

Štúdium spoluúčasti genetických faktorov na diabetickej retinopatii

(Vedecký zámer projektu ŠF ITMS 26240120038 „Centrum výskumu závažných ochorení a ich komplikácií“)

Prof. RNDr. Ľudevít Kádaši, DrSc.

Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity Komenského Bratislava

Jednou z najzávažnejších komplikácií cukrovky (diabetes mellitus, DM) je retinopatia (DR), ktorá po 20 rokoch trvania cukrovky takmer u 100 % pacientov vedie k úplnej strate zraku. Napriek významným vedeckým pokrokom toto ochorenie je stále hlavnou príčinou slepoty a zhoršenia zrakovkej ostrosti v populácii produktívneho veku. Aj keď presná etiopatogenéza DR zatiaľ nie je objasnená, v ostatných rokoch sa nahromadilo veľké množstvo dôkazov o významnej spoluúčasti genetických faktorov na vývine a závažnosti DR. Výsledky doterajších štúdií však ukazujú, že objasnenie a pochopenie ich úlohy ešte vyžaduje mnohé ďalšie extenzívne štúdie. Cieľom nášho projektu je vytvoriť materiálnu, vedomostnú a metodickú infraštruktúru, a tak prispieť k riešeniu tejto problematiky, či už identifikáciou niektorých genetických faktorov, ktoré sa podieľajú na patogenéze DR, alebo identifikáciou genetických markerov, ktoré by umožnili vytypovať jedincov so zvýšenou náchylnosťou na DR ešte v predklinickom štádiu, aby sa u nich mohli aplikovať efektívne preventívne zákroky.

Kľúčové slová: diabetes mellitus, diabetickej retinopatia, genetické faktory, kandidátne gény, celogenómová analýza.

Studying the contribution of genetic factors to the development of diabetic retinopathy

One of the most serious complications of diabetes (diabetes mellitus, DM) is retinopathy (DR), which after 20 years duration of diabetes in nearly 100% of patients leads to complete loss of vision. Despite significant scientific progress, the disease is still the leading cause of blindness and worsening the visual acuity in the population of working age. Although the exact etiology of DR is not yet clarified, in recent years large amount of evidence has accumulated on a significant involvement of genetic factors in development and severity of DR. Results of previous studies show that clarification and understanding of their role still needs many more extensive studies. The aim of our project is to create materials, knowledge and methodological infrastructure and thus contribute to solving this problem, including identification of certain genetic factors involved in the pathogenesis of DR or identification of genetic markers that would allow to identify DM patients with increased susceptibility to DR, still in preclinical stage, which would allow to apply effective preventive interventions.

Key words: diabetes mellitus, diabetic retinopathy, candidates genes, whole genome analysis.

NewsLab, 2015; roč. 2(1): 21–23

Úvod

Jednou z najzávažnejších komplikácií cukrovky (diabetes mellitus, DM) je retinopatia (DR), ktorá po 20 rokoch trvania cukrovky takmer u 100 % pacientov vedie k úplnej strate zraku. Napriek významným vedeckým pokrokom v etiopatogenéze DR, toto ochorenie je stále hlavnou príčinou slepoty a zhoršenia zrakovkej ostrosti v populácii produktívneho veku.

Presná patogenéza DR nie je zatiaľ objasnená, ale sa uvažuje o niekoľkých rizikových faktoroch. Na prvom mieste sa spomína dĺžka trvania cukrovky a jej zlá kompenzácia. Z ďalších vonkajších faktorov, ktoré môžu ovplyvniť vznik a ďalší priebeh diabetickej retinopatie, sú fajčenie, konzumácia alkoholu, vysoký krvný tlak, poruchy v hladinách krvných tukov, hormonálna antikoncepcia.

