

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



Autoreferát disertační práce

**VÝSKYT SPECIFICKÝCH OSTRŮVKOVÝCH AUTOPROTIŁÁTEK
U PACIENTŮ S *HNF1A*-MODY a *HNF4A*-MODY**

THE INCIDENCE OF SPECIFIC ISLET CELL AUTOANTIBODIES IN PATIENTS WITH *HNF1A*-MODY
AND *HNF4A*-MODY

MUDr. Jana Urbanová

2017

Školitel: Prof. MUDr. Anděl Michal, CSc.

Doktorské studijní programy v biomedicině

Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor, předseda oborové rady:

Fyziologie a patofyziologie člověka, Prof. MUDr. Jaroslav Pokorný, DrSc.

Školící pracoviště:

Univerzita Karlova, 3. lékařská fakulta, Centrum pro výzkum diabetu, metabolismu a výživy a II. Interní klinika Fakultní nemocnice Královské Vinohrady

Autor:

MUDr. Jana Urbanová

Školitel:

Prof. MUDr. Michal Anděl, CSc.

Oponenti:

S disertací je možno se seznámit na děkanátu 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy

OBSAH

SOUHRN	4
SUMMARY	5
1. ÚVOD A TEORETICKÉ PODKLADY	6
1.1. Monogenní diabetes mellitus	6
1.2. Transkripční faktory HNF-1 α a HNF-4 α	6
1.3. <i>HNF1A</i> -MODY a <i>HNF4A</i> -MODY	7
1.4. Specifické ostrůvkové autoprotilátky u diabetes mellitus	7
2. CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA	7
2.1. Cíl a význam výzkumné práce	8
2.2. Hypotéza výzkumné práce	9
3. METODIKA	9
4. VÝSLEDKY	10
4.1. Familiární výskyt ostrůvkových autoprotilátek u MODY	10
4.2. Diskriminace mezi MODY a diabetes mellitus 1. typu	11
4.3. Prevalence ostrůvkových autoprotilátek u pacientů s MODY	12
5. DISKUZE	14
6. ZÁVĚR	15
7. POUŽITÁ LITERATURA	16
8. SEZNAM PUBLIKACÍ	19

SOUHRN

MODY (Maturity-onset Diabetes of the Young) představuje skupinu autozomálně dominantně děděných chorob s přesně vymezeným genetickým defektem, vedoucí k poruše inzulínové sekrece a později také vlastní inzulínové syntézy, pravděpodobně dané úbytkem celkové β -buněčné masy na podkladě apoptózy. Diabetes mellitus 1. typu je multifaktoriální, polygenní onemocnění, které vzniká následkem autoimunitní destrukce beta-buněk, jejímž mechanismem je apoptóza. Autoimunitní poškození beta-buněk signalizují specifické ostrůvkové autoprotilátky, které se v klinické praxi využívají k diferenciální diagnostice diabetes mellitus 1. typu od jiných typů diabetu. Nedávno bylo postulováno, že rutinní testování ostrůvkových autoprotilátek by mělo být prováděno k odlišení MODY od diabetes mellitus 1. typu.

Nicméně u tříčlenné rodiny s *HNF1A*-MODY, podmíněným p.Arg159Gln mutací jsme identifikovali přítomnost ostrůvkových autoprotilátek (včetně nejspecifičtějších autoprotilátek proti ostrůvkovému antigenu-2) příznačných pro diabetes 1. typu a zpochybnili selektivitu ostrůvkových autoprotilátek jako markeru odlišující diabetes mellitus 1. typu nebo LADA (Late-onset Autoimmune Diabetes of Adulthood) od MODY, a jejich využívání jako univerzálního kritéria vyřazující pacienty se suspektním MODY z genetického testování monogenního diabetu. Nesprávná interpretace ostrůvkových autoprotilátek může vést ke špatné diagnóze a nesprávné léčbě diabetu. Identifikace pacientů s MODY umožňuje individualizovat léčebnou strategii, zlepšit kvalitu života nemocného, stejně tak jako možnost predikovat toto onemocnění u dalších členů rodiny.

Z tohoto důvodu jsme zjišťovali incidenci ostrůvkových autoprotilátek u širší skupiny českých pacientů s MODY a analyzovali jejich funkční relevanci ve smyslu nástupu diabetu a glykemické kompenzace. Téměř jedna čtvrtina vyšetřených pacientů s MODY (7/28; 25%) měla anti-GAD₆₅ nebo anti-IA-2 protilátky. Anti-GAD₆₅ protilátky byly prevalentnější (7/7) než anti-IA-2 protilátky (1/7). Jejich incidence nekorelovala s HLA (Human Leukocyte Antigen) genotypem. Pacienti s ostrůvkovými autoprotilátkami vyvinuli diabetes později než ti bez autoprotilátek, ale měli horší glykemickou kompenzaci (vyšší HbA_{1c}). Exprese autoprotilátek klesla při jakémkoliv zlepšení kompenzace diabetu.

Námi získaná data naznačují transientní, ale vysoce prevalentní expresi ostrůvkových autoprotilátek u českých MODY pacientů. Autoprotilátky byly nalezeny u pacientů s pozdějším vznikem diabetu a v době nedostatečné glykemické kompenzace. Jelikož zlepšení glykemické kompenzace bylo asociována s poklesem hladiny autoprotilátek, domníváme se, že jejich přítomnost může reflektovat kinetiku β -buněčné destrukce indukovanou jinými než autoimunitními faktory.

SUMMARY

MODY (Maturity-onset Diabetes of the Young) is a group of autosomal dominant disorders with precisely defined genetic defect causing insulin secretion impairment and later also endogenous insulin synthesis reduction due to gradual β -cell loss (apparently caused by apoptosis). Type 1 diabetes mellitus is multifactorial, polygenic disorder caused by autoimmune destruction of the beta-cells. Mechanism of this destruction is apoptosis. Autoimmune damage of the beta cells reflects secretion of specific islet cell autoantibodies which are used clinically to distinguish Type 1 diabetes mellitus or LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults) from other types of diabetes. Some authors suggest the use of routine islet autoantibody testing before proceeding to more expensive molecular genetic testing for MODY.

However, growing evidence suggests that autoantibodies are present in other types of diabetes. We first described three family members with *HNF1A*-MODY caused by the p.Arg159Gln mutation that manifested atypical diabetes, combining typical characteristics of *HNF1A*-MODY with presence of islet cell autoantibodies (including specific IA-2 protein tyrosine phosphatase as very typical Type 1 diabetes mellitus feature). The results question the selectivity of autoantibodies as a marker of Type 1 diabetes mellitus or LADA over MODY and the use of the islet cell autoantibodies as a universal negative marker of MODY excluding patients from genetic testing. Incorrect interpretation of the islet cell autoantibodies could finally lead to the wrong diagnosis and inappropriate insulin treatment. Identification of MODY patients allows precise treatment strategy, brings better quality of life to the patient as well as the possibility of disease prediction in other family members.

Thus we subsequently focus on the islet cell autoantibodies incidence in a broad cohort of Czech MODY patients, and analyze their functional relevance in terms of diabetes onset and control. Nearly one quarter of MODY patients examined (7/28; 25%) was positive for anti-GAD₆₅ or anti-IA-2 antibodies. Anti-GAD₆₅ were more prevalent (7/7) than anti-IA-2 antibodies (1/7). Their incidence did not correlate with the HLA (Human Leukocyte Antigen) status. The autoantibodies-positive patients developed diabetes later than autoantibodies-negative ones, but had worse glycemic control (increased HbA1c). Expression of autoantibodies decreased with any improvement of diabetes compensation.

