

HETEROGENNOŚĆ I LECZENIE GENETYCZNIE UWARUNKOWANEGO HIPERINSULINIZMU

HETEROGENEITY AND TREATMENT OF CONGENITAL HYPERINSULINISM

Ewa Kopiczna-Grzebieniak, Elżbieta Kotrys-Puchalska

Katedra i Zakład Biochemii ŚAM w Katowicach

Streszczenie: W ostatnich latach została częściowo poznana patofizjologia wrodzonego hiperinsulinizmu (CHI – ang. congenital hyperinsulinism, czyli PHHI – ang. persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy). Jest on najważniejszą przyczyną hipoglikemii u noworodków i niemowląt i wymaga właściwego postępowania zapobiegającego nieodwracalnemu uszkodzeniu mózgu. CHI jest chorobą heterogenną. Może występować sporadycznie lub rodzinnie, jako postać rozsiana lub ogniskowa, o przebiegu ostrym lub łagodnym, przejściowym lub uporczywym, może dziedziczyć się autosomalnie recesywnie lub dominująco, może być wrażliwa lub oporna na leczenie dietetyczne i farmakologiczne. Chorzy z ostrą dyfuzyjną postacią CHI, oporną na leczenie zachowawcze, wymagają często rozległej pankreatektomii lub ograniczonej resekcji trzustki w postaci ogniskowej CHI. Nowe odkrycia zapoczątkowują wyjaśnianie molekularnej etiologii genetycznie uwarunkowanego hiperinsulinizmu, a tym samym coraz bardziej zrozumiałe stają się mechanizmy odpowiedzialne za heterogenność CHI. U chorych z wrodzonym hiperinsulinizmem zidentyfikowano dotąd wiele mutacji 5 różnych genów w komórkach beta trzustki. Są to geny SUR1 (ang. sulfonylurea receptor) i Kir6.2 (ang. inward rectifying potassium channel), które są dwiema podjednostkami kanałów K_{ATP} komórek beta trzustki, jak również gen glukokinazy, dehydrogenazy krótkołańcuchowych L-3-hydroksyacyloCoA (SCHAD) i dehydrogenazy glutaminianowej (GDH). Mutacje GLUD1 genu GDH, które zwiększają funkcje tego enzymu, są przyczyną zespołu HI/HA (hiperinsulinizmu/hiperamoniemii). Hiperinsulinemiczna hipoglikemia u niektórych chorych może być indukowana wysiłkiem fizycznym, może być związana z przejściową kwasicią mleczanową i hiperalaninemią lub może być jedną ze zmian w niektórych zespołach chorobowych, np. w zespole B-W (Beckwith-Wiedemann) lub USH1C (Usher syndrome type 1C). Pomimo nowych odkryć, które wyjaśniają mechanizmy patofizjologii i przyczyny heterogenności CHI, genetyczny defekt (defekty?) u około 50% chorych z CHI jest nadal nieznanym.

Słowa kluczowe: hiperinsulinizm, hipoglikemia, hiperamoniemia, kanał potasowy (K_{ATP}), glukokinaza, dehydrogenaza glutaminianowa, dehydrogenaza krótkołańcuchowych L-3-hydroksyacyloCoA

Abstract: In the last few years the pathophysiology of congenital hyperinsulinism (CHI or PHHI - persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy) has been partly explained. It is the most important cause of hypoglycemia in neonates or infants and requires appropriate intervention to prevent irreversible brain damage. CHI is a heterogeneous disorder. It may be: sporadic or familiar, focal or diffuse, severe or mild, transitory or persistent, transmitted as either an autosomal recessive or a dominant trait, responsive or unresponsive to dietary and drug treatment. The patients with severe CHI, who are unresponsive to this treatment, often require extensive pancreatic resection in diffuse CHI or limited pancreatic resection in focal CHI. Recent discoveries have begun to clarify the molecular etiology of congenital hyperinsulinism, so the mechanisms responsible for heterogeneity of CHI are becoming more clear. Mutations of at least 5 different genes in the beta cells of pancreas have been identified in patients with congenital hyperinsulinism. These are the genes of: SUR1 (sulfonylurea receptor) and Kir6.2 (inward rectifying potassium channel), which are the two subunits of the pancreas beta-cell K_{ATP} channels, as well as the gene of glucokinase, short chain L-3- hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (SCHAD) and glutamate dehydrogenase (GDH). Mutations in GLUD1, the gene of GDH, which gain the function of this enzyme are the cause of HI/HA syndrome (hyperinsulinism/hyperammonemia). Hyperinsulinemic hypoglycemia in some patients may be induced by physical exercises, may be associated with transient lactic acidosis and hiperalaninemia or may be one of the changes in some syndromes, as B-W (Beckwith-Wiedemann) or USH1C (Usher syndrome type 1C). Despite recent discoveries, which explain the mechanisms of pathophysiology and the causes of CHI heterogeneity, genetic defect (defects?) in about 50% of patients with CHI are still unknown.

Key words: hyperinsulinism, hypoglycemia, hyperammonemia, potassium channel (K_{ATP}), glucokinase, glutamate dehydrogenase, short chain L-3- hydroxyacyl-CoA dehydrogenase

Wstęp

Wrodzony hiperinsulinizm (CHI – ang. congenital hyperinsulinism, czyli PHHI – ang. persistent hyperinsulinemic

hypoglycemia of infancy) jest najważniejszą przyczyną hipoglikemii we wczesnym dzieciństwie (1-3). Wrodzony hiperinsulinizm obejmuje różne defekty genetyczne, manifestujące się klinicznie objawami spowodowanymi hipoglikie-

mią, której towarzyszy nasilona sekrecja insuliny. Około 1/4 noworodków z CHI ma dużą, urodzeniową masę ciała, podobnie jak noworodki matek chorujących na cukrzycę (4, 5). Hipoglikemia u chorych z CHI może mieć charakter nawrotowy lub może utrzymywać się stale (6). Pierwsze, niespecyficzne objawy CHI to zwiotczenie, niechęć przyjmowanie posiłków, letarg (4). Objawy hipoglikemii w ostrej postaci tej choroby, takie jak: napady bezdechu z sinicą, uogólnione drgawki, śpiączka, mogą pojawiać się już w najwcześniejszym okresie noworodkowym (6). Te objawy towarzyszą ciężkiej postaci CHI, która prawie zawsze jest oporna na leczenie farmakologiczne i może powodować nieodwracalne uszkodzenie mózgu na skutek hipoglikemii (7-9). W umiarkowanej postaci CHI, hipoglikemia i najczęściej łagodne objawy kliniczne z nią związane mogą pojawić się kilka tygodni, a nawet kilka miesięcy po urodzeniu (10). Łagodna postać choroby jest rozpoznawana w późnym dzieciństwie, a nawet u dorosłych. Opisano przypadek CHI zdiagnozowany dopiero w 17 roku życia. Do tego czasu chory miał rozpoznanie idiopatycznej padaczki. Hiperinsulinemiczna hipoglikemia może być przyczyną drgawek u dzieci z prawidłowym zapisem EEG (11).

Wrodzony hiperinsulinizm jest jednostką chorobową niejednorodną, między innymi również pod względem histopatologicznym (10, 12). Znana jest postać ogniskowa i dyfuzyjna choroby, które różnią się nie tylko powierzchnią zmian, ale również są one odmienne morfologicznie. Początkowo utożsamiano postać dyfuzyjną CHI z nesidioblastosis, to jest z rozsiazanym namnażaniem komórek beta trzustki z nabłonka przewodów trzustkowych, tak jak w okresie płodowym (12, 13). Obecnie wiadomo, że *nesidioblastosis* nie ma powiązania z CHI (14, 15). U chorych z ogniskową postacią CHI, hiperplazja komórek beta wysp trzustki jest ograniczona do niewielkiej powierzchni (kilku mm do 1 cm) (16-19). Zmiany ogniskowe w trzustce częściej lokalizują się w głowie trzustki i trzonie, ale mogą być obecne również w cieśni i ogonie trzustki (20). Postać ogniskowa ma łagodniejszy przebieg niż postać dyfuzyjna, w której komórki beta trzustki są hipertroficzne, posiadają duże hiperchromatyczne jądra, dużą powierzchnię cytoplazmy i wykazują dużą aktywność metaboliczną i sekrecyjną (12, 21, 22). CHI zarówno w postaci ogniskowej, jak i dyfuzyjnej może występować sporadycznie lub rodzinnie (22).