V ostatných rokoch nazhromaždené výsledky a pozorovania však poukazujú na to, že na vývine DR sa významne podieľajú aj genetické faktory. Tie dôkazy pochádzajú z rôznych zdrojov. Na prvom mieste treba spomenúť, že napriek rovnakému priebehu DM a jeho kompenzácie u časti pacientov sa vyvinie DR a u inej nie. Dokonca aj v prípade jedného z najznámejších

rizikových faktorov DR, čím je dĺžka trvania DM, sa pozorovali významné rozdiely. Niektorí postihnutí ani po mnohých rokoch nekompenzovaného DM nemajú DR, kým u iných už po krátkom čase kompenzovaného DM sa príznaky objavia (1, 2). Jediným vysvetlením tohto pozorovania je odlišné genetické pozadie u DM pacientov (3). Okrem tohto nepriameho dôkazu existuje aj celý rad priamych dôkazov. Na prvom mieste treba spomenúť etnickú príslušnosť, respektíve populačné rozdiely vo výskyte DR u DM pacientov. Napríklad *výrazné rozdiely sa našli u Afroameričanov a Američanov európskeho pôvodu (rozdielne genetické pozadie)*. V prospech genetických faktorov hovorí aj rodinná agregácia DR v diabetickej rodinách, keď riziko u príbuzných DM pacientov s DR sa našla 3-násobne vyššia incidencia DR v porovnaní s rodinami DM pacientov bez DR (The diabetes control and complications trial research group 1997) (30). Aj konkordancia výskytu DR vykazuje zvýšenú hodnotu u monozygotných dvojčiat v porovnaní s dizygotnými. Najpresvedčivejšie dôkazy však pochádzajú priamo z genetických analýz. Napríklad *väzbová analýza odhalila v ľudskom genóme niekoľko lokusov, ktoré vykazovali väzbu s DR, aj keď samotné gény zatiaľ*

neboli identifikované. Ide o nasledovné chromozómy: 1q36, 3, 5, 6, 9, 15, 19 a 20 (3, 4, 5, 6). Tretím zdrojom dôkazov o spoluúčasti genetických faktorov na vývine DR sú asociačné štúdiá, či už celogenómové (7) alebo s variantmi kandidátnych génov (8, 9). Celogenómových asociačných štúdií bolo doteraz uskutočnených len niekoľko. Jedna štúdiá na mexických Američanov odhalila asociáciu s variantom génu *CAMK4* na 5. chromozóme a s variantom génu *FMN1* v lokuse *15q13* (10). Početnejšie sú štúdiá, ktoré sledovali asociáciu s variantmi kandidátnych génov. Ako kandidátne gény sa analyzovali predovšetkým gény biochemických dráh, ako je polyolová dráha, „increased advanced glycation end products formation“ (AGE) dráha, „glucose-induced“ dráhy, angiogenéza, renín-angitensínová dráha, „tissue matrix remodeling“, aktivácia proteínkinázy C (PKC), tvorba reaktívnych kyslíkov, vaskulárna endoteliálna dysfunkcia a „increased hexosamine flux“ dráha (1, 11, 12, 13). Pacienti s diabetes mellitus 2. typu majú vysokú variabilitu terapeutických odpovedí na liečbu orálnymi antidiabetikami, preto medzi kandidátne gény možno zaradiť aj gény, ktoré majú vzťah k farmakokinetike aj k farmakodynamike týchto orálnych antidiabetík (*CYP2C9*, *KCNJ11*, *ABCC8*, *TCF7L2*, *OCT1*, *OCT2* a *MATE1*, *ATM* a pod.)

Prehľad niekoľkých doteraz najviac analyzovaných génov:

ALR2: Našli sa asociácie CA opakovaním v tomto géne s DR v niekoľkých populáciách, ako je Čína (14), Japonsko (15), India (16), Čile (17) a Brazília (18). Na druhej strane takáto asociácia sa nenašla v kórejskej populácii (19) a v jednej populácii Brazílie (20).