The data suggest transient but highly prevalent autoantibodies expression in Czech MODY patients. The autoantibodies were found in patients with rather delayed diabetes onset, and in times of insufficient diabetes control. Since improving of glycemic control was associated with decrease of autoantibodies levels, their presence may reflect the kinetics of β -cell destruction induced by other than autoimmune causes.

1. ÚVOD A TEORETICKÉ PODKLADY

1.1. Monogenní diabetes mellitus

Monogenní diabetes představuje vzácnou a heterogenní skupinu dědičného diabetu, který je zapříčiněn mutací v jednom konkrétním genu, jenž sám o sobě podmiňuje vrozený defekt sekrece inzulínu β -buňkami rezultující v diabetes. Tento genový defekt se dědí autozomálně dominantním způsobem. Nejčastějším kauzálním genem je *GCK* (gen kódující enzym glukokinázu) a *HNF1A* nebo (vzácněji) *HNF4A* (kódující transkripční faktory hepatocytární nukleární faktory 1 α a 4 α) (Průhová Š. et al., 2003).

Na základě doby manifestace rozlišujeme tzv. *neonatální diabetes* objevující se u dětí do šesti měsíců od narození, a *MODY* (*Maturity-Onset Diabetes of the Young*), manifestující se obvykle v době adolescence a časně dospělosti. *MODY* zahrnuje skupinu tzv. glukokinázového diabetu (*GCK-MODY*) a diabetu transkripčních faktorů (především *HNF1A-MODY* a *HNF4A-MODY*). Jednotlivé subtypy se mezi sebou liší patofyziologií, symptomy, léčbou a prognózou. Do dnešní doby je známo již více než 13 kauzálních genů *MODY* (Molven A. & Njostad P. R., 2011).

1.2. Transkripční faktory HNF-1 α a HNF-4 α

Hepatocytární nukleární faktory (HNF) jsou skupinou fylogeneticky nepříbuzných transkripčních faktorů, jejichž název byl odvozen od místa jejich dominantní exprese v játrech. Nachází se však i v mnoha jiných tkáních, například v buňkách gastrointestinálního traktu a ledvin či β -buňkách pankreatu. HNF regulují transkripci širokého spektra genů, jež hrají důležitou roli jednak při embryonálním vývoji organismu a buněčné diferenciaci, a jednak při udržení metabolické homeostázi (Servitja J. M. & Ferrer J., 2004).

V jádře β -buněk tvoří HNF-4 α a HNF-1 α spolu s dalšími transkripčními faktory vysoce specializovanou, hierarchizovanou transkripční regulační síť, jenž zajišťuje tkáňově specifickou genovou expresi. Tato transkripční síť je zcela zásadní pro utváření β -buněk během intrauterinního života, následně zodpovídá za jejich správné fungování (Servitja J. M. & Ferrer J., 2004), např. spouštění inzulínové sekrece v reakci na glukózový stimul (Wang H. et al., 2000). Regulují také růst a proliferaci β -buněk (Uchozono Y. et al., 2009).

Mutace v *HNF4A* a *HNF1A* genu vede k postupnému selhání produkce inzulínu pankreatickými β -buňkami, jenž se posléze klinicky manifestuje poruchou glukoregulace (Fajans S. S., et al., 2001). Podkladem glukoregulační poruchy je jak kvalitativní sekreční porucha (tj. dysfunkční sekrece inzulínu v reakci na stoupající glykémii), tak i kvantitativní porucha (tj. redukce vlastní inzulínové syntézy daná úbytkem celkové β -buněčné masy).

1.3. HNF1A-MODY a HNF4A-MODY

HNF1A-MODY a *HNF4A*-MODY se klinicky projevují progredujícím zhoršováním glukózové homeostázy až v průběhu dětství a dospívání (např. poruchou glukózové tolerance anebo poruchou glykémie nalačno). V období časně dospělosti (nejčastěji do 30 let věku) pak klinicky manifestním diabetem. Na rozdíl od diabetes mellitus 1. typu s absolutním deficitem inzulínu se však současně nerozvíjí diabetická ketoacidóza (Owen K. & Hattersley A. T., 2001). Riziko diabetických komplikací (obzvláště mikrovaskulárních) je v případech špatné glykemické kompenzace velmi vysoké (Brunerová L. et al., 2006). Oba typy diabetu lze téměř vždy úspěšně léčit perorálními antidiabetiky ze skupiny derivátů sulfonylurey (Pearson E. R. et al., 2000).

1.4. Specifické ostrůvkové autoprotiátky u diabetes mellitus

Ostrůvkové autoprotiátky jsou specifické imunoglobuliny namířené proti široké škále intracelulárních komponent pankreatické β -buňky. Jsou považovány za marker autoimunitní destrukce β -buněk, jež mohou predikovat vznik diabetes mellitus 1. typu (Bonifacio E. et al., 1990) a proto jsou využívány v klinické praxi k rozlišení diabetes mellitus 1. typu, včetně LADA (Latent Autoimmune Diabetes in Adults), od jiných typů cukrovky (van Deutekom A. V. et al., 2008). Nicméně, ostrůvkové autoprotiátky mohou být zřídka detekovány i u jiných typů diabetes mellitus, dokonce i ve zdravé populaci (Kawasaki E. et al., 1995; Leslie R. D. G. et al., 1999; Pietropaolo M. et al., 2000; de Leiva A. et al., 2007).

Výskyt ostrůvkových autoprotiátek byl překvapivě popsán též u pacientů s MODY, a to v několika kazuistikách (Ortega-Rodriguez E. et al., 2001; Aguilera E. et al., 2005; Bowden S. A. & Hoffman R. P., 2008; Maltoni G. et al., 2012; Calcaterra V. et al., 2012) a jedné širší studii, jež zaznamenala ostrůvkové autoprotiátky dokonce u 17% německých a rakouských MODY pacientů (Schober E. et al., 2009), ačkoliv tato studie zahrnula asi 20% jedinců bez geneticky potvrzené diagnózy MODY. Naopak v Britské kohortě pacientů s nově diagnostikovaným MODY, byly ostrůvkové autoprotiátky detekovány u méně než 1% případů (McDonald T. J. et al., 2011).

Klinická významnost ostrůvkových autoprotiátek mimo diabetes mellitus 1. typu a LADA není zcela jasná. Nicméně u diabetes mellitus 2. typu jsou spojovány s progresivní dysfunkcí beta-buněk predikující budoucí kompletní β -buněčné selhání (Borg H. et al., 2002) a brzkou potřebu inzulínoterapie (Turner R. et al., 1997), u gestačního diabetu za znak presymptomatické fáze diabetes mellitus 1. typu (de Leiva A. et al., 2007). Obdobně mnoho autorů považuje přítomnost ostrůvkových autoprotiátek u MODY za paralelní manifestaci diabetu 1. typu (Ortega-Rodriguez E. et al., 2001; Aguilera E. et al., 2005; Bowden S. A. & Hoffman R. P., 2008; Maltoni G. et al., 2012; Calcaterra V. et al., 2012).

2. CÍL PRÁCE A HYPOTÉZA

Naším cílem bylo vyšetřit výskyt specifických ostrůvkových autoprotilátek ve skupině českých pacientů s nejběžnějšími typy MODY, popsat jejich přítomnost v širším klinickém kontextu a nastínili možné příčiny jejich vzniku ve skupině diabetiků s *HNF1A*-MODY a *HNF4A*-MODY.

2.1. Cíl a význam výzkumné práce

Současná fakta:

- Rutinní testování ostrůvkových autoprotilátek je v klinické praxi doporučeno k odlišení MODY od diabetes mellitus 1. typu.
- Pacienti s pozitivním nálezem ostrůvkových autoprotilátek jsou obvykle vyloučeni z genetického testování na MODY.

