

Utredning og behandling av medfødt hyperinsulinisme (1): Molekylære og genetiske aspekter

Tone Sandal¹, Oddmund Søvik², Pål Rasmus Njølstad^{2,3,4}, Anders Molven¹

¹Gades institutt og ²Institutt for klinisk medisin, Universitetet i Bergen og
³Barneklubben, Haukeland Universitetssykehus, Bergen

Innledning

Medfødt hyperinsulinisme er en arvelig sykdom karakterisert av gjentatte hypoglykemiske anfall hos nyfødte. Årsaken er for høy utskillelse av insulin, vanligvis fordi bukspyttkjertelens evne til å skru av insulinproduksjonen ved lave blodsukkerverdier er forstyrret. Adekvat utredning og behandling er viktig for å hindre at barnet får varige hjerneskader (1, 2). På verdensbasis er medfødt hyperinsulinisme en sjelden sykdom med 1 tilfelle pr. 30-50 000 levendefødte, mens i enkelte isolerte populasjoner er frekvensen høyere (1 pr. 2-4000) (3). I Norge har vi siste 10 årperiode sett 1-2 pasienter årlig, og forekomsten synes derfor omtrent som ellers i verden. Medfødt hyperinsulinisme kan også forekomme ved visse medfødte syndromer, slik som Beckwith-Wiedemann syndrom, men dette vil ikke bli nærmere beskrevet her.

Medfødt hyperinsulinisme er en heterogen sykdom både når det gjelder klinisk presentasjon, genetik, pankreashistologi og respons på behandling (1, 2, 4). Histopatologisk har pasienten

enten en diffus sykdom, hvor alle beta-cellene i pankreas er affiserte, eller en fokal sykdom karakterisert av en lokal hyperplastisk lesjon i pankreas og normale beta-celler ellers i kjertelen. Behandlingen ved medfødt hyperinsulinisme inkluderer diett, medikamenter og kirurgi. Økt tilskudd av karbohydrater er alltid nødvendig, og noen pasienter klarer seg med dette alene. Diazoxid er førstevalget ved farmakologisk terapi, mens somatostatiner benyttes hos enkelte pasienter. I mange alvorlige tilfeller av medfødt hyperinsulinisme stabiliseres ikke pasientens blodsukkerverdier ved hjelp av medikamenter, og partiell eller subtotal pankreatektomi kan bli nødvendig. Det er da viktig å skille mellom tilfeller med fokal og diffus sykdom. Barn med fokal sykdom kan kureres ved fjerning av den hyperplastiske lesjonen (5, 6). Ved diffus sykdom, derimot, må opptil 95 % av pankreas fjernes. Det er likevel ingen garanti for at barnet blir friskt, og sannsynligheten for utvikling av diabetes senere i livet er stor (1, 7). Kliniske og behandlingsmessige aspekter ved medfødt hyperinsulinisme vil bli nærmere beskrevet i en senere artikkel i *Pediatrik Endokrinologi*.

De siste 10-12 årene er det gjort store fremskritt innen den molekylærgenetiske forståelsen av medfødt hyperinsulinisme. Dette gjør det mulig å stille bedre og raskere diagnose, og dermed å

*: Korrespondanse til:
Professor Pål Rasmus Njølstad
Barneklubben
Haukeland Universitetssykehus
5021 Bergen
Tlf. 5597151
E-post: pal.njolstad@uib.no

Tabell 1

Genetiske årsaker til medfødt hyperinsulinisme

Beta-celle protein (gen)	Mekanisme	Arvegang	Morfologi	Frekvens	Ref.
A) Kanalopati					
SUR1 - sulfonylurea-reseptor (ABCC8)	K _{ATP} -kanal lukket	Recessiv	Diffus	Relativt hyppig	9
KIR6.2 (KCNJ11)	K _{ATP} -kanal lukket	Recessiv	Diffus	Sjelden	9
SUR1/ KIR6.2	K _{ATP} -kanal lukket	Ikke-mendelsk ¹	Fokal	Relativt hyppig	19
B) Metabolopati					
Glukokinase (GCK)	Høy ATP-produksjon	Dominant	Diffus	Veldig sjelden	10
Glutamatdehydrogenase (GLUD1)	Høy ATP-produksjon	Dominant	Diffus	Sjelden	11
SCHAD - kortkjede-hydroksyacyl-CoA-dehydrogenase (HADH)	Ukjent	Recessiv	Trolig diffus	Veldig sjelden	12,13