Postać ogniskowa występuje u 30-40% chorych z CHI i jest konsekwencją takich zdarzeń jak:

- odziedziczenie od ojca zmutowanego genu SUR1 (ang. sulphonylurea receptor 1) i/lub Kir6.2 (ang. inward – rectifying potassium channel) (6, 10, 23-27);

- brak ekspresji genów kodujących supresory proliferacji (H19, p57^{KIP2}) pochodzących od ojca, na skutek piętnowania genomowego (genomic imprinting) (10, 23, 26). Gen H19 koduje nie ulegający translacji mRNA, który hamuje ekspresję IGF-II. p57^{KIP2} jest białkiem należącym do rodziny inhibitorów Cdk (cyclin-dependent kinase). Hamuje on kilka kompleksów cyklina/Cdk fazy G1 (26). Niedobór lub brak p57^{KIP2} towarzyszy nowotworom. Komórki beta trzustki pochodzące ze zmian ogniskowych od chorych z CHI proliferują, ponieważ zaburzona jest w nich równowaga pomiędzy stymulatorami proliferacji, np.: IGF-II, a inhibitorami proliferacji, np.: H19 i p57^{KIP2}, na korzyść stymulatorów (14);

- delecja w prekursorach komórek beta trzustki terminalnego regionu krótkiego ramienia matczynego chromosomu 11, regionu p15.1, w którym zmapowane są geny SUR1, Kir6.2, supresorów proliferacji (p57^{KIP2}, H19), IGF-II i Pidd (ang. p53-induced protein with death domain) w następstwie mutacji somatycznej w okresie płodowym, podczas rozwoju trzustki (6, 10, 21, 23, 26). Pidd jest białkiem promującym apoptozę, indukowanym supresorem nowotworów (p53) (26). Nie wiadomo czy gen Pidd w komórkach beta trzustki ulega ekspresji, czy jest piętnowany.

Gen IGF-II jest piętnowany w allelu pochodzącym od matki, ekspresji ulega tylko ojcowski allel (26). Allele p57^{KIP2} i H19 pochodzące od matki ulegają ekspresji, natomiast pochodzące od ojca są piętnowane.

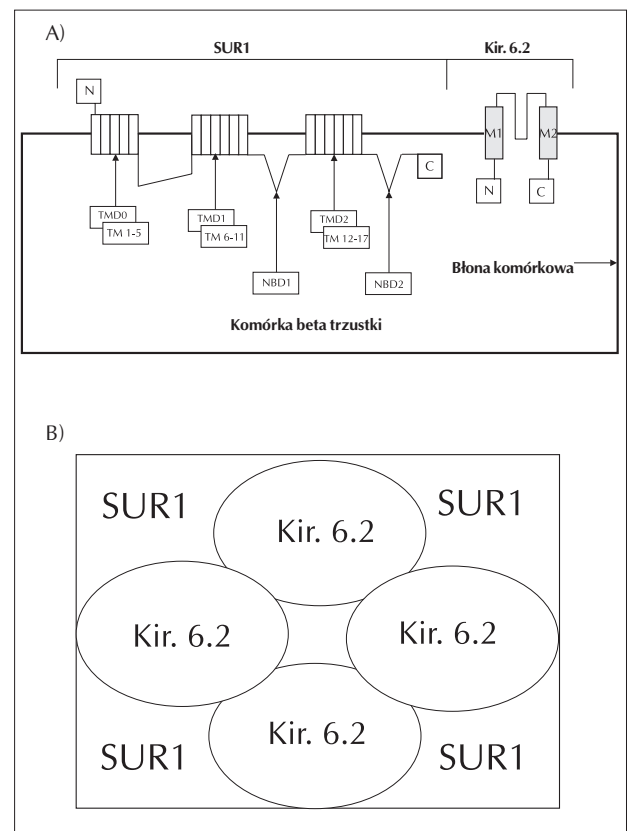
Większość poznanych dotąd mutacji powodujących CHI ma bezpośredni lub pośredni związek z kanałami potasowymi regulowanymi przez ATP (K_{ATP}) w komórkach beta trzustki (16). Mutacje genów kodujących podjednostki kanałów K_{ATP} w komórkach beta trzustki mogą powodować brak, niedobór kanałów K_{ATP} lub ich niesprawne funkcjonowanie, np. brak odpowiedzi na zwiększone stężenie ADP w komórkach beta trzustki. Kanały K_{ATP} są ważnym elementem regulacji sekrecji insuliny (2).

Ogólna charakterystyka kanałów K_{ATP} w komórkach beta trzustki, ich regulacja i rola w egocytocie insuliny

W komórkach beta trzustki kanały K_{ATP} są heterooktamerami (Kir6.2+SUR1)₄, zbudowanymi z 4 podjednostek Kir6.2 (inward – rectifying potassium channel) i 4 podjednostek SUR1 (ang. sulphonylurea receptor 1) (10, 23, 28, 29) (ryc. 1).

W regulacji aktywności kanału K_{ATP} uczestniczą obie pod-

Rycina 1. Struktura kanału K_{ATP} i jego podjednostek SUR1 i Kir6.2 w komórkach beta trzustki.



A) – widok z boku, B) – widok z góry

Objaśnienie skrótów: N – koniec aminowy peptydu; C – koniec karboksylowy peptydu; TMD (0,1,2) – transmembranowe domeny; TM – 17 transmembranowych sekwencji; NBD (1,2) – domeny wewnątrzkomórkowe wiążące nukleotydy, M1 i M2 – transmembranowe helisy Kir6.2

jednostki (SUR1 i Kir6.2) (21, 29-34). ATP, pochodne sulfonylomocznika, niektóre leki przeciwmalaryczne (np. chinina), niektóre detergenty hamują, to jest zamykają, kanały K_{ATP} (30-32). ATP, niektóre leki przeciwmalaryczne i detergenty działają poprzez interakcje z Kir6.2, a pochodne sulfonylo-

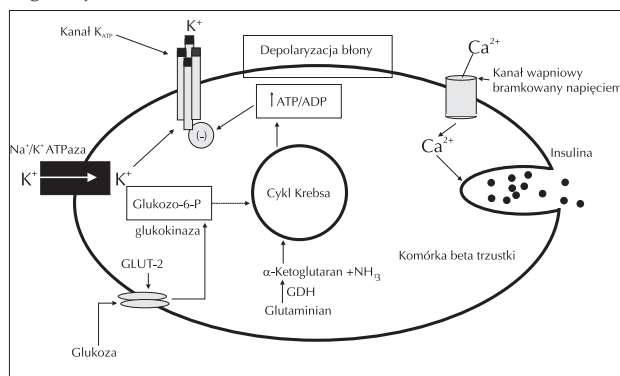
mocznika – poprzez interakcje z miejscem wysokiego powinowactwa w podjednostce SUR1 i z miejscem niskiego powinowactwa w podjednostce Kir6.2 (29). SUR1 modyfikuje powinowactwo Kir6.2 do ATP (35).

Aktywność kanałów K_{ATP} jest stymulowana przez ADP, długołańcuchowe acylo-CoA i diazoksyd, które są otwieraczami tych kanałów (33, 34). Aktywacja kanałów K_{ATP} przez oleilo-CoA jest wynikiem jego interakcji z podjednostką Kir6.2, w odróżnieniu od stymulującego działania ADP i diazoksydu, które działają za pośrednictwem SUR1. Oleilo-CoA zmniejsza wrażliwość Kir6.2 na hamujące (zamykające kanał) działanie ATP (34). Supresorem sekrecji insuliny aktywującym kanały K_{ATP} za pośrednictwem swojego receptora jest leptyna (21). Deficyt leptyny lub brak receptora leptyny u myszy db/db powoduje hiperinsulinemię.

Fizjologicznymi ligandami białek kanału potasowego są endosulfiny (21, 36). Wykazują one powinowactwo do SUR1, współzawodnicząc z pochodnymi sulfonilomocznika o wiązanie z tą podjednostką. Endosulfiny hamują kanały K_{ATP} w komórkach beta trzustki, stymulując sekrecję insuliny. Rola endosulfin w regulacji sekrecji insuliny nie jest jeszcze znana. Przypuszcza się, że endosulfiny są endogennymi regulatorami kanału K_{ATP} i uczestniczą w kontroli uwalniania insuliny (36).

Błona komórkowa nie stymulowanych komórek beta trzustki jest utrzymywana w stanie hiperpolaryzacji przez ATP-azę Na^+/K^+ i otwarte kanały K_{ATP} (10, 23, 28) (ryc. 2).

Rycina 2. Rola kanałów K_{ATP} w regulacji sekrecji insuliny i wpływ stanu metabolicznego komórek beta trzustki na tę regulację.



W komórkach beta trzustki w stanie spoczynku, kanały wapniowe regulowane napięciem są zamknięte i wydzielanie insuliny jest zahamowane (6, 10, 19, 23, 29). Kanały K_{ATP} , a dokładniej domeny SUR1 wiążące nukleotydy, są wrażliwe na stan metaboliczny komórki. W fizjologicznych warunkach, zwiększony stosunek ATP/ADP w komórce beta trzustki, np. spowodowany zwiększonym napływem do niej glukozy i katabolizmem tego cukru, powoduje następującą sekwencję zdarzeń: zamknięcie kanałów K_{ATP} , depolaryzację błony komórkowej, otwarcie kanałów wapniowych stymulowanych napięciem, napływ wapnia do komórki i egzocytozę insuliny. Zwiększony stosunek stężenia ATP/ADP w komórkach beta trzustki może być spowodowany również wzmożonym katabolizmem innych substratów niż glukoza, np. aminokwasów (ryc. 2).

