapagliflozyny są zachęcające, ale należy podchodzić z ostrożnością, co do możliwości jego klinicznego zastosowania.

Abstract

Introduction.

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases of different etiopathogenesis. A common diabetes characteristic is hyperglycemia due to defective secretion and/or action of insulin. Hyperglycemia leads to chronic micro- and macrovascular complications. Proper treatment reduces risk of chronic complications. Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) is a form of diabetes that is caused by single gene mutations and accounts for 1-2% of all diabetes cases. 85% of MODY cases are associated with HNF1A, GCK or HNF4A gene mutations. A proper diagnosis of MODY is crucial to introduce tailored treatment that differs from those applied in most common forms of diabetes - type 2 diabetes (T2DM) and type 1 diabetes (T1DM). Unfortunately, most MODY cases are misdiagnosed as T1DM or T2DM and hence receive suboptimal therapy. Genetic testing is still an expensive procedure and, thus, patient selection for testing should be performed precisely to maximize percentage of patients in whom genetic testing is positive and minimize the number of people with a mutation responsible for diabetes in whom genetic diagnosis will not be performed. Reports on biomarkers in pregenetic diabetes differential diagnosis management were published, however, till now none of these biomarkers are widely used in clinical practice to distinguish between types of diabetes (e.g. 1,5-anhydroglucitol (1,5-AG), hs-CRP, apolipoprotein M).

Aims.

The general objective of the thesis was to search for new tools that could be applied in differential diabetes diagnosis management, including one based on genetically determined therapeutic response in patients with different diabetes types. Specific aims were assessed: 1) ghrelin level as a biomarker in differential diagnosis of types of diabetes; 2) the utility of MODY Probability Calculator in probands of families with early-onset autosomal dominant

diabetes; 3) the response to a single dose of dapagliflozin in patients with HNF1A-MODY, GCK-MODY and T2DM. The specific aims were the basis for the preparation of three original articles.

Methods and results.

Article 1: Nowak N, Hohendorff J et al. Circulating ghrelin level is higher in HNF1A-MODY and GCK-MODY than in polygenic forms of diabetes mellitus. *Endocrine*. 2015 Dec;50(3):643-9.

Ghrelin level was measured in a group of 46 HNF1A-MODY, 31-GCK-MODY, 55 T2DM, 42 T1DM patients and in 51 controls without diabetes. Fasting plasma ghrelin concentration was measured using the immunoenzymatic assay. It was shown that mean circulating ghrelin concentration in HNF1A-MODY and GCK-MODY is higher than in T1DM and T2DM, but lower than in healthy controls. The discriminative accuracy, as expressed by AUROC, of ghrelin between HNF1A-MODY and T1DM was 0,73 (95% CI 0,63-0,84) and between GCK-MODY and T1DM it was 0,77 (95% CI 0,66-0,89), and between HNF1A-MODY and GCK-MODY vs. T2DM it was 0,70 (95% CI 0,51–0,88) and 0,77 (95% CI 0,58–0,97), respectively.

Article 2: Hohendorff J et al. The utility of MODY Probability Calculator in probands of families with early-onset autosomal dominant diabetes from Poland. *Minerva Medica*. 2019 [in press].

Assessment of the utility of MODY Probability Calculator in probands of families with early-onset autosomal dominant diabetes was retrospectively performed in 64 patients with GCK-MODY, 37 with HNF1-MODY, 3 with HNF4A-MODY and in 51 subjects with no mutation found using Next-Generation Sequencing (NGS) method within 28 genes linked to monogenic diabetes (NGS-Neg). Positive predictive value (PPV) was calculated for MODY on the website: www.diabetesgenes.org/content/mody-probability-calculator. It was shown that PPV is

significantly higher in GCK-MODY than in HNF1A-MODY and NGS-Neg. No differences in PPV was found between HNF1A-MODY and NGS-Neg. The discriminative accuracy, as expressed by AUROC, of PPV between MODY and NGS-Neg groups was 0,62 (95% CI 0,52-0,71) with the corresponding sensitivity of 71,2% and specificity of 51,0%.

Article 3: Hohendorff J et al. A single dose of dapagliflozin, an SGLT-2 inhibitor, induces higher glycosuria in GCK- and HNF1A-MODY than in type 2 diabetes mellitus. *Endocrine*. 2017 Aug;57(2):272-279.

The study group consisted of 14 HNF1A-MODY, 19 GCK-MODY and 12 T2DM patients. A single morning dose of 10 mg of dapagliflozin was added to patients' current regimen. To assess the response to dapagliflozin change in urinary glucose to creatinine ratio (GCR), 1,5-AG level and fasting plasma glucose were analyzed. Measurements were performed in the morning of the day of the dapagliflozin administration and in the next morning. After dapagliflozin administration GCR change in HNF1A-MODY and GCK-MODY was higher than in T2DM. Considerable change in 1,5-AG was found only in T2DM. Statistically significant mean FPG reduction was found only in GCK-MODY but not in HNF1A-MODY and T2DM.

Conclusions.

1. Plasma ghrelin level is associated with types of diabetes.
2. The discriminative accuracy of plasma ghrelin level is too low, that such test could be applied alone in clinical practice to distinguish between types of diabetes.
3. In a group of probands that were qualified for genetic testing based on clinical features, the use of MODY Probability Calculator would not substantially improve the patients selection process for genetic testing.

4. Potential improvement in effectiveness in patient selection process for genetic testing could be associated with a new model of MODY Probability Calculator including clinical features and several biomarkers.
5. Dapagliflozin seems to be effective in GCK-MODY and it could be applied in oral hypoglycemic therapy in that portion of GCK-MODY cases that require pharmacological treatment, however it should be confirmed in clinical trial.
6. Dapagliflozin-based test results in distinguishing diabetes types are promising, however one should be cautious with expectations of using the test in routine practice.