

Aus der Klinik für  
Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek

**Remission des Kongenitalen Hyperinsulinismus  
nach konservativer Therapie:  
Normalisierung der  $\beta$ -Zellfunktion oder  
Progredienz zum Diabetes mellitus?**

*DISSERTATION*

zur

Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Mark Johannes Lachmann

2018

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan/in: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter/in: Prof. Dr. med. Thomas Meissner

Zweitgutachter/in: Prof. Dr. phil. nat. Christian Herder

*Meiner Familie in Dankbarkeit.*

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

**Lachmann MJ, Salgin B, Kummer S, Welters A, Döing C, Zenker M, Wieland I, Mayatepek E, Meissner T.** Remission of congenital hyperinsulinism following conservative treatment: an exploratory study in patients with KATP channel mutations. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2016;29(3):281–287.

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** Das heterogene Krankheitsbild des Kongenitalen Hyperinsulinismus (KHI) stellt eine der häufigsten Ursachen persistierender Hypoglykämien im Neugeborenen- und Kindesalter dar. Häufigste Ursache des KHI wiederum sind Mutationen des  $K_{ATP}$ -Kanals pankreatischer  $\beta$ -Zellen, welche eine Dysregulation der Insulinsekretion mit konsekutiven hyperinsulinämischen Hypoglykämien bewirken. Abhängig von der zugrunde liegenden Genetik, werden histopathologisch eine fokale und eine diffuse Form differenziert. Um neurologische Schäden durch rezidivierende Hypoglykämien zu verhindern, ist eine adäquate Therapie der betroffenen Patienten von eminenter Bedeutung. Sowohl medikamentöse als auch chirurgische Therapien stehen zur Verfügung, allerdings ist speziell bei diffusen Formen nach subtotaler Pankreatektomie eine hohe Inzidenz sowohl endokriner als auch exokriner Pankreasinsuffizienzen zu beachten. Zugleich kann bei einigen Patienten mit schwerem KHI nach variabler Dauer einer nicht-operativen, teils sehr intensiven, medikamentösen Therapie der Eintritt einer Remission beobachtet werden. Begünstigende Faktoren für einen Remissionseintritt, der zugrunde liegende Mechanismus der Remission sowie Implikationen für den weiteren klinischen Verlauf sind Gegenstand aktueller Forschung.

**Zielsetzung:** Neben der Analyse der klinischen Verläufe des gesamten Düsseldorfer Patientenkollektivs, diente die vorliegende Arbeit der Charakterisierung des hormonellen und metabolischen Profils von Patienten in Remission nach konservativer Therapie. Anhand der hormonellen und metabolischen Reaktionen auf Glukosebelastung und Fasten, sollte evaluiert werden, ob bei Patienten in Remission eine Normalisierung der initial gestörten Insulinsekretion stattfand, oder ob eine Insulinresistenz mit möglicher Progression zum scheinbar gegenteiligen Krankheitsbild, Diabetes mellitus, vorlag.

**Patienten und Methoden:** Die retrospektive Datenanalyse basierte auf den Krankenakten sämtlicher Patienten mit KHI, welche zwischen 2002 und 2013 am Düsseldorfer Universitätskinderklinikum behandelt wurden. Von insgesamt 36 Patienten mit KHI kamen 8 Patienten innerhalb des Beobachtungszeitraums in Remission. Eine klinische Nachuntersuchung, an der 5 Patienten in Remission teilnahmen, umfasste einen oralen Glukosetoleranztest (OGTT) und einen altersadaptierten Fastentest.

**Ergebnisse:** Bei 1 von 8 Patienten konnte ein früher Remissionseintritt (innerhalb des 1. Lebensjahres) beobachtet werden, während bei 7 anderen Patienten eine Remission erst im Alter von 2 bis 8 Jahren eintrat. Alle 4 Patienten, deren Plasmaglukosekonzentrationen initial nicht suffizient mittels Diazoxid zu stabilisieren waren und die deswegen bei schwerem Hyperinsulinismus zulassungsüberschreitend (*off-label*) mit Somatostatinanaloga behandelt wurden, gehörten zur Gruppe mit Remission nach dem 1. Lebensjahr. Der altersadaptierte Fastentest von 20 bzw. 24 h Dauer wurde von allen Patienten in Remission toleriert, ohne die Kriterien einer Hypoglykämie (Plasmaglukosekonzentration  $< 45$  mg/dl) zu erfüllen oder Hypoglykämie-bedingte Symptome aufzuweisen. Im Verlauf des Fastentests zeigte sich parallel zur Abnahme der Plasmaglukosekonzentrationen ( $t_{\text{Beginn}}$ :  $99 \pm 5$  mg/dl vs.  $t_{\text{Ende}}$ :  $64 \pm 6$  mg/dl,  $p = 0,001$ ) eine signifikante Abnahme der Insulinkonzentration ( $t_{\text{Beginn}}$ :  $60 \pm 12$  mU/l vs.  $t_{\text{Ende}}$ :  $7 \pm 2$  mU/l,  $p = 0,001$ ). Dennoch bestand bei allen Patienten weiterhin eine Dysregulation der Insulinsekretion, welche sich im Fastentest erst durch die Nichtsupprimierbarkeit am Ende demaskierte (Insulinkonzentrationen  $> 90$ . Referenzperzentile). Die Insulin- und Plasmaglukosekonzentrationen im OGTT waren bei 4 Patienten normal. Ein Patient (Alter: 7 Jahre; BMI:  $23,4$  kg/m<sup>2</sup>,  $> 99$ . Perzentile) erfüllte im OGTT die Kriterien eines Diabetes mellitus (120min-Wert der Plasmaglukosekonzentration:  $206$  mg/dl) und wies darüberhinaus im Fastentest persistierend hohe Insulinwerte ( $13 \pm 1,4$  mU/l) bei niedrigen Plasmaglukosekonzentrationen ( $50,3 \pm 1,4$  mg/dl) auf.

**Schlussfolgerung:** Patienten mit KHI können auch in schweren Fällen nach jahrelanger intensiver, medikamentöser und diätetischer Therapie in eine stabile Phase ohne Medikamentenbedarf und mit altersentsprechender Fastentoleranz kommen. Insgesamt scheint der Remission eine individuell unterschiedlich gewichtete Kombination aus Reduktion der ehemals übermäßigen Insulinsekretion der  $\beta$ -Zellen einerseits und Abnahme der peripheren Insulinsensitivität andererseits zugrunde zu liegen. Nach Eintritt der Remission sind daher regelmäßige Nachuntersuchungen zu empfehlen, um sowohl eine adäquate Fastentoleranz zu bestätigen, als auch um die Entwicklung eines Diabetes mellitus rechtzeitig zu erkennen.

## Summary

**Background:** Congenital hyperinsulinism (CHI) is one of the major causes for persistent hypoglycemia in neonates and infants caused by dysregulated and excessive insulin secretion from pancreatic  $\beta$ -cells. Several disease-causing mutations resulting in channelopathies, enzyme anomalies and transcription factor defects have been identified, with mutations of the ATP-sensitive potassium ( $K_{ATP}$ ) channel of pancreatic  $\beta$ -cells being the predominant causes of CHI. Histopathologically, CHI can mainly be categorized into diffuse and focal forms, depending on the genetic mutation and mode of inheritance. In order to prevent recurrent episodes of hyperinsulinemic hypoglycemia and subsequent brain damages, rapid diagnosis and adequate treatment of CHI is critically important. To date, the only medication approved for CHI is diazoxide, meaning that subtotal pancreatectomy has been performed in patients with diazoxide-unresponsiveness. Since subtotal pancreatectomy can lead to endocrine and exocrine pancreatic insufficiency in the postsurgical course, efforts in conservative treatment, including off-label use of octreotide, have been intensified. Interestingly, some conservatively treated CHI patients achieve clinical remission after a variously long duration of medical therapy, but the underlying mechanisms and subsequent clinical implications are still elusive.

**Objective:** This study aimed to describe the insulin concentration profile and concomitant status of glucose homeostasis in CHI patients in remission. By analyzing the hormonal and metabolic reaction to glucose challenge and fasting, it was tested if CHI patients in clinical remission present a normalization of initially dysregulated insulin secretion, or if a developing peripheral insulin resistance masks a persistently elevated pancreatic  $\beta$ -cell activity.

**Patients and Methods:** Data from all patients with CHI, who were registered at the University Children's Hospital Düsseldorf, Germany, from 2002 to 2013, were retrospectively analyzed. Among 36 registered CHI patients, 8 patients were classified as "in clinical remission". Out of these patients, in turn, 5 patients were examined in a clinical follow-up, consisting of an oral glucose tolerance test (OGTT) and an age-adapted fasting test.

**Results:** Remission within the first year of life could be observed in only 1 patient, whilst the other 7 patients achieved remission in the age of 2-8 years. All 4 patients, who were diazoxide-unresponsive and hence treated with a somatostatin analogue in an off-label use, achieved remission after the first year of life. All patients tolerated the age-adapted fasting test of 20 and 24 hours, respectively, without reaching glucose concentrations  $< 45$  mg/dl, nor developing hypoglycemia-related symptoms. During the fasting test, a significant decrease of both plasma glucose ( $t_{\text{start}}$ :  $99 \pm 5$  mg/dl vs.  $t_{\text{end}}$ :  $64 \pm 6$  mg/dl,  $p = 0,001$ ) and insulin concentration ( $t_{\text{start}}$ :  $60 \pm 12$  mU/l vs.  $t_{\text{end}}$ :  $7 \pm 2$  mU/l,  $p = 0,001$ ) was observed. Nevertheless, insulin concentrations from all patients exceeded the 90<sup>th</sup> reference percentile at the end of the fasting test. During the OGTT, 4 patients had regular plasma glucose and insulin levels. One patient (age: 7 years, BMI:  $23,4$  kg/m<sup>2</sup>,  $> 99^{\text{th}}$  percentile) presented a glucose concentration of 206 mg/dl after 2 h of glucose ingestion. The same patient also showed persistently elevated insulin concentrations ( $13 \pm 1,4$  mU/l) despite low plasma glucose concentrations ( $50,3 \pm 1,4$  mg/dl) during the fasting test.

**Conclusion:** Patients with initially severe clinical presentation of CHI can achieve clinical remission after years of intense medical and dietary treatment. This phase of remission is characterized by an age-appropriate fasting tolerance after cessation of drug therapy. Individually different combinations of reduced  $\beta$ -cell hyperfunction and decreased peripheral insulin sensitivity may contribute as underlying mechanisms for remission. Since remission represents a heterogeneous clinical state, regular follow-ups are recommended to test a physiological fasting tolerance, and to detect a progression to impaired glucose tolerance or diabetes, at an early stage.

## Glossar

<b>ABCC8</b>	ATP-bindender Kassettentransporter, Unterfamilie C, Mitglied 8 ( <i>ATP-Binding Cassette, Sub-Family C (CFTR/MRP), Member 8</i> )
<b>ADP</b>	Adenosindiphosphat
<b>ATP</b>	Adenosintriphosphat
<b>BMI</b>	<i>Body Mass Index</i>
<b>bzw.</b>	beziehungsweise
<b>Ca</b>	Calcium
<b>CDKN1C</b>	<i>Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1C</i>
<b>Cyt c</b>	Cytochrom c
<b>d</b>	Tag
<b>dl</b>	Deziliter
<b>et al.</b>	<i>et alii</i>
<b><sup>18</sup>F-fluoro-L-DOPA</b>	radiomarkierte, nicht-proteinogene Aminosäure 3,4-Dihydroxy-6- <sup>18</sup> F-fluoro-L-Phenylalanin
<b>FPG</b>	<i>Fasting Plasma Glucose</i> , Plasmaglukosekonzentration im nüchternen Zustand
<b>GCK</b>	Glukokinase
<b>GLUD1</b>	Glutamatdehydrogenase 1
<b>GLUT</b>	Glukosetransporter
<b>GTP</b>	Guanosintriphosphat
<b>h</b>	Stunde
<b>H19</b>	<i>Genomic Imprinting</i> unterlegenes, maternal exprimiertes Gen H19
<b>HADH</b>	Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase
<b>HBA<sub>1c</sub></b>	glykosyliertes Hämoglobin
<b>HI/HA-Syndrom</b>	Hyperinsulinismus/Hyperammonämie-Syndrom
<b>HNF1A</b>	<i>Hepatocyte Nuclear Factor 1, Alpha</i>
<b>HNF4A</b>	<i>Hepatocyte Nuclear Factor 4, Alpha</i>
<b>i.e.</b>	<i>id est</i>
<b>IE</b>	Internationale Einheit
<b>IFG</b>	<i>Impaired Fasting Glucose</i> , gestörte Nüchternglukose
<b>IGF2</b>	<i>Insulin-Like Growth Factor 2</i>
<b>IGT</b>	<i>Impaired Glucose Tolerance</i> , gestörte Glukosetoleranz
<b>i.m.</b>	intramuskulär
<b>i.v.</b>	intravenös
<b>OGTT</b>	oraler Glukosetoleranztest
<b>K</b>	Kalium
<b>K<sub>ATP</sub>-Kanal</b>	ATP-sensitiver Kaliumkanal
<b>KCNJ11</b>	einwärtsgerichteter Kaliumkanal, Unterfamilie J, Mitglied 11 ( <i>Potassium Channel, Inwardly Rectifying Subfamily J, Member 11</i> )
<b>kg</b>	Kilogramm
<b>KHI</b>	Kongenitaler Hyperinsulinismus
<b>Kir6.2</b>	einwärtsgerichteter Kaliumkanal, Untergruppe 6.2
<b>K<sub>m</sub></b>	Michaeliskonstante
<b>MCT</b>	Monocarboxylattransporter
<b>µg</b>	Mikrogramm
<b>m</b>	Meter
<b>mg</b>	Milligramm
<b>Mg</b>	Magnesium
<b>min</b>	Minute
<b>MODY</b>	<i>Maturity-Onset Diabetes of the Young</i>
<b>mU</b>	Milliunits
<b>NBF</b>	Nukleotidbindungsfalte ( <i>Nucleotide Binding Fold</i> )
<b>NH<sub>3</sub></b>	Ammoniak
<b>p</b>	Signifikanzwert
<b>p57<sup>KIP2</sup></b>	Parallelbezeichnung für CDKN1C

<b>PET</b>	Positronenemissionstomographie
<b>Q</b>	Coenzym Q <sub>10</sub> (Ubichinon)
<b>s.c.</b>	subkutan
<b>SCHAD</b>	Short-Chain-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase
<b>SD</b>	<i>Standard Deviation</i> , Standardabweichung
<b>SLC16A1</b>	<i>Solute Carrier Family 16 (Monocarboxylate Transporter), Member 1</i>
<b>SUR1</b>	Sulfonylharnstoffrezeptor 1
<b>t</b>	Zeitpunkt
<b>TMD</b>	Transmembrandomäne ( <i>Transmembrane Domain</i> )
<b>UCP</b>	<i>Uncoupling Protein</i>
<b>v.a.</b>	vor allem
<b>vs.</b>	<i>versus</i>

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1	Definition, Diagnose und Epidemiologie	1
1.2	Insulinsekretion und die Rolle des $K_{ATP}$ -Kanals	3
1.3	Ätiopathogenese und Klassifikation	6
1.4	Klinik	15
1.5	Therapie	16
<b>2</b>	<b>ZIELSETZUNG DER ARBEIT</b>	<b>19</b>
<b>3</b>	<b>METHODEN</b>	<b>21</b>
3.1	Patienten und klinische Klassifikation	21
3.2	Methoden	21
3.3	Ethikvotum	24
3.4	Statistik und graphische Darstellung	24
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>25</b>
4.1	Charakterisierung des Düsseldorfer Patientenkollektivs	25
4.2	Klinische Nachuntersuchung	28
4.3	Illustrative Fallbeispiele	33
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>35</b>
5.1	Besonderheiten des Düsseldorfer Patientenkollektivs	36
5.2	Zeitpunkt der Remission	37
5.3	Remission in Abhängigkeit von der medikamentösen Therapie	38
5.4	Zu den zugrundeliegenden Mechanismen der Remission	39
5.5	Übergang vom Zustand der „Remission“ in eine diabetische Stoffwechsellage	41
5.6	Variable, metabolische Kompensation bei fortbestehender $\beta$ -Zelldysfunktion	43
5.7	Kritische Auseinandersetzung mit der Definition der „klinischen Remission“	45
5.8	Limitationen der Studie sowie Praktikabilität der klinischen Nachuntersuchungen	46
<b>6</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNG</b>	<b>48</b>



# 1 Einleitung

## 1.1 Definition, Diagnose und Epidemiologie

Angeborene Störungen der Insulinsekretion sind der häufigste Grund für persistierende bzw. rezidivierende Hypoglykämien bei Neugeborenen und Kindern (1,2). Das Krankheitsbild des Kongenitalen Hyperinsulinismus (KHI) umfasst dabei Defekte in verschiedenen Genen, welche zumeist in einer partiellen Entkopplung der Insulinsekretion der pankreatischen  $\beta$ -Zellen vom Glukosemetabolismus resultieren und damit aufgrund einer inadäquaten Insulinsekretion hyperinsulinämische Hypoglykämien bewirken (3). Die der Erkrankung zugrunde liegenden genetischen Defekte und ihre Auswirkungen auf biochemische Mechanismen der  $\beta$ -Zellen sind vielfältig und zeigen daher ein heterogenes klinisches Erscheinungsbild (4). 1954 das erste Mal von Mac Quarrie als „*idiopathic hypoglycemia of infancy*“ beschrieben (5), haben vor allem in den letzten 20 Jahren Fortschritte in der Molekulargenetik zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie und damit auch zu einer Verbesserung der therapeutischen Möglichkeiten beigetragen (6).

Um die Diagnose des KHI zu stellen, müssen folgende Kriterien erfüllt werden (3,7–9):

- a) Hypoglykämie ( $< 45$  mg/dl), spontan, während des Fastens oder postprandial.
- b) Inadäquate Blutkonzentrationen von Insulin und C-Peptid während der Hypoglykämie.

Physiologisch ist Insulin im Kindesalter während einer Hypoglykämie nicht oder nur sehr gering nachweisbar ( $< 2$  mU/l). Bei Patienten mit KHI ist Insulin zwar nur selten exzessiv erhöht, aber in der Mehrzahl der Fälle führt die niedrige Plasmaglukosekonzentration zu keiner ausreichenden Supprimierung der Insulinsekretion, sodass Insulin im Blut detektierbar bleibt ( $> 2$  mU/l).

- c) Anstieg der Plasmaglukosekonzentration bei Hypoglykämie um mehr als 30 mg/dl innerhalb von 30 Minuten nach Gabe von 1 mg Glukagon als Antagonist zu Insulin.

Glukagon antagonisiert die pathologisch erhöhte Insulinwirkung, indem es eine verstärkte Mobilisation der hepatischen Glykogenspeicher bewirkt. Der Effekt des Plasmaglukoseanstiegs unter Glukagonzufuhr stellt darüber hinaus ein wichtiges differentialdiagnostisches Kriterium zur Abgrenzung gegenüber Störungen der Glukoneogenese oder Glykogenolyse dar.

- d) Inadäquat niedrige Konzentrationen von Ketonkörpern ( $\beta$ -Hydroxybutyrat  $< 2,0$  mmol/l Plasma) und freien Fettsäuren (freie Fettsäuren  $< 1,5$  mmol/l Plasma) während längerer Fastenzustände, da Insulin die Lipolyse inhibiert (6).
- e) Erhöhter Glukosebedarf von mehr als 10 mg/kg Körpergewicht/min bei Neugeborenen zur Gewährleistung einer physiologischen Plasmaglukosekonzentration.

Neugeborene sind in der Lage, durch verschiedene Hormone wie Cortisol, *Growth Hormone*, Glukagon oder Adrenalin sowie über metabolische Signalübertragungswege zur Aufrechterhaltung einer physiologischen Plasmaglukosekonzentration bis zu 8 (-10) mg/kg Körpergewicht/min Glukose mittels Glykogenolyse oder Glukoneogenese zu generieren. Allerdings ist beim KHI aufgrund der erhöhten Insulinsekretion der Bedarf an Glukose vermehrt und zugleich die Glykogenolyse und Glukoneogenese gehemmt, sodass hohe Glukoseinfusionsraten benötigt werden. Eine Glukoseinfusionsrate größer als 10 mg/kg Körpergewicht/min bei einem Neugeborenen zur Aufrechterhaltung normaler Plasmaglukosekonzentrationen beweist eine durch Hyperinsulinämie hervorgerufene Hypoglykämie.

Insgesamt stellt der KHI eine seltene genetische Störung dar: seine Inzidenz innerhalb der europäischen Bevölkerung wird auf 1:50.000 Lebendgeburten geschätzt (10). Manche Gesellschaften weisen jedoch eine deutlich höhere Inzidenz auf, wie z.B. Zentral Finnland mit ca. 1:3200 (11) oder Saudi-Arabien mit ca. 1:2500 Lebendgeburten (12). Dies wird zurückgeführt auf die isolierte Lage der Populationen sowie den hohen Grad an Konsanguinität. Bei aschkenasischen Juden konnte gezeigt werden, dass im Wesentlichen zwei Genmutationen des *ABCC8*-Gens für das Auftreten des KHI verantwortlich sind (13).

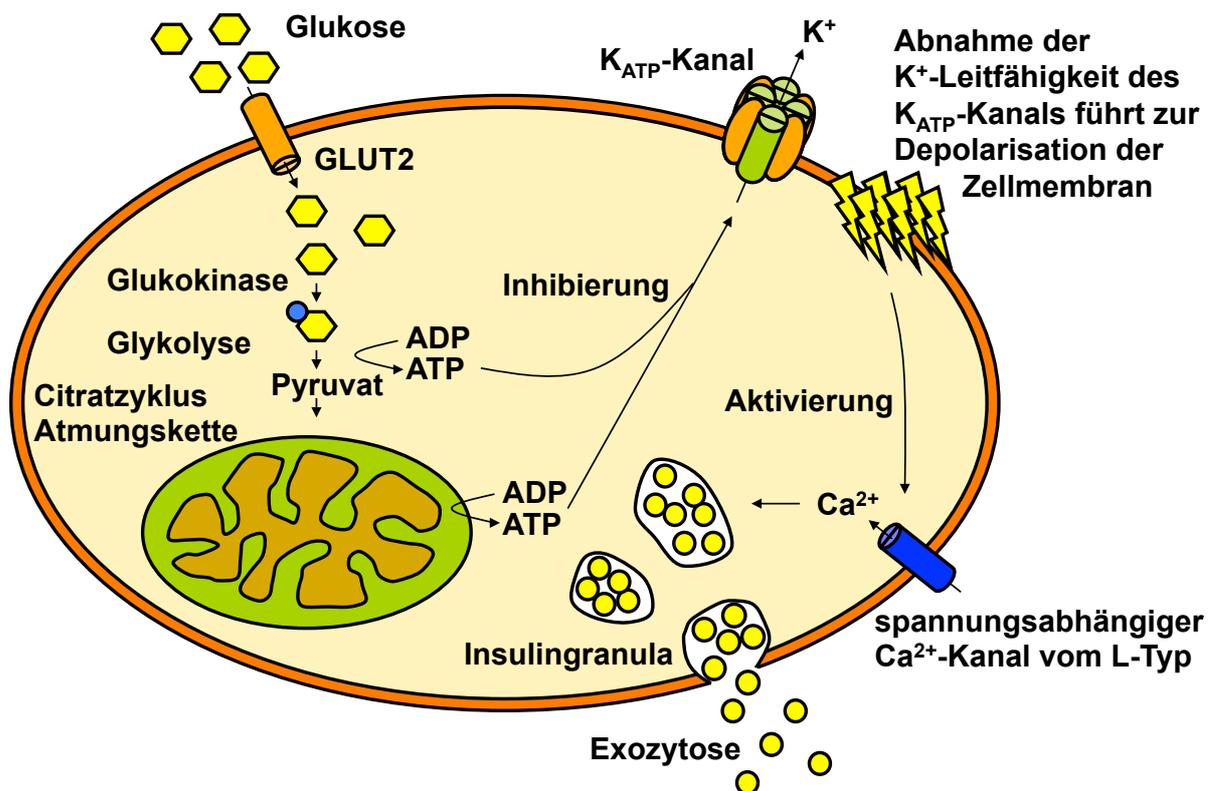
Bei den meisten Patienten tritt der KHI als isolierte Erkrankung auf. Außerdem kann ein Hyperinsulinismus im Rahmen eines Syndroms, wie zum Beispiel beim Beckwith-Wiedemann-Syndrom, vorkommen. Dieses geht mit Großwuchs, Makroglossie, Prädisposition zu Tumoren, v.a. embryonalen Tumoren wie dem Wilms-Tumor, und hyperinsulinämischen Hypoglykämien einher (6).