RAGE: Polymorfizmus 374T/A vykázal asociáciu DR vo Švédsku a v Indii. Dokonca polymorfizmus Gly82Ser sa ukázal ako protektívne vo vzťahu k DR v Indii (3, 9, 21). Tieto výsledky však neboli replikované v populácii Číny. Takisto polymorfizmus 429T/C nevykázal asociáciu s DR v Číne ani v Slovinsku.

ATRI: Tento gén sa nachádza v oblasti na 3. chromozóme, ktorá vykazovala väzbu s DR. Napriek tomu v súbore 827 pacientov z Číny polymorfizmy tohto génu nevykazovali asociáciu s DR.

ACE: Inzerčno/delečný polymorfizmus tohto génu bol asociovaný s DR u japonských pacientov, pacientov z Iránu a polymorfizmu rs4343 u pacientov z Číny (22). Na druhej strane takáto asociácia sa nenašla u 283 pacientov zo Španielska.

VEGF: Polymorfizmy promótorovej oblasti tohto génu vykazovali silnú asociáciu s DR v japonskej populácii (23)), v kaukazoidných populáciách (24, 25)), ale aj v indickej populácii (11). Výsledky asociačných štúdií polymorfizmov tohto génu s DB zosumariovali v metaanalýze (26).

GSTT1: U 604 pacientov kaukazoidného pôvodu delécia tohto génu u DM pacientov s DR bola dvakrát častejšia ako u pacientov bez DR.

SOD2: V jednej štúdií sa ukázalo, že polymorfizmus tohto génu má protektívny účinok voči DR (27).

HFE: Našla sa asociácia mutácie C282Y tohto génu s DR u kaukazoidných DM2 pacientov.

PONI: Variant L/L tohto génu je silne asociovaný s vývinom DR v japonskej populácii (22).

PAI-1: Delécia 4G v promótorovej oblasti tohto génu bola asociovaná s vyšším rizikom DR u Indiánov kmeňa Pima (28).

a3-AR: Takisto u Indiánov Pima genotypy Arg/Arg a Arg/Trp boli signifikantnejšie asociované s DR ako genotypy Trp/Trp (28).

Z uvedeného vyplýva, že na vývin DR má vplyv široká škála génov, pričom sa dá očakávať, že vplyv jednotlivých génov bude pomerne malý. Preto sú výsledky analýz jednotlivých génov separátne málo signifikantné, ba v niektorých prípadoch aj protichodné.

Je všeobecne známe, že oxidatívny stres je významným rizikovým faktorom makro-, ale aj mikrovaskulárnych patológií. Nadprodukcia reaktívnych kyslíkových radikálov v mitochondriách môže byť v pozadí týchto patológií. DR je vlastne mikrovaskulárnou komplikáciou DM. Preto mtDNA sa považuje za kandidáta geneticky podmienenej susceptibilita DR. Bolo uskutočnených niekoľko štúdií, ktoré sledovali asociáciu mitochondriálnych haplotypov s priebehom a závažnosťou DR. V jednej štúdií zo strednej Európy sa našla významná asociácia haplotypu T s DR u pacientov s DM2 (29). V inej štúdií, uskutočnenej v Taliansku, zase haplotyp H bol signifikantne asociovaný s DR. O populačne špecifickú asociáciu mtDNA haploskupín s komplikáciami DM (teda aj DR) referujú iní autori v troch populáciách židovského pôvodu.