Mezinárodně uznávaná diagnostická kritéria MODY zahrnují absenci protilátek proti dekarboxyláze kyseliny glutamové (GAD_{65}) [GADA] a tyrozin fosfatáze-2 (IA-2) [IA2A] (Ellard S. et al., 2008) a dokonce navrhuje použití rutinního testování autoprotilátek před provedením molekulárně genetického vyšetření mutací asociovaných s MODY (McDonald T. J. et al., 2011). Ačkoliv je benefitů diferenciální diagnostiky MODY od jiných typů diabetu mnoho, indikační kritéria pro genetické testování stále nemohou zajistit dostatečnou selektivitu a specifitu, a dokonce mohou vést k vyloučení některých MODY pacientů z testování.

Správná klasifikace diabetes mellitus má v případě MODY bezpochyby obrovský klinický dopad a značný význam pro pacienta a jeho rodinu, jelikož umožňuje přesnější individualizaci léčby, efektivnější stanovení dědičných rizik a monitoring v ambulanci diabetologa, či predikci a screening diabetických komplikací. Významný počet MODY pacientů může být léčen pohodlně tabletami derivátů sulfonylurey namísto injekcí inzulínu. MODY může být predikován na základě genetického testování u potomků probanda a dalších rodinných příslušníků, což umožňuje časnou detekci příznaků rozvíjející se cukrovky a okamžitou léčbu po její manifestaci. Spektrum a prevalence akutních a velmi pravděpodobně i chronických diabetických komplikací se u diabetes mellitus 1. typu a LADA liší v porovnání s konkrétním podtypem MODY.

Prvně jsme na základě případu rodinného výskytu ostrůvkových autoprotilátek (proti GAD_{65} a IA-2) v rodině *HNF1A*-MODY testovali selektivitu ostrůvkových autoprotilátek jako markeru diabetes mellitus 1. typu nebo LADA nad MODY, ve smyslu použití ostrůvkových autoprotilátek u MODY jako univerzálního vylučovacího kritéria v diferenciální diagnostice diabetes mellitus. A to ve snaze snížit náklady na zdravotní péči, jelikož nesprávná interpretace ostrůvkových autoprotilátek může v konečném důsledku vést ke špatné diagnóze, nesprávné léčbě a potencionálně i progresi diabetických komplikací.

Následně jsme se širším výzkumem prevalence ostrůvkové autoimunity u českých MODY pacientů (vybraných ke genetickému testování bez ohledu na titer jejich autoprotilátek) zabývali kinetikou ostrůvkových autoprotilátek v průběhu vzniku a progresu MODY diabetu. Klinickou významnost ostrůvkových autoprotilátek jsme posuzovali v celkovém klinickém kontextu, včetně rozdílů v inzulínové sekreční kapacitě β -buněk, kompenzaci diabetu a odpovědi na léčbu.

2.2. Hypotéza výzkumné práce

Předpokládáme, že sekrece specifických ostrůvkových autoprotilátek u pacientů s MODY může mít dvojí podstatu:

- může signalizovat *koexistenci diabetes mellitus 1. typu* či *LADA* s MODY;
- anebo reflektovat *primárně neautoimunitní destrukci β -buněk aktivující imunitní systém*, jež sekundárně iniciuje protilátkovou sekreci.

Přítomnost ostrůvkových autoprotilátek u pacientů s MODY pak může modifikovat rozvoj a progresi MODY diabetu, což může způsobovat obtíže v diferenciální diagnostice diabetu u dospělých jedinců.

3. METODIKA

Vyšetření pacienti byli indikováni ke genetickému testování na MODY na základě následujících kritérií: rodinná anamnéza diabetes mellitus nejméně ve dvou generacích, vznik diabetu u štíhlých mladistvých nebo dospělých, absence ketoacidózy, zachovalá inzulínová sekrece nebo perzistentní mírná hyperglykémie s nízkým vzestupem glykémie při orálním glukózovém tolerančním testu (oGTT) [pouze u glukokinázových (GCK) mutací]. Studovaná kohorta se skládala z 28 českých MODY pacientů s geneticky potvrzenou diagnózou monogenního diabetu s mutací v *HNF1A*, *HNF4A* nebo *GCK* genu. Psaný informovaný souhlas byl získán od všech pacientů.

Izolace DNA a genetické testování somatických mutací v *GCK*, *HNF4A* a *HNF1A* genech (v sekvencích exonů a flanking intronových oblastí) bylo provedeno pomocí obousměrného Sanger sekvenování (ABI PRISM 3130 genetický analyzátor; Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) jak popsáno (Bazalová Z. et al., 2010). Sérum bylo připraveno jak popsáno (McDonald T. J. et al., 2011); úroveň exprese ostrůvkových autoprotilátek proti GAD₆₅ a IA-2 proteinu tyrosin fosfatázy v primárním séru (bez CaCl₂ nebo trombinu) byla detekována enzymovou imunoassay (Medipan GmbH, Dahlewitz, Germany), kalibrována na referenční materiál NIBSC 97/550. Analytická senzitivita byla 0.8 IU*ml⁻¹ [GAD protilátky (GADA)] a 0.5 IU*ml⁻¹ [IA-2 protilátky (IA-2A)]. Nejzazší klinicky pozitivní hodnota byla 5 IU*ml⁻¹ (GADA) a 10 IU*ml⁻¹ (IA-2A).

K potvrzení senzitivity a specificity použité imunoassaye ve dvou kontrolních kohortách (negativní kohorta se skládala z českých nediabetiků a pozitivní kohorta z českých pacientů s klinicky definovaným diabetes mellitus 1. typu nebo LADA, s lačným imunoreaktivním C-peptidem $< 300 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$) byla použita analytická ROC (Receiver Operating Characteristic) křivka. Byla stanovena maximální odhadovaná pravděpodobnost binormalní ROC křivky z průběžně distribuovaných výsledků testů a plocha pod křivkou z odpovídajících binormálních ROC křivek a kalkulována v programu JLABROC4 v. 1.0.1. Na ROC analýzu jsme použili hrubé číselné hodnoty hladin GADA a IA-2A od MODY pacientů a dvou kontrolních skupin. Navíc jsme použili Fisherův exaktní test pro analýzu shromážděných binárních dat s libovolnou nejvyšší hodnotou 5.0 pro GADA a 10 pro IA-2A; analýza byla provedena v programu PAST v. 2.14.

Ve snaze poskytnout detailní charakteristiku studovaných pacientů jsme posuzovali výsledky opakovaného měření ostrůvkových autoprotilátek provedeného v letech 2004-2013. V době měření protilátek byl stanoven BMI, hladina C-peptidu nalačno a HbA1c. BMI ($\text{kg} \cdot \text{m}^2$) byl kalkulován z výšky a váhy v době měření autoprotilátek. HbA1c byl stanoven pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie na bázi referenční metody IFCC (International Federation of the Clinical Chemistry and Laboratory Medicine) a vyjádřen v jednotkách $\text{mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$ [normální rozmezí $20\text{-}42 \text{ mmol} \cdot \text{mol}^{-1}$, (4.0-6.0 %)] (Maple-Brown L. J. et al., 2013). Lačný sérový C-peptid byl stanoven chemiluminiscentní imunoassay (Immulite 2000; Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, CA, USA) v $\text{pmol} \cdot \text{l}^{-1}$ [normální rozmezí $268\text{-}1274 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$, cut-off $33 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$] (NCCLS). HLA-DRB1 a DQB1 genotyp byl stanoven pomocí PCR (polymerázové řetězové reakce) se sekvenčně specifickými primery (Olerup SSP AB, Stockholm, Sweden), jak popsáno (Černá M. et al., 2003). Data jsou vyjádřena jako průměry \pm směrodatná odchylka (SO) pokud není uvedeno jinak. Provedené testy zahrnují dvouvzorkový *t*-test a jednosměrnou analýzu rozptylu (ANOVA) s Tureckými post-testy. Analýza byla provedena v PAST verzi 2.14.