## 1.2 Insulinsekretion und die Rolle des $K_{ATP}$ -Kanals

$K_{ATP}$ -Kanäle wurden zuerst in Kardiomyozyten beschrieben (14) und sind mittlerweile in vielen Zelltypen nachgewiesen, darunter pankreatische  $\beta$ -Zellen (15), Gehirnzellen (16) und Skelettmuskelzellen (17). In den verschiedenen Geweben besteht die Aufgabe dieser Kanäle darin, das Membranpotenzial dem metabolischen Zustand einer Zelle anzupassen, indem Unterschiede der intrazellulären Adeninnukleotidkonzentration registriert werden. Durch Veränderungen des Membranpotenzials sind Zellen in der Lage, auf metabolische Situationen wie Hyper- und Hypoglykämie, Ischämie und Hypoxämie zu reagieren (18).

Für die Funktion der pankreatischen  $\beta$ -Zellen spielt der  $K_{ATP}$ -Kanal (siehe Abbildung 1) eine Schlüsselrolle, weil er ein wichtiges Element der Signaltransduktion vom Glukosemetabolismus zur Zellmembrandepolarisation und schließlich zur regulierten Insulinsekretion darstellt. Die Insulinsekretion muss akkurat erfolgen, um eine stabile Plasmaglukosekonzentration innerhalb von 60 bis 100 mg/dl zu gewährleisten (siehe Abbildung 2).





**Abbildung 2: Vereinfachte, schematische Darstellung des Insulinsekretionsmechanismus einer pankreatischen  $\beta$ -Zelle.** Der Transport von Glukose über eine Zellmembran wird von verschiedenen Glukosetransportproteinen (GLUT) katalysiert. Innerhalb der Proteinfamilie der GLUT zeigt GLUT2 die niedrigste Affinität für Glukose mit  $K_M = 720$  mg/dl für 3-O-Methylglukose (23). Da die physiologische Plasmaglukosekonzentration Werte zwischen 60 bis 100 mg/dl aufweist (24), ist die Transportrate durch die GLUT2-Isoform in diesem Wertebereich als direkt proportional zu Änderungen der Plasmaglukosekonzentration anzusehen. Durch die Expression von GLUT2 auf pankreatischen  $\beta$ -Zellen kommt es postprandial bei hohen Plasmaglukosekonzentrationen zu einem proportionalen Glukoseeinstrom in diese Zellen (25).

Bei Plasmaglukosekonzentrationen unter 90 mg/dl sind die ATP-sensitiven  $K^+$ -Kanäle im offenen Zustand und der  $K^+$ -Efflux durch diese Kanäle stabilisiert das Ruhemembranpotenzial der  $\beta$ -Zelle in einem hyperpolarisierten Zustand bei ungefähr -65 mV (6).

Ein postprandialer Anstieg der Plasmaglukosekonzentration führt dagegen zu einer erhöhten Glukosetransportrate in die  $\beta$ -Zellen sowie zu einer erhöhten Glykolyserate. Die geschwindigkeitsbestimmende Reaktion der Glykolyse wird von der Glukokinase kontrolliert, welche eine wichtige Rolle als Glukosesensor im endokrinen Rückkopplungskreislauf zur Aufrechterhaltung der Glukosehomöostase spielt (26). Der anschließende Anstieg des  $[ATP]/[ADP]$ -Verhältnisses führt durch Interaktion mit den SUR1-Untereinheiten des  $K_{ATP}$ -Kanals zu einer verringerten Offenheitswahrscheinlichkeit der porenbildenden Kir6.2-Untereinheiten. Die verminderte  $K^+$ -Leitfähigkeit resultiert in einer Depolarisation der  $\beta$ -Zellmembran, sodass sich spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Kanäle vom L-Typ öffnen und  $Ca^{2+}$ -Ionen einströmen. Der konsequente Anstieg der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration bedingt schließlich die Exozytose der Insulingranula und damit die Insulinfreisetzung (27). Gleichzeitig existieren noch weitere, durch den Glukosemetabolismus aktivierte, verstärkende Signalwege, die zwar zu keiner weiteren Erhöhung der intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentration führen, dafür aber die sekretorische Antwort auf bereits hohe intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentrationen verstärken (4).

## 1.3 Ätiopathogenese und Klassifikation

Der KHI ist charakterisiert durch einen primären Defekt der pankreatischen  $\beta$ -Zellen, wodurch eine inadäquate Insulinsekretion mit konsekutiven Störungen der Glukosehomöostase resultiert (28). Mutationen, welche das *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Gen betreffen, stellen die häufigste Ursache dar und sind in 40 bis 45% aller Fälle nachzuweisen, wohingegen Mutationen in 7 weiteren Genen in 5 bis 10% der verbleibenden Fälle bestimmt werden können (3). In den übrigen 50% der Krankheitsfälle gilt die genetische Ätiologie als bislang ungeklärt (29).

### 1.3.1 Klassifikation anhand der Pathologie

#### 1.3.1.1 $K_{ATP}$ -Kanaldefekte

Rezessive, inaktivierende Mutationen des *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Gens sind die häufigste Ursache des KHI (24), wobei  $K_{ATP}$ -Kanaldefekte aufgrund einer Mutation des *ABCC8*-Gens (über 150 bekannte Mutationen) verglichen mit dem Vorkommen von *KCNJ11*-Gendefekten (24 bekannte Mutationen) weitaus häufiger sind. Die Anzahl von nur 24 bisher beschriebenen *KCNJ11*-Mutationen reflektiert außerdem die Größe des *KCNJ11*-Gens, welches im Vergleich zum *ABCC8*-Gen klein ausfällt (30).

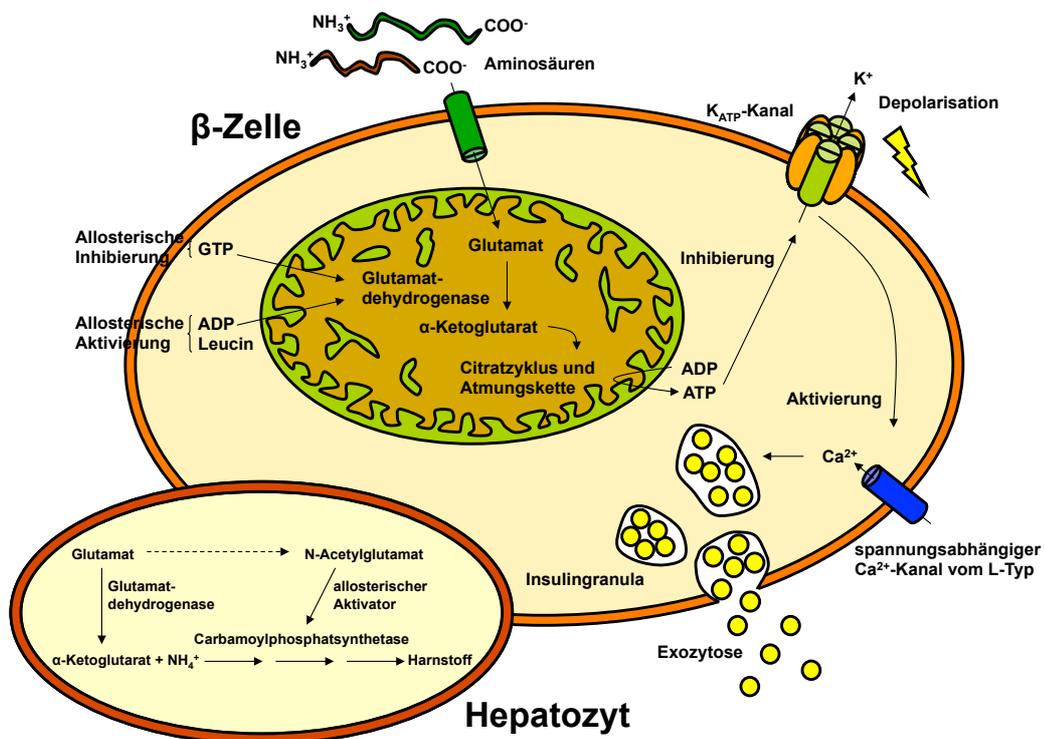
Als Resultat der *ABCC8*-/*KCNJ11*-Mutation mit konsekutivem Funktionsverlust der pankreatischen  $K_{ATP}$ -Kanäle, kommt es entkoppelt vom tatsächlichen Glukosemetabolismus zu spontanen Depolarisationen der  $\beta$ -Zelle und schließlich zur inadäquaten Insulinsekretion (30–33).

Dominante, inaktivierende Mutationen des  $K_{ATP}$ -Kanals können ebenfalls KHI verursachen (33–35). Der Phänotyp der Patienten mit autosomal-dominant vererbtem KHI erscheint allerdings einiges milder verglichen mit der autosomal-rezessiven Form. Weil Patienten mit dominanten, inaktivierenden Mutationen im *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Gen einen milderen Hyperinsulinismus mit weniger schweren Hypoglykämien zeigen, wird die Diagnose oftmals erst später gestellt. Außerdem sprechen diese Patienten gut auf eine medikamentöse Therapie mit Diazoxid an, wodurch die Indikation eines chirurgischen Eingriffes entfällt (35).

### 1.3.1.2 Enzymdefekte

#### Glutamatdehydrogenase

Zweithäufigste Ursache des KHI nach  $K_{ATP}$ -Kanaldéfekten stellen *Gain-of-Function*-Mutationen des mitochondrialen Enzyms Glutamatdehydrogenase dar, welche das Hyperinsulinismus/Hyperammonämie-Syndrom (HI/HA-Syndrom) verursachen (36). Die Glutamatdehydrogenase ist im *GLUD1*-Gen auf Chromosom 10q23.3 codiert (37) und spielt eine wichtige Rolle im Aminosäure- und Ammoniakmetabolismus der pankreatischen  $\beta$ -Zellen sowie in Leber und Gehirn (siehe Abbildung 3).



**Abbildung 3: Mechanismus der Aminosäure-induzierten Insulinsekretion der pankreatischen  $\beta$ -Zelle sowie Darstellung der Involvierung der Glutamatdehydrogenase im Ammoniakmetabolismus eines Hepatozyten.** Die Glutamatdehydrogenase katalysiert die oxidative Deaminierung von Glutamat zu  $\alpha$ -Ketoglutarat und Ammoniak. In pankreatischen  $\beta$ -Zellen wird das  $\alpha$ -Ketoglutarat dem Citratzyklus zugeführt und bedingt anschließend einen Anstieg der intrazellulären ATP-Konzentration. Der Anstieg des  $[ATP]/[ADP]$ -Verhältnisses wiederum schließt die  $K_{ATP}$ -Kanäle, es erfolgt eine Depolarisation der  $\beta$ -Zelle und Insulin wird ausgeschüttet. Auf diese Weise spielt die Glutamatdehydrogenase eine wichtige Rolle in der Glutaminolyse und der Aminosäure-induzierten Insulinsekretion (38). Während GTP als negativ allosterischer Effektor bekannt ist,

fungieren ADP und Leucin als positiv allosterische Effektoren der Glutamatdehydrogenase (39). Leucin ist deshalb in der Lage, durch allosterische Aktivierung der Glutaminolyse eine Aminosäure-induzierte Insulinsekretion zu bewirken.

Aktivierende Mutationen im *GLUDI*-Gen verursachen eine Form des KHI, bei dem die Patienten neben rezidivierenden hyperinsulinämischen Hypoglykämien dauerhaft erhöhte Ammoniakkonzentrationen im Blut aufweisen. Die Mutationen, die dem HI/HA-Syndrom zugrunde liegen, bewirken eine reduzierte Sensitivität der Glutamatdehydrogenase bezüglich ihres allosterischen Inhibitors GTP oder eine verstärkte Sensitivität zum positiv allosterischen Effektor Leucin. In Gegenwart von Leucin kommt es daher zu einer vermehrten Enzymaktivität und erhöhten Insulinsekretion. Der Phänotyp dieser Patienten ist deshalb von postprandialen Hypoglykämien nach proteinreichen Mahlzeiten geprägt, wobei Hypoglykämien während des Fastens ebenfalls auftreten können (24).

Die Ursache für die persistierende, aber asymptotische Erhöhung der Blutammoniakkonzentration ist noch nicht vollständig geklärt. In Hepatozyten könnte eine aktivierende Mutation der Glutamatdehydrogenase auf zwei Arten zu einer Hyperammonämie führen: einerseits durch exzessive Ammoniakproduktion und -freisetzung aufgrund erhöhter Aktivität der Glutamatdehydrogenase sowie andererseits durch gestörten Ammoniakabbau infolge Hemmung der Harnstoffsynthese (36).

Die meisten Fälle des HI/HA-Syndroms treten sporadisch auf (80%) und nur die Minderheit ist familiär durch einen autosomal dominanten Erbgang entstanden (40).

Die Hypoglykämien sind im Gegensatz zum KHI aufgrund eines  $K_{ATP}$ -Kanalddefekts weniger schwer und können in der Regel gut mit Diazoxid kontrolliert werden (6).

### **Glukokinase**

Eine seltene Form des KHI wird verursacht durch aktivierende Mutationen im Glukokinase-Gen (41–47). Die Glukosekinase gehört zur Enzymfamilie der Hexokinasen und ist relativ spezifisch für Glukose. Sie ist ein Schlüsselenzym im Glukosemetabolismus und der Glukose-stimulierten Insulinsekretion der  $\beta$ -Zelle, da sie den ersten Schritt der Glykolyse, i.e. Phosphorylierung von Glukose zu Glukose-6-Phosphat, katalysiert. Wichtige kinetische

Eigenschaften sind die niedrige Affinität für Glukose ( $K_M = 140 - 180$  mg/dl) sowie die fehlende negative Rückkopplung durch Glukose-6-Phosphat (48).

Heterozygote, inaktivierende Mutationen im *GCK*-Gen verursachen *Maturity-Onset Diabetes of the Young* (MODY) und homozygote, inaktivierende Mutationen einen permanenten neonatalen Diabetes (24). Heterozygote, aktivierende Mutationen im *GCK*-Gen wiederum resultieren in gesteigerter Affinität der Glukokinase für Glukose, Senkung der Offenheitswahrscheinlichkeit der  $K_{ATP}$ -Kanäle und schließlich inadäquater Insulinsekretion. Der Grenzwert der intrazellulären Glukosekonzentration in  $\beta$ -Zellen, welcher zum Verschluss der  $K_{ATP}$ -Kanäle und anschließender Glukose-stimulierter Insulinsekretion führt, liegt bei gesunden Individuen bei ca. 90 mg/dl. Bei Patienten mit KHI aufgrund eines aktivierenden *GCK*-Gendefekts ist dieser Grenzwert aufgrund der erhöhten Glukoseaffinität der Glukokinase auf bis zu 27 mg/dl erniedrigt (6).

### **Short-Chain-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase**

Die  $\beta$ -Oxidation von Fettsäuren in Mitochondrien stellt einen wichtigen Mechanismus zur Energiereservenmobilisierung dar und ist besonders während Zuständen des Fastens, verstärkter muskulärer Arbeit oder schweren Fiebers von Relevanz. Während der  $\beta$ -Oxidation werden Fettsäuren sequentiell oxidiert und gespalten, sodass Acetyl-CoA als Reaktionsprodukt entsteht, welches in den Citratzyklus einfließt. Außerdem erfüllt die hepatische  $\beta$ -Oxidation während des Fastens eine weitere wichtige Rolle, indem sie Ketonkörper als alternative Energiereource zu Glukose für das Gehirn bereitstellt. Das *HADH*-Gen codiert das mitochondriale Enzym Short-Chain-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (SCHAD, Synonym: L-3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase), welches den dritten von insgesamt vier Schritten der  $\beta$ -Oxidation katalysiert, i.e. Dehydrogenierung von 3-Hydroxyacyl-CoA zu 3-Ketoacyl-CoA.

*Loss-of-Function*-Mutationen im *HADH*-Gen führen zu KHI. Der präzise Mechanismus, weshalb eine defekte SCHAD eine Dysregulation der Insulinsekretion bewirkt, ist allerdings unklar (49). Bisher konnte lediglich gezeigt werden, dass gesunde pankreatische  $\beta$ -Zellen in hohem Maße das *HADH*-Gen exprimieren und deswegen eine physiologisch hohe Aktivität der SCHAD aufweisen. Verminderte Expression des *HADH*-Gens in pankreatischen  $\beta$ -Zellen führt dagegen zu einer verstärkten Insulinsekretion, weshalb SCHAD möglicherweise einen

protektiven Effekt auf inadäquat hohe Insulinwerte und Hypoglykämien haben könnte (50,51).

### **SLC16A1-Gendefekte**

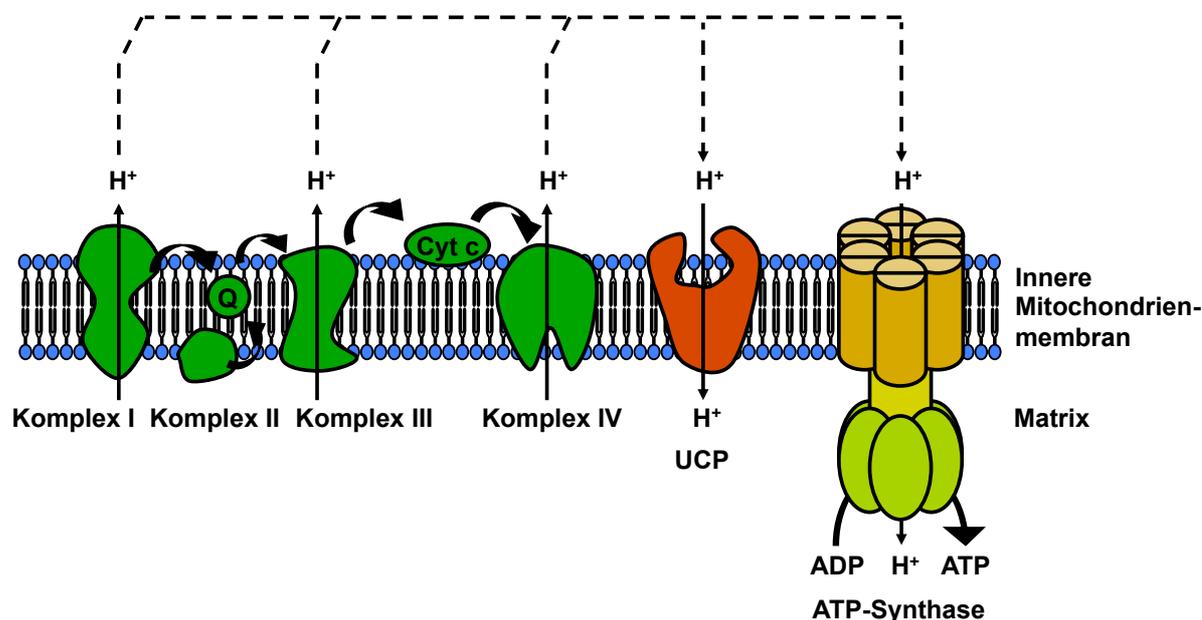
Während der Glykolyse wird Glukose zu Pyruvat umgebaut, welches entweder zu Laktat metabolisiert wird oder in den Citratzyklus in die Mitochondrien eintritt und zur Produktion von ATP führt. Der Transport von Metaboliten wie Pyruvat oder Laktat über Plasmamembranen wird von bestimmten Transportproteinen vermittelt, den Monocarboxylattransportern (MCT) (52). In pankreatischen  $\beta$ -Zellen ist die Expression des MCT1, welcher vom Gen *SLC16A1* codiert wird, sowie dessen Isoformen nur schwach oder gar nicht nachweisbar (53). Weil die Insulinsekretion durch die pankreatischen  $\beta$ -Zellen spezifisch für einen Glukosestimulus sein soll, schützt die Nichtexpression der MCT vor unerwünschten Insulinfreisetzen und resultierenden Hypoglykämien als Antwort auf hohe Pyruvat- oder Laktatkonzentrationen im Blut, wie sie z.B. während physischer Aktivität oder anderen katabolen Zuständen auftreten (54).

2001 wurden zwei Patientenfälle beschrieben, bei denen insbesondere nach anaerober physischer Aktivität hyperinsulinämische Hypoglykämien auftraten (55). Bei dieser Form des KHI, die in Zusammenhang mit physischer Aktivität klinisch relevant wird, besteht eine dominante, aktivierende Mutation in der Promotorregion des *SLC16A1*-Gens. Die Aktivierung des entsprechenden Genabschnitts führt zu einer vermehrter Expression von MCT in pankreatischen  $\beta$ -Zellen und damit zur Aufnahme von Pyruvat und Laktat (56). Aufgrund einer pathologischen Monocarboxylat-stimulierten Insulinfreisetzung kommt es bei Patienten mit aktivierender *SLC16A1*-Genmutation sowohl bei körperlicher Betätigung als auch im Pyruvatbelastungstest zu Hypoglykämien durch inadäquate Insulinsekretion (57).

### **UCP2-Gendefekte**

Mitochondrien sind zelluläre Organellen, welche von einer inneren und einer äußeren Membran umgeben sind. Die äußere Membran ist für kleinere Substrate permeabel, die innere Membran jedoch nicht, da sie zur Aufrechterhaltung eines elektrochemischen Gradienten benötigt wird. Der elektrochemische Gradient wird von der mitochondrialen Atmungskette

(siehe Abbildung 4) erzeugt und dient der ATP-Synthese im Rahmen der oxidativen Phosphorylierung.