¹Paternelle mutasjon i kombinasjon med somatisk mutasjon i den genkopien som ble arvet fra mor

velge den optimale behandlingen. De genene som hittil er kjent å kunne forårsake medfødt hyperinsulinisme, koder for proteiner som er helt sentrale i regulering av insulinutskillelsen. På mange måter kan vi si at de molekylære forstyrrelsene ved hyperinsulinisme representerer motsatte mekanismer av dem man ser ved arvelige former for diabetes mellitus. Slik sett kaster den økte kunnskapen om medfødt hyperinsulinisme også lys over viktige prinsipper ved diabetesutvikling.

Genetiske årsaker til medfødt hyperinsulinisme

Mutasjoner i minst syv ulike gener forårsaker medfødt hyperinsulinisme. Grovt sett kan disse deles inn i mutasjoner som resulterer i defekt ATP-avhengig-kaliumkanal (K_{ATP}-kanal), også kalt *kanalopati* (Tabell 1A), i mutasjoner som forårsaker forstyrret eller unormal metabolisme, *metabolopati* (Tabell 1B), og i atypisk hyperinsulinisme (Tabell 2) (1, 3, 4). Den klart hyppigste årsaken er

ødelagte subenheter i beta-cellens K_{ATP}-kanal, som betegnes henholdsvis sulfonylureareseptor (SUR1) (8) og KIR6.2 (9). Dette gir ofte et alvorlig sykdomsbilde som ikke responderer på diazoxid. Mer sjelden er mutasjoner i gener som koder for metabolske enzymer som glukokinase (GCK) (10), glutamatdehydrogenase (GLUD) (11), og kortkjede-hydroksyacyl-CoA-dehydrogenase (SCHAD) (12, 13). Disse kan gi både milde og alvorlige tilfeller av medfødt hyperinsulinisme, men det er som oftest respons på diazoxid-behandling. Mutasjoner i gener som koder for hepatocyttnukleofaktor 4alfa (HNF4A), monokarboxylat-transportør-1 (MCT1), og insulinreseptor-1 (INSR1) er funnet i tilfeller av henholdsvis transient (14), anstrengelses-indusert (15) og måltidsindusert hyperinsulinisme (16). De tre sist nevnte formene er relativt dårlige karakteriserte og trolig ekstremt sjeldne årsaker til medfødt hyperinsulinisme.

Mekanismer for insulinsekresjon og hyperinsulinisme

Hyperinsulinisme og insulinsekresjon fra bukspyttkjertelens beta-celler

Insulinsekresjonen stimuleres normalt av økt opptak av glukose i beta-cellene, og aktivering av enzymet GCK er et viktig reguleringspunkt her. Også enkelte aminosyrer øker insulinutskillelse via aktivering av enzymet GLUD (se Figur 1). Stimulert metabolisme via GCK og GLUD gir forhøyet produksjon av ATP, noe som igjen får K_{ATP} -kanalene til å lukke seg. Dette depolariserer cellemembranen, kalsium strømmer inn i beta-cellen og utskillelsen av insulin settes i gang. De molekylære mekanismene bak de vanligste hyperinsulinisme-mutasjonene kan forklares ved hjelp av modellen vist i figur 1. Det er kjent at de mutasjonene i genene for GCK og GLUD som forårsaker hyperinsulinisme, gjør at enzymene blir overaktive. Dermed blir ATP-konsentrasjonen konstant forhøyet. K_{ATP} -kanalen holdes lukket og insulinsekresjonen blir kontinuerlig stimulert.

Når det gjelder mutasjonene i kaliumkanal-subenhetene SUR1 og KIR6.2, er disse inaktiverende. De resulterer direkte i en lukket K_{ATP} -kanal, og derfor i stimulert insulinutskillelse (3, 17). Medikamentet diazoxid åpner K_{ATP} -kanalen ved å binde til SUR1, noe som kan forklare hvorfor pasienter med defekt K_{ATP} -kanal ofte ikke responderer på denne behandlingen, samtidig som diazoxid er

effektivt ved de metabolske formene av medfødt hyperinsulinisme. Hvorfor SCHAD-mangel gir økt insulinsekresjon, er ukjent. Enzymet SCHAD deltar normalt i fettsyreoksidasjonen i mitokondriene og det har vært foreslått at SCHAD-mangel som årsak til hyperinsulinisme representerer en ny sammenheng mellom fettsyreoksidasjon og insulinregulering (12, 13).