Glukoza reguluje również ekspresję genów SUR1 i Kir6.2 (37). Wysokie stężenie tego cukru zmniejsza transkrypcję genu Kir6.2 i powoduje regulację typu down SUR1 w izolowanych wyspach trzustki szczura i linii komórkowej INS-1 komórek beta. Jest to efekt odwracalny. Ekspozycja komórek na małe stężenie glukozy zwiększa stężenie mRNA Kir6.2. Aktywność kanału K_{ATP} w komórkach INS-1 hodowanych w obecności wysokiego stężenia glukozy jest zredukowana.

W odróżnieniu od glukozy, GLP-1 (glucagon-like peptide-1) indukuje mRNA Kir6.2.

Charakterystyka podjednostek kanału K_{ATP} i ich genów

SUR1, członek rodziny białek ABC (ATP binding cassette), produkt genu ABCC8, jest receptorem między innymi dla sulfonilomocznika i jego pochodnych, które są stosowane w terapii chorych z cukrzycą typu 2 (38). SUR1 u ludzi zawiera 1581 aminokwasów i posiada 17 transmembranowych sekwencji (TM), które tworzą 3 regiony (TMDs transmembrane domains): TMD0, TMD1 i TMD2 oraz 2 domeny wewnątrzkomórkowe wiążące nukleotydy (NBD1 i NBD2) (ryc. 1) (28, 29, 39).

Miejsce wiążące pochodne sulfonilomocznika w SUR1 znajduje się w obrębie TM 14-16, czyli pomiędzy 1035-1277 resztą aminokwasową w TMD2 (29). SUR1 posiada 2 miejsca wiązania diazoksydu: między 1059-1087 aminokwasem, to jest w obrębie TM 13-14, i między 1218-1320 aminokwasem, to jest w obrębie TM 16-17. TM12 uczestniczy w interakcji SUR1 z Kir6.2.

Gen ABCC8 zawiera 39 egzony i znajduje się na krótkim ramieniu 11 chromosomu w sąsiedztwie bezintronowego genu KCNJ11, który koduje Kir6.2 (12, 29). Podjednostki Kir6.2 są zlokalizowane w centrum kanału K_{ATP} , tworząc „tunele” w błonie plazmatycznej (29) (ryc. 1). Kir6.2 zawiera 390 aminokwasów, które tworzą dwie alfa helikalne, transmembranowe domeny, połączone fragmentem o dużej konserwatywności sekwencji aminokwasów. Kir6.2 warunkuje selektywność jonową kanału K_{ATP} .

Mutacje genów podjednostek kanału K_{ATP} powodujące wrodzony hiperinsulinizm

Mutacje genów kodujących SUR1 i Kir6.2 powodujące brak, niedobór lub niesprawność funkcjonalną kanałów K_{ATP} we wszystkich komórkach beta trzustki są przyczyną dyfuzyjnej postaci CHI (40). Mutacje genów podjednostek kanałów K_{ATP} mogą zaburzać ich udział w mechanizmie regulacji sekrecji insuliny, powodując ciągłą depolaryzację błony komórkowej komórek beta i stałą sekrecję insuliny (12, 19). Większość chorych z mutacjami SUR1 lub Kir6.2 dziedziczy zmutowane allele od obojga rodziców (10). Poznano dotąd kilkadziesiąt mutacji genu kodującego SUR1 u chorych z CHI (10, 12, 23). Są one znacznie częstsze (około 95% mutacji kanału K_{ATP} powodujących CHI) niż mutacje genu Kir6.2 (10). Mutacje punktowe genu kodującego SUR1 powodujące substytucje aminokwasów są przyczyną łagodniejszej odmiany CHI w porównaniu z mutacjami nonsensownymi (12).

Większość mutacji genów podjednostek kanałów K_{ATP} w komórkach beta trzustki u chorych z wrodzonym hiperinsulinizmem dziedziczy się autosomalnie recesywnie (8, 41, 42). Chorzy ci są często niewrażliwi na terapię farmakologiczną, w odróżnieniu od mniej licznych przypadków dominującego dziedziczenia wrodzonego hiperinsulinizmu, spowodowanego defektem kanałów K_{ATP} w komórkach beta trzustki.

Mutacje genu glukokinazy (GK) powodujące wrodzony hiperinsulinizm

Glukokinaza (EC 2.7.2.1, heksokinaza IV) jest obecna w komórkach beta trzustki (21). Poznane dotąd mutacje genu glukokinazy powodujące CHI, dziedziczą się dominująco i powodują łagodną odmianę tej choroby (12). Hipoglikemia jest łagodniejsza w tych defektach niż w mutacjach SUR1

i/lub Kir6.2 powodujących CHI i często nie jest rozpoznawana bezpośrednio po urodzeniu (25). Mutacje genu GK występują sporadycznie lub mogą być mutacjami rodzinnymi (10, 23). Chory z defektem GK powodującym CHI są podatni na leczenie diazoksydem.

Glukokinaza nazywana jest czujnikiem stężenia glukozy w komórkach beta trzustki, ważnym w regulacji sekrecji insuliny (10, 23, 25). Glukoza dostaje się do tych komórek z udziałem transportera GLUT 2 (ryc. 2). W komórkach beta trzustki glukoza jest fosforylowana przez glukokinazę do glukozy-6-fosforanu, którego metabolizm zwiększa stosunek stężenia ATP/ADP, w wyniku czego zamknięte zostają kanały K_{ATP} (29). Wiąże się to z sekrecją insuliny zgodnie z wcześniej przedstawionym mechanizmem. Zmniejszone stężenie glukozy w komórkach beta trzustki hamuje wydzielanie insuliny w warunkach fizjologicznych, ale nie u chorych z mutacjami genu GK powodującymi CHI. Mutacje genu glukokinazy powodujące CHI przyczyniają się do zwiększonego wytwarzania ATP w komórkach beta (mutacje „gain of function”), a tym samym do zamknięcia kanałów K_{ATP} (12, 29). Przykładem jest mutacja punktowa (V455M), która powoduje, że zwiększa się powinowactwo glukokinazy do glukozy ($K_M = 2,9$ mM) w porównaniu z enzymem prawidłowym ($K_M = 8,4$ mM) (12). Oznacza to, że insulina jest uwalniana już pod wpływem niższych stężeń glukozy niż w warunkach fizjologicznych. W odróżnieniu od mutacji genu GK powodujących CHI, mutacje które zmniejszają aktywność glukokinazy lub zmniejszają jej powinowactwo do glukozy powodują cukrzycę typu 2 dziedziczną autosomalnie dominującą, to jest cukrzycę MODY2 (maturity – onset diabetes of the young).

Mutacje GLUD-1, czyli genu dehydrogenazy glutaminianowej (GDH), powodujące zespół hiperinsulinizmu i hiperamonemii (HI/HA)

U ludzi istnieje postać termostabilna dehydrogenazy glutaminianowej (EC 1.4.1.3), kodowana przez gen GLUD1, obecna w różnych komórkach, między innymi w komórkach beta trzustki, i termolabilna, kodowana przez gen GLUD2, specyficzna dla astrocytów (43). Termostabilna GDH jest hamowana przez GTP, natomiast ADP i leucyna są allosterycznymi aktywatorami tego enzymu. Jest to enzym mitochondrialny, katalizujący następującą reakcję: $NH_4^+ + \alpha$ ketoglutaran + NADH (NADPH) + $H^+ \rightleftharpoons$ L-glutaminian + NAD⁺ (NADP⁺) + H₂O

Dehydrogenaza glutaminianowa jest ważna w homeostazie glukozy (40). Ten enzym wiąże metabolizm glutaminianu z cyklem Krebsa (ryc. 2) (29). Brak hamowania zmutowanego enzymu i/lub nadmierna stymulacja przez jego aktywatory, zwiększając dezaminację oksydacyjną glutaminianu, nasila syntezę alfa-ketoglutaranu, a więc pośrednio syntezę ATP, który, poprzez mechanizm związany z kanałami K_{ATP} , stymuluje sekrecję insuliny (44).

GLUD1 posiada 13 egzonów i znajduje się w 10 chromosomie (45). Najczęstsze mutacje tego genu powodujące zespół HI/HA (ang. hyperinsulinism/ hyperammoneia), czyli HHS (ang. hyperinsulinism and hyperammonemic syndrome) są w egzonach 6, 7, 11, 12 i w regionie antenowym (44).

Zespół HI/HA, jest najczęściej łagodną odmianą CHI, dziedziczną dominującą (9). Znana jest zarówno jego postać sporadyczna, jak i rodzinna. Charakterystyczną cechą zespołu HI/HA jest bezobjawowa, stale utrzymująca się hiperamonemia. (46). Pacjenci z tym zespołem są bardzo często podatni na leczenie dietetyczne i farmakologiczne (9).