**Abbildung 4: Komplexe der mitochondrialen Atmungskette samt *Uncoupling Protein* (UCP).** Die mitochondriale Atmungskette besteht aus 5 Komplexen, wobei Komplex I, III und IV mittels Protonentransport über die innere Membran den Aufbau des elektrochemischen Gradienten vermitteln. Coenzym Q10 (Q) und Cytochrom c (Cyt c) sind ebenfalls wichtige Funktionsträger im Protonen- und Elektronentransport entlang der Mitochondrienmembran. Der entstehende Protonengradient wird von Komplex V, der ATP-Synthase, zur Phosphorylierung von ADP genutzt. Der *Reentry* von Protonen zurück in die mitochondriale Matrix kann neben der ATP-Synthase außerdem über Proteine vermittelt werden, welche einen Protonenrückstrom regulieren (sog. *Uncoupling Proteins*, UCP). Im Falle der UCP wird der elektrochemische Gradient verringert, ohne dabei ATP zu synthetisieren (58).

Da ATP ein wichtiges Signal zur Glukose-induzierten Insulinsekretion in pankreatischen  $\beta$ -Zellen darstellt, können sog. *Uncoupling Proteins* (UCP) Einfluss auf die Insulinsekretion nehmen. Es ist gezeigt worden, dass eine Überexpression von UCP2 in pankreatischen  $\beta$ -Zellen zu einer abgeschwächten Glukose-induzierten Insulinsekretion führt (59). In *UCP2-Knockout*-Mäusen wiederum war eine erhöhte ATP-Konzentration sowie eine verstärkte Glukose-induzierte Insulinsekretion zu beobachten (60).

2008 wurden erstmals 2 Patienten mit KHI identifiziert, deren Erkrankung auf einer *Loss-of-Function*-Mutation des *UCP2*-Gens basierte (61).

### 1.3.1.3 Transkriptionsfaktordefekte

Ein Defekt im *HNF4A*-Gen (*Hepatocyte Nuclear Factor 4, Alpha*) kann ebenfalls einen KHI verursachen. HNF4 $\alpha$  ist ein Transkriptionsfaktor aus der nuklearen Hormonrezeptorfamilie, wird in Leber, Niere, Darm und Pankreas exprimiert und spielt eine wichtige Rolle in der zellulären Differenzierung und im zellulären Metabolismus (62).

Typischerweise führen heterozygote Mutationen im *HNF4A*-Gen zu MODY1 (*Maturity-Onset Diabetes of the Young Subtype 1*) (63). MODY stellt eine Gruppe der monogenetischen Formen des Diabetes mellitus dar und ist gekennzeichnet durch frühen Beginn, i.e. oftmals bereits in der Kindheit oder Adoleszenz, sowie durch einen autosomal-dominanten Erbgang (64).

Für die Expression von Enzymen, welche in der Signalkaskade der Glukose-induzierten Insulinsekretion von Bedeutung sind, spielt HNF4 $\alpha$  eine wichtige Rolle (65,66). Zu diesen Enzymen gehören zum Beispiel die Glukosetransporterisofom 2 (GLUT2) oder das glykolytische Enzym Glyzeraldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase (67). Dennoch ist gegenwärtig noch nicht geklärt, auf welchem Weg Mutationen des *HNF4A*-Gens Hypoglykämien auslösen können. In  $\beta$ -Zell-spezifischen *HNF4A-Knockout*-Mäusen wurden sowohl Hyperinsulinämie als auch eine gestörte Glukosetoleranz registriert (65). Ebenso ungeklärt bleibt, weshalb *HNF4A*-Gendefekte zunächst KHI verursachen und später zum gegenteiligen Phänotypen, i.e. MODY, konvertieren (24). Darüber hinaus sind ähnlich zum Krankheitsverlauf bei *HNF4A*-Mutation auch Fälle des KHI aufgrund von Mutationen des in wechselseitiger Beziehung stehenden Transkriptionsfaktors HNF1 $\alpha$  (*Hepatocyte Nuclear Factor 1, Alpha*) beschrieben worden (68–71).

### 1.3.2 Histologische Klassifikation

Je nach zugrunde liegender Genetik kann sich der KHI histologisch verschieden präsentieren. Aus therapeutischer Sicht ist die Histologie mit der Differenzierung zwischen fokalem und diffussem Typ sehr wichtig, weil die fokale Form des KHI durch gezielte Resektion geheilt werden kann (9).

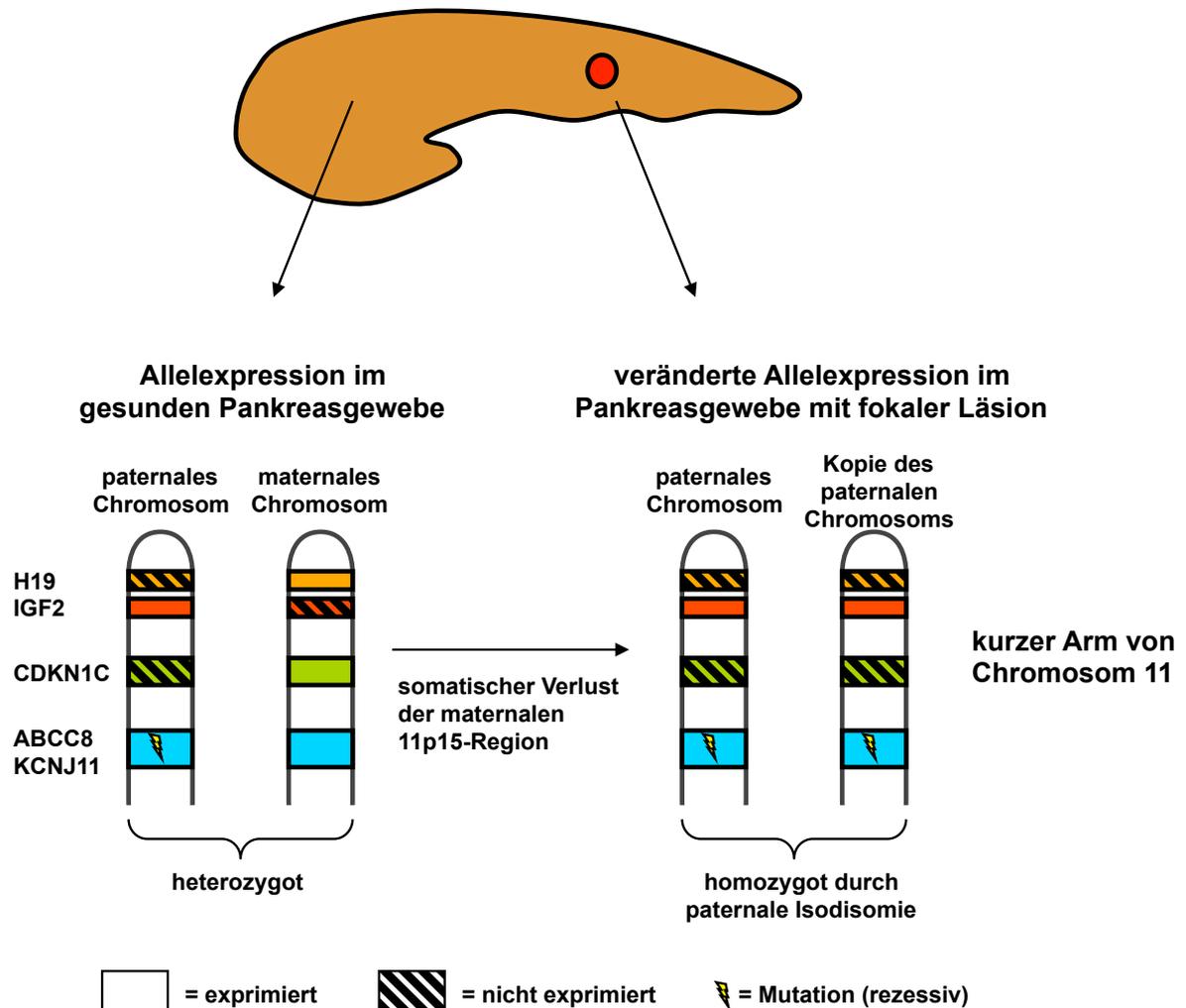
Neben der fokalen und diffussem Form mit klaren genetischen Grundlagen existiert eine atypische Form. Hier ist die zugrunde liegende Genetik unbekannt, aber es werden chromosomale Mosaik als Ursache angenommen. Als Konsequenz zeigt sich ein

morphologisches Erscheinungsbild wie beim fokalen Typ, allerdings sind die hyperplastischen Zellen auf mehrere Stellen oder größere Areale des Pankreas verteilt (3).

Zur Entstehung einer fokal adenomatösen  $\beta$ -Zellhyperplasie werden 2 Ereignisse auf genetischer Ebene benötigt:

- 1) Paternal vererbte, rezessive Mutation im *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Gen
- 2) Spezifischer Verlust der maternalen 11p15-Chromosomenregion

Der spezifische Verlust der maternalen 11p15-Region kombiniert mit einer Mutation im paternalen Allel führt zu paternaler Isodisomie und einer Reduktion der ehemaligen Heterozygotie zu einer Homozygotie bezüglich der *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Mutation. Aufgrund der entstandenen paternalen Isodisomie und der Dysbalance exprimierter Gene zugunsten von Zellproliferationsgenen (siehe Abbildung 5) kommt es zur klonalen Expansion des hypersekretorischen  $\beta$ -Zellvorläufers.



**Abbildung 5: Genetischer Entstehungshintergrund der fokalen Form des KHI.** Auf dem Chromosom 11p15 sind zwei Regionen für die Entstehung der fokalen Form von besonderem Interesse: während die 11p15.1-Region die Gene *ABCC8* und *KCNJ11* enthält, sind weiter distal in der 11p15.5-Region Gene zu finden, welche dem *Genomic Imprinting* unterliegen und für die Regulation der Zellproliferation von Bedeutung sind. Dazu zählen die maternal exprimierten Gene *H19* (ein mögliches Tumorsuppressorgen) (72) und *p57<sup>KIP2</sup>* (codierend für den *Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 1C*, *CDKN1C*, als negativer Regulator der Zellproliferation) (73) sowie das paternal exprimierte Gen *IGF2* (codierend für den *Insulin-Like Growth Factor 2*) (74). Durch den spezifischen Verlust der maternal vererbten 11p15-Region und konsekutiver paternaler Isodisomie, kommt es zu einem Ungleichgewicht zugunsten des paternal exprimierten *IGF2*-Gens zu Lasten von *H19* und *p57<sup>KIP2</sup>*. Daraus resultiert eine Zunahme der  $\beta$ -Zellproliferation mit Ausbildung einer adenomatösen Hyperplasie, welche ein wichtiges differentialdiagnostisches Kriterium der fokalen Form gegenüber der diffusen Form darstellt (75).

Während dem KHI fokaler Form nach heutigem Kenntnisstand immer eine *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Mutation zugrunde liegt, ist die zugrundeliegende Genetik der diffusen Form des KHI vielfältig. Eine Zusammenfassung der beteiligten Gene, Vererbungsgänge und histologischen Manifestationen bietet Tabelle 1.

Pathologische Klassifikation	Gen und Genlokus	Protein	Vererbung	Diazoxid-ansprechbarkeit	Histologie		
<b>K<sub>ATP</sub>-Kanaldefekte</b>	<i>ABCC8</i> 11p15.1	SUR1	AR	nein	F/ D		
			AD	meistens	D		
<b>Enzymdefekte</b>	<i>KCNJ11</i> 11p15.1	Kir6.2	AR	nein	F/ D		
			<i>GLUD1</i> 10q23.3	GDH	AD	ja	D
						<i>GCK</i> 7p15.3-.15.1	GCK
			<i>HADH</i> 4q22-q26	SCHAD	AR		
						<i>SLC16A1</i> 1p12	MCT1
			<i>UCP2</i> 11q13	UCP2	AD		
						<b>Transkriptionsfaktordefekte</b>	<i>HNF4A</i> 20q13.12
<i>HNF1A</i> 12q24A2	HNF1 $\alpha$	AD	ja	D			

**Tabelle 1: Genetische Klassifikation des KHI** (modifiziert nach Arnoux, De León, Yorifuji und James (3,6,9,24)). AD = autosomal dominant; AR = autosomal rezessiv. F = fokal; D = diffus.

## 1.4 Klinik

Insulin senkt die Blutglukosekonzentration einerseits durch gesteigerte Glukoseaufnahme in Adipozyten und Myozyten sowie andererseits durch Inhibierung der Glykogenolyse und Glukoneogenese in der Leber. Außerdem inhibiert Insulin die Lipolyse und verhindert die Synthese von Ketonkörpern, welche dem Gehirn als alternative Energieressource dienen könnten. Das metabolische Profil des KHI ist deshalb durch eine fatale Kombination aus Hypoglykämie und reduzierter Bereitstellung von freien Fettsäuren und Ketonkörpern charakterisiert. Dadurch ist das Risiko neurologischer Schäden beim KHI besonders hoch, weil dem Gehirn nicht nur Glukose als wichtigstes Energiesubstrat entzogen, sondern auch die gegenregulatorische Synthese von Ketonkörpern verhindert wird (76).

Aus einer Hypoglykämie resultieren sympathoadrenerge und neuroglykopenische Symptome, welche sowohl akute als auch chronische Dysfunktionen und Defizite nach sich ziehen und potenziell letal im hypoglykämischen Koma oder *Status epilepticus* enden können. In der Regel manifestiert sich der KHI durch eine Hypoglykämie bereits innerhalb der

Neugeborenenperiode - meist sogar kurz nach Geburt. Die meisten betroffenen Kinder weisen bei Geburt eine Makrosomie mit einem durchschnittlichen Geburtsgewicht von 3,7 kg auf, welches auf anabole Effekte der erhöhten Insulinkonzentrationen *in utero* zurückgeführt wird (3).

Manifestation einer schweren Hypoglykämie sind bei 50% der Patienten Krampfanfälle (3). Krampfanfälle als neuroglykopenisches Symptom manifestieren sich ab einer Absenkung der normalen Blutglukosekonzentration von 70-90 mg/dl auf unter 20-30 mg/dl. In weniger schweren Fällen fallen betroffene Patienten durch Schwitzen, Zitterigkeit, Lethargie, Apnoen und Zyanose auf (28). Wiederholte schwere, subletale Hypoglykämien können durch eine Hirnschädigung zu permanenten neurologischen Beeinträchtigungen führen, darunter unter anderem mentale Retardierung und fokale-neurologische Defizite (28).

Bei Erwachsenen sind Hypoglykämieepisoden neben den oben beschriebenen glykopenischen Symptomen typischerweise durch Verwirrung, Kopfschmerz, Synkopen oder Bewusstseinsverlust gekennzeichnet (28).

## 1.5 Therapie

Beim KHI ist eine rasche Diagnose und eine damit einhergehend adäquate Therapie zum Verhindern von wiederauftretenden Hypoglykämien von eminenter Bedeutung, um einerseits das akute Überleben zu sichern, sowie um andererseits Krankheitskomplikationen zu verhindern und die Langzeitprognose zu verbessern.

### 1.5.1 Medikamentöse Therapie

Sobald der KHI als Ursache einer Hypoglykämie neigung in Betracht gezogen wird, sollte die Blutglukosekonzentration umgehend normalisiert werden, gegebenenfalls durch Glukoseinfusion oder Glukagonbehandlung. Ein Therapieversuch mit Diazoxid wird nach Stabilisierung der Glukosewerte begonnen. Diazoxid ist das einzige Medikament, das zur Behandlung des KHI zugelassen ist. Es gehört zur Gruppe der Benzothiadiazine und führt zu einer erhöhten Offenheitswahrscheinlichkeit des  $K_{ATP}$ -Kanals mit verstärktem  $K^+$ -Efflux und verminderter Insulinfreisetzung (siehe Abbildung 1) (22). Als  $K_{ATP}$ -Kanalöffner kann Diazoxid seine Wirkung allerdings nur entfalten, wenn funktionsfähige  $K_{ATP}$ -Kanäle an der  $\beta$ -Zellmembran exprimiert werden. Aus diesem Grund sprechen Patienten mit KHI aufgrund

eines  $K_{ATP}$ -Kanaldefekts nur selten auf Diazoxid an, während sich die Hypoglykämien bei Patienten mit Mutationen in den Genen *GLUD1*, *GCK* oder *HADH*, aber auch  $K_{ATP}$ -Kanaldefekte mit autosomal-dominantem Erbgang, in der Regel gut mit Diazoxid therapieren lassen (siehe Tabelle 1). Der Erfolg einer Diazoxidtherapie wird nach 5 Tagen evaluiert und gilt als positiv, wenn während des Fastens eine Blutglukosekonzentration über 70 mg/dl aufrechterhalten werden kann (6).

Im Falle eines Nichtansprechens auf Diazoxid wird als zweite Wahl in der Regel eine Therapie mit einem Somatostatinanalogon, z.B. Octreotid, begonnen. Octreotid inhibiert die Insulinfreisetzung durch Hyperpolarisation der  $\beta$ -Zelle, durch direkte Hemmung der spannungsabhängigen  $Ca^{2+}$ -Kanäle und durch Hemmung verstärkender Signalwege der Insulinsekretion (6).

Bei schweren Hypoglykämien wird als Notfallmaßnahme 100  $\mu$ g/kg Körpergewicht Glukagon i.m., i.v. oder s.c. verabreicht, bis eine kontinuierliche Glukoseinfusion über einen intravenösen Zugang möglich ist. Sowohl für diagnostische Zwecke, als auch um eine überschüssige Flüssigkeitszufuhr und -belastung zu vermeiden, sollte die minimale Glukoseinfusionsrate bestimmt werden, mit der ein normoglykämischer Zustand zu erreichen ist. Eine intravenöse Glukagoninfusion kann beibehalten werden, wenn trotz hoher Glukoseinfusionsraten keine Stabilisierung der Blutglukosekonzentration möglich ist (3). Nebenwirkungen der Glukagonadministration beinhalten Erbrechen sowie *Rebound*-Hypoglykämien nach Absetzen (6).

### 1.5.2 Chirurgische Therapie

Wenn die medikamentöse Therapie keinen Erfolg zeigt, muss eine chirurgische Intervention in Betracht gezogen werden. Dabei ist zu bedenken, dass selbst Patienten mit initial schweren Formen des KHI eine spontane Besserung der Klinik innerhalb weniger Monate bis Jahre aufweisen können, sodass die Indikation zur Operation mit ihren möglichen Folgeschäden sorgfältig abgewogen werden muss (3).

Weil sich das Ausmaß der chirurgischen Resektion von Pankreasgewebe zwischen der fokalen und diffusen Form unterscheidet, muss präoperativ eine genetische Analyse und gegebenenfalls auch ein  $^{18}F$ -fluoro-L-DOPA-PET-Scan zur Differenzierung durchgeführt werden. Ein  $^{18}F$ -fluoro-L-DOPA-PET-Scan zeigt dabei eine sehr hohe Genauigkeit sowohl in

der Differenzierung zwischen fokaler oder diffuser Form als auch in der Lokalisation, sofern eine fokale Läsion besteht (79).

Eine chirurgische Intervention wird immer dann empfohlen, wenn eine fokale, medikamentös nicht gut behandelbare Form vorliegt oder wenn medikamentöse und diätetische Maßnahmen keine Prävention vor wiederkehrenden Hypoglykämien gewährleisten können. Auch bei gutem Ansprechen auf eine medikamentöse Therapie werden Patienten mit fokaler Form oft mit dem Ziel der definitiven Heilung operiert. Im Falle einer fokalen Form wird die Läsion gezielt reseziert und der Patient gilt anschließend ohne große Komplikationen als geheilt (78,79). Die diffuse Form hingegen erfordert eine subtotale Pankreatektomie, wobei 95-98% des Pankreasgewebes entfernt werden. Die großzügige Resektion kann postoperativ zu Störungen der Glukosehomöostase führen, wobei sowohl persistierende Hypoglykämien als auch Hyperglykämien, oder ein Insulin-pflichtiger Diabetes mellitus auftreten können (79). Außerdem kann es im Anschluss an die subtotale Pankreatektomie neben Störungen der endokrinen Funktion auch zu einer exokriner Pankreasinsuffizienz kommen (80,81).

## 2 Zielsetzung der Arbeit

Vorherige Verlaufsstudien zum längerfristigen Behandlungserfolg einer chirurgischen Intervention bei Patienten mit KHI zeigten teils gravierende Langzeitfolgen. Einerseits sind infolge eines unzureichenden Resektionsausmaßes wiederauftretende Hypoglykämien mit daraus folgendem, weiterhin erhöhten Risiko für mentale Retardierung aufgrund von Neuroglykopenien zu beachten. Andererseits resultiert eine subtotale Pankreatektomie im Anschluss häufig in einer erhöhten Inzidenz sowohl exokriner als auch endokriner Pankreasinsuffizienzen, möglicherweise mit Übergang in einen Insulin-abhängigen Diabetes mellitus (79,81–83). Angesichts der somit häufig nur bedingt erfolgreichen operativen Therapie, wurde von verschiedenen Zentren besonders in Europa und Israel in den letzten beiden Jahrzehnten zunehmend eine intensive diätetische und medikamentöse Therapie als alternative Option erprobt. In Absprache mit den Eltern wurde eine chirurgische Intervention zumeist nur dann durchgeführt, wenn betroffene Patienten zuvor nicht ausreichend mittels medikamentöser Therapie (bestehend aus Diazoxid, Somatostatinanaloga und Glukagon) und diätetischen Maßnahmen (zahlreiche Mahlzeiten im Tagesverlauf verteilt bis hin zu kontinuierlicher Nahrungszufuhr mittels Magensonde) im Hinblick auf Hypoglykämien zu stabilisieren waren (84). Diese Therapieoption kann durchaus andere unerwünschte Folgen haben, insbesondere die Entwicklung einer Adipositas und eines gestörten Essverhaltens bei der Notwendigkeit einer intensiven diätetischen Stabilisierung der Plasmaglukosekonzentration. Andererseits ist beobachtet worden, dass Patienten mit KHI nach variabler Dauer und Intensität der konservativen Therapie eine klinische Remission erreichen können (85–88). Basierend auf vereinzelt Fallberichten, dass auch ehemals konservativ behandelte Patienten im weiteren klinischen Verlauf der scheinbaren Remission eine gestörte Glukosetoleranz oder einen manifesten Diabetes mellitus entwickeln können (41,89–92), ist es das Ziel der vorliegenden Arbeit, das klinische Stadium der Remission genauer zu studieren. Dies erscheint wichtig im Hinblick auf eine gezieltere Beratung der Eltern bezüglich der Therapieoptionen und den jeweiligen Langzeitverläufen.

Anhand einer retrospektiven Auswertung der Krankenakten des Düsseldorfer Patientenkollektivs sollte zunächst der zeitliche Verlauf der Remissionseintritte näher beschrieben werden. Die limitierte Fastentoleranz samt hormonellem und metabolischem Profil bei Patienten im aktiven Krankheitsstadium des KHI ist bekannt. Eine in der Literatur erstmalige Überprüfung der Fastentoleranz sowie detaillierte Charakterisierung des

hormonellen und metabolischen Profils bei Patienten in Remission nach konservativer Behandlung stellte ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit dar. Anhand der hormonellen und metabolischen Reaktionen auf Fasten und Glukosebelastung, sollten die Möglichkeit eines Übergangs von der Remission zum Diabetes mellitus evaluiert und außerdem neue Einblicke in die zugrundeliegenden Mechanismen der Remission gewonnen werden.

