

***Mitokondriel diabetes  
i Danmark***

**Studiestartopgave på Medicin efterår 2006**

**Gruppe: B2**

**Supervisor: Kirsten Ohm Kyvik, IST – Epidemiologi**

### **Mitokondrial diabetes i Danmark**

*Vedlagt oversigtsartikel fra ugeskrift for læger af 9 august 2004 beskriver en sjælden form for arvelig diabetes, mitokondriel diabetes. På baggrund af denne ønskes det at gruppen formulerer en problemstilling om mitokondriel diabetes i Danmark. Foruden problemstillingen skal der udformes en ansøgning omhandlende et projekt der belyser emnet. Ansøgningen kan både være begrundet i behovet for beskrivelse af forekomst, bestemmelse af ætiologi eller forslag til strategi for særlig opsporing eller behandling af disse patienter*

## Formål

Ansøgningens formål er at give et overblik over sygdommen Maternally Inherited Diabetes and Deafness, MIDD. Lægevidenskaben har fastslået, at det er defekter i mitokondrierne, som via respirationskæden er ansvarlige for cellernes energiproduktion, der er årsag til den arvelige sygdom MIDD. Det er dog stadig uvist hvor mange patienter der reelt findes i Danmark, samt hvilke forebyggelses- og behandlingsmuligheder MIDD patienter kan tilbydes. Vi ønsker med denne opgave at belyse omfanget af MIDD, for derigennem at synliggøre nødvendigheden i videre opsporing, såvel som forskning i forebyggelses- og behandlingsmuligheder af MIDD.

## Indledning

Maternally Inherited Diabetes and Deafness (MIDD) er en sjælden form for type 2 diabetes, der ifølge udenlandske studier udgør 0.5-2.8 % af alle diabetestilfælde. Patienter med MIDD udvikler ofte sygdommen i alderen af 25 til 30 år. I modsætning til patienter med almindelig type 2 diabetes, kræver MIDD patienter insulin for at kontrollere deres blodsukkerniveau i en tidligere alder end type 2 diabetikere. Ca. 60 % af MIDD patienterne udvikler desuden en mild form for døvhed.(1,2)

Forskere har fulgt en kinesisk familie med MIDD igennem fire generationer. Seks ud af otte familiemedlemmer udviklede diabetes. Sygdommen debuterede i alder fra 15 år til 33 år, med et gennemsnit på 26 år. To af de af seks udviklede desuden også svækket hørelse. Molekylær analyse af mitokondriel DNA (mtDNA) viste en tilstedeværelse af heteroplasmisk tRNA<sup>Lue(UUR)</sup> A3243G mutation, som varierede fra 35 % til 58 % af mutation i celler. Man fandt hurtigt ud af det, at debuttidspunktet og sværhedsgraden af symptomerne varierede fra individ til individ.(2,3,6)

MIDD er kun arveligt via moderen. Ægcellens cytoplasma indeholder mange mitokondrier, mens mandens sæd kun indeholder mitokondrierne i sædcellens hale, som knækker ved befrugtningen, hvorfor mennesket arver deres mitokondrier – mtDNA – fra moderen. Man mener at en afficeret moder vil videreføre mutationen til næsten alle sine børn, og af disse vil op mod 60 % få diabetes inden de bliver 70 år.(1,2)

Forskere er endnu usikre på antallet af MIDD patienter, men man antager, at der i alt fødes ét barn med en mitokondriesygdom for hver 10.000 fødsler. Hvor stor en andel af dem, der skyldes mutationer i mitokondriet selv, er usikkert.(5)

## Problemformulering

***Hvad forårsager sygdommen MIDD, hvilke behandlings- og forebyggelsesmetoder har vi kendskab til, og hvilke videre opsporings- og forskningsmuligheder findes der til behandling af MIDD?***

## Metode

For at belyse vores problemformulering valgte vi at benytte os af databaser, tidsskrifter, faglitteratur og professionelle eksperter inden for MIDD. Vi benyttede os mest af PubMed, dels indeholder databasen mange tidsskrifter og dels havde vi mulighed for, at søge på de nyeste artikler.

