

# Diabetes Mellitus Neonatal Associada a Mutações no Gene *KCNJ11*: Breve Revisão do Tema e Apresentação de um Caso Clínico

J. Dupont<sup>1</sup>, C. Pereira<sup>2</sup>, A. Medeira<sup>1</sup>, R. Duarte<sup>3</sup>, L. Sampaio<sup>2</sup>

1- Serviço de Genética, Hospital de Santa Maria, Lisboa

2- Unidade de Endocrinologia Pediátrica, Hospital de Santa Maria, Lisboa

3- APDP, Associação Protectora dos Diabéticos de Portugal

## Resumo

A Diabetes mellitus neonatal permanente (DMNP) é uma forma rara de diabetes diagnosticada nos primeiros seis meses de vida. Mutações activadoras no gene *KCNJ11*, que codifica a subunidade Kir6.2 do canal de potássio sensível a ATP, e que desempenha um papel fulcral na regulação da secreção de insulina, são causas comuns de DMNP de transmissão autossómica dominante. A maioria dos afectados representa casos isolados, resultantes de mutações *de novo*. Em aproximadamente 20% dos doentes existem quadros neurológicos associados: a forma mais grave, caracterizada por epilepsia e atraso do desenvolvimento, é denominada Síndrome DEND e a forma mais ligeira, com atraso do desenvolvimento menos marcado e sem epilepsia, é designada Síndrome DEND intermédia. Na maioria dos indivíduos com mutações no gene *KCNJ11* a transição de insulina para sulfonilureas (SU) tem sido bem sucedida. Igualmente foram descritos casos com melhoria variável da função neurológica na sequência de uma transição bem sucedida. Apresentamos o caso de uma menina de 12 anos (*proband*) com DMNP, e mutação identificada no gene *KCNJ11* (R201C). Nos antecedentes pessoais há a destacar prematuridade e atraso do desenvolvimento psicomotor moderado. A mutação identificada foi herdada da mãe, também com diagnóstico de DMNP. A transição de insulina para SU foi realizada com sucesso na *proband*, no entanto sem melhorias no desempenho cognitivo apesar do bom controlo metabólico alcançado. A tentativa de substituição revelou-se ineficaz na mãe, que mostrou resistência às SU. Descrevemos a nossa experiência na transição terapêutica de insulina para sulfonilureas nesta família. Pensamos que este é o primeiro doente português reportado com uma transição bem sucedida.

## INTRODUÇÃO

A Diabetes mellitus neonatal afecta aproximadamente 1:300,000-400,000 recém nascidos. Caracteriza-se por hiperglicemia e níveis baixos de insulina com consequências metabólicas potencialmente devastadoras no neonato. Clinicamente classifica-se em dois grupos principais: Diabetes neonatal transitória (DMNT) e Diabetes mellitus neonatal permanente (DMNP), os quais diferem na duração da neces-

## Abstract

Permanent neonatal diabetes mellitus (PNDM) is a rare form of diabetes diagnosed within the first six months of life. Heterozygous activation mutations in the Kir6.2 subunit (*KCNJ11*) of the ATP-sensitive potassium channel ( $K_{ATP}$ ), which acts as a key role in insulin secretion regulation, are common causes of PNDM. The majority of the probands represent isolated cases resulting from *de novo* mutations. Around 20% of the patients have associated neurologic findings: the most severe form, which includes epilepsy and developmental delay, is called DEND syndrome and the milder form, with less severe developmental delay and without epilepsy, is designated intermediate DEND syndrome. Patients with Kir6.2 mutations have been successfully transitioned from insulin to sulfonylurea (SU) therapy. Furthermore, there have been cases reporting with variable improvement in neurological function following a successful switching. We describe a 12-year-old Portuguese girl with PNDM due to the previously reported R201C mutation in *KCNJ11* gene. Her medical history includes prematurity and moderate developmental delay. The mutation was inherited from her mother who has isolated PNDM. The patient was successfully transferred from insulin to SU, whereas her mother showed SU resistance. Despite the good glycaemic control achieved, no improvements in the cognitive performance were verified. We present our experience in switching treatment from insulin to oral sulfonylureas in this family. To our knowledge this is the first Portuguese patient reported with successful transition to sulfonylureas treatment.