## **3 Methoden**

### **3.1 Patienten und klinische Klassifikation**

Die retrospektive Datenerhebung erfasst sämtliche Patienten, welche im Zeitraum von 2002 bis 2013 in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf aufgrund eines bei Ihnen anhand anerkannter Kriterien diagnostizierten KHI behandelt wurden (3,7–9). Patienten, bei denen hyperinsulinämische Hypoglykämien als Folge einer anderen Störung, wie z.B. einer perinatalen Asphyxie, oder im Rahmen eines komplexen Syndroms wie dem Beckwith-Wiedemann-Syndrom auftraten, wurden von der Datenauswertung ausgeschlossen. Ebenso wurden Patienten mit einem transienten Hyperinsulinismus, definiert als neonataler Hyperinsulinismus sekundärer Genese wie maternalem Diabetes mellitus oder intrauteriner Wachstumsretardierung und mit spontaner Remission innerhalb weniger Tage bis Monate (93), von der vorliegenden Studie ausgeschlossen.

„Remission des KHI“ infolge konservativer Therapie wurde als klinischer Zustand definiert, in dem sich ohne vorangegangene chirurgische Intervention nach Absetzen der Medikation keine weiteren symptomatischen Hypoglykämien mehr ereigneten. Weiterhin bestehende, einfach umzusetzende diätetische Maßnahmen wie häufige, kohlenhydratreiche Mahlzeiten sind dabei mit der Definition der Remission vereinbar.

Insgesamt erfasst die retrospektive Datenerhebung 36 Patienten. Von diesen 36 Patienten befanden sich zum Zeitpunkt der Datenerhebung 8 Patienten in Remission.

### **3.2 Methoden**

Zur Charakterisierung des hormonellen und metabolischen Profils während des Fastens und zur Detektion einer eventuell weiterhin bestehenden oder in veränderter Form aufgetretenen Störung des Glukosemetabolismus, wurden Patienten in Remission zu einer standardisierten klinischen Nachuntersuchung einbestellt. Diese Nachuntersuchung war klinisch indiziert durch die Notwendigkeit einer Überprüfung, ob beim jeweiligen Patienten in Remission eine Hypoglykämieeigung oder reduzierte Fastentoleranz persistieren würde. Die

Nachuntersuchung bestand aus Anamnese, oralem Glukosetoleranztest (OGTT) und Fastentest. Um während des Fastentests das Risiko einer schweren Hypoglykämie zu minimieren, mussten teilnehmende Kinder mindestens 2 Jahre alt sein. Mit der Altersbegrenzung als einzigem Selektionskriterium, konnten von 8 Patienten in Remission 5 Patienten für die Teilnahme an der klinischen Nachuntersuchung gewonnen werden. Gründe für eine Nichtteilnahme der verbleibenden 3 Patienten waren zu geringes Alter (< 2 Jahre), fehlendes Interesse der Eltern oder ausbleibende Erreichbarkeit.

### 3.2.1 Modifizierter oraler Glukosetoleranztest

Ein modifizierter oraler Glukosetoleranztest begann bei teilnehmenden Patienten am Aufnahme-tag um 9 Uhr morgens, wobei eine vorangegangene, nächtliche Nahrungskarenz seit mindestens 8 Stunden vorausgesetzt wurde. Die Glukosebelastung erfolgte gewichtsadaptiert mit 1,75 g Glukose pro kg Körpergewicht (75 g als maximale Glukosebelastung) und wurde in Form eines zuckerhaltigen Getränkes (Accu-Chek Dextro O.G.T., Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) verabreicht. Zur Erfassung von zeitlichen Veränderungen der Plasmaglukose- und Insulinkonzentrationen erfolgte die Abnahme von Blutproben nach 0, 30, 60, 120 und 180 Minuten. Die Blutentnahmen erfolgten dabei aus einer in der Kubitalvene gelegenen Venenverweilkanüle, welche nach jeder Blutentnahme mit physiologischer Natriumchloridlösung gespült wurde.

Die Diagnosestellung eines Diabetes mellitus bzw. die Klassifikation der pro-diabetischen Stadien „Gestörte Glukosetoleranz“ und „Gestörte Nüchternglukose“, welche mit einem erhöhten Risiko für die spätere Entwicklung eines Diabetes mellitus einhergehen, erfolgte anhand der Diagnosekriterien der *American Diabetes Association* aus dem Jahr 2012 (siehe Tabelle 2).

	FPG	2h-Wert des OGTT	Gelegenheitsblutzucker
<b>Normal</b>	< 100 mg/dl	< 140 mg/dl	
<b>IFG</b>	100 - 125 mg/dl		
<b>IGT</b>		140 - 199 mg/dl	
<b>Diabetes mellitus</b>	≥ 126 mg/dl	oder ≥ 200 mg/dl	oder ≥ 200 mg/dl und Symptome eines Diabetes (wie Polyurie, Polydipsie und Gewichtsverlust)

**Tabelle 2: Diagnostische Richtwerte der Plasmaglukosekonzentration zur klinischer Einteilung des Diabetes mellitus und seiner Vorstadien gemäß der *American Diabetes Association* (94). FPG = *Fasting***

*Plasma Glucose*, Plasmaglukosekonzentration im nüchternen Zustand (seit mindestens 8 Stunden); OGTT = oraler Glukosetoleranztest; IFG = *Impaired Fasting Glucose*, gestörte Nüchternglukose; IGT = *Impaired Glucose Tolerance*, gestörte Glukosetoleranz.

### 3.2.2 Altersadaptierter Fastentest

Beginnend am Abend des Aufnahmetages, nach einem regulären Abendessen, erfolgte ein altersadaptierter Fastentest. Die maximale Fastendauer orientierte sich an altersadaptierten Referenzwerten aus der Literatur: Patienten im Alter von 2 bis 6 Jahren absolvierten einen 20 Stunden dauernden Fastentest, während Kinder ab 7 Jahren für 24 Stunden fasteten (95). Im Abstand von 4 Stunden wurden aus der Venenverweilkanüle Blutproben zur Bestimmung der Plasmaglukose- und Insulinkonzentration entnommen. Zusätzlich erfolgten zu Beginn und zum Ende des Fastentests Blutentnahmen zur Bestimmung der Konzentrationen von Cortisol, Ketonkörpern, freien Fettsäuren und Triglyceriden. Zum Offenhalten wurde die Venenverweilkanüle während des Fastentests nach jeder Blutentnahme mit physiologischer Natriumchloridlösung sowie 100 IE Heparin gespült. Abbruchkriterien für den Fastentest waren das Auftreten einer Hypoglykämie definiert als Plasmaglukosekonzentration kleiner als 45 mg/dl oder eine Plasmaglukosekonzentration kleiner 60 mg/dl einhergehend mit hypoglykämischen Symptomen wie Schwitzen, Zittern oder Schwindel. Im Falle einer Hypoglykämie wäre eine letzte Blutentnahme zur Messung oben genannter Stoffwechselfparameter sowie eine anschließende Glukosegabe entweder per os oder intravenös (z.B. 2 ml/kg Körpergewicht einer 10%igen-Glukoselösung) erfolgt.

Sowohl für den OGTT als auch für den Fastentest wurden Literaturangaben von gesunden Individuen in vergleichbaren Altersgruppen als Referenz hinzugezogen (95,96)

### 3.2.3 Labormethoden zur Bestimmung der Stoffwechselfparameter

Analysen der Plasmaglukosekonzentration wurden an einer Roche Modular P Analyser-Plattform mittels Hexokinase-Methode durchgeführt, während Konzentrationen von Seruminsulin sowie -kortisol mittels eines Elektrochemilumineszenz-Immunoassays an einer Roche Modular Analytics E170-Plattform bestimmt wurden (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Die Konzentration von glykosyliertem Hämoglobin (HbA<sub>1c</sub>) wurde mittels immunoturbidimetrischer Inhibitionsmethode (3. Generation) und die Serumkonzentration der

Triglyceride mittels eines enzymatisch-kolorimetrischen Verfahrens (GPO-PAP) gemessen (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland).

Zur Bestimmung der Konzentration von freien Fettsäuren diente ein enzymatisch-kolorimetrisches Verfahren (ACS-ACOD-MEHA) an einer Thermo Konelab 30 Prime-Plattform (Thermo, Dreieich, Deutschland).

Die venöse  $\beta$ -Hydroxybutyratkonzentration wurde mittels FreeStyle Precision  $\beta$ -Keton-Teststreifen samt dazugehörigem Precision Xceed-Messgerät ermittelt (Abbott Diabetes Care, Witney, Vereinigtes Königreich).

### **3.3 Ethikvotum**

Das Studiendesign dieser Doktorarbeit ist von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf überprüft und zugelassen worden. Die Nummer des Ethikvotums lautet 4292. Eine schriftliche Einverständniserklärung der Eltern sowie eine verbale Zustimmung der teilnehmenden Kinder zur retrospektiven, pseudonymisierten Datenauswertung wurden für jede Nachuntersuchung eingeholt.

### **3.4 Statistik und graphische Darstellung**

Für statistische Analysen wurde SPSS, Version 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), eingesetzt.

Sofern nicht anders angezeigt, sind Daten als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler wiedergegeben. Zum Vergleich von Daten wurde ein Mann-Whitney-U-Test durchgeführt.

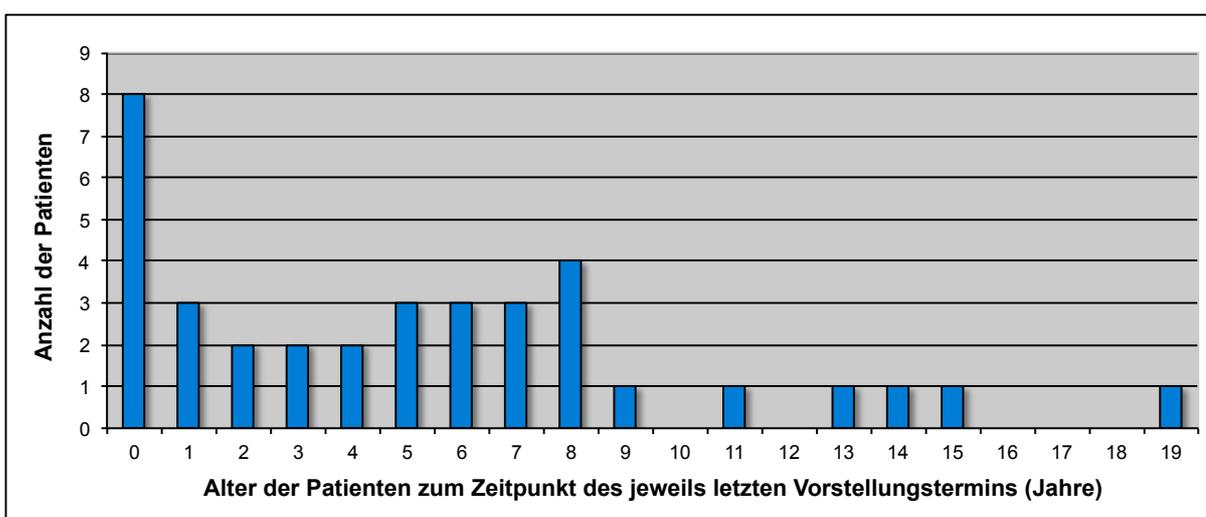
Das Signifikanzniveau der Analysen wurde auf  $\alpha = 0,05$  festgesetzt. Daraus folgend wurde bei einem p-Wert kleiner als 0,05 das Ergebnis der Analyse als statistisch signifikant gewertet.

Zur Erstellung von Graphiken diente Microsoft Office Excel, Version 2011.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung des Düsseldorfer Patientenkollektivs

Im Zeitraum von 2002 bis 2013 wurden insgesamt 36 Patienten (18 männlich, 18 weiblich) mit persistierendem KHI in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf betreut. Diagramm 1 zeigt die Altersverteilung des Düsseldorfer Patientenkollektivs zum Zeitpunkt des jeweils letzten Vorstellungstermins.



**Diagramm 1: Altersverteilung des Düsseldorfer Patientenkollektivs zum Zeitpunkt des jeweils letzten Vorstellungstermins.** Das durchschnittliche Patientenalter lag bei 5 Jahren, wobei die Spanne der Altersverteilung von 1 Monat als Minimum bis zu 19 Jahren als Maximum reichte. Der Median war durch das Alter von 5 Jahren definiert, wobei die Hälfte der Patienten ein Alter zwischen 1 Jahr (25. Perzentile) und 8 Jahren (75. Perzentile) aufwies.

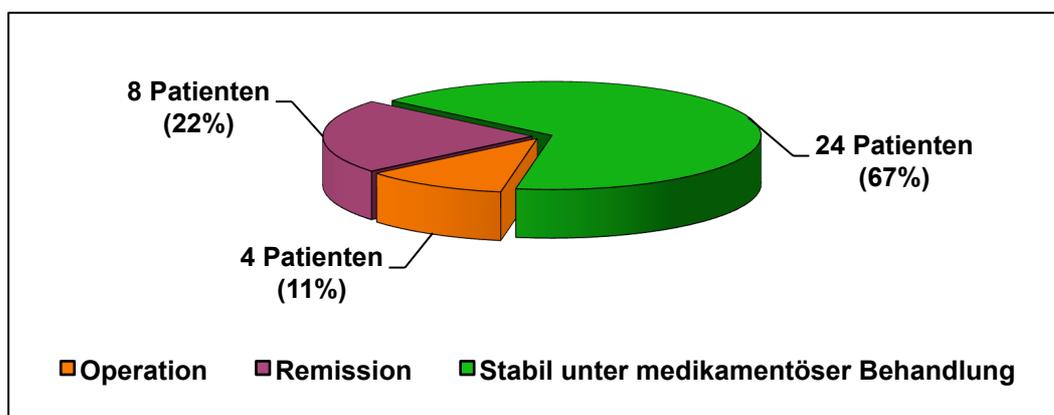
Bei 26 Kindern ist eine genetische Analyse unterschiedlichen Ausmaßes bezüglich der krankheitsauslösenden Gene des KHI veranlasst worden. In 13 Fällen konnte dabei eine Mutation identifiziert werden (siehe Tabelle 3): am häufigsten wurden  $K_{ATP}$ -Kanaldefekte nachgewiesen; außerdem fanden sich Mutationen der Glutamatdehydrogenase und der Glukokinase. Bei 10 Patienten lagen zum Zeitpunkt der Datenerhebung keine Ergebnisse einer genetischen Analyse vor.

Gen	Genabschnitt und Mutation	Genetischer Status
<i>ABCC8</i>	Intron 9 c.1468-2A>C	heterozygot
<i>ABCC8</i>	Exon 37 c.4516G>A	heterozygot
<i>ABCC8</i>	Exon 39 c.4613G>A	heterozygot
<i>ABCC8</i>	Intron 7 c.1176+2T>C	heterozygot

<i>ABCC8</i>	Intron 15 c.2117-2A>T und Exon 12 c.1792C>T	<i>compound</i> heterozygot
<i>ABCC8</i>	Exon 4 c.443T>C	heterozygot
<i>ABCC8</i>	Exon 1 c.78C>A	heterozygot
<i>ABCC8</i>	Exon 29 c.3640C>T	heterozygot
<i>KCNJ11</i>	Exon 1 c.389C>T	homozygot
<i>KCNJ11</i>	Exon 1 c.11G>A	heterozygot
<i>GLUD1</i>	Exon 7 c.965G>A	heterozygot
<i>GLUD1</i>	Exon 10 c.1396T>G	heterozygot
<i>GCK</i>	Exon 10 c.1354G>C	heterozygot

**Tabelle 3: Identifizierte Mutationen innerhalb des Düsseldorfer Patientenkollektivs.**

Aufschluss über die klinischen Verläufe des Düsseldorfer Patientenkollektivs bietet Diagramm 2.



**Diagramm 2: Klinische Klassifikation des Düsseldorfer Patientenkollektivs.** Zum Zeitpunkt der Datenerhebung befanden sich von den insgesamt 36 Patienten 8 Patienten in Remission (22%), 24 Patienten befanden sich in einem stabilen Zustand unter medikamentöser Therapie (67%) und 4 Patienten waren operiert worden (11%).

Sofern eine Remission bei medikamentös behandelten Patienten eintrat, betrug das mediane Patientenalter zum Zeitpunkt des Absetzens der Medikamente 5,3 Jahre. Dabei lag der früheste, zu beobachtende Remissionseintritt bei 4 Monaten, während der älteste Patient erst im Alter von 8 Jahren seine Medikation absetzen konnte (siehe Diagramm 3).

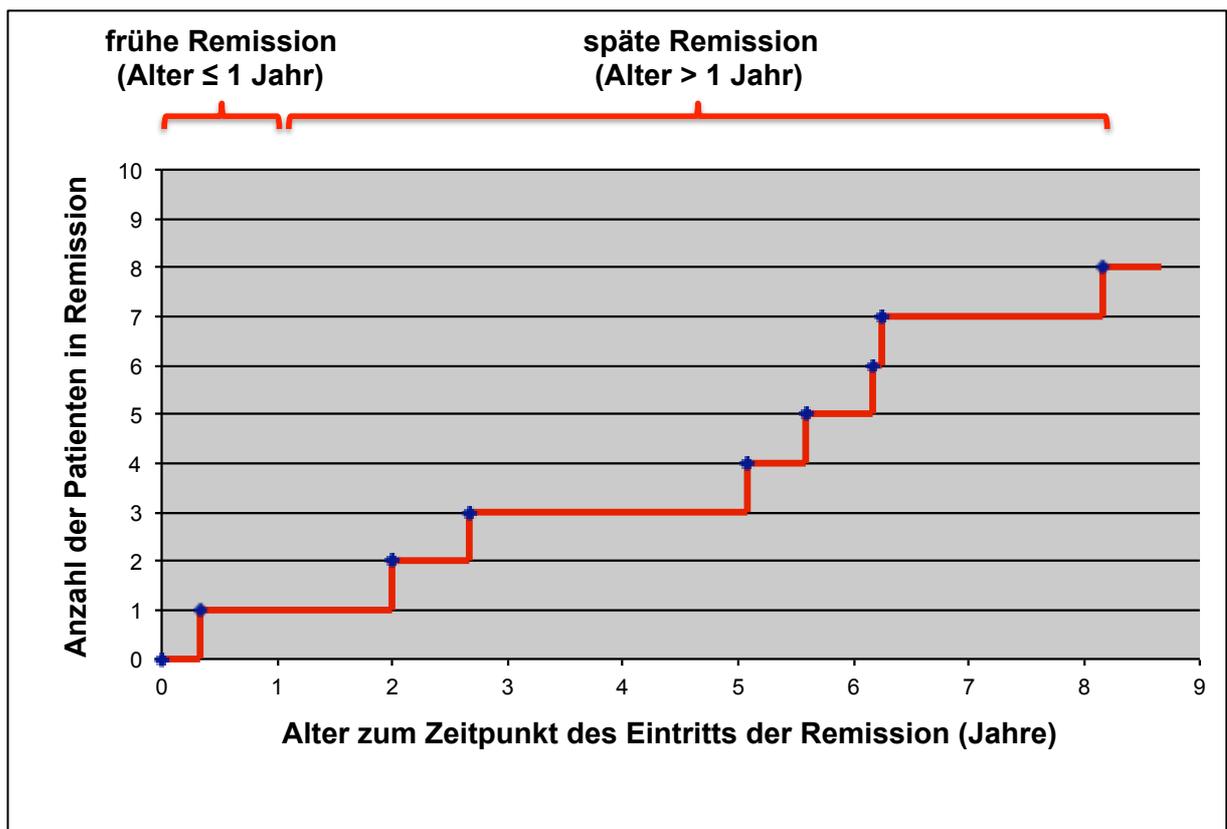


Diagramm 3: Zeitlicher Verlauf der Remissionseintritte.

Unter den insgesamt 8 Patienten (5 männlich, 3 weiblich) in Remission konnte ein früher Remissionseintritt innerhalb des ersten Lebensjahres bei nur einem Patienten beobachtet werden. Dieser einzige Patient in früher Remission ist dabei in der Vergangenheit mit Diazoxid behandelt worden (siehe Tabelle 4). Die Genanalyse identifizierte eine heterozygote Mutation im Exon 1 des *KCNJ11*-Gens (c.11G>A), deren Auswirkungen allerdings bisher unbekannt sind. Währenddessen konnten alle 4 Patienten in Remission, welche zuvor keine adäquate Stabilisierung der Plasmaglukosekonzentration unter Diazoxidtherapie zeigten und deshalb mit einem Somatostatinanalogon behandelt wurden, erst nach im Alter von 2 bis 6 Jahren ihre Medikation absetzen. Bei allen 4 Patienten, die spät unter Somatostatintherapie in Remission kamen, konnte ein krankheitsauslösender  $K_{ATP}$ -Kanalddefekt basierend auf einer *ABCC8*- oder *KCNJ11*-Mutation identifiziert werden. Bei den verbleibenden 3 Patienten in später Remission, welche zuvor mit Diazoxid behandelt wurden, konnte entweder keine Mutation festgestellt werden oder es wurde eine Mutation des *GLUD1*-Gen identifiziert.

	frühe Remission	späte Remission	insgesamt
<b>Diazoxid</b>	1	3	4
<b>Somatostatin</b>	0	4	4
<b>insgesamt</b>	1	7	8

**Tabelle 4: Zeitpunkt des Remissionseintritts in Bezug auf die zuvor eingesetzte Medikation.**

Wie im Diagramm 2 ersichtlich, wurde ein hoher Anteil der Patienten medikamentös behandelt, um eventuelle Langzeitfolgen einer chirurgischen Intervention wie das Auftreten eines Diabetes mellitus zu verhindern. Von insgesamt 32 nicht-operativ therapierten Patienten erhielten 29 eine Monotherapie bestehend aus Diazoxid oder einem Somatostatinanalogon. Die übrigen 3 Patienten wurden mit einer Kombinationstherapie aus diesen beiden Medikamenten versorgt.

Bezogen auf das gesamte Patientenkollektiv, trat innerhalb des Beobachtungszeitraumes bei 4 von 7 mit Somatostatinmonotherapie behandelten Patienten eine Remission ein, was einer Häufigkeit von 57% entspricht. Unter Diazoxidmonotherapie hingegen kamen nur 4 der 22 Patienten, i.e. 18%, in eine Remission (siehe Tabelle 5).

	Somatostatin	Diazoxid	Insgesamt
<b>Remission</b>	4	4	8
<b>Therapiebedarf</b>	3	18	21
<b>Insgesamt</b>	7	22	29

**Tabelle 5: Vergleich der klinischen Verläufe in Abhängigkeit von der Medikation (nur Monotherapien werden verglichen).**

## 4.2 Klinische Nachuntersuchung

Eine Zusammenfassung der anamnestischen und klinischen Untersuchungsbefunde der an der klinischen Nachuntersuchung teilnehmenden Patienten liefert Tabelle 6.