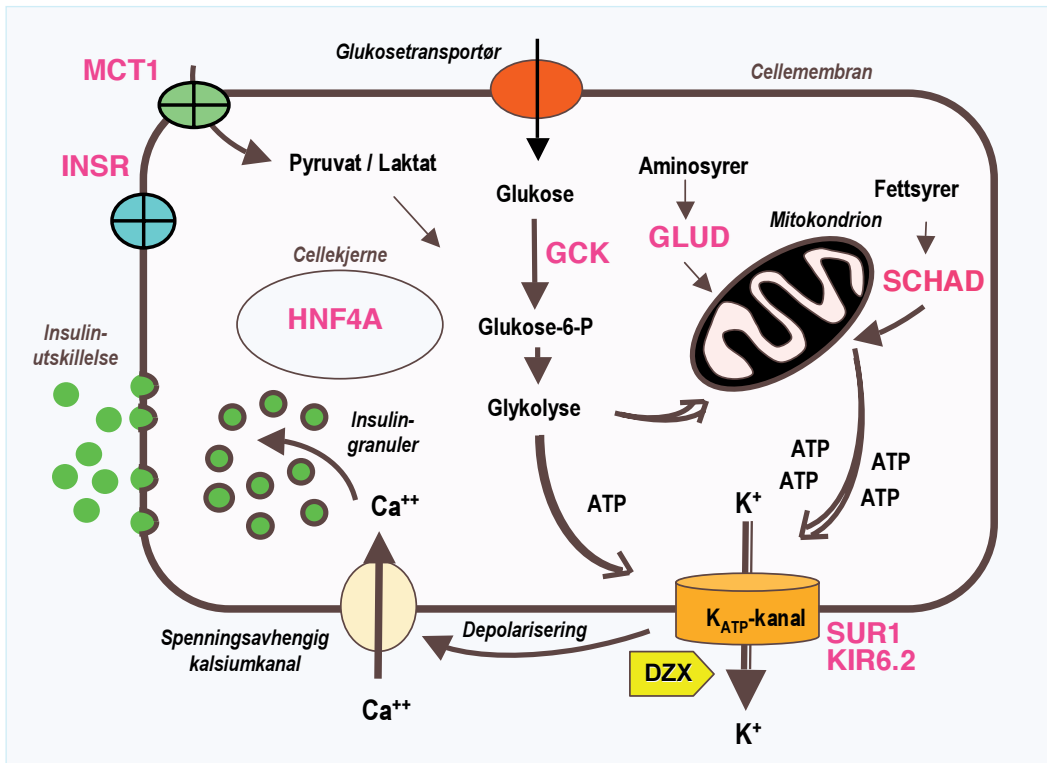
Subenhetene i K_{ATP} -kanalen

K_{ATP} -kanalen i beta-cellene består av fire SUR1- og fire KIR6.2-enheter organisert som vist i figur 2A. Gitt den sentrale rollen som denne ionekanalene har i regulering av insulinsekresjonen, er det ikke overraskende at mutasjoner i genene som koder for de to subenhetene, er den hyppigste og mest alvorlige årsaken til medfødt hyperinsulinisme. Genet som koder for SUR1, benevnes *ABCC8* og er med sine 39 eksoner et meget stort gen. Mutasjonene finnes spredd i hele genet, noe som sammen med størrelsen lenge har hindret effektiv screening for *ABCC8*-mutasjoner. Nyere metodeutvikling har heldigvis gjort også dette genet overkommelig for rutineanalyser. I dag er det derfor kjent langt over 100 hyperinsulinisme-assosierte mutasjoner i *ABCC8*. Vel 20 mutasjoner er kjent i *KCNJ11*, som består av bare ett ekson og derfor er raskt å screenes (3, 18, 19). Figur 2B illustrerer lokaliseringen av genproduktene KIR6.2 og SUR1 side om side i beta-cellens plasmamembran.