sidade de insulinoterapia. A DMNT representa 50-60% dos casos de diabetes neonatal, com resolução espontânea no período postnatal, até aos 18 meses de vida. A DMNP é menos frequente e está definida como a diabetes que tem início nos primeiros seis meses de vida e persiste ao longo da vida. Não é possível clinicamente diferenciar entre os dois grupos. Neste sentido as recentes descobertas dos principais genes envolvidos na DMNP têm auxiliado na identificação precoce destes subgrupos. A compreensão dos mecanismos moleculares subjacentes associados a DMNP também teve aplicações terapêuticas importantes, possibilitando a transição eficaz de insulina para as sulfonilureas em muitos dos afectados. Actualmente existem cinco genes identificados, responsáveis por DMNP<sup>(1-6)</sup>. Mutações no gene *KCNJ11* (Kir6.2) são responsáveis por aproximadamente 33 a 50% dos casos<sup>(3,7,8)</sup>. A DMNP causada por mutações no gene *KCNJ11*,

### Correspondência:

Juliette Dupont  
Serviço de Genética, Hospital de Santa Maria  
Av. Prof. Egas Moniz  
1649-035 Lisboa  
Fax: 217805586  
E-mail: jdupontg@gmail.com

com padrão de transmissão autossómico dominante, é um dos exemplos que melhor ilustra a ligação entre a farmacogenética e a prática clínica. Este gene codifica a subunidade Kir6.2 do canal de potássio das células beta pancreáticas, o qual tem um papel essencial na regulação da secreção de insulina. Mutações nesta subunidade resultam numa desregulação da secreção de insulina, com diminuição persistente dos níveis perante valores glicémicos elevados<sup>(3,9,10)</sup>. As sulfonilureas (SU) conseguem contornar o defeito molecular e regular a actividade do canal de potássio aumentando a secreção de insulina em resposta ao metabolismo glicídico<sup>(15)</sup>. Sendo possível na maioria dos casos substituir a terapêutica com insulina por SU, e obter um adequado controlo metabólico melhorando a qualidade de vida destes doentes<sup>(11,12,16-18)</sup>. Até a data mais de 30 mutações patogénicas têm sido identificadas no gene *KCNJ11*. A maioria estão associadas a DMNP; no entanto algumas, funcionalmente menos graves, são responsáveis por quadros transitórios, existindo uma aparente correlação genotipo fenotipo<sup>(7,8,10-12)</sup>. Em 20% dos afectados estão presentes manifestações neurológicas concomitantes, sendo a forma mais grave a Síndrome DEND (*developmental delay, epilepsy, and neonatal diabetes*), e a mais ligeira a Síndrome DEND intermédia, com atraso de desenvolvimento menos acentuado e sem epilepsia<sup>(12,13)</sup>. A gravidade da situação e a presença ou não de manifestações neurológicas associadas depende da natureza da mutação subjacente<sup>(14)</sup>. As mutações que determinam uma maior desregulação da actividade normal do canal de potássio são responsáveis por fenótipos mais graves<sup>(14)</sup>.

Descrevem-se os achados clínicos e moleculares de uma criança de 12 anos de idade e da sua mãe, ambas com diagnóstico de DMNP e mutação identificada no gene *KCNJ11*. Apresentamos a nossa experiência durante a substituição terapêutica de insulina por sulfonilureas.

## CASO CLÍNICO

A mãe da nossa *proband*, actualmente com 33 anos de idade, foi diagnosticada aos 17 dias de vida com diabetes neonatal. Iniciou insulino-terapia nessa altura; porém, desde muito cedo houve um controlo deficiente da doença. O desenvolvimento psicomotor foi aparentemente normal, alcançando o 9º ano de escolaridade. Constataram-se uma pobre adesão à terapêutica com vários episódios de descompensação diabética e comportamentos de risco, assim como complicações microangiopáticas precoces, nomeadamente, retinopatia proliferativa, nefropatia diabética, e neuropatia periférica e autonómica.

Foi vigiada em Consulta de Medicina Materno Fetal aos 20 anos de idade, por gravidez de alto risco. As ecografias prenatais realizadas, incluindo ecocardiograma fetal, não revelaram alterações. Foi realizada cesariana de urgência por pie-lonefrite aguda às 34 semanas de idade gestacional.