Z uvedeného vyplýva, že spoluúčasť genetických faktorov na vývine a závažnosti DR u DM pacientov je nesporná. Výsledky doterajších štúdií však ukazujú, že objasnenie a pochopenie ich úlohy ešte vyžaduje mnohé ďalšie extenzívne štúdiá. Cieľom nášho projektu je vytvoriť materiálnu, vedomostnú a metodickú infraštruktúru, a tak prispieť k riešeniu tejto problematiky, či už identifikáciou niektorých genetických faktorov, ktoré sa podieľajú na patogenéze DR, alebo identifikáciou genetických markerov, ktoré by umožnili vytypovať jedincov so zvýšenou náchylnosťou na DR ešte v predklinickom štádiu, aby sa u nich mohli aplikovať efektívne preventívne zákroky. Je totiž jednoznačne potvrdené, že čím v skorších štádiách vývinu sa zachytí DR, tým sú preventívne zákroky efektívnejšie a v konečnom dôsledku môžu zachrániť zrak DM pacienta.

Podakovanie: Táto publikácia je výsledkom implementácie projektu „Centrum výskumu závažných ochorení a ich komplikácií“, ITMS 26240120038, podporovaného programom „Research & Developmental Operational Programme, ERDF“.

„Tento článok vznikol na základe výskumných aktivít v projekte, ktorý bol podporený v rámci OP Výskum a vývoj, s názvom: Výskumné centrum moderných technológií monitorovania a diagnostiky ochorení ohrozujúcich verejné zdravie, ITMS 26220220197, spolufinancovaný zo zdrojov Európskeho fondu regionálneho rozvoja“.

Literatúra

1. Uthra S, Raman R, Mukesh BN, et al. Genetics of diabetic retinopathy. *Int. J. Hum. Genet.* 2008;8(1-2):155–159.
2. Sun JK, Keenan HA, Cavallerano JD, et al. Protection from retinopathy and other complications in patients with type 1 diabetes of extrema duration. *Diabetes Care.* 2011;34(4):968–974.
3. Schwartz SG, Brantley MA, Flynn HW. Genetics an diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reviews.* 2012;9:86–92.
4. Imperatore G, Hanson RL, Pettitt DJ, et al. Sib-pair linkage analysis for susceptibility gene for microvascular complications among Pima Indians with type 2 diabetes. *Diabetes.* 1998;47(5):821–830.