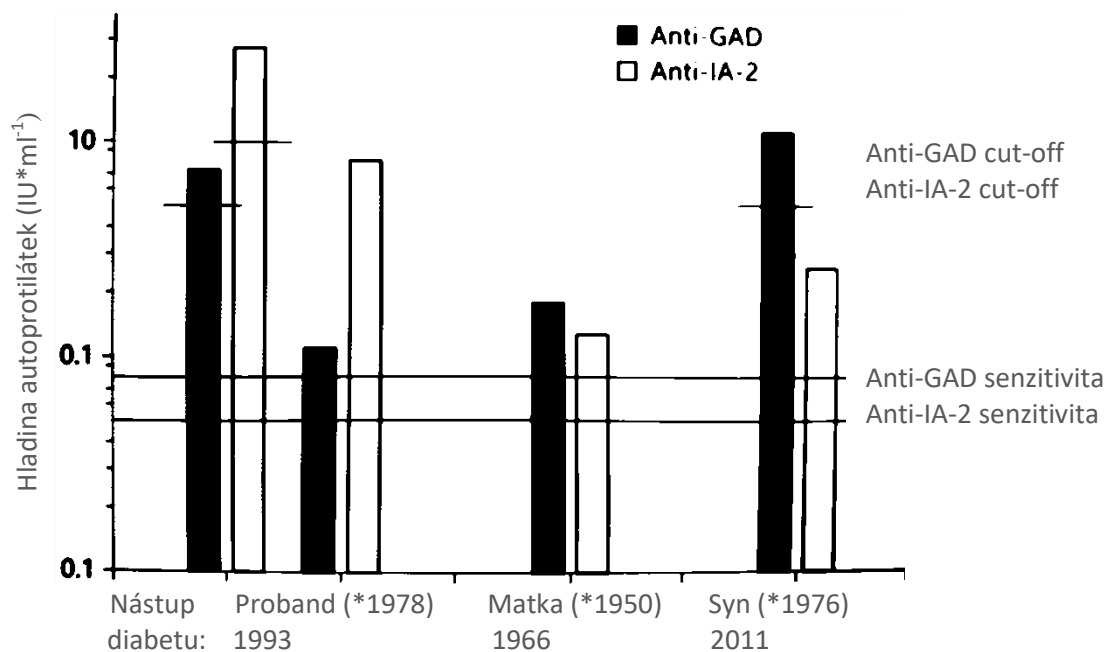
4. VÝSLEDKY

4.1. Familiární výskyt ostrůvkových autoprotilátek u MODY

U tří neobézních příbuzných pacientů ve věku od 14 do 35 let s diagnostikovaným *HNF1A*-MODY (p. Arg159Gln mutace) byla detekovatelná variabilní hladina ostrůvkových autoprotilátek (tj. protilátek proti GAD_{65} nebo IA-2), při nepřítomnosti dalších znaků diabetes mellitus 1. typu (Graf 1). Všichni pacienti měli dlouhodobě měřitelnou hladinu lačného C-peptidu, ketoacidóza se neobjevila ani v dobách spontánního vysazení inzulínu a u nikoho z nich nebyla zaznamenána plná dependence na zevním podávání inzulínu, ačkoliv bylo dosaženo lepší kompenzace, pokud byl inzulín podáván. Průběh onemocnění byl podobný jako u *HNF1A*-MODY pacientů bez ostrůvkových autoprotilátek.

Proband byl v roce 2007 pozitivní na obě testované ostrůvkové autoprotilátky (14 let od vzniku diabetu) a když bylo měření v roce 2011 opakováno, klesly pod hranici klinické positivity (18 let od vzniku diabetu), byly však stále nad limitem pro analytickou senzitivitu. Bratr probanda měl v době vzniku diabetu (v roce 2011) pozitivní GADA; IA-2A byly detekovatelné, ale pod hranicí klinické positivity. Matka probanda měla detekovatelné hodnoty obou testovaných autoprotilátek, ale ani jedna z nich nepřesáhla hranici klinicky významné positivity, což může být důsledek dlouhé doby, jež od vyšetření uběhla (45 let od vzniku diabetu).

Graf 1. Hodnota ostrůvkových autoprotilátek proti GAD_{65} (anti-GAD) a IA-2A proteinu tyrozin fosfatáze (anti-IA-2) u probanda a jejích příbuzných.



4.2. Diskriminace mezi MODY a diabetes mellitus 1. typu

Pozitivita ostrůvkových autoprotilátek neumožnila rozlišit mezi pacienty s MODY a diabetes mellitus 1. typu

Při porovnání kohorty MODY pacientů a kohorty pacientů s diabetes mellitus 1. typu a LADA ROC analýza odhalila, že pozitivita ostrůvkových autoprotilátek neumožňuje rozlišit mezi MODY a diabetes mellitus 1. typu (Tabulka 1), navzdory skutečnosti, že prevalence pacientů s pozitivními autoprotilátkami byla významně vyšší ve skupině pacientů s diabetes mellitus 1. typu než u MODY skupiny (Tabulka 1).

Tabulka 1. Statistická analýza údajů o anti-GAD (GADA) a anti-IA2 (IA2A) [AUC (plocha pod křivkou) ± směrodatná odchylka (S.D.)]

Skupina 1 (pozitivní)	n1	Skupina 2 (negativní)	n2	AUC ± S.O.	p hodnota
GADA					
MODY	28	Ne-diabetici	89	0.505 ± 0.095	0.002
DM1T nebo LADA	91	Ne-diabetici	89	0.704 ± 0.048	< 0.001
DM1T nebo LADA	28	MODY	91	0.672 ± 0.205	0.029
IA2A					
MODY	28	Ne-diabetici	88	0.667 ± 0.083	> 0.05
DM1T nebo LADA	91	Ne-diabetici	88	0.622 ± 0.061	< 0.001
DM1T nebo LADA	28	MODY	91	0.508 ± 0.061	0.004
GADA a IA2A					
MODY	28	Ne-diabetici	88	N / A	> 0.05
DM1T nebo LADA	91	Ne-diabetici	88	N / A	< 0.001
DM1T nebo LADA	28	MODY	91	N / A	> 0.05
GADA nebo IA2A					
MODY	28	Ne-diabetici	89	N / A	0.003
DM1T nebo LADA	91	Ne-diabetici	89	N / A	<0.001
DM1T nebo LADA	28	MODY	91	N / A	0.001