A nossa *proband* nasceu com peso de 2050g (P25), perímetro cefálico de 30cm (P10-25), comprimento de 43cm (P5-10) e um índice de Apgar de 9/10. Os antecedentes familiares, à excepção da diabetes materna e diabetes tipo 2

no avô materno, eram irrelevantes. Durante as primeiras horas de vida verificaram-se hiperglicemias sintomáticas (260-340mg/dl) de difícil controlo, tendo sido iniciada insulino-terapia. Ao exame objectivo não apresentava alterações neurológicas, a excepção de discreto clonus dos pés, ou dismorfias. A investigação realizada evidenciou níveis reduzidos de péptido C (0.3 mmol/l), autoanticorpos associados à diabetes tipo I negativos, fundoscopia e ecografia transfontanelar sem alterações. Foram ainda excluídas a dissomia uniparental do cromossoma 6, e duplicações na região 6q24. Apesar do rigoroso controlo terapêutico e glicémico instituídos, foram documentados frequentes episódios de hipoglicemia nos primeiros meses de vida. Teve alta aos 5 meses, com reinternamento por descompensação metabólica grave aos 9 meses. Devido a negligência parental foi entregue a uma instituição no primeiro ano de vida, onde tem permanecido até hoje. Actualmente apresenta um adequado desenvolvimento estatural ponderal, desenvolvimento pubertário adequado, e um défice cognitivo moderado. Cursa a terceira classe com *curriculum* adaptado, e está medicada com Risperidona por Perturbação de Hiperactividade e Déficit de Atenção.

Recentemente, o estudo molecular do gene *KCNJ11* evidenciou a presença da mutação R201C em heterozigotia na nossa *proband*. O estudo molecular realizado na mãe confirmou a presença da referida mutação. Após identificação da etiologia da DMNP nesta família decidiu-se iniciar a transição terapêutica para SU.

Aos 12 anos de idade a nossa *proband* foi internada durante uma semana para monitorar a transição terapêutica. Encontrava-se com insulina de acção intermédia 2 vezes por dia e insulina rápida consoante necessidades. Tinha valores de HbA1c de 8,3%. Iniciou Glibenclamida (20mg ao pequeno almoço, 10 mg ao almoço e 10mg ao jantar), de acordo com protocolo estandarizado<sup>(11)</sup>, à vez que diminuiu progressivamente a insulina administrada. Não se registaram efeitos secundários e obteve-se um controlo metabólico eficaz com raras glicemias superiores a 200mg/dl. Após três semanas de terapêutica com ADO suspendeu-se a administração de insulina, mantendo sempre um bom controlo metabólico com HbA1c média de 6,8%.

A mãe encontrava-se desde os 33 anos sob insulino-terapia intensiva, 11U/kg/dia, análogo lento Glargina e análogo rápido Lispro, com valores de HbA1c 10 a 10,5% e peso de 55kg e uma grande dificuldade de adesão ao autocontrolo adequado. Iniciou Glibenclamida (0,5mg/kg/d) e foi reduzida progressivamente a dose de insulina administrada (análogo lento para 10U/d), mantendo-se a insulina rápida consoante necessidades. Duas semanas após início da tentativa de transição, o controlo metabólico era aparentemente razoável com valores de glicemia capilar auto-referidas entre 120mg-200mg/dl com diminuição consequente dos requerimentos de insulina às refeições. Suspendeu-se, então, a insulina e aumentou-se a dose de Glibenclamida para 0,75mg/kg/d. No entanto, após um mês foi internada por descompensação metabólica grave (cetoacidose, e perda ponderal de 5kg com HbA1c =12%), concluindo-se que a tentativa de substituição não foi bem sucedida.

O consentimento informado foi obtido em ambas as doentes.

## DISCUSSÃO / CONCLUSÕES

Relatamos o caso de uma família portuguesa com DMNP associada a mutação R201C no gene *KCNJ11* (Kir6.2) gene. As características clínicas presentes nas nossas doentes são consistentes com as descritas em indivíduos com mutações neste gene. Na maioria dos casos não existe história familiar, sendo o resultado de mutações *de novo* <sup>(12)</sup>, no entanto resulta essencial indagar sobre a possibilidade da situação ter sido herdada, como no caso apresentado.