Til at begynde med søgte vi på ”Mitochondrial Diabetes”, hvilket gav os mange artikler at vælge imellem, og derfor blev vi nødt til at begrænse vores søgning med flere ord.

I næste søgning valgte vi at fokusere søgningen på ”MIDD og gener”, hvilket gav få hits. Derefter skimmede vi artiklens ”abstract”. Artiklen ”Genes can cause MIDD” (1) havde de rigtige informationer som vi kunne bruge i ansøgningen, hvor de andre artikler ikke havde samme relevans i forhold til problemformuleringen.

Vores næste søgning ”*Maternally transmitted diabetes*” gav os 34 hits. Vi kunne bruge artiklen (3) til vores ansøgning, da den både indeholder oplysninger om mutation og nedarvet diabetes. De resterende artikler kunne vi ikke bruge pga. mindre relevans, idet de fleste primært omhandlede diabetes mellitus.

For at benytte os af flere forskellige kilder og dermed gøre omfanget af litteraturlisten indholdsrig, søgte vi på tidsskriftet ”Ugeskrift for Læger”. Her fandt vi artiklen ”*Mitokondriesygdomme*”, som beskriver meget nøje hvad mitokondrier er, hvilke sygdomme der kan forekomme og prævalens. Desuden fandt vi yderligere en artikel i tidsskriftets gamle udgivelser fra 2004, nr. 24, kort nyt. (7)

Under sdu.dk fandt vi artiklen ”*Behandling af genetisk betingede mitokondrielle sygdomme (MIDD) ved stimulering af respirationskæde*”. Da denne korte artikel giver en kort præsentation af forskellige forskningsmuligheder på basis af MIDD, valgte vi at benytte den.

Vi har desuden benyttet os af bøger som ”*Genetik Grundbog*” og ”*Biologiske Termer*”. De var nødvendige for vores forståelse af emnet.

### **Hvad er mitokondrier og nedarvning?**

Den eukaryote celle består af cytoplasma og nukleus. Cytoplasmaet indeholder cellens organeller. De vigtigste organeller er det endoplasmatiske retikulum, golgi apparat, peroxisomer, ribosomerne samt mitokondrier der er cellernes kraftværk. Hver celle kan have op til ca. 10.000 mitokondrier og hver mitokondrie indeholder flere eksemplarer af mtDNA. Nogle organer er mere afhængige af energien fra mitokondrierne end andre; det drejer sig om hjertet, musklerne og hjernen. Derfor vil man med en mitokondriesygdom også primært have symptomer fra disse organer. Dog kan andre organer, som f.eks. lever, øjne, bugspytkirtel og tarme være involveret.(2,6,9)

Mitokondria er et ovalt organel, hvori den aerobe respiration foregår. Mitokondrier har en længde mellem 2 um. Den yderste membran er glat, mens den indre har en række indposninger, cristae, som trænger ind i den indre matrix. Membranen i cristae rummer enzymerne for den oxidative fosforylering og er det sted, hvor cellens ATP dannes. Det har sit eget genom, som er lukket dobbeltstrengt struktur bestående af 16.569 basepar, der koder for 13 polypeptider i respirationskæden, to ribosomal RNA og 22 transfer RNA.(2,10)

mtDNA er særligt velegnet til slægtskabsundersøgelser. Det er af to grunde. Den ene er, at mtDNA muterer op til 10 gange hyppigere end nDNA. Det betyder en større forskellighed, dvs. høj mutationsrate pga. svage DNA-reparationsmekanismer, i mtDNA fra individ til individ sammenlignet med individernes nDNA.(2)

Den anden grund er, at mitokondrier forholdsvis er selvstændige enheder i cellen. F.eks. de deler sig uafhængigt af celledelingen i øvrigt. Hos sædceller er kromosomerne placeret i cellernes hoved, mens mitokondrierne ligger i mellemstykket. Ved befrugtning af en ægcelle er det kun hovedet som trænger ind; mellemstykket med mitokondrier og halen bliver udenfor. Dvs. mtDNA i en befrugtet ægcelle stammer kun fra ægget, dvs. fra moderen. Deraf kommer navnet Maternally inherited diabetes and deafness, MIDD.(9)