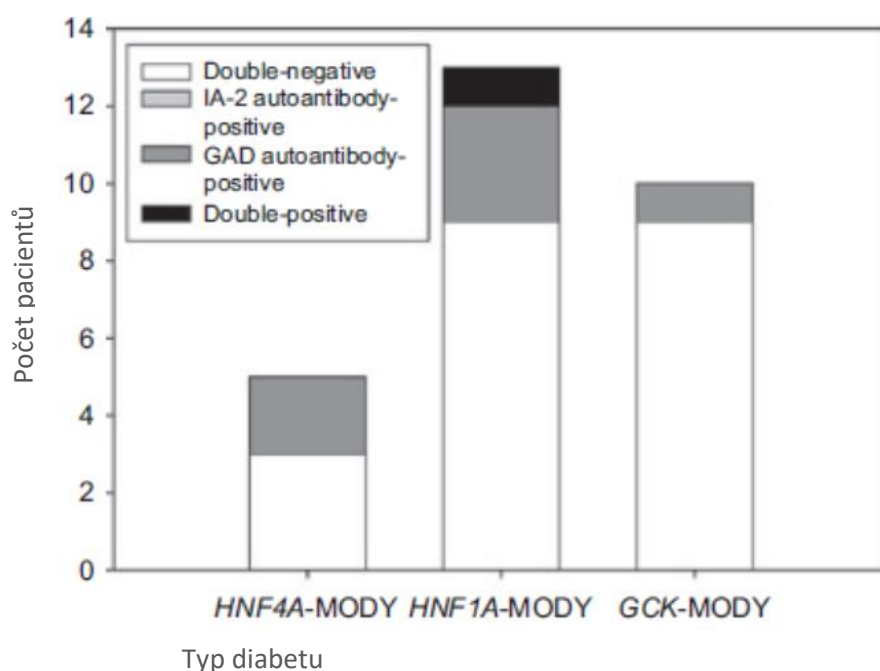
Zahrnutý jsou: AUC (area under the curve – plocha pod křivkou) hodnoty ± S.O. (směrodatná odchylka) vycházející z analýzy křivky ROC (receiver operating characteristic), a p hodnoty Fisherova exaktního testu.

MODY – maturity onset diabetes of the young; GADA – autoantikéla proti dekarboxyláze kyseliny glutamové; IA2A – autoantikéla proti tyrozin fosfatáze; DM1T – diabetes mellitus 1. typu, LADA – latent autoimmune diabetes in the adults

4.3. Prevalence ostrůvkových autoantikéla u pacientů s MODY

Sedm pacientů (7/28; 25%) bylo pozitivních na ostrůvkové autoantikéla během alespoň jednoho měření, provedeného v letech 2004-2013 (Graf 2). Všechny sedm pacientů měli anti-GAD₆₅ antikéla, zatímco u jednoho byla prokázána dvojitá pozitivita na obě testované autoantikéla, anti-GAD₆₅ i anti-IA-2. Pozitivita ostrůvkových autoantikéla byla prokázána u 4/13 (31%) pacientů s *HNF1A*-MODY, u 2/5 (40%) s *HNF4A*-MODY, ale pouze u jediného pacienta z 10 s *GCK*-MODY (10%). Expres ostrůvkových autoantikéla nebyla přidružena k žádnému typu mutace. Kromě již zmíněné rodiny, jsme nezaznamenali jiný případ familiárního výskytu ostrůvkových autoantikéla.

Graf 2. Incidence autoprotilátek u pacientů s HNF4A-MODY, HNF1A-MODY a GCK-MODY.



Double-negative – negativní pro obě ostrůvkové autoprotilátky; IA-2 autoantibody-positive – pozitivní na IA2A; GAD autoantibody-positive – pozitivní na GADA; double-positive – pozitivní pro obě obě ostrůvkové autoprotilátky; GADA – autoprotilátky proti dekarboxyláze kyseliny glutamové; IA2A – autoprotilátky proti tyrozin fosfatáze; MODY – maturity onset diabetes of the young; HNF1A – hepatální nukleární faktor 1 α ; HNF4A – hepatální nukleární faktor 4 α ; GCK – glukokináza

Hladina ostrůvkových autoprotilátek se měnila s časem

Po detekci autoprotilátek jsme zaznamenali, že buď perzistují několik let na přibližně stejné či nižší hodnotě anebo později zcela vymizí. Zajímavé je, že u jednoho pacienta se autoprotilátky objevily až za 34 let po vzniku diabetu. Průměrný čas, který uběhl od diagnostiky diabetu k detekci ostrůvkových autoprotilátek, byl 16.3 ± 10.1 let.

Expese ostrůvkových autoprotilátek neovlivnila fenotyp nemoci

Všichni pacienti s ostrůvkovými autoprotilátkami splnili typická klinická MODY kritéria, byli neobézní (BMI 24.7 ± 4.4 kg*m²), neprodělali žádnou epizodu ketoacidózy, měli zachovalou endogenní inzulínovou sekreci (měřitelný lačný C-peptid) a byli citliví na deriváty sulfonylurey (HNF1A-MODY a HNF4A-MODY). Terapie se lišila u každého pacienta v obou kohortách; zaznamenali jsme však vyšší inzulín-dependenci u pacientů ostrůvkovými autoprotilátkami s dlouhým trváním diabetu (Tabulka 2.).

Tabulka 2. Porovnání sledovaných parametrů u pacientů pozitivních a negativních na ostrůvkové autoprotilátky.

Charakteristiky	S ostrůvkovými autoprotilátkami (n = 7)	Bez ostrůvkových autoprotilátek (n = 21)
Pohlaví		
Muž	3	7
Žena	4	14
Typ diabetes mellitus		
- HNF4A-MODY	2	3
- HNF1A-MODY	4	9
- GCK-MODY	1	9
Věk v době vzniku diabetes mellitus [roky]		
- HNF4A-MODY	31 ± 15	18 ± 7
- HNF1A-MODY	26 ± 1	17 ± 11
- GCK-MODY	30 ± 18	17 ± 3
- GCK-MODY	47	19 ± 8
Trvání diabetu [roky]*	16.1 ± 10.2	13.6 ± 12.1
BMI [kg*m²]	24.7 ± 4.4	24.8 ± 4.1
HbA1c [mmol*mol⁻¹]	84 ± 15	56 ± 13
- HNF4A-MODY	90 ± 4	55 ± 12
- HNF1A-MODY	91 ± 14	64 ± 14
- GCK-MODY	56 ± 0	47 ± 4
Lačný C-peptid [pmol*l⁻¹]	356.7 ± 184.8	349.4 ± 185.8
Episody ketoacidózy [počet pacientů]	1	0
Typ léčby		
- Dieta	0	9
- PAD	4	6
- Inzulín (IIT)	1	6
- PAD + inzulín	2 **	0

MODY – maturity onset diabetes of the young; HNF1A – hepatální nukleární faktor 1α; HNF4A – hepatální nukleární faktor 4α; GCK – glukokináza; BMI – body mass index; HbA1c – glykovaný hemoglobin; IIT – intenzifikovaný inzulínový režim, PAD – perorální antidiabetika; SUR - deriváty sulfonylurey

* Délka trvání diabetu je vyjádřena jako počet let uplynulých mezi dobou manifestace a stanovením autoprotilátek. * * Kombinace SUR + NPH inzulín (středně dlouze působící humánní inzulín) nebo metformin + IIT.

Jedinou výjimkou byl pacient, jehož fenotyp kombinoval *HNF4A*-MODY a diabetes mellitus 1. typu po úplné ztrátě vlastní endogenní inzulínové sekrece za 24 let po manifestaci diabetu. Tento jediný pacient prodělal několik epizod ketoacidózy a byl plně inzulín-dependentní.

HLA rizikový genotyp byl v naší skupině pacientů pozorován zřídka (3/28; 11%); pouze jeden z pacientů, který měl rizikový HLA genotyp (HLA-DRB1*03,07, HLA-DQB1*02,0303) patřil ke kohortě pacientů s ostrůvkovými autoprotilátkami.