Tabell 2

Genetiske årsaker til atypisk medfødt hyperinsulinisme

HI-type	Protein	Mekanisme	Arvegang	Frekvens	Ref.
Transient	HNF4A - Hepatocyttnukleærfaktor-4alfa	Utviklings-defekt?	Dominant	Trolig veldig sjelden	14
Anstrengelsesindusert	MCT1 - Monokarboksylattransportør 1	Høy ATP-produksjon	Dominant	2 familier beskrevet	15
Måttidsindusert	INSR1 - insulinreseptor 1	Lav insulin-degradering?	Dominant	1 familie beskrevet	16



Figur 1

Insulinsekresjon fra bukspyttkjertelens beta-celler. Insulin vil under normale fysiologiske forhold skilles ut når blodsukker-nivået øker. Beta-cellene har transportproteiner som tar opp glukose fra blodet. Økt intracellulært glukosenivå aktiverer enzymet glukokinase (GCK), noe som igjen fører til forhøyet ATP-produksjon (både direkte fra glykolyse og via oksidativ fosforilyering i mitokondriene). Det økte ATP-nivået fører til at K_{ATP} -kanalene lukkes. Kaliumioner kan ikke lenger pumpes ut av cellen, cellemembranen depolariseres, og spenningsavhengige kalsiumkanaler åpnes for innstrømming av Ca^{2+} -ioner. Den økte intracellulære konsentrasjonen av kalsium aktiverer insulinsekresjonen via exocytose. Enkelte aminosyrer stimulerer insulinsekresjon ved aktivering av glutamatdehydrogenase. Resultatet er igjen økt ATP-produksjon og lukking av K_{ATP} -kanalene. Medikamentet diazoxid (dzx) åpner K_{ATP} -kanalen ved at det binder seg direkte til SUR1 subenheten

Diagnostikk

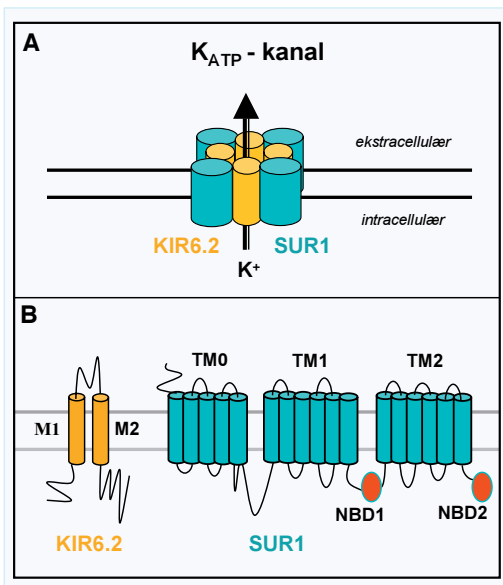
Genotype–fenotype assosiasjoner

Medfødt hyperinsulinisme forårsaket av mutasjoner i *ABCC8* og *KCNJ11* viser seg histopatologisk å være av diffus type i omtrent i 60 % av tilfellene, mens resten er fokal (4, 20). Det er observert en klar sammenheng mellom histologisk fenotype og mutasjonens nedarvingsmønster. Diffus sykdom er vanligvis arvet autosomal recessivt. Det betyr at en genfeil er arvet både fra mor og far, og pasienten er bærer av enten to identiske (homozygot) eller to ulike mutasjoner (sammen-satt heterozygot) i *ABCC8* eller i *KCNJ11* (20, 21).

Fokal sykdom skyldes vanligvis en heterozygot mutasjon (i *ABCC8* eller *KCNJ11*) arvet fra far, i tillegg til en somatisk endring av den maternelle genkopien. Den somatiske endringen er trolig oppstått spontant i pankreasanlegget under fosterutviklingen (22, 23). Resultatet blir at kaliumkanalen blir ødelagt i et avgrenset område av bukspyttkjertelen.