5. Hallman DM, Boerwinkle E, Gonzalez VH, et al. *A genome-wide linkage scan for diabetic retinopathy susceptibility genes in Mexican Americans with type 2 diabetes from Starr County, Texas. Diabetes.* 2007;56(4):1167–1173.
6. Looker HC, Nelson RG, Chew E, et al. Genome-wide linkage analysis to identify loci for diabetes retinopathy. *Diabetes.* 2007;56(4):1160–1166.
7. Grassi MA, Tikhomirov A, Ramalingam S, et al. Genome-wide meta-analysis for severe diabetic retinopathy. *Hum. Molec. Genet.* 2011;20(12):272–2481.
8. Roy MS, Hallman M, Fu YP, et al. Assessment of 193 candidate genes for retinopathy in African Americans with type 1 diabetes. *Arch. Ophthalmol.* 2009;127(5):605–612.
9. Balasubbu S, Sundaresan P, Rajendran A, et al. Association analysis of nine candidate gene polymorphisms in Indian patients with type 2 diabetic retinopathy. *BMC Medical Genetics.* 2010;11:158.
10. Fu Y-P, Hallman DM, Gonzalez VH, et al. Identification of diabetic retinopathy genes through a genome-wide association study among Mexican-Americans from Starr County Texas. *J. Ophthalmol.* 2010. doi:10.1155/2010/861291,
11. Balasubbu S, Rajendran A, Ramasamy K, et al. Emerging patterns of possible potential candidate gene polymorphisms associated with diabetic retinopathy – a review. *Asian J. Exp. Sci.* 2006;20:15–28.
12. Ng PK. Human genetics of diabetic retinopathy: Current perspectives. *J. Ophthalmol.* 2010. doi:10.1155/2010/172593.
13. Kuo JZ, Wong TY, Rotter JI. Challenges in elucidating the genetics of diabetic retinopathy. *JAMA Ophthalmology.* 2014;132(1):96–107.
14. Li Q, Xie P, Huang J, et al. Polymorphisms and functions of the aldose reductase gene 5' regulatory region in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. *Chin. Med. J.* 2002;115(2):209–213.
15. Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, et al. Length rather than a specific allele of dinucleotide repeat in the 5' upstream region of the aldose reductase gene is associated with diabetic retinopathy. *Diabet. Med.* 1999;16:1044–1047.
16. Kumaramannickavel G, Sripriya S, Ramprasad VL, et al. Z-2 aldose reductase allele and diabetic retinopathy in India. *Ophthalmic Genet.* 2003;24:41–48.
17. Olmos P, Futers S, Acosta AM, et al. (AC)23 (Z-2) polymorphism of the aldose reductase gene and fast progression of retinopathy in Chilean type 2 diabetics. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2000;47:169–176.
18. Richeti F, Noronha RM, Waetge RT, et al. Evaluation of AC(n) and C(-106) T polymorphisms of the aldose reductase gene in Brazilian patients with DM1 and susceptibility to diabetic retinopathy. *Mol. Vis.* 2007;13:740–7415.
19. Park HK, Ahn CW, Lee GT, et al. (AC)(n) polymorphism of aldose reductase gene and diabetic microvascular complications in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2002;55:151–157.
20. Santos KG, Tschiedel B, Schneider J, et al. Diabetic retinopathy in Euro-Brazilian type 2 diabetic patients: relationship with polymorphisms in the aldose reductase, the plasminogen activator inhibitor-1 and the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2003;61:133–136.
21. Ramprasad S, Radha V, Mathias RA, et al. Rage gene promoter polymorphisms and diabetic retinopathy in clinic-based population from South India. *Eye.* 2007;21(3):395–401.
22. Abhary S, Hewitt AW, Burdon KP, et al. *A systematic meta-analysis of genetic association studies for diabetic retinopathy. Diabetes.* 2009;58(9):2137–2147.
23. Nakamura S, Iwasaki N, Funatsu H, et al. Impact of variants in the VEGF gene on progression of proliferative diabetic retinopathy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2009;247:21–26.
24. Awata T, Inoue K, Kurihara S, et al. *A common polymorphism in the 5-prime-untranslated region of the VEGF gene is associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes. Diabetes.* 2002;51:1635–1639.
25. Ray D, Mishra M, Read Davies R, et al. Association of the VEGF gene with proliferative diabetic retinopathy but not proteinuria in diabetes. *Diabetes.* 2004;53:861–864.
26. Lu Y, Shi Y, Ge Y, et al. Two polymorphisms (rs699947, Rs2010963) in the VEGF gene and diabetic retinopathy: An updated meta-analysis. *Diabetes and Metabolism.* 2012;S:3.
27. Demiryurek AT, Erbagci I, Oztuczu S, et al. Lack of association between the Thr431Asn and Arg83Lys polymorphisms of the ROCK2 gene and diabetic retinopathy. *Curr. Eye. Res.* 2010;35(12):1128–1134.
28. Nagi DK, McCormack LJ, Mohamed-Ali V, et al. Diabetic retinopathy, promoter (4G/5G) polymorphism of KAI-1 gene, and PAI-1 activity in Pima Indians with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 1997;20(8):1304–1309.
29. Kofler B, Mueller EE, Eder W, et al. Mitochondrial DNA haplogroup T is associated with coronary artery disease and diabetic retinopathy: a case control study. *BMC Medical Genetics.* 2009;10(35):1–7.
30. The diabetes control and complications trial research group. Clustering of long-term complications in families with diabetes in the diabetes control and complications trial. *Diabetes.* 1997;31(1):1829–1839.

Prof. RNDr. Ľudevít Kádaši, DrSc.

Katedra molekulárnej biológie, Prírodovedecká fakulta Univerzity
Komenského, Bratislava
Mlynská dolina, 842 15 Bratislava
kadasi@fns.uniba.sk