Diabetes se u pacientů s ostrůvkovými autoprotilátkami manifestoval později

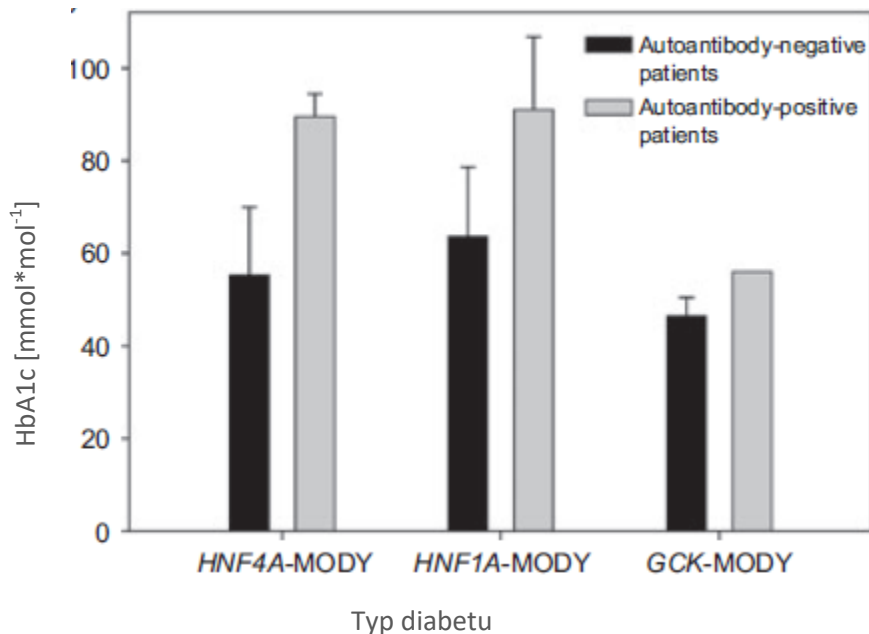
Diabetes se u pacientů s ostrůvkovými autoprotilátkami manifestoval později v porovnání s pacienty bez autoprotilátek (31.4 ± 15.2 vs. 18.0 ± 6.9 let věku). Pozorované rozdíly byly signifikantní (jednosměrná ANOVA $P < 0.001$; d.f.₍₁₎ = 5; d.f.₍₂₎ = 74; $F = 5.07$; Turecký post-test BMI: $P > 0.05$; $q = 0.043$; trvání diabetu $P > 0.05$, $q = 0.656$; věk v době manifestace diabetu $P < 0.01$; $q = 5.158$).

Expese autoprotilátek se měnila s úrovní glykemické kompenzace

Expese ostrůvkových autoprotilátek se měnila s úrovní glykemické kompenzace [stanovené na základě hodnoty HbA1c] (Graf 3). Pacienti s autoprotilátkami dosahovali signifikantně vyšší hodnoty HbA1c v porovnání s pacienty bez autoprotilátek (dvouvzorkový t -test $P < 0.001$, $n_1 = 20$, $n_2 = 7$, $t = -4.662$).

HbA1c u *HNF4A*-MODY pacientů s autoprotilátkami dosahoval 90 ± 4 mmol* mol^{-1} vs. 55 ± 12 mmol* mol^{-1} u pacientů bez autoprotilátek. Podobný rozdíl byl patrný ve skupině *HNF1A*-MODY pacientů s autoprotilátkami [91 ± 14 mmol* mol^{-1} vs. pouze 64 ± 14 mmol* mol^{-1} u pacientů bez autoprotilátek], a *GCK*-MODY pacientů s autoprotilátkami [56 mmol* mol^{-1} vs. pouze 47 ± 4 mmol* mol^{-1} u pacientů bez autoprotilátek]. S lepší se kompenzací diabetu (při klesajícím HbA1c) se hladina autoprotilátek následně snížila nebo protilátky úplně vymizely. Nebyly přítomny žádné rozdíly v beta-buněčné sekreční funkci, jak uvedeno hodnotou lačného C-peptidu [356.7 ± 184.8 u pacientů s autoprotilátkami vs. 349.4 ± 185.8 pmol* l^{-1} bez protilátek] (dvouvzorkový t -test $P > 0.05$, $n_1 = 14$, $n_2 = 7$, $t = 0.666$).

Graf 3. Hodnota HbA1c u pacientů s protilátkami (autoantibody-positive) a bez protilátek (autoantibody-negative) s HNF4A-MODY, HNF1A-MODY a GCK-MODY.



HbA1c – glykovaný hemoglobin; autoantibody-negative patients – pacienti s ostrůvkovými autoprotiilátkami; autoantibody-positive patients – pacienti bez ostrůvkových autoprotiilátek; HNF4A – hepatální nukleární faktor 4 α ; HNF1A – hepatální nukleární faktor 1 α ; GCK – glukokináza; MODY – maturity onset diabetes of the young

5. DISKUZE

Nález ostrůvkových autoprotiilátek u pacientů s MODY je překvapivý, jelikož monogenní typy diabetu jsou tradičně spojovány s absencí specifických ostrůvkových autoprotiilátek, a na tomto tvrzení jsou též postavena diagnostická kritéria MODY a rozhodnutí o provedení molekulárně genetického vyšetření k verifikaci diagnózy (Ellard S. et al., 2008, McDonald T. J. et al., 2011).

Vlastní příčina autoprotiilátkové sekrece u MODY může vyplývat ze vzájemné koexistence MODY s diabetes mellitus 1. typu, včetně LADA. Avšak z celého souboru MODY jedinců s pozitivními autoprotiilátkami se pouze u jediného pacienta [pacienta 3] na základě klinického průběhu a sledovaných laboratorních parametrů domníváme, že by se skutečně mohlo jednat o paralelní manifestaci LADA u HNF4A-MODY (vysoký titr GADA, pozvolný pokles inzulínové sekreční kapacity β -buněk vedoucí k úplné inzulínodeficienci v průběhu více než 20 let, opakované epizody diabetické ketoacidózy a nutnost dramatické titrace dávek inzulínu, rychlá progresse mikrovaskulárních diabetických komplikací). Naopak u drtivé většiny pacientů (tj. s jedinou výjimkou – pacienta 3) jsme po celé sledované období

nezaznamenali klinický vývoj (ani typické laboratorní markery) nasvědčující postupné manifestaci diabetes mellitus 1. typu s naprostou inzulínodpendencí.

Domníváme se proto, že v těchto případech ostrůvkové autoprotilátky nenaznačují probíhající autoimunitní intrainzulární zánět, resp. počínající diabetes mellitus 1. typu. Naopak zjištěná souvislost autoprotilátkové sekrece se zhoršením glykemické kompenzace může spíše reflektovat probíhající destrukci pankreatických β -buněk z jiných než autoimunitních příčin. Takovou β -buněčnou destrukci považujeme za příčinu námi pozorovaného autoimunitního procesu, nikoliv za její následek. Z dlouhodobého hlediska tato destrukce nemusí být kvantitativně signifikantní, jelikož stabilní hladina C-peptidu detekovaná v průběhu studijního období, svědčí pro stálou a zachovalou sekreční rezervu β -buněk.

Prakticky jakýkoliv destruktivní proces postihující Langerhansovy ostrůvky může potencionálně zapříčinit expresi autoprotilátek. Kauzální faktory mohou např. zahrnovat: *a*) infekční agens (pankreatotropní virová infekce) (Leslie R. D. G. et al., 1999), *b*) toxický metabolický efekt hyperglykémie a dyslipidémie (Mandrup-Poulsen T., 2001; Němcová-Fürstová V. et al., 2011), *c*) prolongovaná nadměrná funkční stimulace a námaha (Prentki M. & Nolan C. J., 2006) nebo *d*) defektní buněčný obrat ve spojitosti s mutací v genech pro transkripční faktory *HNF1A* nebo *HN4A* (Uchizono Y. et al., 2009). Mechanismus vedoucí ke vzniku autoprotilátek v průběhu MODY vyžaduje další bádání.