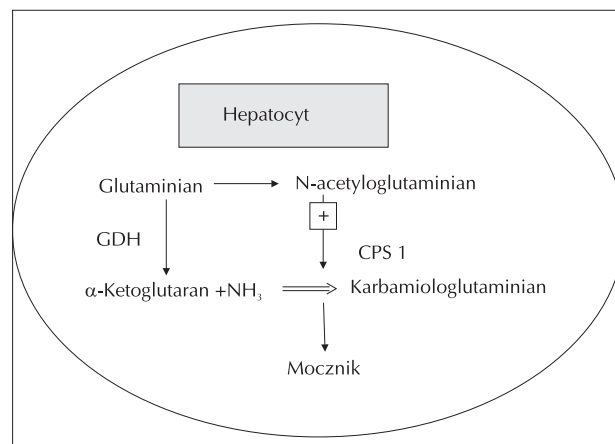
W zespole HI/HA nawracające drgawki hipoglikemiczne najczęściej pojawiają się między 2 a 7 miesiącem życia, cza-

sem wcześniej (44, 47). Opisano przypadek zespołu HI/HA spowodowanego sporadyczną mutacją GDH (Gly446Asp) u chłopca, u którego śpiączka hipoglikemiczna i hiperinsulinemia pojawiły się w pierwszej dobie życia (48). Rozwój umysłowy tego dziecka w 15 roku życia był opóźniony. Nie jest to typowe dla chorych z zespołem HI/HA, ponieważ opóźnienie rozwoju umysłowego u nich nie występuje albo jest nieznaczne.

Mutacje w GLUD1, powodujące zespół HI/HA, dotyczą nie tylko regionów kodujących domenę katalityczną GDH, ale również mogą być w regionach, które kodują miejsca wiązania regulatorów allosterycznych tego enzymu (49). Mutacje GLUD1, powodujące zespół HI/HA, mogą zwiększać aktywność GDH, ale często zmutowany enzym ma zmienione właściwości (mutacje „gain of function”) (44, 50, 51). Często mutacje te dotyczą miejsca wiązania GTP (domena 6 i 7) i zmutowany enzym może być niewrażliwy lub mniej wrażliwy na hamujące działanie tego nukleotydu. Znałe są także mutacje tzw. regionu antenowego GDH, bezpośrednio uczestniczącego w wiązaniu GTP, które również zmniejszają wrażliwość dehydrogenazy glutaminianowej na hamowanie przez GTP (52).

Niektóre mutacje GLUD1 u chorych z zespołem HI/HA powodują nadmierną stymulację GDH przez jej aktywatory, np. przez leucynę (44, 47). Tłumaczy to występowanie drgawek hipoglikemicznych często po posiłku bogatobiałkowym u chorych z zespołem HI/HA. Pobudzona aktywność GDH zwiększa przepływ aminokwasowych substratów z udziałem alfa-ketoglutaranu do cyklu Krebsa, co zwiększa fosforylację ADP do ATP (ryc. 2). Wzrost stężenia tego nukleotydu w komórkach beta trzustki zamyka kanały K_{ATP} , powodując sekrecję insuliny (10, 23). Mutacje GLUD1 w zespole HI/HA dotyczą nie tylko trzustki (29). Można je wykazać np. w limfoblastach, co jest pomocne w diagnostyce zespołu HI/HA. Mutacje tego enzymu w wątrobie są odpowiedzialne za rozwój hiperamonemii. Przemiana glutaminianu do alfa-ketoglutaranu zwiększa stężenie amoniaku i zmniejsza stężenie glutaminianu, a tym samym stężenie N-acetyloglutaminianu, aktywatora CPS1 (syntetazy karbamoilofosforanowej, enzymu regulatorowego ureogenezy), co hamuje syntezę mocznika, zaburzając detoksykację amoniaku w wątrobie (9, 47) (ryc. 3).

Rycina 3. Mechanizm hiperamonemii u chorych z zespołem HI/HA.



Objaśnienie skrótów: CPS1 – syntetaza karbamoilofosforanowa 1, GDH – dehydrogenaza glutaminianowa, ⊕ oznacza aktywujący enzym

Niedawno zasugerowano, że glutaminian pochodzący z mitochondriów zwiększa bezpośrednio sekrecję insuliny, ale istnienie tego mechanizmu jest kontrowersyjne (53-55).

Mutacja dehydrogenazy krótkołańcuchowych L-3-hydroksyacyloCoA (SCHAD – ang. short chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase) przyczyną wrodzonego hiperinsulinizmu

SCHAD (EC 1.1.1.35) jest enzymem mitochondrialnym, współdziałającym z NAD, katalizującym przemianę L-3-hydroksyacyloCoA do 3-ketoacyloCoA w procesie beta oksydacji kwasów tłuszczowych (56). Duża ekspresja tego enzymu występuje w mięśniach szkieletowych, kardiomiocytach, wątrobie, nerce i w wyspach Langerhansa trzustki. Mutacja genu tego enzymu (C773T), powodująca zmianę proliny w pozycji 258 na leucynę, jest pierwszym poznany dotąd defektem beta oksydacji kwasów tłuszczowych, związanym z hiperinsulinizmem. U dziewczynki homozygotycznej z tą mutacją pojawiły się drgawki w 4 miesiącu życia. U tego dziecka wykazano hipoketotyczną hipoglikemię, hiperinsulinemię, zwiększone stężenie we krwi hydroksybutyrylokarbonylu. Aktywność SCHAD w mitochondriach fibroblastów wynosiła 5% aktywności kontrolnej. Ta postać hiperinsulinizmu jest podatna na leczenie diazoksydem. Mutacja SCHAD połączona z hiperinsulinizmem wskazuje, że w regulacji sekrecji insuliny uczestniczy również lipidowy szlak sygnalizacyjny, ale mechanizm tej regulacji nie jest jeszcze znany.

Hiperinsulinizm indukowany wysiłkiem fizycznym (EIHI – ang. exercise induced hyperinsulinism)

Hiperinsulinizm może być spowodowany wysiłkiem fizycznym. Dotychczas opisano EIHI u 12 osób - 8 kobiet i 4 mężczyzn, pochodzących z 2 rodzin (57). U tych chorych wykazano dziedziczenie autosomalne, dominujące choroby. Hipoglikemię i hiperinsulinemię można wykazać u tych chorych po 10-minutowym rowerowym teście wysiłkowym. W diagnostyce pomocny jest test z dożylnym obciążeniem pirogronianem (13,9 mmol/1,73 m²). U wszystkich chorych z EIHI po 3 minutach od podania pirogronianu nastąpił wzrost stężenia insuliny w osoczu.

Hiperinsulinizm związany z kwasicą mleczanową i hiperalaninemią

Zwiększone stężenie w osoczu pirogronianu wykazano również u dziecka urodzonego w 36 tygodniu ciąży, u którego po urodzeniu stwierdzono hiperinsulinemię i hipoglikemię, podatne na leczenie diazoksydem i infuzjami glukozy (58). U tego dziecka zwiększone było także stężenie w osoczu mleczanu i alaniny. Za pomocą dichloroocetanu (DCA) uzyskano normalizację profilu metabolicznego, bez nawrotu zmian stężenia mleczanu, alaniny i pirogronianu po odstawieniu DCA. W 18 miesiącu życia rozwój dziecka był opóźniony, ale stężenie glukozy, insuliny i kwasu mlekowego było prawidłowe.

Zespoły chorobowe, którym towarzyszy hiperinsulinizm

Hiperinsulinizm może współistnieć z innymi zaburzeniami, w różnych zespołach chorobowych, np. w zespole Beckwith-Wiedemann (59). Jest to genetycznie i klinicznie heterogenna choroba, w której hipoglikemia spowodowana hiperinsulinemią występuje jedynie u około 50% chorych (60). Częste są w tym zespole zmiany somatyczne, zniekształcenia, zwiększenie masy ciała i/lub narządów, dysfunkcja układu dokrewnego (4, 61). Bardzo często jest powiększony język (u 93% chorych) (60). Przebieg i leczenie zespołu B-W są podobne jak u chorych z CHI. Zidentyfikowane dotąd przyczyny tego zespołu to mutacje genów hamujących wzrost i proliferację (p57^{KIP2}, H19), utrata tych genów

pochodzących od matki, jednorodzielska disomia genów ojca promujących proliferację, np. IGF-II, duplikacje i translokacje fragmentu chromosomu 11p15. Defekt genetyczny u 70% chorych z zespołem B-W nie jest znany. W obrazie histologicznym trzustki stwierdzana jest rozszkana hiperplazja i hipertrofia komórek beta i zmniejszenie liczby komórek wytwarzających somatostatynę.

Hiperinsulinizm towarzyszy także zespołowi Usher 1C (62, 63). U chorych z tym zespołem występuje różny stopień utraty słuchu, barwnikowe zapalenie siatkówki, enteropatia i dysfunkcja kanalików nerkowych, za które odpowiedzialna jest 122-kb delecja chromosomu 11p14-15, zawierająca część ABCC8, genu kodującego SUR1.

Hipoglikemia i hiperinsulinemia są stwierdzane także u dzieci z zespołem Rubinstein-Taybi, zwłaszcza u noworodków, których rozwój wewnątrzmaciczny był opóźniony (64). Hiperinsulinizm opisano też w trisomii 13 (65).