### **Hvad er mitokondrielle DNA-defekter?**

Mitokondrielle syndromer opstår, når mitokondrierne ikke danner al den energi (ATP), der er nødvendig for, at kroppen kan fungere optimalt. Årsagen kan enten ligge i mtDNA eller i nDNA – som begge koder for proteiner til mitokondrierne. Når årsagen ligger i mtDNA, kaldes det for en mtDNA-defekt. Der er forskel på de sygdomme, som skyldes en defekt i mtDNA. De inddeles efter hvor fejlen er placeret – f.eks. rækken af kompleks defekter (I-V).(4)

Mitokondrierne indeholder mange enzymesystemer såsom pyruvatdehydrogenase-komplekset, beta-oxidationssystemet og Krebs cyklus, som er koblet til respirationskæden. Respirationskæden er en form for 5-trins-proces-trinene fra kompleks I til kompleks V, hvor nedbrydningsprodukterne omdannes til energi, ATP. Denne 5-trins-proces kaldes for oxidativ fosforylering. Det er fejl i en eller flere af disse komplekser, der lægger navn til kompleks-defekterne.(4,6)

Ved kompleks V sker der en punktmutation kaldes A3243G. Denne mutation laver en transfer RNA (tRNA) – en molekyle der videre hjælper med at replicere DNA-sekvens til protein. Denne mutation tager plads ved 3243 position i genet, derfor kaldes A3243G.(1,3,8)

Der sker en vilkårlig fordeling af muteret mtDNA, når celler deler sig. Derfor kommer nogle til at indeholde et stort antal muterede mtDNAer, og dermed påvirker de mtDNA-kodede komplekser i respirationskæden, hvilket bl.a. resulterer i reduceret ilt-optagelse samt reduceret oxidativ fosforylering med reduceret ATP-produktion til følge.(2,4)

Der er store variationer i den enkelte mutation, derfor vil symptomerne også være forskellige. Symptombærende væv vil således have ofte høj heteroplasmicitetsgrad, f.eks. en blanding af mtDNA og muteret mtDNA, hvor en stor procentdel af muteret mtDNA er overskredet. Selvom forskerne er sikre på, at genmutation A3243G er ansvarligt for MIDD, er det dog uvist, hvordan mutationen kan forårsage diabetes, senkomplikationer og symptomer.(1,2,3,8)

### **Behandling og forebyggelse**

Først og fremmest skal det tydeliggøres, at der endnu ikke findes nogen (helbredende) behandling af mitokondriesygdomme. Patienterne behandles oftest med diæt og peroral antibiotika. (6)

Forskerne på Centralsygehuset Esbjerg har udarbejdet en hypotese, hvor man ved stimulation af respirationskæden med thyreoideahormoner  $T_3/T_2$  i syge mitokondrier, kan øge patienternes insulinsekretion. Effekten af  $T_3$  kan forventes indenfor dage til uger og effekten af  $T_2$  indenfor nogle timer. Man håber på, at man på den måde vil kunne øge aktiviteten i respirationskæden.(5) Indtil videre ser det kun ud til at være en hypotese. Vi har ikke kunne finde nogle forsøgsresultater som indikerer, at hormonbehandling har en klar positiv virkning.

Der er hos nogle patienter beskrevet en gavnlig effekt af Coenzym Q10 på med henblik på bedre insulinsekretion og hæmning af hørenedsættelse. Q10 gør respirationskæden færdig ved at transportere elektroner fra kompleks I til kompleks III.(8)

Vi er forholder os dog skeptiske overfor denne metode. Q10 gør respirationskæden færdig ved at transportere elektroner fra kompleks I til kompleks III, men vi ved at punktmutation A3243G findes ved kompleks V.

Nogle forskere fra Harvard Medical School i Boston og H:S Rigshospitalet har i 2004 undersøgt den mtDNA-sekvens på en enkel person, som har arvet faderens mtDNA. De har fundet ud af, at paternel mtDNA har forbundet sig med maternel mtDNA.