Studie zároveň zpochybňuje selektivitu specifických ostrůvkových autoprotilátek jako výlučného markeru diabetes mellitus 1. typu nebo LADA ve srovnání s MODY. Data získaná od naší kontrolní nediabetické kohorty se shodují s dříve reportovanými údaji o nízké prevalenci ostrůvkových autoprotilátek ve zdravé populaci, jež jsou exprimované u pouhého 0,1% nediabetické populace (individuálně přibližně 1%) (Leslie R. D. G. et al., 1999). Naopak prevalencí GADA anebo IA-2A u diabetes mellitus 1. typu je odhadována na 87-94% (Leslie R. D. G. et al., 1999), klesající s progresí diabetu. V naší kontrolní kohortě pacientů s diabetes mellitus 1. typu a LADA však byla senzitivita nižší (do 60%). Jelikož výše titru přesahovala cut-off hranici používanou v klinické praxi k diagnostice diabetes mellitus 1. typu, může mít tento nález dopad na běžnou diferenciací diagnostickou rozvahu.

Vysoká frekvence MODY pacientů s ostrůvkovými autoprotilátkami ve střední Evropě (Urbanová J. et al., 2013; Schober E. et al., 2009) a také náhodné případy odjinud (Ortega-Rodriguez E. et al., 2001; Borg H. et al., 2002; Aguilera E. et al., 2005; Bowden S. A. & Hoffman R. P., 2008; Maltoni G. et al., 2012; Calcaterra V. et al., 2012) ukazují, že existuje alespoň jeden region s vysokou incidencí autoprotilátek u pacientů s MODY (Německo, Rakousko, Česká republika).

6. ZÁVĚR

Prokázali jsme vysokou prevalenci specifických ostrůvkových autoprotilátek mezi pacienty s třemi nejběžnějšími subtypy MODY (*HNF1A*-MODY, *HNF4A*-MODY i *GCK*-MODY). Predominantní autoprotilátkou ze dvou rutině testovaných v klinické praxi, byla GADA. Detekce ostrůvkových autoprotilátek byla spojena s manifestací diabetu v pozdějším věku a horší kontrolou diabetu, aniž by došlo k progresivnímu poklesu sekreční schopnosti β -buněk a potřebě výraznější intenzifikace stávající antidiabetické terapie. Hladina autoprotilátek navíc dynamicky fluktovala v čase a korespondovala s měnící se úrovní glykemické kompenzace.

Detekce ostrůvkových autoprotilátek u pacientů s diabetes mellitus může lékaře odradit od genetického testování monogenních forem diabetu a určení skutečně správné diagnózy, a v konečném důsledku vést ke zbytečné iniciaci inzulinoterapie a opomenutí predikce vzniku diabetu u rodinných příslušníků pacienta.

Nové pohledy:

- Ostrůvkové autoprotilátky jsou přítomny u širokého spektra pacientů s MODY.
- Familiární výskyt ostrůvkových autoprotilátek je u MODY pacientů možný.
- Ostrůvkové autoprotilátky jsou u MODY asociované s pozdním nástupem diabetes mellitus a nedostatečnou glykemickou kompenzací.
- Výskyt ostrůvkových autoprotilátek není doprovázen současným signifikantním poklesem inzulinové sekrece.
- Transientní kinetika exprese ostrůvkových autoprotilátek u MODY může reflektovat změny v glykemické kompenzaci (dané hodnotou HbA1c) a potenciálně též beta-buněčnou destrukci na jiném než autoimunitním podkladě.

Přínos práce:

- Zpochybňujeme relevanci ostrůvkových autoprotilátek jako markeru výlučně autoimunitní destrukce beta-buněk.
- Vyloučení absence ostrůvkových autoprotilátek z indikačních kritérií ke genetickému vyšetření na MODY by mohlo vést k rozšíření spektra molekulárně geneticky vyšetřených diabetiků a potenciálně většímu záhytu MODY pacientů ukrývající se ve skupině pacientů s diabetes mellitus 1. typu.

7. POUŽITÁ LITERATURA

Aguilera E, Casamitjana R, Ercilla G, Oriola J, Nicoletti F, Gomis R, et al.: Clinical characteristics, β -cell function, HLA class II and mutations in MODY genes in non-paediatric subjects with Type 1 diabetes without pancreatic autoantibodies. *Diabet Med* 2005; 22: 137–143.

Bazalová Z, Rypáčková B, Brož J, Brunerová L, Polák J, Rušavý Z, Trešlová L, Anděl M: Three novel mutations in MODY and its phenotype in three different Czech families. *Diabetes Res Clin Pract* 2010; 88; 132–138.

Bonifacio E, Bingley PJ, Shattock M, Dean BM, Dunger D, Gale EA, et al.: Quantification of islet-cell antibodies and prediction of insulin-dependent diabetes. *Lancet* 1990; 335: 147-149.

Borg H, Gottsäter A, Fernlund P, Sundkvist G: A 12-year prospective study of the relationship between islet antibodies and beta-cell function at and after the diagnosis in patients with adult-onset diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 1754-1762.

Bowden SA, Hoffman RP: Triple diabetes: coexistence of type 1 diabetes mellitus and a novel mutation in the gene responsible for MODY3 in an overweight adolescent. *Pediatr Diabetes* 2008; 9: 162–164.

Brunerová L, Brož J, Průhová Š, Lebl J, Anděl M. Maturity-onset diabetes of the young 3 (MODY3). *DMEV* 2006; 2: 53-56.

Calcaterra V, Martinetti M, Salina A, Aloï C, Larizza D: The coexistence of type 1 diabetes, MODY2 and metabolic syndrome in a young girl. *Acta Diabetol* 2012; 49: 401-404.

Černá M, Novota P, Kolostová K, Čejková P, Žďárský E, Nováková D, et al.: HLA in Czech adult patients with autoimmune diabetes mellitus: comparison with Czech children with type 1 diabetes and patients with type 2 diabetes. *Eur J Immunogenet* 2003; 30: 401-407.

de Leiva A, Dídac M, Corcoy R: Diabetes-Related Autoantibodies and Gestational Diabetes. *Diabetes Care* 2007; 30: 127-113.

Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT: Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* 2008; 51: 546-553.

Fajans SS, Bell GI, Polonsky KS: Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young. *N Engl J Med* 2001; 345: 971-980

Kawasaki E, Abiru N, Yano M, Uotani S, Matsumoto K, Matsuo H, et al.: Autoantibodies to glutamic acid decarboxylase in patients with autoimmune thyroid disease: relation to competitive insulin autoantibodies. *J Autoimmun* 1995; 8: 633-43.

Leslie RDG, Atkinson MA, Notkins AL: Autoantigens IA-2 and GAD in Type I (insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 1999; 42: 3-14.

Mandrup-Poulsen T. Beta-cell apoptosis: Stimuli and signaling. *Diabetes* 2001; 50: 58-63.

Maltoni G, Zucchini S, Scipione M, Mantovani V, Salardi S, Cicognani A: Onset of type 1 diabetes mellitus in two patients with maturity onset diabetes of the young. *Pediatr Diabetes* 2012; 13: 208–212.

Maple-Brown LJ, Ye C, Retnakaran R: Area-under-the-HbA_{1c}-curve above the normal range and the prediction of microvascular outcomes: an analysis of data from the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabet Med* 2013; 30: 95-99.

McDonald TJ, Colclough K, Brown R, Shields B, Shepherd M, Bingley P, Williams A, Hattersley AT, Ellard S: Islet autoantibodies can discriminate maturity-onset diabetes of the young (MODY) from Type 1 diabetes. *Diabet Med* 2011; 28: 1028-1033.

Molven A, Njolstad PR: Role of molecular genetics in transforming diagnosis of diabetes mellitus. *Expert Rev Mol Diagn* 2011; 11: 313–320.