U niektórych dzieci hiperinsulinizmowi towarzyszy opóźnienie rozwoju psychomotorycznego, niedoczynność tarczycy, wrodzone wady serca, chroniczne choroby płuc, wrodzony zespół centralnej hipowentylacji (59).

Różnicowanie CHI z innymi chorobami, którym towarzyszy hiperinsulinizm

CHI, zwłaszcza u starszych dzieci, wymaga różnicowania z insulinoma (6). Gruczolak z komórek beta trzustki rzadko występuje u dzieci i zazwyczaj jest u nich łagodnym nowotworem. Niedawno opisano u dziecka gruczolak z komórek beta trzustki, które zawierały aktywne kanały K_{ATP}, a mimo to nieskuteczne było leczenie diazoksydem.

Hiperinsulinizm może pojawić się u noworodków i niemowląt, które narażone były na stres okołoporodowy, spowodowany np. zatruciem ciążowym, niedotlenieniem podczas porodu oraz u noworodków dystroficznych, u noworodków, których matki chorują na cukrzycę lub noworodków z konfliktu serologicznego (4, 14). Mechanizmy hiperinsulinizmu u tych dzieci nie są znane, a hipoglikemia utrzymuje się przez kilka tygodni po urodzeniu (14). Dzieci te najczęściej mają łagodną formę hiperinsulinizmu i są podatne na leczenie farmakologiczne i dietetyczne, nie wymagając leczenia chirurgicznego.

Częstość wrodzonego hiperinsulinizmu

W Europie częstość hiperinsulinizmu uwarunkowanego genetycznie waha się od 1/27 000 (w Irlandii) do 1/40 000 (Finlandia), a nawet 1/50 000 (Holandia, Norwegia) (17, 23). Znacznie częściej choroba ta pojawia się w populacjach z dużą częstością małżeństw w obrębie tej samej rodziny (12, 25). Częstość CHI wynosi wówczas 1 przypadek na 2500 żywych urodzeń (29). Częstość zespołu Beckwith-Wiedemann wynosi 1: 13 700 urodzeń (60).

Diagnostyka wrodzonego hiperinsulinizmu

W rozpoznaniu CHI są pomocne:

- objawowa hipoglikemia na czczo bezpośrednio po urodzeniu lub później, w kilka tygodni lub miesięcy po urodzeniu (10, 12). Objawowa hipoglikemia u chorych z zespołem HI/HA pojawia się po obciążeniu białkiem lub leucyną (10, 23),
- hiperinsulinemia: stężenie insuliny w osoczu powyżej 60 pmol/l, czyli powyżej 10 μU/ml (21), z czego wynika, że jedna mikrodostka insuliny odpowiada 34,84 pikomolom tego hormonu. Według innych autorów u chorych z CHI w 1 ml osocza znajduje się ponad 30 μU insuliny i jest zwiększone stężenie peptydu C (4, 12). Stężenie insuliny w osoczu może nie być znacznie podwyższone (14). Należy jednak pamiętać, że stężenie insuliny uznawane za prawi-

dłowe w normoglikemii nie jest prawidłowe u chorych z hipoglikemią, w których występuje nieadekwatna supresja wydzielania insuliny w obecności hipoglikemii (66),

- duże zapotrzebowanie na glukozę (powyżej 12 mg/kg masy ciała/min., często powyżej 15 mg/kg masy ciała/min.), w celu utrzymania stężenia glukozy we krwi powyżej 2,6-3 mM (4, 12, 21),

- niskie stężenie ciał ketonowych i wolnych kwasów tłuszczowych we krwi, brak ketonurii podczas hipoglikemii na skutek supresji ketogenezy i lipolizy przez zwiększone stężenie insuliny (12, 14),

- powiększenie wątroby na skutek nagromadzenia w niej glikogenu i/lub na skutek infuzji dużych ilości glukozy i retencji płynów, w następstwie podawania dużych ilości kroplówek oraz leczenia diazoksydem (4),

- nadmierny przyrost stężenia glukozy we krwi indukowany glukagonem lub somatostatyną, podawanymi w iniekcjach, w celu diagnostycznym lub terapeutycznym (4, 12, 22),

- zwiększona aktywność GDH lub zmienione właściwości kinetyczne tego enzymu w limfoblastach, hepatocytach, komórkach beta wysp trzustki u chorych z HI/HA (10, 47),

- bezobjawowa hiperamonemia w zespole HI/HA (10). Stężenie amoniaku w osoczu chorych z zespołem HI/HA jest najczęściej 3-5 razy większe od stężenia referencyjnego (14),

- zmniejszone stężenie aminokwasów z rozgałęzionym łańcuchem węglowym podczas hipoglikemii lub prawidłowy profil aminokwasów w osoczu chorych z HI/HA, w odróżnieniu od innych hiperamonemii (4, 47). Opisano też wzrost stężenia glutaminianu w osoczu. W pojedynczych przypadkach CHI wykazano zwiększone wydalanie kwasu alfa ketoglutazarowego z moczem (67),

- zmniejszone stężenie wolnej i całkowitej karnityny, które wykazano w osoczu dziewczynki z HI/HA (47),

- wzrost stężenia wapnia w cytozolu komórek beta trzustki (12),

- zmiany w badaniu mikroskopowym i histomorfometrycznym trzustki, które zostały przedstawione wyżej (10, 22),

- wykrycie mutacji odpowiedzialnej za rozwój choroby (22, 23).

Różnicowanie pomiędzy ogniskową i dyfuzyjną postacią wrodzonego hiperinsulinizmu

W różnicowaniu postaci ogniskowej i dyfuzyjnej CHI nie są przydatne wizualne metody diagnostyczne, takie jak: ultrasonografia, tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny, angiografia trzewna (4). Badania te mogą być jednak pomocne, zwłaszcza u starszych dzieci, do różnicowania CHI z insulinoma. Zmiany ogniskowe w odróżnieniu od gruczolaka z komórek beta nie zaburzają architektury trzustki i nie można ich wykazać badaniem palpacyjnym, ani zobaczyć makroskopowo (22). Do różnicowania postaci ogniskowej i rozsianej są stosowane:

- próba z dożylnie podanym tolbutamidem (25 mg/kg masy ciała, do maksymalnej dawki 1000 mg) w ciągu 1 minuty (19). Krew żylna do oznaczeń stężenia glukozy, insuliny, peptydu C jest pobierana 5 minut przed podaniem preparatu oraz w czasie 0, po 1, 3 i 5 minutach od podania tolbutamidu. Po tym czasie podawana jest glukoza, żeby nie dopuścić do znacznej hipoglikemii. W postaci dyfuzyjnej, spowodowanej mutacjami kanału K_{ATP} wykazano brak wpływu tego preparatu na stężenie insuliny i glikemię (24). W postaci ogniskowej, komórki poza zmianami ogniskowymi w trzustce mają prawidłowe kanały potasowe (K_{ATP}) i dlatego odpowiedź na tolbutamid jest zachowana. Interpretacja wyników tego testu może być jednak trudniejsza niż wcześniej zakładano, ponieważ odpowiedź na tolbutamid chorych z CHI spowodowanym mutacjami SUR1 jest różna i zależna od genotypu (19);

- dożylna infuzja Ca^{2+} (2 mg/kg masy ciała w ciągu 60

sekund) (19). Komórki beta wysp trzustki z defektem kanałów K_{ATP} są bardzo wrażliwe na wapń. We krwi żyłnej pobranej 5 minut przed obciążeniem wapniem, bezpośrednio przez podaniem wapnia oraz po 1, 3 i 5 minutach od podania preparatu wapnia, oznacza się stężenie glukozy, insuliny i peptydu C. Stężenie glukozy dodatkowo oznaczane jest także we krwi pobranej 15 i 30 minut po podaniu wapnia. Pozytywny wynik tego testu (wzrost stężenia insuliny, zmniejszenie stężenia glukozy) u chorych z CHI sugeruje, że mutacja dotyczy genu SUR1 lub Kir6.2, ale wynik negatywny nie wyklucza takiej mutacji;

- test dotętnicznej iniekcji Ca^{2+} (4, 14). Zasada tego testu jest podobna jak testu wapniowego dożylnego. W tęście dotętnicznym wapń jest podawany w iniekcji do pnia trzewnego. We krwi żyłnej odprowadzającej krew z poszczególnych regionów trzustki oznacza się stężenie insuliny, peptydu C i glukozy. Badanie to stwarza niebezpieczeństwo zawału pnia trzewnego;

- przedoperacyjna, selektywna katetyzacja żyły trzustkowej w znieczuleniu ogólnym w celu lokalizacji miejsc hipersekrecji insuliny (22). Pięć dni przed badaniem zostaje przerwane stosowanie leków, natomiast podawana jest we wlewach ciągłych dożylnie glukoza w celu utrzymania stężenia glukozy w osoczu pomiędzy 36-54 mg/dl, to jest 2-3 mM. W tym badaniu pobierana jest krew żylna z poszczególnych regionów trzustki (głowy, cieśni, trzonu, ogona) w celu oznaczenia stężenia w osoczu glukozy, insuliny, peptydu C. W postaci ogniskowej CHI obserwuje się zwiększone stężenie insuliny i peptydu C w jednej lub kilku próbkach, ale nie we wszystkich, tak jak w postaci dyfuzyjnej;