Patient	Geschlecht	Gestationsalter zur Geburt (Wochen)	Geburtsgewicht	Auftreten erster Symptome
1	männlich	39	4395 g	1. Lebenstag
2	männlich	38	5320 g	1. Lebenstag
3	weiblich	42	3600 g	3. Lebensmonat
4	weiblich	38	4100 g	3. Lebensmonat
5	männlich	40	3640 g	5. Lebensmonat

Patient	Medikamentöse Therapie mit:	Alter zur Remission	Alter zur Nachuntersuchung	BMI (kg/m <sup>2</sup> ; ± SD)	HbA <sub>1c</sub> (%)
1	Somatostatin	5 Jahre	6 Jahre	21,6 (+ 2,5)	5,4
2	Somatostatin	6 Jahre	7 Jahre	23,4 (+ 2,5)	4,9
3	Somatostatin	6 Jahre	9 Jahre	16,7 (+ 0,1)	5,1
4	Diazoxid	8 Jahre	8 Jahre	20,5 (+ 1,7)	5,4
5	Diazoxid	2 Jahre	10 Jahre	22,8 (+ 1,8)	5,1

**Tabelle 6: Anamnestische und klinische Untersuchungsbefunde der an der klinischen Nachuntersuchung teilnehmenden Patienten.** Zum Zeitpunkt der klinischen Nachuntersuchung war keiner der Patienten in die Pubertät eingetreten. Außerdem berichtete keiner der Patienten von wiederaufgetretenen Hypoglykämien oder präsentierte Anzeichen einer mentalen oder psychomotorischen Retardierung. Die Konzentrationen des HbA<sub>1c</sub> rangierten im Normalbereich ( $5.2 \pm 0.1\%$ ). Starkes Übergewicht, um mehr als 2 Standardabweichungen von der altersadaptierten Referenzgruppe erhöht, konnte bei Patient 1 und 2 beobachtet werden.

Die genetischen Befunde der teilnehmenden Patienten sind in Tabelle 7 wiedergegeben.

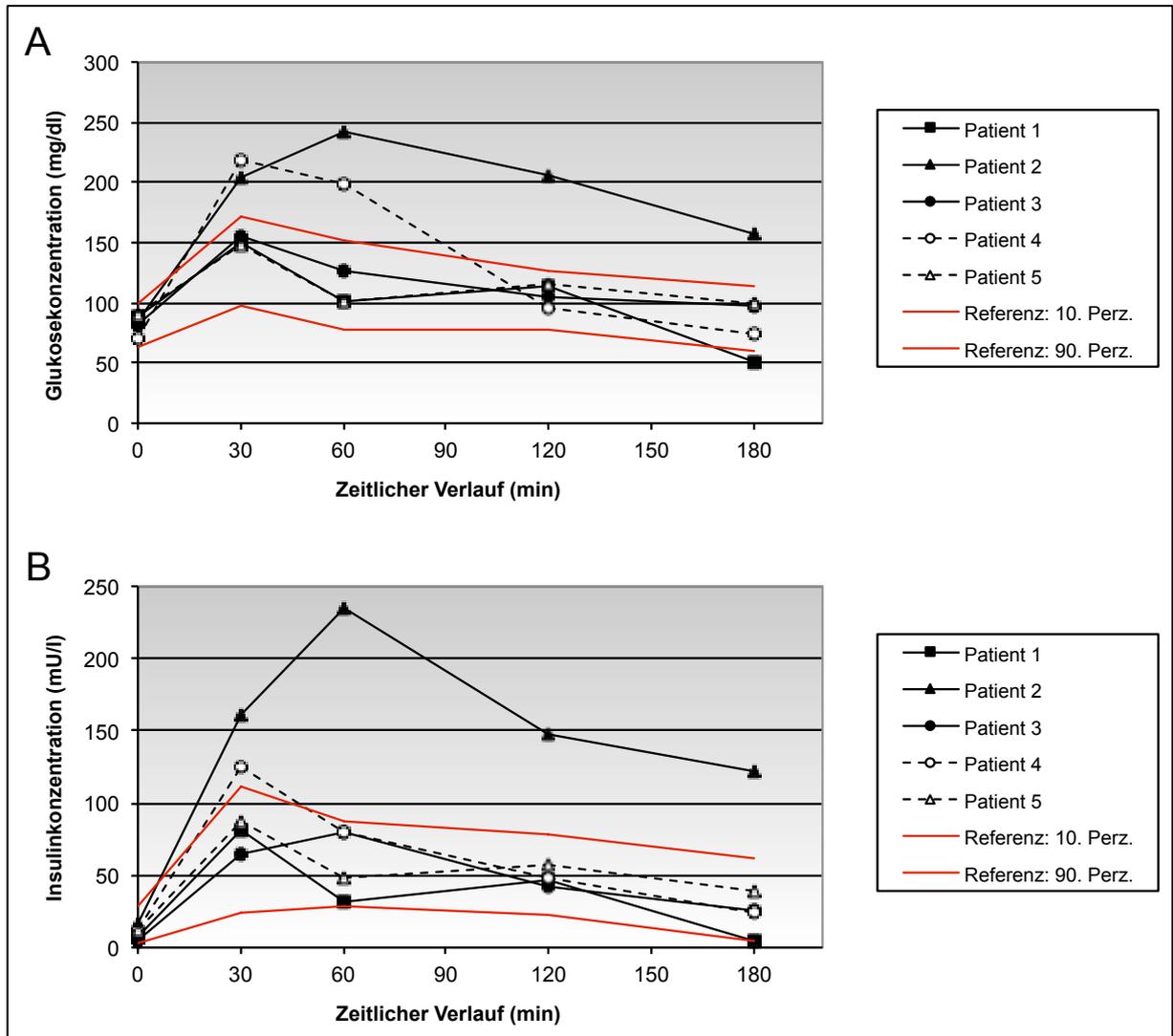
Patient	Betroffener Genabschnitt	cDNA	Genetischer Status	Herkunft des Defekts	Art der Mutation
1	<i>ABCC8</i> , Intron 9	c.1468-2A>C	hetero	maternal	<i>Splice-Site</i> (rezessiv) [neuartig]
2	<i>KCNJ11</i> , Exon 1	c.389C>T	homo	biparental	<i>Missense</i> (rezessiv) [neuartig]
3	<i>ABCC8</i> , Exon 4	c.443T>C	hetero	paternal	<i>Missense</i> (nicht klassifiziert)
4	<i>GLUD1</i> , Exon 10	c.1396T>G	hetero	de novo	<i>Missense</i> (dominant)
5	keine Mutation gefunden ( <i>ABCC8</i> und <i>KCNJ11</i> untersucht)				

**Tabelle 7: Genetische Befunde der teilnehmenden Patienten.**

Während des OGTT entsprachen die Glukose- und Insulinkonzentrationsverläufe von Patient 3 und 5 vollständig den Werten zwischen der 10. und 90. Referenzperzentile und zeigten daher keinerlei pathologischen Auffälligkeiten (Diagramm 4). Der OGTT von Patient 1 verlief zunächst mit ähnlichen Resultaten, allerdings kam es nach 180 min zu einer erniedrigten Glukosekonzentration von 51 mg/dl. Patient 4 wies 30 min nach Glukoseingestion sowohl erhöhte Insulin- als auch Glukosekonzentrationen auf, die sich allerdings zu den Zeitpunkten 120 min und 180 min wieder normalisierten.

Beginnend mit einer regulären Plasmaglukosekonzentration von 85 mg/dl, zeigte Patient 2 nach oraler Glukosegabe durchgehend erhöhte Glukose- und Insulinkonzentrationen oberhalb der 90. Referenzperzentile. Nach einem Maximum von 243 mg/dl nach 60 min, wurde eine Glukosekonzentration von 206 mg/dl zum Zeitpunkt 120 min gemessen. Zwar verringerte

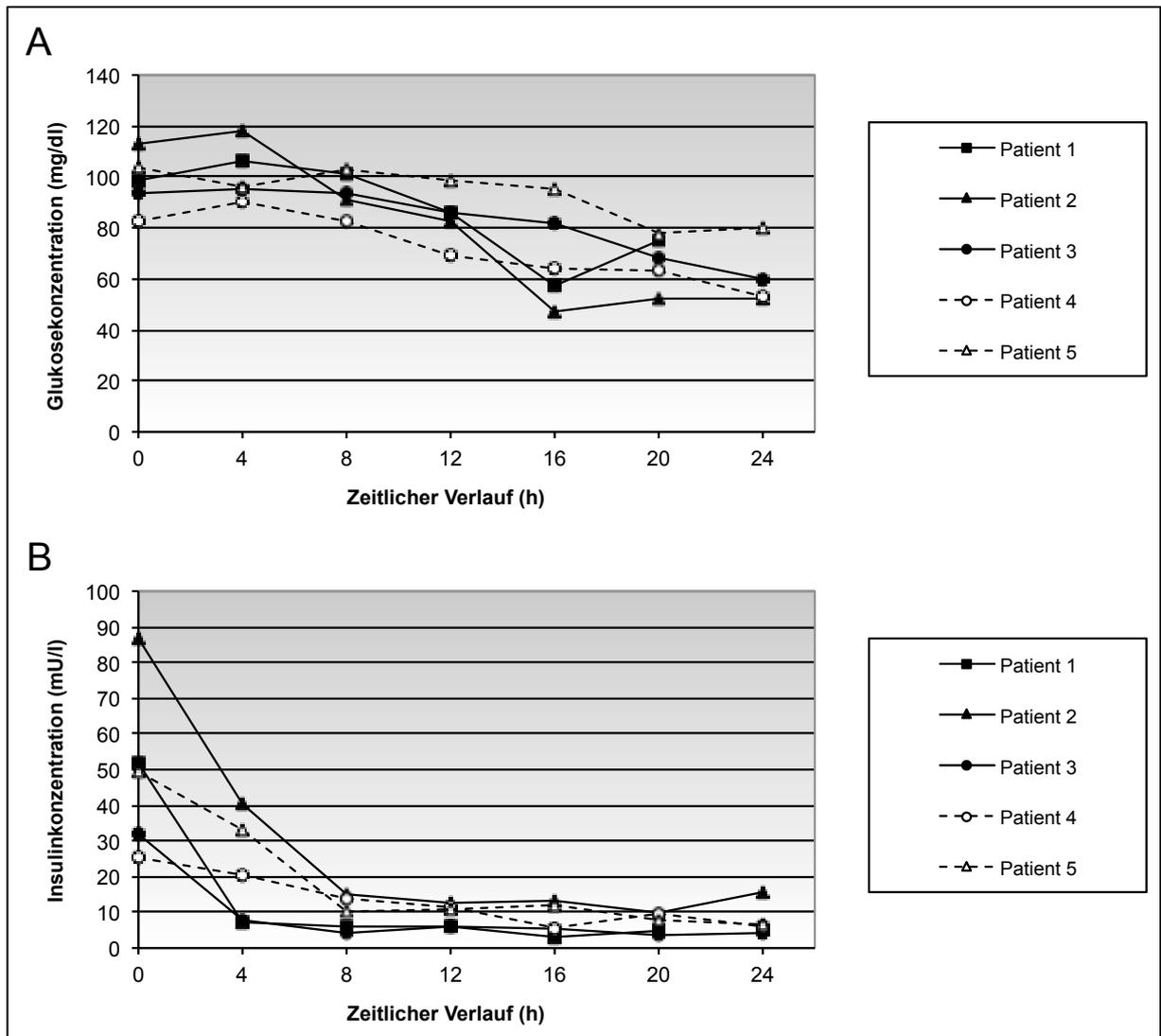
sich die Plasmaglukosekonzentration anschließend auf 158 mg/dl nach 180 min, aber auch mit diesem Wert rangierte sie noch immer oberhalb der 90. Referenzperzentile.



**Diagramm 4: Zeitlicher Verlauf der Plasmaglukose- (A) und Seruminsulinkonzentrationen (B) der teilnehmenden Patienten im verlängerten OGTT.**

Während des Fastentests tolerierten alle 5 Patienten eine Fastendauer von 20 bzw. 24 h, ohne symptomatisch-niedrige Glukosekonzentrationen ( $< 60$  mg/dl) oder Hypoglykämien ( $< 45$  mg/dl) zu entwickeln (siehe Tabelle 8). Parallel zum Abfall der Glukosekonzentration ( $t_{\text{Beginn}}$ :  $99 \pm 5$  mg/dl vs.  $t_{\text{Ende}}$ :  $64 \pm 6$  mg/dl,  $p = 0,009$ ) zeigte sich eine signifikante Abnahme der Insulinkonzentration ( $t_{\text{Beginn}}$ :  $49,1 \pm 10,6$  mU/l vs.  $t_{\text{Ende}}$ :  $7,4 \pm 2,1$  mU/l,  $p = 0,009$ ) (siehe Diagramm 5). Nichtsdestotrotz lagen die zum Ende des Fastentests gemessenen Insulinkonzentrationen sämtlicher Patienten oberhalb der  $> 90.$  Referenzperzentile.

Gleichzeitig zu persistierend erhöhten Insulinwerten, wiesen Patient 2, 3 und 4 am Ende des Fastentests Glukosekonzentrationen unterhalb der 10. Referenzperzentile auf. Besonders deutlich sichtbar wurde dieses Missverhältnis von Glukose und Insulin bei Patient 2, bei dem sich zu den Zeitpunkten 16, 20 und 24 h persistierend hohe Insulinwerte von  $13 \pm 1,4$  mU/l trotz niedriger Glukosekonzentrationen von  $50,3 \pm 1,4$  mg/dl zeigten.



**Diagramm 5: Zeitlicher Verlauf der Plasmaglukose- (A) und Seruminsulinkonzentrationen (B) der teilnehmenden Patienten im Fastentest.**

Als metabolische Adaption an den Fastenzustand war bei allen Patienten ein Anstieg der Konzentrationen von freien Fettsäuren und  $\beta$ -Hydroxybutyrat zu verzeichnen (siehe Tabelle 8). Allerdings unterlag speziell der Anstieg der  $\beta$ -Hydroxybutyratkonzentration einer großen interindividuellen Varianz (Mittelwert: 1,0 mmol/l; Variationsbreite von 0,4 bis 2,1 mmol/l);

ausschließlich Patient 3 erreichte im Laufe des Fastens eine Konzentrationszunahme auf mehr als 2 mmol/l. Bei Patient 1, 3 und 5 konnte außerdem im Laufe des Fastentests eine deutliche Abnahme der Triglyzeridkonzentration beobachtet werden. Bei Patient 2 und 4 hingegen kam es entweder nur zu einer marginalen Abnahme oder sogar zu einer minimalen Zunahme der Triglyzeridkonzentration.

In der Gesamtansicht der hormonellen und metabolischen Parameter, konnten bei Patient 2 und 4 am Ende des Fastentests die metabolischen Kennzeichen des KHI in einer milden Form beobachtet werden, i.e. eine Triade bestehend aus niedriger Glukosekonzentration (52 bzw. 53 mg/dl), hoher Insulinkonzentration (15,8 bzw. 6,1 mU/l) und niedriger  $\beta$ -Hydroxybutyratkonzentration (0,6 bzw. 0,4 mmol/l).

Keine einheitliche Tendenz zeigte das Cortisolsekretionsverhalten als metabolische Reaktion auf sinkende Glukosekonzentrationen. Während es im Laufe des Fastentests bei 3 Patienten (Patient 1, 2 und 3) zu einem Anstieg der Cortisolkonzentration kam, war bei 2 Patienten (Patient 4 und 5) eine Abnahme zu verzeichnen.

Patient	Zeitpunkt (h)	Glukose (mg/dl)	Insulin (mU/l)	Cortisol ( $\mu$ g/dl)	FFS (mmol/l)	$\beta$ -HB (mmol/l)	Triglyzeride (mmol/l)
1	0	99	52	1,6	< 0,1	0	1,66
	20	75	4,6	14,4	1,7	1,1	0,70
Referenzbereich (10. - 90. Perz.)	0	86 - 128	3,7 - 31,2	5,1 - 36,2	0,08 - 0,62	< 0,02 - 0,07	0,63 - 2,50
	20	54 - 86	< 1 - 1,8	7,6 - 35,1	0,91 - 2,34	0,36 - 2,56	0,38 - 0,99

Patient	Zeitpunkt (h)	Glukose (mg/dl)	Insulin (mU/l)	Cortisol ( $\mu$ g/dl)	FFS (mmol/l)	$\beta$ -HB (mmol/l)	Triglyzeride (mmol/l)
2	0	113	86,6	6,8	0,15	0	1,27
	24	52	15,8	11,8	1,2	0,6	1,22
3	0	94	31,9	4,6	0,19	0,1	1,66
	24	60	4,2	17,2	2,1	2,1	0,50
4	0	83	25,6	4,8	0,17	0	1,22
	24	53	6,1	3,3	0,8	0,4	1,23
5	0	104	49,3	12,2	0,22	0,2	4,38
	24	80	6,4	4,9	0,75	0,6	0,86
Referenzbereich (10. - 90. Perz.)	0	90 - 146	7,9 - 55,7	2,2 - 21,4	0,08 - 0,45	< 0,02 - 0,06	0,54 - 1,43
	24	63 - 88	< 1 - 3,3	9,1 - 37,3	0,73 - 3,07	0,32 - 2,46	0,43 - 0,89

**Tabelle 8: Vergleich hormoneller und metabolischer Parameter zu Beginn und Ende des altersadaptierten Fastentests.** FFS = freie Fettsäuren.  $\beta$ -HB =  $\beta$ -Hydroxybutyrat. Rot dargestellt sind Abweichungen vom Referenzbereich.

### 4.3 Illustrative Fallbeispiele

Patient 2 ist das zweite Kind blutsverwandter Eltern (Cousin und Cousine I.<sup>o</sup>). In der 38. Gestationswoche mit einem Geburtsgewicht von 5320 g per *Sectio caesarea* entbunden, ergab die erste Blutzuckermessung unmittelbar postnatal einen Wert von 29 mg/dl. Zeitweise waren intravenöse Glukoseinfusionsraten von 16 mg/kg Körpergewicht/min notwendig, um eine ausreichende Plasmaglukosekonzentration zu gewährleisten. Wiederholte Insulinbestimmungen während folgender hypoglykämischer Episoden zeigten eine massiv erhöhte Insulinsekretion (107 mU/l Insulin bei 27 mg/dl Plasmaglukose; 61 mU/l Insulin bei 35 mg/dl Plasmaglukose). Wie es für das metabolische Profil des KHI typisch ist, konnten während der Hypoglykämien keine Ketonkörper detektiert werden. Da die Plasmaglukosekonzentration unter Diazoxidbehandlung nicht adäquat angehoben werden konnte, wurde eine Somatostatintherapie mit initial 20 µg Octreotid subkutan / kg Körpergewicht/ d begonnen. Unter dieser Therapie, in Kombination mit regelmäßiger Nahrungszufuhr, war eine zunehmende Verbesserung der Plasmaglukosekonzentration zu verzeichnen. Im Alter von 4 Jahren wurde die Behandlung mit Octreotid durch das langwirksame Somatostatinanalogon Lanreotid in der Dosierung 90 mg alle 4 Wochen ersetzt. Nachdem die Abstände der Injektionen erst auf 6, später auf 8 Wochen verlängert wurden, erfolgte die letzte Lanreotidgabe im Alter von 6 Jahren. Im anschließenden Stadium der Remission wurde die Plasmaglukosekonzentration regelmäßig durch die Eltern kontrolliert und zeigte dabei Werte zwischen 65 und 140 mg/dl. Den Eltern zufolge tolerierte Patient 2 nächtliche Nahrungskarenzen von 10 Stunden, ohne Hypoglykämien oder Hypoglykämiebedingte Komplikationen zu erfahren. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung, im Alter von 7 Jahren, resultierte die exzessive Gewichtszunahme der letzten Jahre in einem Gewicht von 39 kg (BMI: 23,4 kg/m<sup>2</sup>; + 2,5 SD). Die genetische Analyse identifizierte eine homozygote, biparental rezessiv vererbte Mutation des *KCNJ11*-Gens (Exon 1c.389C>T), hinweisend auf eine diffuse Form des KHI.

Patient 3 ist das erste Kind nicht-blutsverwandter Eltern. Mit einem Geburtsgewicht von 3600 g in der 42. Gestationswoche geboren, verliefen Schwangerschaft und Neonatalperiode unauffällig. Erste Symptome des KHI, i.e. starke Müdigkeit und ein fraglicher Krampfanfall, manifestierten sich im Alter von 2 Monaten, als die Plasmaglukosekonzentration 4 Stunden nach Stillen auf 28 mg/dl abfiel. Im Anschluss an den Nachweis einer erhöhten

Insulinkonzentration während einer hypoglykämischen Episode (2,3 mU/l Insulin bei 40 mg/dl Plasmaglukose), wurde Diazoxid als Mittel der ersten Wahl für die Dauertherapie eingesetzt, konnte jedoch zu keiner ausreichenden Stabilisierung der Plasmaglukosekonzentration beitragen. Eine suffiziente Stabilisierung war erst mittels Octreotid zu erreichen. Unter dieser Therapie wurden bei Eigenmessungen zuhause durch die Eltern keine weiteren schweren Hypoglykämien beobachtet. Immer wieder kam es allerdings zu leicht erniedrigten Glukosekonzentrationen (50-60 mg/dl) am Morgen und darüber hinaus zu einer hypoglykämischen Episode (Glukosekonzentration: 29 mg/dl) im Rahmen einer Diarrhoe. Im Alter von 6 Jahren konnte die Octreotidtherapie beendet werden. Nach Eintritt der Remission entwickelte sich Patient 3 klinisch stabil; die anfänglich regelmäßig, später nur noch bei Unwohlsein gemessenen Glukosekonzentrationen lagen meist bei Werten zwischen 60 und 70 mg/dl. Auch das Gewicht entwickelte sich regulär (29,9 kg; BMI: 16,7 kg/m<sup>2</sup>; + 0,1 SD). Patient 3 trägt eine heterozygote, paternal vererbte *ABCC8*-Mutation (Exon 4 c.443T>C) und erfüllt damit die genetischen Bedingungen für die fokale Form des KHI. Ein <sup>18</sup>F-fluoro-L-DOPA-PET-Scan wurde auf ausdrücklichen Wunsch der Eltern nicht durchgeführt, da für die Eltern eine operative Therapie nicht in Frage kam.

## 5 Diskussion

Die vorliegende Arbeit basiert auf den Krankendaten sämtlicher Patienten mit KHI, welche im Zeitraum von 2002 bis 2013 an die Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf überwiesen und dort behandelt wurden. Ziel der Arbeit war die genauere Exploration des klinischen Stadiums namens „Remission“. Da Patienten erst im letzten Jahrzehnt zunehmend nicht-operativ behandelt wurden und die Erkrankung insgesamt selten vorkommt, sind bislang nur wenige Patienten in Remission gekommen und Daten zu diesen Patienten existieren nur vereinzelt in der Literatur. Zu klären, ob Patienten nach oft jahrelanger, intensiver konservativer Therapie und trotz eines teils sehr schweren Hyperinsulinismus tatsächlich in eine stabile Remission kommen, ist wichtig für die Frage, ob das Konzept der nicht-operativen Therapie im Vergleich zu einer operativen Therapie überhaupt sinnvoll ist. Speziell die Überprüfung der Fastentoleranz sowie die Charakterisierung der dazugehörigen hormonellen und metabolischen Profile von Patienten in Remission sind bisher nirgends in der Literatur hinreichend dokumentiert worden. Weil eine verkürzte Fastentoleranz ein essentielles Merkmal des aktiven Krankheitsstadiums des KHI darstellt, würde eine physiologische Fastentoleranz der Patienten in Remission nach konservativer Behandlung einen längerfristigen Therapieerfolg belegen und zudem Sicherheit vor wiederkehrenden Hypoglykämien samt ihrer negativen, insbesondere neurologischen, Komplikationen gewähren.