Kartlegging av hyperinsulinisme-mutasjoner ved genetiske analyser

For barn som er født med hyperinsulinisme og som ikke responderer tilfredsstillende på karbohydratrik diett eller farmakologisk behandling, er



Figur 2

Skjematisk oppbygning av K_{ATP} -kanalen. (A) viser fire SUR1-subenheter (blå) og fire KIR6.2-subenheter (gul), som sammen danner en ionekanal gjennom cellemembranen. Kanalen er følsom for høy ATP-konsentrasjon og lukkes slik at K^+ ioner ikke kan strømme ut av cellen. (B) viser skjematisk den transmembrane lokaliseringen av SUR1 og KIR6.2. Det store SUR1 proteinet består av tre domener som løper gjennom membranen (TM0, TM1 og TM2) i tillegg til to domener som binder til ATP (NBD1 og NBD2). KIR6.2 er et lite protein med to transmembran-domener (M1 og M2) og en ekstracellulær løkke.

alternativet som oftest operasjon i nyfødtpereoden. På bakgrunn av det man nå vet om sammenhengen mellom genotype og fenotype, er det da en stor fordel å kartlegge pasientens mutasjoner så tidlig som mulig. Genetisk diagnostikk ved hjelp av direkte sekvensering av genomisk DNA er i dag en automatisert analyse som utføres raskt, nøyaktig, og relativt rimelig. Dersom man finner mutasjoner i genene *ABCC8* eller *KCNJ11*, kan man på bakgrunn av om pasienten har en eller to ødelagte genkopier, og om det er nedarving av mutasjon fra far eller mor, anslå sannsynligheten for fokal eller diffus sykdom. Også avansert billediagnostikk i form av PET-undersøkelse har vist seg nyttig her (24).

Oppsummering

Medfødt hyperinsulinisme er en sjelden og alvorlig sykdom, der rask diagnose og behandling er avgjørende for barnets fremtidige helse. Skillet mellom diffus og fokal sykdom er kritisk for valg av behandling. Morfologisk klassifisering av hyperinsulinisme er vanskelig og molekylærgenetisk diagnostikk kan være til stor hjelp. I tillegg har kartleggingen av de genetiske årsakene til sykdommen utvilsomt resultert i en utvidet forståelse av hvordan insulinutskillelse reguleres på det molekylære planet. Men til tross for mange kjente genetiske årsaker, er henimot halvparten av tilfellene av medfødt hyperinsulinisme fremdeles genetisk uavklart. Muligheten for at det finnes flere hyperinsulinisme-gener som griper inn i insulinreguleringen, er derfor stor. Oppdagelsen av *SCHAD*-mangel var for eksempel en overraskende årsak til medfødt hyperinsulinisme og illustrerer den fundamentale betydningen av molekylærgenetiske analyser ved utredning av arvelige sykdommer (12, 25). Genetisk diagnostikk, i kombinasjon med nye former for billedanalyse, har gjort det mulig å stille en rask og nøyaktig diagnose på mange hyperinsulinisme-pasienter slik at klinikerne kan tilrettelegge optimal behandling av barnet og gi presis genetisk veiledning til foreldrene.

Referanser

1. Hussain K. Diagnosis and management of hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy. *Horm Res* 2008; 69: 2-13.
2. De Leon DD and Stanley CA. Mechanisms of Disease: advances in diagnosis and treatment of hyperinsulinism in neonates. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2007; 3: 57-68.
3. Darendeliler F and Bas F. Hyperinsulinism in infancy--genetic aspects. *Pediatr Endocrinol Rev* 2006; 3 Suppl 3: 521-526.
4. Palladino AA, Bennett MJ and Stanley CA. Hyperinsulinism in Infancy and Childhood: When an Insulin Level Is not Always Enough. *Clin Chem* 2008;54:256-63.