- śródoperacyjne badania histopatologiczne skrawków trzustki z różnych jej regionów pobranych podczas pankreatektomii (22). Porównanie zmian histopatologicznych w postaci ogniskowej i dyfuzyjnej przedstawiono wyżej;

- badania immunohistochemiczne pozwalające na wykrycie braku zawartości p57^{KIP2} (inhibitora cdk, czyli kinazy zależnej od cyklin) w jądrach komórek beta pochodzących ze zmian ogniskowych (6, 26). p57^{KIP2} wiąże się z kompleksami cyklina/cdk, hamując ich aktywność i zatrzymując cykl komórkowy w fazie G1. Białko to jest obecne w prawidłowej trzustce, insulinoma i w trzustce chorych z dyfuzyjną odmianą CHI;

- badania zawartości IGF-II (26). W komórkach pochodzących ze zmian ogniskowych jest ona zwiększona w porównaniu z prawidłowymi komórkami otaczającymi te zmiany;

- badania genetyczne, umożliwiające wykrycie delekcji matczynej fragmentu chromosomu 11p15 w postaci ogniskowej CHI oraz związanej z nią utraty heterozygotyczności i redukcji homozygotyczności zmutowanego genu SUR1 lub Kir6.2 pochodzącego od ojca (6, 12, 14, 24, 26).

Różnicowanie postaci ogniskowej i dyfuzyjnej CHI umożliwia określenie rozległości pankreatektomii, wykonywanej u chorych z ciężkim przebiegiem choroby, u których leczenie zachowawcze nie jest skuteczne (68).

Leczenie wrodzonego hiperinsulinizmu

Jednym z przejawów heterogenności wrodzonego hiperinsulinizmu jest różna odpowiedź chorych z CHI na leczenie dietetyczne, farmakologiczne i chirurgiczne (4, 7, 10, 20). W leczeniu zachowawczym CHI są stosowane:

- Wlewy dożylnie zawierające powyżej 10 mg glukozy/kg masy ciała/min., czasem 15-20 mg/kg masy ciała/min. w celu zapobieżenia uszkodzeniu mózgu (9, 11, 22). Zalecane jest utrzymanie stężenia glukozy powyżej 3,3 mM, czyli 59 mg/dl (10);

- Diazoksyd w ilości 5-20 mg/kg masy ciała/dobę doustnie w 2-3 podzielonych dawkach (4, 22). Inni autorzy stosowali Diazoksyd w ilości 2x8 mg/dzień w pierwszych tygodniach życia (47). Dawkę leku stopniowo zwiększano i w 6 roku życia podawano go 4x50 mg na dobę.

Diazoksyd jest standardowym preparatem stosowanym

w leczeniu hipoglikemii, hamującym sekrecję insuliny poprzez otwieranie kanałów K_{ATP} w komórkach beta trzustki i dlatego jest on często nieskuteczny u chorych z CHI z mutacjami powodującymi niesprawność tych kanałów (22). Według Aynsley-Green, Diazoksyd działa również hiperglikemizująco poprzez zwiększenie sekrecji adrenaliny oraz zwiększa glukoneogenezę (4). Jednym z objawów ubocznych podczas leczenia hipoglikemii Diazoksydem jest obniżenie ciśnienia tętniczego. Preparat ten otwiera bowiem również kanały K_{ATP} (Kir6.2/SUR2B) w naczyniowych miocytach i jest stosowany jako lek hipotensyjny. Inne efekty uboczne obserwowane u chorych leczonych Diazoksydem to: łamliwość włosów, hiperurykemia, rzadko leuko- i trombocytopenia (4, 14). Ze względu na retencję płynów w wyniku terapii Diazoksydem, zalecane jest jego stosowanie z Chlorotiazidem w ilości 7-10 mg/kg masy ciała/dobę w dwóch podzielonych dawkach (4).

- Diazoksyd razem z innymi lekami hiperglikemizującymi, takimi jak: analogi somatostatyny (np.: Oktreotyd), antagoniści kanału wapniowego (np.: Nifedypina), glukagon, glikokortykosteroidy (10).

Somatostatyna i jej analogi, działając aktywująco na kanały K_{ATP} w komórkach beta trzustki, hamują uwalnianie insuliny (29). Oktreotyd to długo działający analog somatostatyny (14). Kuracja dziecka z CHI Oktreotydem podawanym podskórnym w dawce 3-3,5 mikrogramów/kg masy ciała/dobę od 20 dnia życia powodowała redukcję stężenia insuliny, proinsuliny, peptydu C w osoczu i normalizację glikemii (66). Oktreotyd jest najczęściej stosowany dożylnie lub podskórnym w dawkach 5-20 mikrogramów/kg/dobę (4). Oktreotyd podawany razem z glukagonem (1 mikrogram/kg masy ciała/godzinę) jest stosowany w dawce 10 mikrogramów/kg masy ciała/dobę. U dziecka z CHI leczonego Oktreotydem opisano rozwój żółtaczki mechanicznej spowodowanej kamicią dróg żółciowych (69). Długoterminowe, intensywne leczenie chorych z CHI somatostatyną, która jest znanym czynnikiem apoptogennym, może powodować remisję objawów, co może być wynikiem destrukcji komórek beta (70). Według niektórych autorów somatostatyna i jej analogi nadają się jedynie do krótkoterminowej regulacji glikemii w leczeniu CHI, ponieważ przy długotrwałej terapii tymi preparatami następuje regulacja typu down receptora somatostatyny (14).

Spośród antagonistów kanału wapniowego, najczęściej w leczeniu CHI są stosowane długo uwalniane preparaty Nifedypiny (4). Zalecane jest jej stosowanie w ilości 0,25-2,5 mg/kg masy ciała/dobę w trzech dawkach.

Glukagon jest stosowany w ilości 1-10 mikrogramów/kg/godzinę we wlewie dożylnym (maksymalnie do 1 mg) lub 1 mg domięśniowo albo dożylnie (4). Glukagon musi być stosowany ostrożnie u chorych z CHI, ponieważ, po przejściowym zwiększeniu stężenia glukozy we krwi, może nasilić hipoglikemię na skutek stymulacji sekrecji insuliny. Do redukcji hiperinsulinizmu mogą być stosowane także antagoniści GLP-1 (ang. glucagon-like protein) (14).

Stosowanie glikokortykosteroidów u dzieci z CHI jest kontrowersyjne (4). Wykazano bowiem brak hiperglikemizującego działania kortyzolu u chorych z hiperinsulinemiczną hipoglikemią. Czasem u dzieci z CHI jest stosowany hydrokortyzon, zwłaszcza w czasie leczenia chirurgicznego lub u pacjentów leczonych somatostatyną, która może zmniejszać stężenie hormonów, między innymi kortyzolu.

CHI jest często oporny na leczenie zachowawcze i w postaciach o ostrym przebiegu jest często konieczna interwencja chirurgiczna (12, 22, 24). Wykonywana jest częściowa pankreatektomia, gdy są zmiany ogniskowe, lub znaczna pankreatektomia, dotycząca 95%, a nawet większej ilości trzustki, w zmianach dyfuzyjnych (7, 22, 29). Skuteczność zabiegu ocenia się poprzez oznaczanie stężenia glukozy w osoczu, hemoglobiny glikowanej we krwi i doustny test obciążenia

glukozą. U niektórych chorych pomimo subtotalnej pankreatektomii utrzymuje się hipoglikemia, która może być przyczyną podjęcia decyzji o przeprowadzeniu całkowitej resekcji trzustki (4). Hipoglikemia może się pojawić dopiero po kilku tygodniach lub miesiącach po subtotalnej pankreatektomii, na skutek regeneracji pozostawionej resztki narządu.

Nie wymaga korekcji stężenie amoniaku we krwi u chorych z zespołem HI/HA (47). Preparaty obniżające stężenie amoniaku we krwi, stosowane w różnych hiperamonemiach, takie jak: benzoesan sodu, arginina, cytrulina, neomycyna są nieskuteczne u chorych z CHI, podobnie jak ograniczenie podaży białka w diecie. Zastosowanie karbamoiloglutaminianu (w dawce 4x500 mg/dzień) powodowało niewielkie obniżenie stężenia amoniaku we krwi, co nie miało wpływu na przebieg choroby.

W przyszłości w leczeniu CHI będzie prawdopodobnie stosowana terapia genowa (29). Uzyskano linię komórkową NES2Y, pochodzącą z komórek beta trzustki od chorego z CHI (71). Komórki te proliferują, wydzielają konstytutywnie dużo insuliny, mają nieczynne kanały K_{ATP} oraz nie posiadają czynnika transkrypcyjnego PDX1, który reguluje ekspresję, między innymi, genu insuliny. Po dokonaniu potrójnej transfekcji, to jest wprowadzeniu cDNA, kodującego SUR1, Kir6.2 i PDX1, uzyskano komórki zawierające prawidłowe kanały K_{ATP} i prawidłowo wydzielające insulinę (linia komórkowa NISK9). Być może tak zmodyfikowane na drodze inżynierii genetycznej komórki chorych z wrodzonym hiperinsulinizmem będą w przyszłości stosowane do autotransplantacji u chorych z ciężkimi postaciami CHI.