NCCLS. Protocols for the determination of limits of detection and limits of quantification; approved guideline. NCCLS document EP17-A. Vol. 24, No. 34. NCCLS, Wayne, PA, 2004. Available from <<http://www.abrf.org/index.cfm?method=list.getAttachment&disclaimerAck=1&msg=83913&att=688>>, cited as 12 Feb 2013.

Němcová-Fürstová V, James RFL, Kovář J: Inhibitory effect of unsaturated fatty acids on saturated fatty acid-induced apoptosis in human pancreatic β -cells: Activation of caspases and ER stress induction. *Cell Physiol Biochem* 2011, 27:525-538.

Ortega-Rodriguez E, Levy-Marchal C, Guillermine S, Polak M: Beta-cell autoimmunity in a child with M.O.D.Y. (Maturity Onset Diabetes in the Young). *Diabetes Metab* 2001; 27: 59-61.

Owen K, Hattersley AT: Maturity-onset diabetes of the young: from clinical description to molecular genetic characterization. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2001; 15: 309-323.

Pearson ER, Liddell WG, Shepherd M, Corrall RJ, Hattersley AT: Sensitivity to sulphonylureas in patients with hepatocyte nuclear factor-1 α gene mutations: evidence for pharmacogenetics in diabetes. *Diabet Med* 2000; 17: 543–545.

Pietropaolo M, Barinas-Mitchell E, Pietropaolo SL, Kuller LH, Trucco M: Evidence of islet cell autoimmunity in elderly patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2000; 49: 32-8.

Prentki M, Nolan CJ: Islet β cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2006; 116: 1802–1812.

Pruhova S, Ek J, Lebl J, Sumnik Z, Saudek F, Andel M, Pedersen O, Hansen T. Genetic epidemiology of MODY in the Czech Republic: Novel mutations in the MODY genes HNF-4 α , GCK and HNF-1 α . *Diabetologia* 2003; 46: 291-295.

Schober E, Rami B, Grabert M, Thon A, Kapellen T, Reinehr T, Holl RW: Phenotypical aspects of maturity-onset diabetes of the young (MODY diabetes) in comparison with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) in children and adolescents: experience from a large multicenter database. *Diabet Med* 2009; 26: 466-473.

Servitja JM, Ferrer J: Transcriptional networks controlling pancreatic development and beta cell function. *Diabetologia* 2004; 47: 597-613.

Uchizono Y, Baldwin AC, Sakuma H, Pugh W, Polonsky KS, Hara M: Role of HNF-1 α in regulating the expression of genes involved in cellular growth and proliferation in pancreatic beta-cells. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 84: 19-26.

Urbanová J, Rypáčková B, Kučera P, Anděl M, Heneberg P: Should the negativity for islet cell autoantibodies be used in a prescreening for genetic testing in MODY? The case of autoimmunity-associated destruction of pancreatic β -cells in a family of HNF1A-MODY subjects. *Int Arch Allergy Immunol* 2013; 161: 279-284.

van Deutekom AV, Heine RJ, Simsek S: The islet autoantibody titres: their clinical relevance in latent autoimmune diabetes in adults (LADA) and the classification of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2008; 25: 117-25.

Wang H, Antinozzi PA, Hagenfeldt KA, Maechler P, Wollheim CB: Molecular targets of a human HNF1 alpha mutation responsible for pancreatic beta-cell dysfunction. *EMBO J* 2000; 19: 4257-64.

8. SEZNAM PUBLIKACÍ

1. Publikace, které jsou podkladem disertace

URBANOVÁ, Jana; RYPÁČKOVÁ, Blanka; KUČERA, Petr; ANDĚL, Michal; HENEBERG, Petr: Should the negativity for islet cell autoantibodies be used in a prescreening for genetic testing in MODY? The case of autoimmunity-associated destruction of pancreatic β -cells in a family of HNF1A-MODY subjects. *International Archives of Allergy and Immunology*,2013; 161(3):279-284. **IF 2.403/2011**. ISSN: 1018-2438.

URBANOVÁ, Jana; RYPÁČKOVÁ; PROCHÁZKOVÁ, Zdeňka; KUČERA, Petr; ČERNÁ, Marie; ANDĚL, Michal; HENEBERG, Petr: Positivity for islet cell autoantibodies in patients with monogenic diabetes is associated with later diabetes onset and higher HbA1c level. *Diabetic Medicine*,2014;31(4):466-71. **IF 3.241/2012**. DOI: 10.1111/dme.12314

2. Publikace bez vztahu k tématu dizertace

Vědecké články v zahraničním časopise s IF

URBANOVÁ, J.; ANDĚL, M.; POTOČKOVÁ, J.; KLÍMA, J.; MACEK, J.; PTÁČEK, P.; MAŤOŠKA, V.; KUMŠTÝŘOVÁ, T.; HENEBERG, P. (2015): Half-life of sulfonylureas in HNF1A and HNF4A human MODY patients is not prolonged as suggested by the mouse Hnf1a^{-/-} model. *Current Pharmaceutical Design* 21 (39): 5736-5748; **IF 3,452/2014**. ISSN 1381-6128.

HENEBERG, P; MALÁ, M; YORIJFUJI,T; GAT-YABLONSKIJ, G; LEBENTHAL, Y; TAJIMA, T; NOGAROTO, V; RYPÁČKOVÁ, B; KOCKOVÁ, L; URBANOVÁ, J; ANDĚL, M. Low Frequencies of Autoimmunity-Associated PTPN22 Polymorphisms in MODY Patients, Including Those Transiently Expressing Islet Cell Autoantibodies. *International Archives of Allergy and Immunology*. 2015;166(3):189-98. **IF 2.673/2015**. DOI: 10.1159/000380853.

Vědecké články v českém časopise bez IF

URBANOVÁ, Jana; HOFFMANOVÁ, Iva; ANDĚL, Michal: Manifestace diabetes mellitus 1. typu u 97leté pacientky. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*, 2011, 14(1): 22-24. SJR: 0.026/2011. ISSN 1211-9326.

URBANOVÁ, Jana; BROŽ, Jan. Hypoglykemie u pacientky s diabetes mellitus 2. typu a akutním srdečním selháním léčené intenzifikovaným inzulínovým režimem. *Kazuistiky v diabetologii*. 2012, 10(2): 25-26. ISSN: 1214-231X.

URBANOVÁ, Jana; BROŽ, Jan. Hypoglykemie u pacienta s diabetes mellitus 2. typu léčeného kombinací perorálních antidiabetik. *Kazuistiky v diabetologii*. 2012, 10(2): 27-28. ISSN: 1214-231X.

BROŽ, Jan; URBANOVÁ, Jana. Fatální hypoglykemie u pacienta s diabetes mellitus 2. typu léčeného deriváty sulfonylurey. *Kazuistiky v diabetologii*. 2012, 10(2):23-24. ISSN: 1214-231X.

BROŽ, Jan; JANÍČKOVÁ-ŽDÁRSKÁ, Denisa; URBANOVÁ, Jana. Hypoglykémie a diabetes mellitus 1. typu pro praxi. *Postgraduální medicína*. 2013, 15(9): 1008-1009. ISSN: 1212-4184.

ANDĚL, Michal; NĚMCOVÁ, Vlasta; PAVLÍKOVÁ, Nela; URBANOVÁ, Jana; ČECHÁKOVÁ, Marie; HAVLOVÁ, Andrea; STARKOVÁ, Radka; VEČEŘOVÁ, L; MANDYS, V; KOVÁŘ, J; HENEBERG, Petr; TRNKA, Jan; POLÁK, Jan. Faktory vedoucí k poškození a destrukci B-buněk Langerhansových ostrůvků pankreatu. *Vnitřní Lékařství*, 2014; 60(9): 684-690. ISSN: 1211-9326; 1212-6853 (elektronická verze).