Lars Bolund, Instituttet for Human Genetik, Århus Universitet, mener dog ikke, at observationen vil få direkte betydning for den genetiske rådgivning. Dog mener han, at tilfældet viser, at en rekombination mellem mtDNA i mitokondriekromosomerne kan give mulighed for forebyggelse og behandling, da mtDNA ellers har en meget lav rekombinationsrate.(2,7)

Ud fra ovenstående artikel om rekombinationen, udarbejdede vi en hypotese, med rekombination mellem maternelt og paternelt mtDNA som en mulig løsning til forebyggelse af MIDD, ved at nedsætte sandsynlighed for udvikling af MIDD. Ideen er, at donationen ikke stammer fra fremmede, men at man ved kunstig befrugtning med sæd fra faderen og den afficeret moderens oocyt kan nedsætte sandsynlighed for MIDD fra 60 % til ca. 30 %.

Vi er, efter telefonisk kontakt med læge Elsebet Østergaard, blevet klar over, at vores hypotese kan give anledning til forskellige komplikationer. Særligt spørgsmålene om hvordan man skal kunne inducere rekombination et bestemt sted i mtDNA, eller hvordan man kan frasortere det muterede sekvens i mtDNA, og derefter komme mtDNA tilbage i oocytten. (Læge, Elsebeth Østergaard arbejder dagligt med mitokondrielle mutationsundersøgelser på Klinisk Genetisk Afdeling, Rigshospitalet)

Ægdonation kan være aktuelt for de familier, hvor syndromerne optræder i en arvelig form. Vi har kunne læse os frem til en ny metode og som lægen Elsebet Østergaard også fortalte om, hvor det måske er muligt at sortere de af kvindens ægceller fra, der indeholder muteret mtDNA. Derefter kan de raske ægceller befrugtes, og sættes tilbage i livmoderen. (6)

Heller ikke her har det været muligt at opspore nogle forsøgsresultater for ægdonation hos mennesker. Elsebeth Østergaard oplyste os dog, at forskere har overvejet, og til dels også foretaget, PDG (ægsortering) og cytoplasma- eller kerne-transfer på dyr. Der har dog været en del komplikationer med denne metode, da nogle af dyreungerne blev født med misdannelser.

### **Etiske overvejelser:**

Netop PDG forsøg på dyr indikerer, at vi beskæftiger os med et forskningsområde som indeholder komplicerede etiske problemstillinger. Forsøg med ægdonation på dyr, resulterede i misdannede dyreunger. Spørgsmålet er så, hvornår er et forsøg etisk korrekt? Tager vi udgangspunkt i filosofiens normative etik, vil vi finde to forgreninger som begge beskæftiger sig med den moralske vurdering af en handling, nemlig deontologi og utilitarisme. Hvis vi skal vurdere om forskningssituationen er moralsk rigtig, vil vi ud fra konsekvensetikken (utilitarismen) være nødt til at opstille en såkaldt nyttekalkule, hvorved lyst og smerte på matematisk vis gøres op. Hvis udfaldet bliver positivt, vil handlingen – eller i dette tilfælde dyreforsøgene – være moralsk rigtige, da de er i overensstemmelse med utilitarismens definition af en moralsk handling, nemlig ”størst mulig lykke for det størst mulige antal”. Dette vil i princippet sige, at hvis dyreforsøgene resulterer i opdagelsen af en ny teknik som kan behandle patienter med MIDD (= konsekvensen af handlingen), vil utilitaristerne sige at forsøget er etisk korrekt, da det har bragt større lykke end smerte. Deontologer vil vurdere forsøget som etisk korrekt, blot ud fra det moralske motiv der ligger til grund for forsøget.

Det synes dog at være en kompliceret etisk problemstilling, da udfaldet af forsøget vil være vanskeligt at fastslå på forhånd. Utilitaristerne, som også beregner dyrs lyst og smertefølelser, vil jo netop vurdere forsøget som amoralsk, hvis dyrene har lidt overlast og der desuden ikke er kommet nogen nyttig viden ud af forsøget.

### **Opsporing af MIDD patienter:**

Det er ikke let at opspore mitokondriesygdomme og MIDD. Mitokondriesygdomme er generelt eget vanskeligt at diagnosticere. Den laboratoriemæssige udredning omfatter bl.a. metabolisk screening, enzymundersøgelser, mikroskopi af muskel væv og mutationsundersøgelser. Der er som sagt ingen behandling til MIDD, og vi kan derfor forestille os, at man endnu ikke har afsat økonomiske ressourcer til opsporing af bærer af MIDD.