Obiecujące na przyszłość są wyniki próbnego zastosowania rekombinowanego, ludzkiego insulinopodobnego czynnika wzrostu (rhIGF-1) w dawce 40 mikrogramów/kg masy ciała co 12 godzin (72). Insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF-I) zmniejsza sekrecję insuliny *in vitro* oraz u zdrowych ludzi dorosłych *in vivo*. Wykazano, że rhIGF-1 hamuje również zwiększoną sekrecję insuliny u chorych z wrodzonym hiperinsulinizmem spowodowanym defektem SUR-1. Być może rhIGF-1 będzie w przyszłości szansą dla tych chorych i uchroni ich przed leczeniem chirurgicznym.

Rokowanie u chorych z wrodzonym hiperinsulinizmem

Przebieg CHI jest łagodniejszy u niemowląt niż u noworodków, które gorzej tolerują hipoglikemię (20). CHI predysponuje do nietolerancji glukozy i cukrzycy z niedoboru insuliny, która może być następstwem apoptozy komórek beta trzustki, na skutek stałego wzrostu stężenia w nich wapnia (19). Terapia Diazoksydem opóźnia apoptozę i progresję cukrzycy u chorych z CHI, poprzez hiperpolaryzację komórek beta i ograniczenie wejścia wapnia do komórek beta. Znana jest mutacja genu SUR1, powodująca CHI we wczesnym dzieciństwie, dziedziczona dominująco, która predysponuje do rozwoju cukrzycy, w tym również cukrzycy u kobiet w ciąży (42, 73). Ta substytucyjna mutacja w genie SUR1 (E1506K) jest odpowiedzialna za nowy podtyp cukrzycy dziedziczonej autosomalnie, dominująco (73). Również u chorych z CHI po rozległej pankreatektomii, oprócz niewydolności egzokrynnej trzustki, występuje znaczne ryzyko rozwoju nietolerancji glukozy i cukrzycy (17, 24, 29). Rokowanie jest lepsze po pankreatektomii u chorych z ogniskową postacią CHI (całkowita poprawa u 82% dzieci) w porównaniu z postacią dyfuzyjną (całkowita poprawa u 33% dzieci) (7). Spośród 30 dzieci ze zmianami dyfuzyjnymi w trzustce po prawie całkowitej pankreatektomii - 13 miało hipoglikemię, 8 - cukrzycę typu 1, 7 - hiperglikemię i tylko 2 dzieci miało prawidłowe stężenie glukozy w osoczu w pierwszym roku po zabiegu. U 19 spośród 22 dzieci ze zmianami ogniskowymi poddanych częściowej pankreatek-

tomii wszystkie parametry gospodarki węglowodanowej były prawidłowe w pierwszym roku po zabiegu (20).

Wczesne rozpoznanie przyczyny hipoglikemii, określenie histologicznej zmiany w trzustce (dyfuzyjnej lub ogniskowej) i niedopuszczenie do hipoglikemicznego uszkodzenia układu nerwowego są bardzo ważne dla chorych z CHI (74). U 25-50% chorych z CHI rozwój jest opóźniony (14). Mimo postępu jaki nastąpił w ciągu ostatnich lat w pracach nad ustaleniem patogenezą tej choroby, badania genetyczne pozwalają ustalić jej przyczynę jedynie u około połowy chorych z CHI (66, 10).

Badania hiperinsulinizmu są od 1997 roku koordynowana przez ENRHI (European Network for Research into Hyperinsulinism) w ramach fundacji Unii Europejskiej (14). Badania dzieci z CHI mają wielką wartość poznawczą, albowiem pozwalają na lepsze zrozumienie biochemii i fizjologii komórek beta trzustki, zwłaszcza zaś mechanizmów regulacji sekrecji insuliny. Być może doświadczenia w obniżaniu stężenia insuliny u chorych z wrodzonym hiperinsulinizmem znajdują zastosowanie w leczeniu chorych na cukrzycę typu 2 z hiperinsulinemią i insulinoopornością.

PIŚMIENNICTWO:

1. de Lonlay P., Touati G., Robert J., Saudubray J. Persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia. *Semin. Neonatol.* 2002, 7 (1), 95-100.
2. Meissner T., Mayatepek E. Clinical and genetic heterogeneity in congenital hyperinsulinism. *Eur. J. Pediatr.* 2002, 161 (1), 6-20.
3. Fournet J., Junien C. The genetics of neonatal hyperinsulinism. *Horm. Res.* 2003, 59 (suppl. 1), 30-34.
4. Aynsley-Green A., Hussain K., Hall J., Saudubray J., Nihoul-Fekete C., De Lonlay-Debeney P., Brunelle F., Otonkoski T., Thornton P., Lindley K. Practice management of hyperinsulinism in infancy. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal* 2000, 82 (2), F98-F107.
5. Meissner T., Wendel U., Burgard P., Schaetzle S., Mayatepek E. Long-term follow-up of 114 patients with congenital hyperinsulinism. *Eur. J. Endocrinol.* 2003, 149 (1) 43-51.
6. Hussain K., Cosgrove K., Shepherd R., Chapman J., Swift S., Smith V., Kassem S., Glaser B., Lindley K., Aynsley-Green A., Dunne M. Uncontrolled insulin secretion from a childhood pancreatic b-cell adenoma is not due to the functional loss of ATP-sensitive potassium channels. *Endocr. Relat. Cancer* 2002, 9 (4), 221-226.
7. Lovvorn H., Nance M., Ferry R., Stolte L., Baker L., O'Neill J., Schnaufer L., Stanley C., Adzick N. Congenital hyperinsulinism and the surgeon: lessons learned over 35 years. *J. Pediatr. Surg.* 1999, 34 (5), 786-793.
8. Meissner T., Beinhreich B., Mayatepek E. Congenital hyperinsulinism: molecular basis of a heterogeneous disease. *Hum. Mutat.* 1999, 13 (5), 351-361.
9. Stanley Ch., Lieu Y., Hsu B., Burlina A., Greenberg Ch., Hopwood N., Perlman K., Rich B., Zammarchi E., Poncz M. Hyperinsulinism and hyperammonemia in infants with regulator mutations of the glutamate dehydrogenase gene. *N. Engl. J. Med.* 1998, 338 (19), 1352-1357.
10. Glaser B. Hyperinsulinism of the newborn. *Semin. Perinatol.* 2000, 24 (2), 150-163.
11. Yoshikawa H., Honma T., Abe T. Persistent hyperinsulinemic hypoglycaemia followed as benign infantile convulsion. *Seizure* 2003, 12 (3), 186-187.
12. Sharma N., Crane A., Gonzalez G., Bryan J., Aguilar-Bryan L. Familial hyperinsulinism and pancreatic beta-cell ATP-sensitive potassium channels. *Kidney Int.* 2000, 57 (3), 803-808.
13. Aguilar-Bryan L., Bryan J. Molecular biology of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Endocr. Rev.* 1999, 20 (2), 101-135.
14. Stanley Ch. Advances in diagnosis and treatment of hyperinsulinism in infants and children. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002, 87 (11), 4857-4859.
15. Rahier J., Guiot Y., Sempoux C. Persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy: a heterogeneous syndrome unrelated to nesidioblastosis. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal* 2000, 82 (2), F108-F112.
16. Christesen H., Brusgaard K., Jacobsen B. Congenital hyperinsulinism. *Ugeskr. Laeger.* 2001, 163 (17), 2354-2358.
17. Sovik O., Njolstad P. R., Reigstad H., Brackman D., Teslo I., Brunvand L. Diagnosis and treatment of congenital hyperinsulinism - to Paris at any price? *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* 2001, 121 (5), 612-614.
18. Pomberger G., Hallwirth U., Kirchner L., Horcher E. Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia (PHHI)-surgical management of neonatal hypoglycemia. *Wien. Klin. Wochenschr.* 2000, 112 (23), 1016-1019.
19. Huopio H., Jaaskelainen J., Komulainen J., Miettinen R., Karkkainen P., Laakso M., Tapanainen P., Voutilainen R., Otonkoski T. Acute insulin response tests for the differential diagnosis of congenital hyperinsulinism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002, 87 (10), 4502-4507.
20. de Lonlay-Debeney P., Fournet J., Touati G., Groos M., Martin D., Sevin C., Delagne V., Mayaud C., Chigot V., Sempoux C., Brusset M., Laborde K., Bellane-Chantelot C., Vassault A., Rahier J., Junien C., Brunelle F., Nihoul-Fekete C., Saudubray J., Robert J. Heterogeneity of persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia. A series of 175 cases. *Eur. J. Pediatr.* 2002, 161 (1), 37-48.
21. Aguilar-Bryan L., Bryan J. Molecular biology of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels. *Endocr. Rev.* 1999, 20 (2), 101-135.
22. de Lonlay-Debeney P., Poggi-Travert F., Fournet J., Sempoux C., Vici C., Brunelle F., Touati G., Rahier J., Junien C., Nihoul-Fekete C., Robert J., Saudubray J. Clinical features of 52 neonates with hyperinsulinism. *N. Engl. J. Med.* 1999, 340 (15), 1169-1175.
23. Glaser B., Thornton P., Otonkoski T., Junien C. Genetics of neonatal hyperinsulinism. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal.* 2000, 82 (2), F79-86.
24. Grimberg A., Ferry R., Kelly A., Koo-McCoy S., Polonsky K., Glaser B., Permutt M., Aguilar-Bryan L., Stafford D., Thornton P., Baker L., Stanley C. Dysregulation of insulin secretion in children with congenital hyperinsulinism due to sulfonylurea receptor mutations. *Diabetes* 2001, 50 (2), 322-328.
25. Stanley Ch., Baker L. The causes of neonatal hypoglycemia. *N. Engl. J. Med.* 1999, 340 (15), 1200-1201.
26. Kassem S., Ariel I., Thonon P., Hussain K., Smith V., Lindley K., Aynsley-Green A., Glaser B. p57^{KIP2} expression in normal islet cells and in hyperinsulinism of infancy. *Diabetes* 2001, 50 (12), 2763-2769.
27. Munns C., Batch J. Hyperinsulinism and Beckwith-Wiedemann syndrome. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal* 2001, 84 (1), F67-F69.
28. Ashcroft S. The beta-cell K(ATP) channel. *J. Membr. Biol.* 2000, 176 (3), 187-206.
29. Shepherd R., Cosgrove K., O'Brien R., Barnes P., Ammala C., Dunne M. Hyperinsulinism of infancy: towards an understanding of unregulated insulin release. *Arch. Dis. Child.* 2000, 82 (1), F87-F97.
30. Reimann F., Tucker S., Proks P., Ashcroft F. Involvement of the n-terminus of Kir6.2 in coupling to the sulphonylurea receptor. *J. Physiol.* 1999, 518 (Pt2), 325-336.
31. Gribble F., Davis T., Higham C., Clark A., Ashcroft F. The antimalarial agent mefloquine inhibits ATP-sensitive K-channels. *Br. J. Pharmacol.* 2000, 13 (4), 756-760.
32. Smith P., Proks P. Inhibition of the ATP-sensitive potassium channel from mouse pancreatic beta-cells by surfactants. *Br. J. Pharmacol.* 1998, 124 (3), 529-539.