Als ein wichtiges Ergebnis ergab sich in den klinischen Nachuntersuchungen, dass alle Patienten in Remission die altersadaptierte Fastendauer tolerierten, ohne die gewählte Hypoglykämiegrenze (Plasmaglukosekonzentration  $< 45$  mg/dl) zu unterschreiten oder Hypoglykämie-bedingte Symptome zu entwickeln. Die individuell unterschiedlich stark erhöhten Insulinkonzentrationen aller Patienten am Ende des Fastentests führen außerdem zu der Schlussfolgerung, dass auch im Stadium der Remission eine  $\beta$ -Zelldysfunktion im Sinne einer vermehrten Insulinsekretion weiterhin besteht. Einhergehend mit der Heterogenität der krankheitsauslösenden Mutationen, der Vererbungsgänge und der histopathologischen Manifestationen konnte keine einheitliche Erklärung für den Eintritt der Remission gefunden werden. Vielmehr scheint der Remission eine individuell unterschiedlich gewichtete Kombination aus reduzierter Überaktivität der  $\beta$ -Zellen, Abnahme der peripheren Insulinsensitivität sowie einer verbesserten Gegenregulation bei Hypoglykämie neigung zugrunde zu liegen. Es ist darüberhinaus zu beachten, dass die Entwicklung einer peripheren

Insulinresistenz im weiteren Verlauf des KHI zum scheinbar gegenteiligen Krankheitsbild, i.e. von hyperinsulinämischen Hypoglykämien zu hypoinsulinämischen Hyperglykämien, führen kann.

### 5.1 Besonderheiten des Düsseldorfer Patientenkollektivs

Im Vergleich zu vorher veröffentlichten Studien zum KHI von anderen Behandlungszentren, wird in der vorliegenden Arbeit ein relativ kleines Patientenkollektiv analysiert. Die vorliegende Arbeit bietet dafür den Vorteil, dass sämtliche in die Datenerhebung eingeschlossenen Patienten mit einer einheitlichen therapeutischen Strategie behandelt wurden. Angesichts der hohen Inzidenz von Insulin-abhängigem Diabetes mellitus bei operierten Patienten (79–83) und des häufig unzureichenden Therapieeffektes einer partiellen Pankreatektomie, entschieden sich die Eltern des Düsseldorfer Patientenkollektivs zumeist für ein konservatives Vorgehen. Es ist anzumerken, dass insbesondere vor jeder zulassungsüberschreitenden (*off-label*) Anwendung von Arzneimitteln stets die operative Therapiealternative angeboten wurde. Nichtsdestotrotz wurde seitens der Eltern als Konsequenz einer Diazoxidunwirksamkeit der Einsatz von Somatostatinanaloga als Alternative zur chirurgischen Intervention tendentiell favorisiert; anders wäre dies beispielsweise in den USA der Fall, wo nach wie vor im Falle einer diffusen Form des KHI die operative Therapie frühzeitiger empfohlen und durchgeführt wird.

Diese eher konservative therapeutische Strategie wird in den klinischen Verläufen des Düsseldorfer Patientenkollektivs reflektiert: zum Studienzeitpunkt waren nur wenige Patienten (11%) einer chirurgischen Intervention unterzogen worden, während die übrigen Patienten entweder einen stabilen Verlauf unter medikamentöser Therapie aufwiesen (67%) oder sich in Remission befanden (22%). Diese Daten unterscheiden sich sehr von den Ergebnissen anderer Zentren. Möglicherweise auch durch eine unterschiedliche genetische Zusammensetzung des Patientenkollektivs bedingt, berichten Snider *et al.* von ihrem Patientenkollektiv am Children's Hospital of Philadelphia in den USA, dass von 417 Patienten 68% mittels Pankreatektomie und nur 4% mit einer Kombination bestehend aus Somatostatinanaloga und Sondennahrung bei Diazoxidunwirksamkeit behandelt wurden (97). Ein weiterer, wichtiger Aspekt bei der Wahl der Therapie, welcher die Unterschiede in der Behandlung des amerikanischen und Düsseldorfer Patientenkollektivs begründen könnte, ist

die tolerierte untere Grenze für die Plasmaglukosekonzentration. Beruhend auf den Erfahrungen mit Säuglingen und Kleinkindern mit neonatalem Diabetes oder Diabetes mellitus Typ 1, welche im Rahmen der notwendigen Insulintherapie immer wieder hyperinsulinämische Hypoglykämien aufweisen können, ohne dass diese negative klinische Auswirkungen hätten, wurden bei Patienten mit KHI unter medikamentöser Therapie gelegentliche, asymptotische Hypoglykämien zwischen 45 und 70 mg/dl toleriert. Bei niedrigeren Werten oder symptomatischen Hypoglykämien wurde eine Therapieintensivierung empfohlen.

## 5.2 Zeitpunkt der Remission

Anhand der deskriptiven Statistik konnte außerdem gezeigt werden, dass bei allen 4 Patienten in Remission, bei denen Diazoxid zuvor zu keiner adäquaten Stabilisierung der Plasmaglukosekonzentration führte und die deswegen mit einem Somatostatinanalogon behandelt wurden, ein Remissionseintritt erst nach langer, teilweise intensiver medikamentöser Therapie stattgefunden hat. Dies bestärkt die Annahme, dass beim Remissionszeitpunkt zwei Gruppen zu differenzieren sind, i.e. frühe Remission bei mildem KHI innerhalb des ersten Lebensjahres und späte Remission erst im Alter von 1 bis 8 Jahren. Es ist außerdem zu beachten, dass bei jedem dieser 4 Patienten eine  $K_{ATP}$ -Kanalmutation molekulargenetisch nachzuweisen war, welche vermutlich das Nichtansprechen auf Diazoxid verantwortete. Der nach Ausschluss der transienten Fälle eines Hyperinsulinismus einzige Patient in früher Remission (im Alter von 4 Monaten) ist zuvor mit Diazoxid behandelt worden. Interessanterweise wurde bei ihm ebenfalls eine  $K_{ATP}$ -Kanalmutation in Form einer heterozygoten Mutation des *KCNJ11*-Gens nachgewiesen, allerdings ist diese Mutation bisher nirgends beschrieben und die Bedeutung bleibt somit spekulativ.

Diese zeitliche Differenzierung ist eine wichtige Ergänzung zur Studie von Banerjee *et al.*, welche in ähnlicher Weise den Zeitpunkt und die Wahrscheinlichkeit einer Remission mittels retrospektiver Analyse eines Patientenkollektivs untersuchte (86). Die in dieser englischen Studie beobachteten Eintrittszeitpunkte der Remission lagen frühestens bei einem Patientenalter von 6 Tagen und spätestens bei einem Patientenalter von 7,5 Jahren (25. Perzentile: 30 Tage; 75. Perzentile: 300 Tage). Außerdem ist laut dieser Studie die Wahrscheinlichkeit einer Remission positiv mit einer Ansprechbarkeit auf Diazoxid, einer

Abwesenheit identifizierbarer Mutationen oder einem Nachweis maternal vererbter Gendefekte korreliert.

Der in diesem englischen Patientenkollektiv große Anteil an Patienten in Remission (48%), der insgesamt frühe Remissionseintritt sowie die positiv prädiktiven Werte einer Diazoxidbehandlung und einer Abwesenheit identifizierbarer Mutationen illustrieren die Schwierigkeit einer Differenzierung zwischen dem genetisch bedingtem KHI mit früher Remission und dem sehr viel häufigeren transientem Hyperinsulinismus der ersten Lebenswochen anderer, noch unklarer Genese. Dabei hat die Definition des Patientenkollektivs wichtige Auswirkungen auf die Analyse der Remission. Es bestehen keine Zweifel, dass eine sehr frühe Remission auch bei Kindern mit genetisch bestätigtem KHI möglich ist. Kumaran *et al.* berichten von einem Patienten mit *compound* heterozygoter *ABCC8*-Mutation, welcher aufgrund einer Diazoxidunwirksamkeit zunächst mit Octreotid behandelt wurde, jedoch bereits im Alter von 8 Wochen die Medikation absetzen konnte (87). Die Kombination aus früher Remission, Diazoxidansprechbarkeit und fehlendem Nachweis einer genetischen Ursache ist jedoch eher charakteristisch für den transienten Hyperinsulinismus anderer Genese, wie er z.B. bei hypotrophen Neugeborenen zu finden ist (93). Fälle von Patienten, bei denen keine dem KHI zuzuordnende Mutation nachgewiesen war, die auf Diazoxid ansprachen und früh innerhalb weniger Wochen bis 3 Monate nach Geburt in Remission kamen, wurden im Rahmen der vorliegenden Datenerhebung als transients Hyperinsulinismus klassifiziert und flossen daher nicht in die weitere Auswertung ein. Dieser rigorose Ausschluss von Fällen in der Grauzone zwischen transientem Hyperinsulinismus und KHI mit früher Remission mag als Erklärung dienen, weshalb die Anzahl an Patienten in früher Remission in dieser Studie geringer ausfällt im Vergleich zur Studie von Banerjee *et al.*.

### **5.3 Remission in Abhängigkeit von der medikamentösen Therapie**

Da eine Remission selbst bei initial schwerem Verlauf, mit genetisch nachgewiesenem  $K_{ATP}$ -Kanaldefekt und unter Somatostatintherapie nach bis zu 6 Jahren beobachtet werden konnte (siehe Patient 4 und 5), ist eine Therapie mit einem Somatostatinanalogon als aussichtsreiche Alternative zur chirurgischen Intervention bei Nichtansprechbarkeit auf Diazoxid anzusehen.

Dies gilt in erster Linie, um eine stabile Plasmaglukosekonzentration zu erreichen. Der Einsatz von Somatostatinanaloga kann außerdem durch die Vermeidung von chirurgischen Interventionen deren möglicherweise auftretenden, lebenslangen Komplikationen (endokrine und exokrine Pankreasinsuffizienz) verhindern. Ob zusätzlich die Möglichkeit einer spontanen Remission begünstigt wird und Somatostatinanaloga daher auch bei Ansprechen auf Diazoxid eine sinnvolle Therapiealternative sein könnten, bleibt spekulativ.

#### **5.4 Zu den zugrundeliegenden Mechanismen der Remission**

Bereits 1999 publizierten Glaser *et al.* eine Studie zur Remission des KHI bei nicht-operierten Patienten nach konservativer Therapie (85). Die Häufigkeit eines Remissionseintritts wurde dabei in Abhängigkeit von der zugrundeliegenden Genetik sowie der daraus resultierenden (vermuteten) Histopathologie interpretiert. Bei Patienten mit nur einer, paternal vererbten *ABCC8*-Mutation (vermutlich fokale Form) setzte eine Remission signifikant früher ein als bei Patienten mit zwei *ABCC8*-Mutationen (vermutlich diffuse Form): während 8 von 9 Patienten mit einer einzelnen, paternalen Mutation innerhalb von  $16 \pm 6,2$  Monaten in Remission eintraten, waren 9 von 13 Patienten mit 2 Mutationen im Alter von  $48 \pm 23$  Monaten immer noch auf eine medikamentöse Therapie zur Stabilisierung der Plasmaglukosekonzentration angewiesen.

Eine mögliche Erklärung für den scheinbar selbstlimitierenden Verlauf der fokalen Form des KHI basiert auf Biopsien aus den fokalen Läsionen, in denen eine erhöhte Apoptoserate festgestellt wurde. Die erhöhte Apoptoserate hypersekretorischer  $\beta$ -Zellen innerhalb der fokalen Läsionen und die damit einhergehene, progressive Normalisierung der ehemals pathologisch gesteigerten Insulinsekretion könnten die frühe Remission der fokalen Formen bedingen. In einer späteren Studie wurde eine ähnlich erhöhte Apoptoserate hypersekretorischer  $\beta$ -Zellen auch bei diffusen Formen des KHI nachgewiesen. Dies deutet darauf hin, dass eine klinische Remission des KHI aus dem Nettoeffekt aus einerseits pathologischer  $\beta$ -Zellproliferation und vermehrter Insulinsekretion sowie andererseits Apoptose-bedingtem Verlust an  $\beta$ -Zellmasse und konsekutiver Reduktion der Insulinsekretionskapazität resultiert (100).

Der zugrunde liegende molekulare Mechanismus der Apoptoseinduktion in hypersekretorischen  $\beta$ -Zellen ist noch nicht abschließend geklärt; eine entscheidende Rolle

scheinen aber die mutierten  $K_{ATP}$ -Kanäle zu spielen. Physiologisch dienen  $K_{ATP}$ -Kanäle als wichtige Regulatoren der Insulinsekretion, da sie das  $\beta$ -Zellmembranpotenzial und somit die Insulinexozytose an das  $[ATP]/[ADP]$ -Verhältnis als Korrelat zum Glukosemetabolismus der  $\beta$ -Zelle koppeln. Im Falle des KHI aufgrund einer  $K_{ATP}$ -Kanalmutation bewirkt der permanente Verschluss der  $K_{ATP}$ -Kanäle eine persistierende Depolarisation der  $\beta$ -Zellmembran. Die Depolarisation wiederum resultiert in einem dauerhaften  $Ca^{2+}$ -Einstrom durch spannungsabhängige  $Ca^{2+}$ -Kanäle und in einer  $Ca^{2+}$ -getriggerten, konstitutionellen Exozytose der Insulingranula (99). Diese permanent erhöhten, intrazellulären  $Ca^{2+}$ -Konzentrationen scheinen eine bedeutende Funktion in der Apoptoseinduktion zu besitzen, welche manchem Patienten den Eintritt ins Stadium der Remission ermöglicht (100).

Miki *et al.* entwickelten ein transgenes Mausmodell, welches analog zum KHI beim Menschen mutierte, inaktive  $K_{ATP}$ -Kanäle exprimierte. Die Mäuse zeigten zunächst hyperinsulinämische Hypoglykämien in der Neonatalzeit, wiesen aber im späteren Verlauf hypoinsulinämische Hyperglykämien bei einer dezimierten  $\beta$ -Zellpopulation auf. Die Schwere der Hyperglykämien korrelierte dabei mit der Reduktion der  $\beta$ -Zellpopulation. Ähnlich wie Glaser *et al.* anhand von Biopsien operierter Patienten, führen Miki *et al.* die Abnahme der  $\beta$ -Zellmasse und die damit einhergehende Reduktion der Insulinsekretionskapazität auf eine nachgewiesene erhöhte intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Konzentration und eine damit in Verbindung stehende erhöhte Apoptoserate der  $\beta$ -Zellen zurück (103).

Teilweise könnte also bei den untersuchten Patienten eine Apoptose-vermittelte Reduktion der ehemals hypersekretorischen  $\beta$ -Zellfunktion den Eintritt einer Remission begünstigt haben. Diese von Glaser *et al.* etablierte Hypothese (85) ist anwendbar auf Patient 3, welcher eine nahezu vollständige Normalisierung der Insulinsekretion und Glukosehomöostase aufwies. Wenn auch keine definitive Klassifikation der zugrundeliegenden Mutation mithilfe computergestützter Vorhersageprogramme möglich war (102), bietet die paternal (von einem gesunden Vater) vererbte, heterozygote *ABCC8*-Mutation die genetische Grundlage für eine fokale Form.

Als alleinige Erklärung nicht anwendbar ist die These der Apoptose-vermittelten Normalisierung der Insulinsekretion dagegen auf Patient 2. Als Träger einer homozygoten *KCNJ11*-Mutation (vermutlich diffuse Form), präsentierte er persistierend hohe Insulinkonzentration von  $13 \pm 1,4$  mU/l zu den Zeitpunkten 16, 20 und 24 h des Fastentests. Diese auffallend hohen Insulinkonzentrationen bei korrespondierenden

Plasmaglukosekonzentrationen von  $50,3 \pm 1,4$  mg/dl sowie auch die pathologischen Ergebnisse im OGTT und das starke Übergewicht legen die Vermutung nahe, dass in diesem Fall zusätzlich eine sich entwickelnde periphere Insulinresistenz als zugrunde liegender Mechanismus der Remission infrage kommt.

## 5.5 Übergang vom Zustand der „Remission“ in eine diabetische Stoffwechsellage

Abgesehen vom Mausmodell von Miki *et al.* (101) existieren verschiedene Einzelfallberichte, die von einem Übergang des KHI in einen Insulin-abhängigen Diabetes mellitus berichten. Die Sequenz eines Hyperinsulinismus während Neonatalperiode und Kindheit, gefolgt von einer gestörten Fastenglukose oder einer gestörten Glukosetoleranz aufgrund einer progressiven Reduktion der Insulinsekretionskapazität während der Adoleszenz und schließlich im Erwachsenenalter in einem Insulin-abhängigen Diabetes mellitus endend, wurde für Fälle des KHI aufgrund von  $K_{ATP}$ -Kanalddefekten, einem Glukosekinasedefekt und für eine Mutation des Transkriptionsfaktors HNF4 $\alpha$  beschrieben (41,89–92). Wäre der Diabetes mellitus tatsächlich ein mögliches, natürliches Endstadium der diffusen Form des KHI, müsste jede scheinbare klinische Remission als Zwischenstadium einer potenziell biphasisch verlaufenden Erkrankung in Betracht gezogen werden: vom Hyperinsulinismus mit Hypoglykämien zum Diabetes mellitus. In diesem Falle wäre es wichtig, Risikofaktoren, die zusätzlich zum Auftreten einer Diabeteserkrankung beitragen können, möglichst zu minimieren. Ebenso wichtig wären regelmäßige Nachuntersuchungen, um die Entwicklung eines Diabetes rechtzeitig zu erkennen und gegebenenfalls adäquat zu therapieren.

Während des OGTT wies keiner der untersuchten Patienten eine reduzierte Insulinsekretionskapazität auf. Patient 2 erfüllte jedoch die OGTT-Kriterien eines Diabetes mellitus bei gleichzeitig bestehenden, exzessiv erhöhten Insulinkonzentrationen. Die Kombination aus pathologisch hohen Plasmaglukosekonzentrationen bei gleichzeitig relativ hohen Insulinkonzentrationen ähnelt dem metabolischen Profil, welches in der Entwicklung des Diabetes mellitus Typ 2 beobachtet werden kann. Ein Diabetes mellitus Typ 2 manifestiert sich, wenn sowohl eine periphere Insulinresistenz als auch eine reduzierte Insulinsekretionskapazität vorliegen. Hyperglykämien treten ab dem Moment auf, in dem eine Diskrepanz zwischen Insulinsekretionskapazität und nicht mehr zu kompensierender,

peripherer Insulinsensitivität herrscht (103). Weil Patient 2 während eines OGTTs 1 Jahr zuvor bereits einen pathologischen 120min-Wert von 148 mg/dl aufwies und sich dieser 120min-Wert innerhalb eines Jahres weiter auf 206 mg/dl verschlechterte, ist in diesem speziellen Fall anzunehmen, dass Änderungen der Insulinsensitivität, im Sinne einer zunehmenden peripheren Insulinresistenz bei gleichzeitig bestehender Adipositas (BMI: 23,4 kg/m<sup>2</sup>, + 2,5 SD), zunächst eine Remission trotz weiterhin bestehenden Insulinsekretionsdefekts ermöglichten, später aber die Entwicklung von Hyperglykämien begünstigten. Wenn also bei Patient 2 im Stadium der scheinbaren Remission nur eine Maskierung des Insulinsekretionsdefekts durch eine sich entwickelnde Insulinresistenz vorliegt, könnte im Anschluss ein Übergang zur Dekompensation mit Entwicklung einer diabetischen Stoffwechsellage stattfinden. Diese würde dem Diabetes mellitus Typ 2 ähneln, wenn die abnehmende Insulinsekretionskapazität nicht mehr die fortschreitende Insulinresistenz - zumindest bei Glukosebelastung - warden kompensieren können. Die schließlich zur Dekompensation führende, sukzessiv verminderte Insulinsekretionskapazität könnte durch eine erhöhte Apoptoserate von  $\beta$ -Zellen mit mutiertem  $K_{ATP}$ -Kanal verursacht sein, wie sie anhand von Patientenbiopsien und im Tiermodell beschrieben wurde (85,98,101). Ursachen für die entstehende periphere Insulinresistenz sollten Gegenstand zukünftiger Studien sein. Es ist bekannt, dass individuelle genetische Risikofaktoren einen Einfluss auf die Entwicklung einer Insulinresistenz haben. Im Falle von Patient 2 muss die Adipositas als zentraler Risikofaktor einer Insulinresistenz (104) in Erwägung gezogen werden. Bei Patient 1, welcher sich ähnlich stark übergewichtig präsentierte (BMI: 21,6 kg/m<sup>2</sup>, + 2,5 SD), konnten jedoch im OGTT keine Anzeichen einer sich entwickelnden Insulinresistenz festgestellt werden. Ob das bei beiden Patienten gefundene, massive Übergewicht wiederum allein die Konsequenz kohlenhydratreicher und hochkalorischer Ernährung zur Prophylaxe vor wiederkehrenden Hypoglykämien darstellt oder zusätzlich aus der übermäßigen, Insulinvermittelten Lipogenese resultiert, bleibt ebenfalls zu klären.

Ein Fallbericht mit einer ähnlichen Konstellation wie bei Patient 2 ist von Abdulhadi-Atwan *et al.* veröffentlicht worden. Als Trägerin einer heterozygoten *ABCC8*-Mutation zeigte die beschriebene Patientin im Kindesalter die entsprechende Klinik des KHI mit hypoglykämischen Episoden und Hypoglykämie-bedingten Krampfanfällen. Im Alter von 10 Jahren, zu diesem Zeitpunkt bereits pubertär und zudem übergewichtig (BMI: 30,2 kg/m<sup>2</sup>), entwickelte sie jedoch einen Insulin-bedürftigen Diabetes mellitus. Ein intravenöser

Glukosetoleranztest wies eine verminderte Insulinsekretionskapazität nach. Es wurde angenommen, dass die Kombination aus verminderter Insulinsekretionskapazität und zunehmender Insulinresistenz durch Übergewicht und frühe Pubertät zum Auftreten des Diabetes führte (91). Bemerkenswerterweise befand sich der HbA<sub>1c</sub>-Wert von Patient 2 trotz des pathologischen OGTT-Resultats im Normalbereich (4,9%). Vor einer endgültigen Diagnosestellung eines Diabetes muss zudem beachtet werden, dass OGTT-Resultate von Patienten mit KHI nicht herkömmlich zu interpretieren sind, da K<sub>ATP</sub>-Kanalddefekte die reaktive Insulinsekretion infolge Glukosebelastung beeinträchtigen und damit *per se* durch eine *Glucose Blindness* zu einer gestörten Glukosetoleranz führen können (105). Bei Patient 2 ist deshalb vorerst kein Diabetes mellitus diagnostiziert worden. Die exzessiv erhöhten Insulinwerte bei gleichzeitig nur geringer Reduzierung der Plasmaglukosekonzentration im Verlauf des OGTT weisen jedoch auf eine sich entwickelnde Insulinresistenz hin, deren Fortschreiten bei gleichzeitig bestehender  $\beta$ -Zelldysfunktion weiterhin zu überwachen sein wird.