Aproximadamente 1/3 dos indivíduos com a mutação R201C apresentam Síndrome DEND intermédia <sup>(14)</sup>. Existem várias explicações possíveis para a disfunção neurológica observada em doentes com mutações no gene *KCNJ11*: o efeito directo na função do canal de potássio, consequências de complicações da diabetes, ou uma causa não relacionada. Apesar do controlo metabólico alcançado após a transição na nossa *proband*, não houve melhoria significativa no desenvolvimento, o que pode sugerir que as manifestações neurológicas não estejam relacionadas com o genotipo; ou ainda que as mesmas sejam irreversíveis quando as SU são iniciadas após os primeiros anos de vida, por perda da plasticidade neuronal <sup>(22)</sup>. A ausência de défice cognitivo na mãe poderia reforçar a primeira hipótese; no entanto tem sido observada uma variabilidade fenotípica significativa intrafamiliar no que diz respeito a presença do componente neurológico <sup>(12,13)</sup>.

A maioria dos indivíduos com DMNP causada por mutações no Kir6.2 têm respondido satisfatoriamente às SU <sup>(11,12,16)</sup>. Dentro do grupo de indivíduos com a mutação R201C, só casos raros tem mostrado resistência a esta terapêutica, incluindo duas famílias, nas quais as crianças responderam, mas as mães afectadas não <sup>(11)</sup>. A tentativa de substituição mostrou diferentes resultados nesta família. Embora a substituição de insulina por SU tenha sido bem sucedida nalguns adultos, parece existir uma relação inversamente proporcional entre a idade e a resposta obtida <sup>(11,18)</sup>. Uma das possíveis explicações para este facto é a perda progressiva e irreversível de células beta pancreáticas demonstrada em modelos animais com mutações em Kir6.2 <sup>(23)</sup>.

Apesar de a DMNP ser uma situação rara, a identificação dos genes implicados na sua etiopatogenia têm permitido uma melhor compreensão do funcionamento das células beta pancreáticas, com aplicações que abrangem as formas mais comuns da doença; assim como a possibilidade de terapêutica com sulfonilureas nos doentes com mutações nos genes que codificam as subunidades do canal de potássio. Neste grupo, as mutações no gene *KCNJ11* são relativamente frequentes, estando indicado o seu estudo em todos os lactantes com possível DMNP. O diagnóstico etiológico precoce vai permitir implementar uma terapêutica direccionada com sulfonilureas e alcançar um controlo metabólico mais eficaz, reduzindo o risco de complicações crónicas, e melhorando a qualidade de vida destes indivíduos. É desejável a

instituição precoce da terapêutica com sulfonilureas, uma vez que nos adultos a probabilidade da transição terapêutica ser bem sucedida é menor do que na criança e adolescente. Ressalvamos ainda a importância de uma avaliação neurológica, antes e após terapêutica com sulfonilureas, nos casos com mutações identificadas.

Com a descrição desta família pretendemos alertar para esta situação dentro das possíveis etiologias da diabetes neonatal, uma vez que o seu reconhecimento tem implicações importantes na abordagem, decisões terapêuticas e aconselhamento genético destes doentes.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ellard S, Flanagan SE, Girard CA, Patch AM, Harries LW, Parrish A, et al. Permanent neonatal diabetes caused by dominant, recessive, or compound heterozygous SUR1 mutations with opposite functional effects. *Am J Hum Genet.* 2007; 81: 375-82.
2. Babenko AP, Polak M, Cave H, Busiah K, Czernichow P, Scharfmann R, et al. Activating mutations in the ABCC8 gene in neonatal diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 2006; 355: 456-66.
3. Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF, Proks P, Bruining GJ, Slingerland AS, et al. Activating mutations in the gene encoding the ATP sensitive potassium channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med.* 2004; 350: 1838-49.
4. Stoy J, Edghill EL, Flanagan SE, Ye H, Paz VP, Pluzhnikov A, et al. Insulin gene mutations as a cause of permanent neonatal diabetes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2007; 104: 15040-4.
5. Njolstad PR, Sovik O, Cuesta-Munoz A, Bjorkhaug L, Massa O, Barbetti F, et al. Neonatal diabetes mellitus due to complete glucokinase deficiency. *N Engl J Med.* 2001; 344: 1588-92.
6. Stoffers DA, Zinkin NT, Stanojevic V, Clarke WL, Habener JF. Pancreatic agenesis attributable to a single nucleotide deletion in the human IPFI gene coding sequence. *Nat Genet.* 1997; 15: 106-10.
7. Vaxillaire M, Populaire C, Busiah K, Cavé H, Gloyn AL, Hattersley AT, et al. Kir6.2 mutations are a common cause of permanent neonatal diabetes in a large cohort of French patients. *Diabetes.* 2004; 53: 2719-22.
8. Massa O, Iafusco D, D'Amato E, Gloyn AL, Hattersley AT, Pasquino B, et al. *KCNJ11* activating mutations in Italian patients with permanent neonatal diabetes. *Hum Mutat.* 2005; 25: 22-7.
9. Sperling MA. ATP-sensitive potassium channels-neonatal diabetes and beyond. *N Engl J Med.* 2006; 355: 50-10.
10. Proks P, Antcliff JF, Lippiat J, Gloyn AL, Hattersley AT, Ashcroft FM. Molecular basis of Kir6.2 mutations associated with neonatal diabetes or neonatal diabetes plus neurological features. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004; 101: 17539-44.
11. Pearson ER, Flechtner I, Njolstad PR, Malecki MT, Flanagan SE, Larkin B, et al. Switching from insulin to oral sulfonylureas in patients with diabetes due to Kir6.2 mutations. *N Engl J Med.* 2006; 355: 467-477.
12. Hattersley AT, Ashcroft FM. Activating mutations in Kir6.2 and neonatal diabetes: new clinical syndromes, new scientific insights, and new therapy. *Diabetes.* 2005; 54: 2503-2513.
13. Gloyn AL, Diatloff-Zito C, Edghill EL, Bellanne-Chanelot C, Nivot S, Coutant R, et al. *KCNJ11* activating mutations are associated with developmental delay, epilepsy and neonatal diabetes syndrome and other neurological features. *Eur J Hum Genet.* 2006; 14: 824-30.
14. Flanagan SE, Edghill EL, Gloyn AL, Ellard S, Hattersley AT.