5. de Lonlay P, Fournet JC, Touati G, Groos MS, Martin D, Sevin C, et al. Heterogeneity of persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia. A series of 175 cases. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 37-48.
6. de Lonlay-Debeney P, Poggi-Travert F, Fournet JC, Sempoux C, Vici CD, Brunelle F, et al. Clinical features of 52 neonates with hyperinsulinism. *N Engl J Med* 1999; 340: 1169-1175.
7. Leibowitz G, Glaser B, Higazi AA, Salameh M, Cerasi E and 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: 386-392.
8. Thomas PM, Cote GJ, Wohllk N, Haddad B, Mathew PM, Rabl W, et al. Mutations in the sulf onylurea receptor gene in familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. *Science* 1995; 268: 426-429.
9. Thomas P, Ye Y and Lightner E. Mutation of the pancreatic islet inward rectifier Kir6.2 also leads to familial persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy. *Hum Mol Genet* 1996; 5: 1809-1812.
10. Glaser B, Kesavan P, Heyman M, Davis E, Cuesta A, Buchs A, et al. Familial hyperinsulinism caused by an activating glucokinase mutation. *N Engl J Med* 1998; 338: 226-230.
11. Stanley CA, Lieu YK, Hsu BY, Burlina AB, Greenberg CR, Hopwood NJ, et al. Hyperinsulinism and hyperammonemia in infants with regulatory mutations of the glutamate dehydrogenase gene. *N Engl J Med* 1998; 338: 1352-1357.
12. Molven A, Matre GE, Duran M, Wanders RJ, Rishaug U, Njolstad PR, et al. Familial hyperinsulinemic hypoglycemia caused by a defect in the SCHAD enzyme of mitochondrial fatty acid oxidation. *Diabetes* 2004; 53: 221-227.
13. Clayton PT, Eaton S, Aynsley-Green A, Edginton M, Hussain K, Krywawych S, et al. Hyperinsulinism in short-chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency reveals the importance of beta-oxidation in insulin secretion. *J Clin Invest* 2001; 108: 457-465.
14. Pearson ER, Boj SF, Steele AM, Barrett T, Stals K, Shield JP, et al. Macrosomia and hyperinsulinaemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. *PLoS Med* 2007; 4: e118.
15. Otonkoski T, Jiao H, Kaminen-Ahola N, Tapiapaez I, Ullah MS, Parton LE, et al. Physical exercise-induced hypoglycemia caused by failed silencing of monocarboxylate transporter 1 in pancreatic beta cells. *Am J Hum Genet* 2007; 81: 467-474.
16. Hojlund K, Hansen T, Lajer M, Henriksen JE, Levin K, Lindholm J, et al. A novel syndrome of autosomal-dominant hyperinsulinemic hypoglycemia linked to a mutation in the human insulin receptor gene. *Diabetes* 2004; 53: 1592-1598.
17. Ashcroft FM. ATP-sensitive K⁺ channels and disease: from molecule to malady. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 293: E880-889.
18. Gloyn AL, Siddiqui J and Ellard S. Mutations in the genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) in diabetes mellitus and hyperinsulinism. *Hum Mutat* 2006; 27: 220-231.
19. Glaser B, Thornton P, Otonkoski T and Junien C. Genetics of neonatal hyperinsulinism. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 82: F79-86.
20. Suchi M, MacMullen C, Thornton PS, Ganguly A, Stanley CA and Ruchelli ED. Histopathology of congenital hyperinsulinism: retrospective study with genotype correlations. *Pediatr Dev Pathol* 2003; 6: 322-333.
21. Rahier J, Guiot Y and Sempoux C. Persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy: a heterogeneous syndrome unrelated to nesidioblastosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2000; 82: F108-112.

22. Suchi M, MacMullen CM, Thornton PS, Adzick NS, Ganguly A, Ruchelli ED, et al. Molecular and immunohistochemical analyses of the focal form of congenital hyperinsulinism. *Mod Pathol* 2006; 19: 122-129.
23. Verkarre V, Fournet JC, de Lonlay P, Gross-Morand MS, Devillers M, Rahier J, et al. Paternal mutation of the sulfonyleurea receptor (SUR1) gene and maternal loss of 11p15 imprinted genes lead to persistent hyperinsulinism in focal adenomatous hyperplasia. *J Clin Invest* 1998; 102: 1286-1291.
24. Ribeiro MJ, Boddaert N, Bellanne-Chantelot C, Bourgeois S, Valayannopoulos V, Delzescaux T, et al. The added value of [(18)F]fluoro-L: -DOPA PET in the diagnosis of hyperinsulinism of infancy: a retrospective study involving 49 children. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* ;34:2120-8.
25. Molven A, Rishaug U, Matre GE, Njølstad PR and Søvik O. Hunting for a hypoglycemia gene: severe neonatal hypoglycemia in a consanguineous family. *Am J Med Genet* 2002; 113: 40-46.