Hos diabetespatienterne med hørenedsættelse vil maternel disposition for diabetes og/eller hørenedsættelse styrke formodningen om MIDD. Derfor mener vi, at det er vigtigt netop at udrede disse patienter for A3243G mutationen med henblik på forebyggelse.

På nuværende tidspunkt foretages der mutationsundersøgelser af mtDNA på molekylærgenetisk laboratorium på Rigshospitalet og enzymundersøgelser af muskel- og hudbiopsier på John F. Kennedy Institutet.

Der er stadig meget viden om de genetisk forhold, som vi ikke kender til. Vi håber på, at vi igennem denne opgave har tydeliggjort nødvendigheden i at opspore patienter med MIDD. Dels så det bliver

muligt at indkapsle MIDD patienterne, og dels så vi ud fra fremtidig forskning bliver i stand til at behandle patienter, såvel som udvikle forebyggelsesmetoder til sygdommen MIDD.

Vi vil udarbejde en standardmodel for en diagnostisk kriterier for praktiserende læger, hvor man gør opmærksom på MIDD symptomer. Hvis kriterierne opfyldes, bør patienten henvises videre til Rigshospitalet eller/og John F. Kennedy Institutet.

Vi mener, at vi over en 5-års periode vil være i stand til at opspore alle MIDD patienter i Danmark, hvilket vil være en afgørende faktor i forebyggelsen af arvelig diabetes. Over 5-årsperioden vil vi løbende forske i nye behandlingsteknikker, hvorved vi med tiden håber at kunne frasortere de muterede mtDNA i oocytten, for dermed at nedsætte sandsynligheden for udviklingen af MIDD.

## Referencer

### Artikler:

1. **"Genes can cause MIDD":** Amy Adams, MS, *Genetic Health*, Last updated October 10, 2000
2. **"Mitokondriel diabetes med fokus på maternally inherited diabetes and deafness":** Reservelæge Anja Lisbeth Frederiksen, lektor Kirsten Ohm Kyvik & overlæge Per Heden Andersen, *Ugeskrift for læger*, 9 august 2004
3. **"Maternally transmitted diabetes mellitus associated with the mitochondrial tRNA<sup>Leu(UUR)</sup> A3243G mutation in a four-generation Han Chinese family":**Jianxin Lu, Dawang Wang, Ronghua Li, Weixing Li, Jingzhang Ji, Jing Zhou, Wei Ye, Li Yang, Yaping Qian, Yi Zhu and Min-Xin Guan, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Medical Genetics School of life Sciences. Received 29 June 2006, available online 13 July 2006
4. **"Mitokondriesygdomme":** Klinik, udredning og genetic, *Ugeskrift for læger* 2003; 165 (07): 663, Elsebeth Østergaard, cand.scient. Flemming Wibrand, lic. Pharm, Nina Horn & Karen Brøndum-Nielsen
5. **"Behandling af genetisk betingede mitokondrielle sygdomme (MIDD) ved stimulering af respirationskæden":** Jan Kvetny & Anja Frederiksen, endokrinologisk afsnit, medicinsk center, Centralsygehuset Esbjerg Varde

### Internet

6. [http://72.14.221.104/search?q=cache:187XFLmcpMJ:www.csh.dk/sjaeldne\\_handicap/mitokondrie/mitoalt.pdf](http://72.14.221.104/search?q=cache:187XFLmcpMJ:www.csh.dk/sjaeldne_handicap/mitokondrie/mitoalt.pdf)
7. **"Paternel og maternel mitokondriel DNA kan rekombinere":** Kraytsberg Y, Schwartz M, Brown TA et al. *Recombination of human mitochondrial DNA*, *Science* 2004;304:981

### Andet materiale

8. **"User's Manual: mtDNA Population Database":** Access the Release Notes, Published in the issue of *Forensic Science Communications*
9. **"Genetik Grundbog":** Annette B. Sørensen, Henrik Falkenberg, Peder K. Gasbjerg, Gunnar S. Jensen og Systime A/S, 2002  
**"Biologisk fagtermer":** Ole Rasmussen, Gads forlag, 2005