## 5.6 Variable, metabolische Kompensation bei fortbestehender $\beta$ -Zelldysfunktion

Die Tatsache, dass bei allen Patienten am Ende des altersadaptierten Fastentests erhöhte Insulinkonzentrationen von  $7 \pm 2$  mU/l bei Plasmaglukosekonzentrationen von  $64 \pm 6$  mg/dl nachweisbar waren, deutet auf eine fortbestehende, wenn auch abgeschwächte,  $\beta$ -Zelldysfunktion im Sinne des Hyperinsulinismus hin. Obwohl die Insulinkonzentrationen aller Patienten am Ende des Fastentests oberhalb der 90. Referenzperzentile lagen, wies keiner der Patient Hypoglykämien  $< 45$  mg/dl oder Hypoglykämie-bedingte Symptome auf. Offenbar sind Patienten mit KHI selbst im Zustand einer scheinbaren, klinischen Remission weiterhin nicht in der Lage, die Insulinsekretion in der Gegenwart niedriger Plasmaglukosekonzentrationen adäquat zu supprimieren. Dennoch, und dies ist für die klinische Klassifikation als Remission entscheidend, verursachen die sogar in Remission persistierend erhöhten Insulinkonzentrationen keine symptomatischen oder tiefen Hypoglykämien mehr.

Nicht nur, dass alle Patienten die altersadaptierte Fastendauer ohne Hypoglykämien oder Hypoglykämie-bedingte Symptome tolerierten, sondern auch das hormonelle und metabolische

Profil der untersuchten Patienten in Remission ließ sich während des Fastenzustands vom aktivem Krankheitsstadium, welches von Stanley *et al.* beschrieben wurde (7), unterscheiden. Stanley *et al.* charakterisierten die hormonellen und metabolischen Veränderungen im Fastenzustand im aktiven Krankheitsstadium: nach einer Fastendauer von durchschnittlich 6,4 h lag die Plasmaglukosekonzentration bei  $28,7 \pm 4,4$  mg/dl, während gleichzeitig Insulinkonzentrationen von  $15,3 \pm 3,2$  mU/l gemessen wurden. Während sich im aktiven Krankheitsstadium keine adäquate Synthese der alternativen Energieressourcen (i.e. Ketonkörper und freie Fettsäuren) im Fastentest zeigte, war bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Patienten in Remission ein im Ausmaß interindividuell variabler Anstieg zu verzeichnen. Dieser Anstieg mag teilweise auch durch die längere Fastendauer bedingt sein.

Interessanterweise war bei 2 Patienten (Patient 4 und 5) kein adäquater Anstieg der Cortisolkonzentration als metabolische Reaktion auf sinkende Glukosekonzentrationen während des Fastentests zu verzeichnen. Bei Neugeborenen im aktiven Krankheitsstadium des KHI ist von Hussain *et al.* gezeigt worden, dass diese im Zustand einer hyperinsulinämischen Hypoglykämie keinen ausreichenden Cortisolkonzentrationsanstieg aufweisen. Weil die untersuchten Kinder zum Zeitpunkt der Hypoglykämie außerdem niedrige ACTH-Konzentrationen aufwiesen, die Cortisolsynthese aber durch Synacthen® (synthetisches ACTH-Analogon) gesteigert werden konnte und damit eine Nebenniereninsuffizienz ausgeschlossen war, wurde der unzureichende Cortisolkonzentrationsanstieg auf eine mangelnde Stimulation der Hypothalamus-Hypophysen-Achse zurückgeführt (106). Insulin kann die Blut-Hirn-Schranke passieren und im Zentralnervensystem Einfluss auf wichtige Signalkaskaden ausüben (107). Hussain *et al.* postulieren daher die Hypothese, dass Insulin einen gegenregulatorischen Cortisolkonzentrationsanstieg zentral supprimiert. Einen weiteren Hinweis, dass Insulin *per se* einen gegenregulatorischen Cortisolkonzentrationsanstieg unterbindet, liefert ein Fallbericht eines Insulinoms: Davis *et al.* berichten von einem Patienten, welcher präoperativ im Rahmen einer herbeigeführten Hypoglykämie zunächst eine stark verminderte Cortisolkonzentration aufwies, aber im anschließenden postoperativen Verlauf mit einer normalisierten Cortisolantwort auf hypoglykämische Reize reagierte (108). Sollte der ausbleibende Cortisolkonzentrationsanstieg eine direkte Folge der Hyperinsulinämie sein, wäre die neurologische Integrität der Patienten mit KHI einem besonders großen Risiko ausgesetzt: die Hyperinsulinämie würde nicht nur lebensgefährliche

Hypoglykämien verursachen und die Synthese von Ketonkörpern als zweitwichtigstem Energiesubstrat des Gehirns blockieren, sondern auch hormonelle Gegenregulationsmaßnahmen unterbinden. In einem Tiermodell ist außerdem gezeigt worden, dass hohe, im Zentralnervensystem wirksame Insulinkonzentrationen bei neugeborenen Ratten zu dauerhaften Malformationen hypothalamischer Kerngebiete führen, welchen eine wichtige Rolle im Glukosehaushalt zugeschrieben wird (109). Möglicherweise ist deshalb der fehlende Cortisolkonzentrationsanstieg bei Patient 4 und 5 auf die langfristig schädigende Wirkung ehemaliger Hyperinsuliniämien auf hypothalamisch-hypophysäre Signalkaskaden zurückzuführen. Eine genauere Untersuchung der Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenachse einschließlich der Bestimmung von Cortisol und ACTH im Rahmen eines schrittweise durchgeführten, hypoglykämischen *Clamp*-Versuches könnte zur Aufklärung dieses Phänomens beitragen. Zudem ist von Patienten mit Diabetes mellitus bekannt, dass wiederholte Hypoglykämien im Langzeitverlauf zu einer Beeinträchtigung der Hypoglykämiewahrnehmung und zu einer fehlerhaften Gegenregulation führen können (110,111). Diese an Diabetespatienten gemachte Beobachtung könnte ebenfalls als Erklärung für den ausbleibenden Anstieg der Cortisolkonzentration trotz sinkender Glukosekonzentrationen bei Patient 4 und 5 dienen.

### **5.7 Kritische Auseinandersetzung mit der Definition der „klinischen Remission“**

3 Monate im Anschluss an die klinische Nachuntersuchung hatte Patient 4 einen erneuten Krampfanfall nach körperlicher Betätigung, sodass die Therapie mit Diazoxid sowie die diätetischen Maßnahmen wie proteinarme Mahlzeiten bei zugrundeliegender *GLUDI*-Mutation wiederaufgenommen wurden. Dies verdeutlicht, dass der Zustand der „Remission“ eine weiterhin bestehende Hypoglykämieeigung nicht ausschließt. Am Ende des Fastentests waren bei Patient 4 die metabolischen Charakteristika des KHI in einer milden Form, i.e. niedrige Plasmaglukose- (53 mg/dl), relative hohe Insulin- (6,1 mU/l) und nur schwacher Anstieg der Ketonkörperkonzentration (0,4 mmol/l) vorzufinden. Das Auftreten der Hypoglykämie betont die Wichtigkeit einer guten Beratung und regelmäßiger Nachuntersuchungen der Patienten in Remission – sowohl um eine ausreichende Fastentoleranz zu bestätigen, als auch um eine eventuell notwendige Wiederaufnahme der Therapie zu diskutieren. Diätetische Maßnahmen können gegebenenfalls langfristig

notwendig sein. Dies gilt insbesondere für Patienten mit *GLUDI*-Mutationen, bei denen proteinreiche Mahlzeiten eine inadäquate Insulinsekretion mit konsekutiven hypoglykämischen Symptomen auslösen können. Retrospektiv betrachtet, muss bei Patient 4 das Absetzen des Diazoxids und somit die klinische Diagnose einer Remission kritisch hinterfragt werden. Eine größere Fallzahl und längere Nachbeobachtungszeiten scheinen notwendig zu sein, um objektive Kriterien einer sicheren Remission im Hinblick auf das Hypoglykämierisiko definieren und ein Absetzen der Medikation vertreten zu können. Als Kriterien würden sich eine altersgerechte Fastentoleranz ohne das Auftreten von Hypoglykämien (Plasmaglukosekonzentration  $< 60$  mg/dl) oder Hypoglykämie-bedingter Symptome, oder eine verbesserte Gegenregulation bei Hypoglykämieeigung, wie z.B. ein deutlicher Anstieg von Ketonkörper als alternatives Energiesubstrat (idealerweise  $> 2$  mmol/l; siehe Patient 3), anbieten.

## **5.8 Limitationen der Studie sowie Praktikabilität der klinischen Nachuntersuchungen**

Als Limitationen der Studie sind zum einen die seltene Inzidenz des KHI und die daraus resultierende, geringe Fallzahl der in die Datenauswertung eingeschlossenen Patienten zu nennen, sowie die allgemeine Heterogenität der Erkrankung in Bezug auf zugrunde liegende Mutationen. Durch die Kombination dieser beiden Faktoren wurde das Erstellen von allgemeinen Schlussfolgerungen, welche auf sämtliche Unterformen des KHI anwendbar wären, erschwert. Andererseits würden Verallgemeinerungen in der Schlussfolgerung dem besonderen Wesen des KHI im Hinblick auf die genetische und klinische Heterogenität und dem Erfordernis einer individualisierten Therapie und Prognoseabschätzung nicht gerecht. Des Weiteren handelt es sich um eine retrospektive Auswertung von Daten. Bei einigen Fällen mit Verdacht auf transienten Hyperinsulinismus, bei denen sich ein Hyperinsulinismus bereits nach wenigen Wochen Diazoxidtherapie nicht mehr sichtlich zeigte, wurde keine Genanalyse veranlasst. Dieser Umstand erschwerte die Differenzierung zwischen transientem Hyperinsulinismus sekundärer Genese und KHI mit mildem klinischen Verlauf zusätzlich, sodass nicht ausgeschlossen werden kann, dass der Anteil an Patienten mit KHI in früher Remission nach Diazoxidbehandlung und ohne positiven Mutationsnachweis ähnlich wie bei Banerjee *et al.* höher sein könnte. Die Tatsache, dass Patienten mit initial schwerem klinischen Verlauf bei zugrunde liegender  $K_{ATP}$ -Kanalmutation nach jahrelanger

Somatostatintherapie in Remission kommen können, bleibt davon jedoch unberührt. Im Hinblick auf die klinische Nachuntersuchung sind mit dem OGTT und dem Fastentest Methoden gewählt worden, welche einerseits in der klinischen Praxis leicht durchzuführen sind und sich somit für wiederholte Nachuntersuchungen anbieten, und andererseits als zumutbar für die teilnehmenden Patienten meist sehr jungen Alters gelten. Idealerweise wären Insulinsekretion und Insulinsensitivität mittels intravenösem Glukosetoleranztest und hyperinsulinämischer, euglykämischer *Clamp*-Technik genauer zu analysieren. Außerdem handelt es sich bei den im Rahmen dieser Studie einmalig durchgeführten Nachuntersuchungen um Momentaufnahmen nach Eintreten der Remission. Um valide Aussagen über Entwicklungen einer sich normalisierenden Insulinsekretion oder einer entstehenden peripheren Insulinresistenz treffen zu können, sind Longitudinalstudien erforderlich.

## 6 Schlussfolgerung

In der Gesamtansicht des Düsseldorfer Patientenkollektivs mit nur 4 operierten Patienten (11%) zeigt sich, dass die Behandlungsstrategie des KHI, Patienten primär konservativ medikamentös und diätetisch zu behandeln, um eine chirurgische Intervention samt ihrer ungünstigen Langzeitfolgen zu umgehen, durchaus realisierbar ist. Eine solche konservative Therapie erfordert aber das Tolerieren potenziell auftretender, asymptomatischer Hypoglykämien. Wenn bei schweren Fällen von KHI als Therapieziel die permanente Gewährleistung von Blutzuckerwerten  $>70\text{mg/dl}$  angestrebt wird, ist eine operative Therapie oft nicht zu vermeiden. Darüber hinaus geht auch die intensive medikamentöse Therapie mit Risiken für unerwünschte Arzneimittelwirkungen einher. Insbesondere die nekrotisierende Enterokolitis kann eine seltene, schwerwiegenden Komplikation der Therapie mit Somatostatinanaloga sein (112). Hinzu kommt eine Ernährungsstörung, wenn Patienten diätetisch therapiert werden müssen und z.B. auf eine Dauersondierung angewiesen sind.

22% der Patienten aus dem Düsseldorfer Patientenkollektiv befanden sich zum Zeitpunkt der Datenerhebung im klinischen Stadium der Remission nach konservativer Therapie. Anhand des Düsseldorfer Patientenkollektivs konnte die wichtige Erkenntnis gewonnen werden, dass auch Patienten mit initial schwerer, klinischer Symptomatik, nachgewiesenem  $K_{\text{APT}}$ -Kanaldefekt und Diazoxidunwirksamkeit nach langjähriger, teils intensiver Therapie mit Somatostatinanaloga in Remission eintreten können.

Im Stadium der Remission tolerierten alle 5 untersuchten Patienten eine altersadaptierte Fastendauer von 20 bzw. 24 h. Obwohl keiner der Patienten Hypoglykämien  $<45\text{mg/dl}$  oder Hypoglykämie-bedingte Symptome bei niedrigen Plasmaglukosekonzentrationen aufwies, konnte bei allen Patienten eine fortbestehende  $\beta$ -Zelldysfunktion in Form von erhöhten Insulinkonzentrationen am Ende des Fastentests nachgewiesen werden. Im Zusammenhang mit den pathologischen Resultaten des oralen Glukosetoleranztests bei einem Patienten, scheint der Remission insgesamt eine individuell unterschiedlich gewichtete Kombination aus reduzierter Überaktivität der  $\beta$ -Zellen und Abnahme der peripheren Insulinsensitivität zugrunde zu liegen. Nach Eintritt der Remission sind daher regelmäßige Nachuntersuchungen zu empfehlen, um sowohl eine adäquate Fastentoleranz zu bestätigen als auch um die Entwicklung zum scheinbar gegenteiligen Krankheitsbild, i.e. von hyperinsulinämischen Hypoglykämien zur Phase der Hyperglykämie bzw. eines Diabetes mellitus, rechtzeitig zu

erkennen. Die komplexe Interaktion zwischen KHI und Diabetes sollte Gegenstand zukünftiger Longitudinalstudien sein, welche regelmäßig Insulinsekretionskapazität, periphere Insulinsensitivität und Glukosehomöostase betroffener Patienten evaluieren.

Da die Remission des KHI einen klinischen Zustand einer heterogenen, genetischen Erkrankung darstellt, müssen außerdem objektive Kriterien definiert werden, unter welchen Umständen das Absetzen der Medikamente sicher zu vertreten ist und wann gegebenenfalls eine Wiederaufnahme der Behandlung ratsam wäre. Zur Klassifikation des Stadiums der Remission würden sich sowohl eine klinische Definition, i.e. eine altersentsprechend physiologische Fastentoleranz, sowie auch eine Definition anhand metabolischer Parameter, v.a. einer adäquaten Gegenregulation bei niedrigen Plasmaglukosekonzentrationen in Form einer gesteigerten Ketonkörpersynthese, anbieten.

## 7 Literaturverzeichnis

1. **Meissner T, Beinbrech B, Mayatepek E.** Congenital hyperinsulinism: molecular basis of a heterogeneous disease. *Hum. Mutat.* 1999;13(5):351–361.
2. **Stanley CA.** Hyperinsulinism in infants and children. *Pediatr. Clin. North Am.* 1997;44(2):363–374.
3. **Arnoux J-B, Verkarre V, Saint-Martin C, Montravers F, Brassier A, Valayannopoulos V, Brunelle F, Fournet J-C, Robert J-J, Aigrain Y, Bellanné-Chantelot C, de Lonlay P.** Congenital hyperinsulinism: current trends in diagnosis and therapy. *Orphanet J. Rare Dis.* 2011;6:63.
4. **Henquin J-C, Nenquin M, Sempoux C, Guiot Y, Bellanné-Chantelot C, Otonkoski T, de Lonlay P, Nihoul-Fékété C, Rahier J.** In vitro insulin secretion by pancreatic tissue from infants with diazoxide-resistant congenital hyperinsulinism deviates from model predictions. *J. Clin. Invest.* 2011;121(10):3932–3942.
5. **McQUARRIE I.** Idiopathic spontaneously occurring hypoglycemia in infants; clinical significance of problem and treatment. *AMA Am. J. Dis. Child.* 1954;87(4):399–428.
6. **De León DD, Stanley CA.** Mechanisms of Disease: advances in diagnosis and treatment of hyperinsulinism in neonates. *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 2007;3(1):57–68.
7. **Stanley CA, Baker L.** Hyperinsulinism in infancy: diagnosis by demonstration of abnormal response to fasting hypoglycemia. *Pediatrics* 1976;57(5):702–711.
8. **Finegold DN, Stanley CA, Baker L.** Glycemic response to glucagon during fasting hypoglycemia: an aid in the diagnosis of hyperinsulinism. *J. Pediatr.* 1980;96(2):257–259.
9. **Yorifuji T.** Congenital hyperinsulinism: current status and future perspectives. *Ann. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2014;19(2):57–68.
10. **Bruining G.** Recent advances in hyperinsulinism and the pathogenesis of diabetes mellitus. *Curr. Opin. Pediatr.* 1990;2:758–765.
11. **Otonkoski T, Ammälä C, Huopio H, Cote GJ, Chapman J, Cosgrove K, Ashfield R, Huang E, Komulainen J, Ashcroft FM, Dunne MJ, Kere J, Thomas PM.** A point mutation inactivating the sulfonylurea receptor causes the severe form of persistent

- hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy in Finland. *Diabetes* 1999;48(2):408–415.
12. **Mathew PM, Young JM, Abu-Osba YK, Mulhern BD, Hammoudi S, Hamdan JA, Sa'di AR.** Persistent neonatal hyperinsulinism. *Clin. Pediatr. (Phila.)* 1988;27(3):148–151.
  13. **Nestorowicz A, Wilson BA, Schoor KP, Inoue H, Glaser B, Landau H, Stanley CA, Thornton PS, Clement JP, Bryan J, Aguilar-Bryan L, Permutt MA.** Mutations in the sulfonylurea receptor gene are associated with familial hyperinsulinism in Ashkenazi Jews. *Hum. Mol. Genet.* 1996;5(11):1813–1822.
  14. **Noma A.** ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle. *Nature* 1983;305(5930):147–148.
  15. **Ashcroft FM, Harrison DE, Ashcroft SJ.** Glucose induces closure of single potassium channels in isolated rat pancreatic beta-cells. *Nature* 1984;312(5993):446–448.
  16. **Ashford ML, Sturgess NC, Trout NJ, Gardner NJ, Hales CN.** Adenosine-5'-triphosphate-sensitive ion channels in neonatal rat cultured central neurones. *Pflüg. Arch. Eur. J. Physiol.* 1988;412(3):297–304.
  17. **Spruce AE, Standen NB, Stanfield PR.** Voltage-dependent ATP-sensitive potassium channels of skeletal muscle membrane. *Nature* 1985;316(6030):736–738.
  18. **Yokoshiki H, Sunagawa M, Seki T, Sperelakis N.** ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels in pancreatic, cardiac, and vascular smooth muscle cells. *Am. J. Physiol.* 1998;274(1 Pt 1):C25-37.
  19. **Shyng S, Nichols CG.** Octameric stoichiometry of the KATP channel complex. *J. Gen. Physiol.* 1997;110(6):655–664.
  20. **Conti LR, Radeke CM, Shyng SL, Vandenberg CA.** Transmembrane topology of the sulfonylurea receptor SUR1. *J. Biol. Chem.* 2001;276(44):41270–41278.
  21. **Ueda K, Komine J, Matsuo M, Seino S, Amachi T.** Cooperative binding of ATP and MgADP in the sulfonylurea receptor is modulated by glibenclamide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1999;96(4):1268–1272.
  22. **Panten U, Burgfeld J, Goerke F, Rennie M, Schwanstecher M, Wallasch A, Zünkler BJ, Lenzen S.** Control of insulin secretion by sulfonylureas, meglitinide and diazoxide in relation to their binding to the sulfonylurea receptor in pancreatic islets.

- Biochem. Pharmacol.* 1989;38(8):1217–1229.
23. **Gould GW, Thomas HM, Jess TJ, Bell GI.** Expression of human glucose transporters in *Xenopus* oocytes: kinetic characterization and substrate specificities of the erythrocyte, liver, and brain isoforms. *Biochemistry (Mosc.)* 1991;30(21):5139–5145.
  24. **James C, Kapoor RR, Ismail D, Hussain K.** The genetic basis of congenital hyperinsulinism. *J. Med. Genet.* 2009;46(5):289–299.
  25. **Olson AL, Pessin JE.** Structure, function, and regulation of the mammalian facilitative glucose transporter gene family. *Annu. Rev. Nutr.* 1996;16:235–256.
  26. **Matschinsky F, Liang Y, Kesavan P, Wang L, Froguel P, Velho G, Cohen D, Permutt MA, Tanizawa Y, Jetton TL.** Glucokinase as pancreatic beta cell glucose sensor and diabetes gene. *J. Clin. Invest.* 1993;92(5):2092–2098.
  27. **Barg S, Ma X, Eliasson L, Galvanovskis J, Göpel SO, Obermüller S, Platzer J, Renström E, Trus M, Atlas D, Striessnig J, Rorsman P.** Fast Exocytosis with Few  $Ca^{2+}$  Channels in Insulin-Secreting Mouse Pancreatic B Cells. *Biophys. J.* 2001;81(6):3308–3323.
  28. **Dunne MJ, Cosgrove KE, Shepherd RM, Aynsley-Green A, Lindley KJ.** Hyperinsulinism in infancy: from basic science to clinical disease. *Physiol. Rev.* 2004;84(1):239–275.
  29. **Fournet J-C, Junien C.** Genetics of congenital hyperinsulinism. *Endocr. Pathol.* 2004;15(3):233–240.
  30. **Flanagan SE, Clauin S, Bellanné-Chantelot C, de Lonlay P, Harries LW, Gloyn AL, Ellard S.** Update of mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell K(ATP) channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and sulfonylurea receptor 1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum. Mutat.* 2009;30(2):170–180.
  31. **Ashcroft FM.** ATP-sensitive potassium channelopathies: focus on insulin secretion. *J. Clin. Invest.* 2005;115(8):2047–2058.
  32. **Taschenberger G, Mougey A, Shen S, Lester LB, LaFranchi S, Shyng S-L.** Identification of a familial hyperinsulinism-causing mutation in the sulfonylurea receptor 1 that prevents normal trafficking and function of KATP channels. *J. Biol. Chem.* 2002;277(19):17139–17146.