- Mutations in KCNJ11, which encodes Kir6.2, are a common cause of diabetes diagnosed in the first 6 months of life, with the phenotype determined by genotype. *Diabetologia*. 2006; 49: 1190-1197.
15. Koster JC, Remedi MS, Dao C, Nichols CG. ATP and sulfonylurea sensitivity of mutant ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in neonatal diabetes: implications for pharmacogenomic therapy. *Diabetes*. 2005; 54: 2645-54.
  16. Sagen JV, Raeder H, Hathout E, Shehadeh N, Gudmundsson K, Baevre H, et al. Permanent neonatal diabetes due to mutations in KCNJ11 encoding Kir6.2: patient characteristics and initial response to sulfonylurea therapy. *Diabetes*. 2004; 53: 2713-2718.
  17. Zung A, Glaser B, Nimri R, Zadik Z. Glibenclamide treatment in permanent neonatal diabetes mellitus due to an activating mutation in Kir6.2. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 5504-5507.
  18. Malecki MT, Skupien J, Klupa T, Wanic K, Mlynarski W, Gach A, et al. Transfer to Sulphonylurea Therapy in Adult Subjects with Permanent Neonatal Diabetes Due to KCNJ11-Activating Mutations. *Diabetes Care*. 2007; 30(1): 147-9.
  19. Edghill EL, Gloyn AL, Goriely A, Harries LW, Flanagan SE, Rankin J, et al. Origin of de novo KCNJ11 mutations and risk of neonatal diabetes for subsequent siblings. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(5): 1773-7.
  20. Yorifuji T, Nagashima K, Kurokawa K, Kawai M, Oishi M, Akazawa Y, et al. The C42R mutation in the Kir6.2 (KCNJ11) gene as a cause of transient neonatal diabetes, childhood diabetes, or later-onset, apparently type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005; 90(6): 3174-8.
  21. D'Amato E, Tammaro P, Craig TJ, Tosi A, Giorgetti R, Lorini R, et al. Variable phenotypic spectrum of diabetes mellitus in a family carrying a novel KCNJ11 gene mutation. *Diabet Med*. 2008; 25(6):651-6.
  22. Slingerland AS, Nuboer R, Hadders-Algra M, Hattersley AT, Bruining GJ. Improved motor development and good long-term glycaemic control with sulfonylurea treatment in a patient with the syndrome of intermediate developmental delay, early-onset generalised epilepsy and neonatal diabetes associated with the V59M mutation in the KCNJ11 gene. *Diabetologia*. 2006; 49(11): 2559-63.
  23. Koster JC, Remedi, MS, Masia R, Patton B, Tong A, Nichols CG. Expression of ATP-insensitive KATP channels in pancreatic B-cells underlies a spectrum of diabetic phenotypes. *Diabetes*. 2006; 55: 2957-2964.