33. **Huopio H, Reimann F, Ashfield R, Komulainen J, Lenko H-L, Rahier J, Vauhkonen I, Kere J, Laakso M, Ashcroft F, Otonkoski T.** Dominantly inherited hyperinsulinism caused by a mutation in the sulfonylurea receptor type 1. *J. Clin. Invest.* 2000;106(7):897–906.
34. **Thornton PS, MacMullen C, Ganguly A, Ruchelli E, Steinkrauss L, Crane A, Aguilar-Bryan L, Stanley CA.** Clinical and molecular characterization of a dominant form of congenital hyperinsulinism caused by a mutation in the high-affinity sulfonylurea receptor. *Diabetes* 2003;52(9):2403–2410.
35. **Pinney SE, MacMullen C, Becker S, Lin Y-W, Hanna C, Thornton P, Ganguly A, Shyng S-L, Stanley CA.** Clinical characteristics and biochemical mechanisms of congenital hyperinsulinism associated with dominant KATP channel mutations. *J. Clin. Invest.* 2008;118(8):2877–2886.
36. **Stanley CA.** Hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome: insights into the regulatory role of glutamate dehydrogenase in ammonia metabolism. *Mol. Genet. Metab.* 2004;81 Suppl 1:S45-51.
37. **Deloukas P, Dauwerse JG, Moschonas NK, van Ommen GJ, van Loon AP.** Three human glutamate dehydrogenase genes (GLUD1, GLUDP2, and GLUDP3) are located on chromosome 10q, but are not closely physically linked. *Genomics* 1993;17(3):676–681.
38. **Kelly A, Li C, Gao Z, Stanley CA, Matschinsky FM.** Glutaminolysis and insulin secretion: from bedside to bench and back. *Diabetes* 2002;51 Suppl 3:S421-426.
39. **Fahien LA, MacDonald MJ, Kmiotek EH, Mertz RJ, Fahien CM.** Regulation of insulin release by factors that also modify glutamate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 1988;263(27):13610–13614.
40. **Santer R, Kinner M, Passarge M, Superti-Furga A, Mayatepek E, Meissner T, Schneppenheim R, Schaub J.** Novel missense mutations outside the allosteric domain of glutamate dehydrogenase are prevalent in European patients with the congenital hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome. *Hum. Genet.* 2001;108(1):66–71.
41. **Glaser B, Kesavan P, Heyman M, Davis E, Cuesta A, Buchs A, Stanley CA, Thornton PS, Permutt MA, Matschinsky FM, Herold KC.** Familial hyperinsulinism

- caused by an activating glucokinase mutation. *N. Engl. J. Med.* 1998;338(4):226–230.
42. **Christesen HBT, Jacobsen BB, Odili S, Buettger C, Cuesta-Munoz A, Hansen T, Brusgaard K, Massa O, Magnuson MA, Shiota C, Matschinsky FM, Barbetti F.** The second activating glucokinase mutation (A456V): implications for glucose homeostasis and diabetes therapy. *Diabetes* 2002;51(4):1240–1246.
43. **Gloyn AL, Noordam K, Willemsen MAAP, Ellard S, Lam WWK, Campbell IW, Midgley P, Shiota C, Buettger C, Magnuson MA, Matschinsky FM, Hattersley AT.** Insights into the biochemical and genetic basis of glucokinase activation from naturally occurring hypoglycemia mutations. *Diabetes* 2003;52(9):2433–2440.
44. **Cuesta-Muñoz AL, Huopio H, Otonkoski T, Gomez-Zumaquero JM, Näntö-Salonen K, Rahier J, López-Enriquez S, García-Gimeno MA, Sanz P, Soriguer FC, Laakso M.** Severe persistent hyperinsulinemic hypoglycemia due to a de novo glucokinase mutation. *Diabetes* 2004;53(8):2164–2168.
45. **Dullaart RPF, Hoogenberg K, Rouwé CW, Stulp BK.** Family with autosomal dominant hyperinsulinism associated with A456V mutation in the glucokinase gene. *J. Intern. Med.* 2004;255(1):143–145.
46. **Wabitsch M, Lahr G, Van de Bunt M, Marchant C, Lindner M, von Puttkamer J, Fenneberg A, Debatin KM, Klein R, Ellard S, Clark A, Gloyn AL.** Heterogeneity in disease severity in a family with a novel G68V GCK activating mutation causing persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy. *Diabet. Med. J. Br. Diabet. Assoc.* 2007;24(12):1393–1399.
47. **Christesen HBT, Tribble ND, Molven A, Siddiqui J, Sandal T, Brusgaard K, Ellard S, Njølstad PR, Alm J, Brock Jacobsen B, Hussain K, Gloyn AL.** Activating glucokinase (GCK) mutations as a cause of medically responsive congenital hyperinsulinism: prevalence in children and characterisation of a novel GCK mutation. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 2008;159(1):27–34.
48. **Matschinsky FM.** Regulation of pancreatic beta-cell glucokinase: from basics to therapeutics. *Diabetes* 2002;51 Suppl 3:S394-404.
49. **Hussain K, Clayton PT, Krywawych S, Chatziandreou I, Mills P, Ginbey DW, Geboers AJJM, Berger R, van den Berg IET, Eaton S.** Hyperinsulinism of infancy

- associated with a novel splice site mutation in the SCHAD gene. *J. Pediatr.* 2005;146(5):706–708.
50. **Hardy OT, Hohmeier HE, Becker TC, Manduchi E, Doliba NM, Gupta RK, White P, Stoeckert CJ, Matschinsky FM, Newgard CB, Kaestner KH.** Functional genomics of the beta-cell: short-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase regulates insulin secretion independent of K<sup>+</sup> currents. *Mol. Endocrinol. Baltim. Md* 2007;21(3):765–773.
51. **Martens GA, Vervoort A, Van de Casteele M, Stangé G, Hellemans K, Van Thi HV, Schuit F, Pipeleers D.** Specificity in beta cell expression of L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase, short chain, and potential role in down-regulating insulin release. *J. Biol. Chem.* 2007;282(29):21134–21144.
52. **Halestrap AP, Price NT.** The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochem. J.* 1999;343 Pt 2:281–299.
53. **Zhao C, Wilson MC, Schuit F, Halestrap AP, Rutter GA.** Expression and distribution of lactate/monocarboxylate transporter isoforms in pancreatic islets and the exocrine pancreas. *Diabetes* 2001;50(2):361–366.
54. **Ishihara H, Wang H, Drewes LR, Wollheim CB.** Overexpression of monocarboxylate transporter and lactate dehydrogenase alters insulin secretory responses to pyruvate and lactate in beta cells. *J. Clin. Invest.* 1999;104(11):1621–1629.
55. **Meissner T.** Exercise induced hypoglycaemic hyperinsulinism. *Arch. Dis. Child.* 2001;84(3):254–257.
56. **Otonkoski T, Jiao H, Kaminen-Ahola N, Tapia-Paez I, Ullah MS, Parton LE, Schuit F, Quintens R, Sipilä I, Mayatepek E, Meissner T, Halestrap AP, Rutter GA, Kere J.** Physical Exercise-Induced Hypoglycemia Caused by Failed Silencing of Monocarboxylate Transporter 1 in Pancreatic  $\beta$  Cells. *Am. J. Hum. Genet.* 2007;81(3):467–474.
57. **Otonkoski T, Kaminen N, Ustinov J, Lapatto R, Meissner T, Mayatepek E, Kere J, Sipilä I.** Physical exercise-induced hyperinsulinemic hypoglycemia is an autosomal-dominant trait characterized by abnormal pyruvate-induced insulin release. *Diabetes* 2003;52(1):199–204.

58. **Rousset S, Alves-Guerra M-C, Mozo J, Miroux B, Cassard-Doulicier A-M, Bouillaud F, Ricquier D.** The biology of mitochondrial uncoupling proteins. *Diabetes* 2004;53 Suppl 1:S130-135.
59. **Saleh MC, Wheeler MB, Chan CB.** Uncoupling protein-2: evidence for its function as a metabolic regulator. *Diabetologia* 2002;45(2):174–187.
60. **Zhang CY, Baffy G, Perret P, Krauss S, Peroni O, Grujic D, Hagen T, Vidal-Puig AJ, Boss O, Kim YB, Zheng XX, Wheeler MB, Shulman GI, Chan CB, Lowell BB.** Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell* 2001;105(6):745–755.
61. **González-Barroso MM, Giurgea I, Bouillaud F, Anedda A, Bellanné-Chantelot C, Hubert L, de Keyzer Y, de Lonlay P, Ricquier D.** Mutations in UCP2 in congenital hyperinsulinism reveal a role for regulation of insulin secretion. *PloS One* 2008;3(12):e3850.
62. **Duncan SA, Navas MA, Dufort D, Rossant J, Stoffel M.** Regulation of a transcription factor network required for differentiation and metabolism. *Science* 1998;281(5377):692–695.
63. **Yamagata K, Furuta H, Oda N, Kaisaki PJ, Menzel S, Cox NJ, Fajans SS, Signorini S, Stoffel M, Bell GI.** Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* 1996;384(6608):458–460.
64. **Tattersall RB, Fajans SS.** A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset type diabetes of young people. *Diabetes* 1975;24(1):44–53.
65. **Gupta RK, Vatamaniuk MZ, Lee CS, Flaschen RC, Fulmer JT, Matschinsky FM, Duncan SA, Kaestner KH.** The MODY1 gene HNF-4alpha regulates selected genes involved in insulin secretion. *J. Clin. Invest.* 2005;115(4):1006–1015.
66. **Miura A, Yamagata K, Kakei M, Hatakeyama H, Takahashi N, Fukui K, Nammo T, Yoneda K, Inoue Y, Sladek FM, Magnuson MA, Kasai H, Miyagawa J, Gonzalez FJ, Shimomura I.** Hepatocyte nuclear factor-4alpha is essential for glucose-stimulated insulin secretion by pancreatic beta-cells. *J. Biol. Chem.* 2006;281(8):5246–5257.
67. **Stoffel M, Duncan SA.** The maturity-onset diabetes of the young (MODY1) transcription factor HNF4alpha regulates expression of genes required for glucose

- transport and metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1997;94(24):13209–13214.
68. **Boj SF, Parrizas M, Maestro MA, Ferrer J.** A transcription factor regulatory circuit in differentiated pancreatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001;98(25):14481–14486.
69. **Stanescu DE, Hughes N, Kaplan B, Stanley CA, De León DD.** Novel presentations of congenital hyperinsulinism due to mutations in the MODY genes: HNF1A and HNF4A. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2012;97(10):E2026-2030.
70. **Dusátková P, Průhová S, Sumník Z, Koloušková S, Obermannová B, Cinek O, Lebl J.** HNF1A mutation presenting with fetal macrosomia and hypoglycemia in childhood prior to onset of overt diabetes. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab. JPEM* 2011;24(5–6):377–379.
71. **Rozenkova K, Malikova J, Nessa A, Dusatkova L, Bjørkhaug L, Obermannova B, Dusatkova P, Kytarova J, Aukrust I, Najmi LA, Rypackova B, Sumnik Z, Lebl J, Njølstad PR, Hussain K, Pruhova S.** High Incidence of Heterozygous ABCC8 and HNF1A Mutations in Czech Patients With Congenital Hyperinsulinism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2015;100(12):E1540-1549.
72. **Sasaki H, Ishihara K, Kato R.** Mechanisms of Igf2/H19 imprinting: DNA methylation, chromatin and long-distance gene regulation. *J. Biochem. (Tokyo)* 2000;127(5):711–715.
73. **Hatada I, Inazawa J, Abe T, Nakayama M, Kaneko Y, Jinno Y, Niikawa N, Ohashi H, Fukushima Y, Iida K, Yutani C, Takahashi S, Chiba Y, Ohishi S, Mukai T.** Genomic imprinting of human p57KIP2 and its reduced expression in Wilms' tumors. *Hum. Mol. Genet.* 1996;5(6):783–788.
74. **Giannoukakis N, Deal C, Paquette J, Goodyer CG, Polychronakos C.** Parental genomic imprinting of the human IGF2 gene. *Nat. Genet.* 1993;4(1):98–101.
75. **Fournet JC, Mayaud C, de Lonlay P, Gross-Morand MS, Verkarre V, Castanet M, Devillers M, Rahier J, Brunelle F, Robert JJ, Nihoul-Fékété C, Saudubray JM, Junien C.** Unbalanced expression of 11p15 imprinted genes in focal forms of congenital hyperinsulinism: association with a reduction to homozygosity of a mutation in ABCC8 or KCNJ11. *Am. J. Pathol.* 2001;158(6):2177–2184.
76. **Kapoor RR, Flanagan SE, James C, Shield J, Ellard S, Hussain K.**

- Hyperinsulinaemic hypoglycaemia. *Arch. Dis. Child.* 2009;94(6):450–457.
77. **Hardy OT, Hernandez-Pampaloni M, Saffer JR, Suchi M, Ruchelli E, Zhuang H, Ganguly A, Freifelder R, Adzick NS, Alavi A, Stanley CA.** Diagnosis and localization of focal congenital hyperinsulinism by 18F-fluorodopa PET scan. *J. Pediatr.* 2007;150(2):140–145.
78. **Aynsley-Green A, Hussain K, Hall J, Saudubray JM, Nihoul-Fékété C, De Lonlay-Debeney P, Brunelle F, Otonkoski T, Thornton P, Lindley KJ.** Practical management of hyperinsulinism in infancy. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed.* 2000;82(2):F98–F107.
79. **Beltrand J, Caquard M, Arnoux J-B, Laborde K, Velho G, Verkarre V, Rahier J, Brunelle F, Nihoul-Fekete C, Saudubray J-M, Robert J-J, de Lonlay P.** Glucose Metabolism in 105 Children and Adolescents After Pancreatectomy for Congenital Hyperinsulinism. *Diabetes Care* 2012;35(2):198–203.
80. **Cade A, Walters M, Puntis JW, Arthur RJ, Stringer MD.** Pancreatic exocrine and endocrine function after pancreatectomy for persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy. *Arch. Dis. Child.* 1998;79(5):435–439.
81. **Arya VB, Senniappan S, Demirbilek H, Alam S, Flanagan SE, Ellard S, Hussain K.** Pancreatic Endocrine and Exocrine Function in Children following Near-Total Pancreatectomy for Diffuse Congenital Hyperinsulinism. Brusgaard K, ed. *PLoS ONE* 2014;9(5):e98054.
82. **Meissner T, Wendel U, Burgard P, Schaeztle S, Mayatepek E.** Long-term follow-up of 114 patients with congenital hyperinsulinism. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 2003;149(1):43–51.
83. **Leibowitz G, Glaser B, Higazi AA, Salameh M, Cerasi E, Landau H.** Hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy (nesidioblastosis) in clinical remission: high incidence of diabetes mellitus and persistent beta-cell dysfunction at long-term follow-up. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995;80(2):386–392.
84. **Mazor-Aronovitch K, Gillis D, Lobel D, Hirsch HJ, Pinhas-Hamiel O, Modan-Moses D, Glaser B, Landau H.** Long-term neurodevelopmental outcome in conservatively treated congenital hyperinsulinism. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr.*

- Soc.* 2007;157(4):491–497.
85. **Glaser B, Ryan F, Donath M, Landau H, Stanley CA, Baker L, Barton DE, Thornton PS.** Hyperinsulinism caused by paternal-specific inheritance of a recessive mutation in the sulfonylurea-receptor gene. *Diabetes* 1999;48(8):1652–1657.
  86. **Banerjee I, Skae M, Flanagan SE, Rigby L, Patel L, Didi M, Blair J, Ehtisham S, Ellard S, Cosgrove KE, Dunne MJ, Clayton PE.** The contribution of rapid KATP channel gene mutation analysis to the clinical management of children with congenital hyperinsulinism. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 2011;164(5):733–740.
  87. **Kumaran A, Kapoor RR, Flanagan SE, Ellard S, Hussain K.** Congenital hyperinsulinism due to a compound heterozygous ABCC8 mutation with spontaneous resolution at eight weeks. *Horm. Res. Paediatrics* 2010;73(4):287–292.
  88. **Yorifuji T, Hosokawa Y, Fujimaru R, Kawakita R, Doi H, Matsumoto T, Nishibori H, Masue M.** Lasting 18F-DOPA PET uptake after clinical remission of the focal form of congenital hyperinsulinism. *Horm. Res. Paediatrics* 2011;76(4):286–290.
  89. **Pearson ER, Boj SF, Steele AM, Barrett T, Stals K, Shield JP, Ellard S, Ferrer J, Hattersley AT.** Macrosomia and hyperinsulinaemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. *PLoS Med.* 2007;4(4):e118.
  90. **Huopio H, Otonkoski T, Vauhkonen I, Reimann F, Ashcroft FM, Laakso M.** A new subtype of autosomal dominant diabetes attributable to a mutation in the gene for sulfonylurea receptor 1. *Lancet* 2003;361(9354):301–307.
  91. **Abdulhadi-Atwan M, Bushman J, Bushmann J, Tornovsky-Babaey S, Perry A, Abu-Libdeh A, Glaser B, Shyng S-L, Zangen DH.** Novel de novo mutation in sulfonylurea receptor 1 presenting as hyperinsulinism in infancy followed by overt diabetes in early adolescence. *Diabetes* 2008;57(7):1935–1940.
  92. **Gussinyer M, Clemente M, Cebrián R, Yeste D, Albisu M, Carrascosa A.** Glucose intolerance and diabetes are observed in the long-term follow-up of nonpancreatectomized patients with persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy due to mutations in the ABCC8 gene. *Diabetes Care* 2008;31(6):1257–1259.
  93. **Vercellino GF, Cremonte M, Carlando G, Colivicchi M, Crivelli S, Ricotti A, Sabatini M, Temporini F, Lera R, Pesce F, Besana D.** Transient neonatal

- hyperinsulinemic hypoglycemia and neurological outcome: a case report. *Minerva Pediatr.* 2011;63(2):111–114.
94. **American Diabetes Association.** Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012;35 Suppl 1:S64-71.
95. **van Veen MR, van Hasselt PM, de Sain-van der Velden MGM, Verhoeven N, Hofstede FC, de Koning TJ, Visser G.** Metabolic profiles in children during fasting. *Pediatrics* 2011;127(4):e1021-1027.
96. **Guthrie RA, Guthrie DW, Murthy DY, Jackson RL, Lang J.** Standardization of the oral glucose tolerance test and the criteria for diagnosis of chemical diabetes in children. *Metabolism.* 1973;22(2):275–282.
97. **Snider KE, Becker S, Boyajian L, Shyng S-L, MacMullen C, Hughes N, Ganapathy K, Bhatti T, Stanley CA, Ganguly A.** Genotype and phenotype correlations in 417 children with congenital hyperinsulinism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2013;98(2):E355-363.
98. **Kassem SA, Ariel I, Thornton PS, Scheimberg I, Glaser B.** Beta-cell proliferation and apoptosis in the developing normal human pancreas and in hyperinsulinism of infancy. *Diabetes* 2000;49(8):1325–1333.
99. **Giurgea I, Bellanné-Chantelot C, Ribeiro M, Hubert L, Sempoux C, Robert J-J, Blankenstein O, Hussain K, Brunelle F, Nihoul-Fékété C, Rahier J, Jaubert F, de Lonlay P.** Molecular mechanisms of neonatal hyperinsulinism. *Horm. Res.* 2006;66(6):289–296.
100. **Efanova IB, Zaitsev SV, Zhivotovsky B, Köhler M, Efendić S, Orrenius S, Berggren PO.** Glucose and tolbutamide induce apoptosis in pancreatic beta-cells. A process dependent on intracellular  $Ca^{2+}$  concentration. *J. Biol. Chem.* 1998;273(50):33501–33507.
101. **Miki T, Tashiro F, Iwanaga T, Nagashima K, Yoshitomi H, Aihara H, Nitta Y, Gono T, Inagaki N, Miyazaki J i, Seino S.** Abnormalities of pancreatic islets by targeted expression of a dominant-negative KATP channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1997;94(22):11969–11973.
102. **Mohnike K, Wieland I, Barthlen W, Vogelgesang S, Empting S, Mohnike W,**

- Meissner T, Zenker M.** Clinical and genetic evaluation of patients with KATP channel mutations from the German registry for congenital hyperinsulinism. *Horm. Res. Paediatrics* 2014;81(3):156–168.
103. **Kahn SE.** The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia* 2003;46(1):3–19.
104. **Kahn BB, Flier JS.** Obesity and insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 2000;106(4):473–481.
105. **Grimberg A, Ferry RJ, Kelly A, Koo-McCoy S, Polonsky K, Glaser B, Permutt MA, Aguilar-Bryan L, Stafford D, Thornton PS, Baker L, Stanley CA.** Dysregulation of insulin secretion in children with congenital hyperinsulinism due to sulfonylurea receptor mutations. *Diabetes* 2001;50(2):322–328.
106. **Hussain K, Hindmarsh P, Aynsley-Green A.** Neonates with symptomatic hyperinsulinemic hypoglycemia generate inappropriately low serum cortisol counterregulatory hormonal responses. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003;88(9):4342–4347.
107. **Baskin DG, Figlewicz DP, Woods SC, Porte D, Dorsa DM.** Insulin in the brain. *Annu. Rev. Physiol.* 1987;49:335–347.
108. **Davis MR, Shamoon H.** Deficient counterregulatory hormone responses during hypoglycemia in a patient with insulinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1991;72(4):788–792.
109. **Plagemann A, Harder T, Rake A, Voits M, Fink H, Rohde W, Dörner G.** Perinatal elevation of hypothalamic insulin, acquired malformation of hypothalamic galaninergic neurons, and syndrome X-like alterations in adulthood of neonatally overfed rats. *Brain Res.* 1999;836(1–2):146–155.
110. **Sprague JE, Arbeláez AM.** Glucose counterregulatory responses to hypoglycemia. *Pediatr. Endocrinol. Rev. PER* 2011;9(1):463–473–475.
111. **Workgroup on Hypoglycemia, American Diabetes Association.** Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report from the American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia. *Diabetes Care* 2005;28(5):1245–1249.
112. **Welters A, Lerch C, Kummer S, Marquard J, Salgin B, Mayatepek E, Meissner T.**

Long-term medical treatment in congenital hyperinsulinism: a descriptive analysis in a large cohort of patients from different clinical centers. *Orphanet J. Rare Dis.* 2015;10:150.

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek möchte ich für die Möglichkeit der Erstellung meiner Dissertation an der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie herzlich danken.

Mein ganz besonderer Dank geht darüberhinaus an meinen Betreuer Herrn Prof. Dr. med. Thomas Meissner. Sein Forschungsengagement auf dem Gebiet des Kongenitalen Hyperinsulinismus hat mein Interesse an der Modellierung seltener Erkrankungen über das Maß dieser Dissertation hinausgehend maßgeblich geprägt und letztlich in die Stammzellforschung nach Japan geführt. Seine Expertise und seine konstruktive Kritik haben wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Außerdem möchte ich mich bei meinem Co-Betreuer Dr. med. Burak Salgin vom Cambridge University Hospital für seine intensive Unterstützung bei der Datenerhebung und -auswertung sowie Vorbereitung der Publikation bedanken.