33. D'hahan N., Moreau C., Prost A., Jacquet H., Alekseev A., Terzic A., Vivaudou M. Pharmacological plasticity of cardiac ATP-sensitive potassium channels toward diazoxide revealed by ADP. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1999, 96 (21), 12162-12167.
34. Gribble F., Proks P., Corkey B., Ashcroft F. Mechanism of cloned ATP-sensitive potassium channel activation by oleoyl-CoA. *J. Biol. Chem.* 1998, 273 (41), 26383-26387.
35. Aguilar-Bryan L., Clement J., Gonzalez G., Kunjilwar K., Babenko A., Bryan J. Toward understanding the assembly and structure of KATP channels. *Physiol. Rev.* 1998, 78 (1), 227-245.
36. Heron L., Virsolvy A., Peyrollier K., Gribble F., Le Ca A., Ashcroft F., Bataille D. Human α -endosulfine, a possible regulator of sulfonylurea-sensitive K_{ATP} channel: Molecular cloning, expression and biological properties. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1998, 95 (14), 8387-8391.
37. Moritz W., Leech C., Ferrer J., Habener J. Regulated expression of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel subunits in pancreatic beta-cells. *Endocrinology* 2001, 142 (1), 129-138.
38. Nichols C., Koster J. Diabetes and insulin secretion: whither KATP? *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2002, 283 (3), E403-412.
39. Mikhailov M. V., Mikhailova E. A., Ashcroft S. J. Investigation of the molecular assembly of beta-cell K(ATP) channels. *FEBS Lett.* 2000, 482 (1-2), 59-64.
40. Fournet J., Mayaud C., de Lonlay P., Gross-Morand M., Verkarre V., Castanet M., Devillers M., Rahier J., Brunelle F., Robert J., Nihoul-Fekete C., Saudubray J., 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.
41. Dekel B., Lubin D., Modan-Moses D., Quint J., Glaser B., Meyerovitch J. Compound heterozygosity for the common sulfonylurea receptor mutations can cause mild diazoxide-sensitive hyperinsulinism. *Clin. Pediatr. Phila* 2002, 41 (3), 183-186.
42. Huopio H., Reimann F., Ashfield R., Komulainen J., Lenko H., 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.
43. Plaitakis A., Zaganas J. Regulation of human glutamate dehydrogenases: implications for glutamate, ammonia and energy metabolism in brain. *J. Neurosci. Res.* 2001, 66 (5), 899-908.
44. Tanizawa Y., Kazuaki N., Sasaki T., Anno T., Ohta Y., Inoue H., Matsuo K., Koga M., Furukawa S., Oka Y. Unregulated elevation of glutamate dehydrogenase activity induces glutamine-stimulated insulin secretion. *Diabetes* 2002, 51 (3), 712-717.
45. Michaelidis T., Tzimogiorgis G., Moschonas N., Papatheakis J. The human glutamate dehydrogenase gene family: gene organization and structural characterization. *Genomics* 1993, 16 (1), 150-160.
46. MacMullen C., Fang J., Hsu B. Y., Kelly A., de Lonlay-Debeney P., Saudubray J. M., Ganguly A., Smith T. J., Stanley C. A. Hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome in children with regulatory mutations in the inhibitory guanosine triphosphate-binding domain of glutamate dehydrogenase. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001, 86 (4), 1782-1787.
47. Huijmans J., Duran M., deKlerk J., Rovers M., Scholte H. Functional hyperactivity of hepatic glutamate dehydrogenase as a cause of the hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome: effect of treatment. *Pediatrics* 2000, 106 (3), 596-600.
48. Yasuda K., Koda N., Kadowaki H., Ogawa Y., Kimura S., Kadowaki T., Akanuma Y. A. Japanese case of congenital hyperinsulinism with hyperammonemia due to a mutation in glutamate dehydrogenase (GLUD1) gene. *Intern. Med.* 2001, 40 (1), 32-37.
49. Miki Y., Taki T., Ohura T., Kato H., Yanagisawa M., Hayashi Y. Novel missense mutations in the glutamate dehydrogenase gene in the congenital hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome. *J. Pediatr.* 2000, 136 (1), 69-72.
50. Yorifuji T., Muroi J., Uematsu A., Hiramatsu H., Momoi T. Hyperinsulinism-hyperammonemia syndrome caused by mutant glutamate dehydrogenase accompanied by novel enzyme kinetics. *Hum. Genet.* 1999, 104 (6), 476-479.
51. Santer R., Kinner M., Passarge M., Superti-Furga A., Mayatepek E., Meissner T., Schneppenheimer 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.
52. Fujioka H., Okano Y., Inada H., Asada M., Kawamura T., Hase Y., Yamano T. Molecular characterisation of glutamate dehydrogenase gene defects in Japanese patients with congenital hyperinsulinism/hyperammonemia. *Eur. J. Hum. Genet.* 2001, 9 (12), 931-937.
53. Maechler P., Wollheim C. Mitochondrial glutamate acts as a messenger in glucose-induced insulin exocytosis. *Nature* 1999, 402 (6762), 685-689.
54. MacDonald M., Fahien L. Glutamate is not a messenger in insulin secretion. *J. Biol. Chem.* 2000, 275 (44), 34025-34027.
55. Gao Z., Li G., Najafi H., Wolf B., Matchinsky F. Glucose regulation of glutaminolysis and its role in insulin secretion. *Diabetes* 1999, 48 (8), 1535-1542.
56. Clayton P., Eaton S., Aynsley-Green A., Edginton M., Hussain K., Krywawych S., Datta V., Malingre H., Berger R., van den Berg I. Hyperinsulinism in short-chain 1-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency reveals the importance of β -oxidation in insulin secretion. *J. Clin. Invest.* 2002, 108 (3), 457-465.
57. Otonkoski T., Kaminen N., Ustinov J., Lapatto R., Meissner T., Mayatepek E., Kere J., Sipila T. Physical exercise-induced hyperinsulinemic hypoglycemia is an autosomal-dominant trait characterized by abnormal pyruvate-induced insulin release. *Diabetes* 2003, 52 (1), 199-204.
58. Aynsley-Green A., Weindling A., Soltész G., Jenkins P. Transient lactic acidosis and hyperalaninaemia associated with neonatal hyperinsulinaemic hypoglycaemia: the effect of dichloroacetate (DCA). *Eur. J. Pediatr.* 1983, 141 (2), 114-117.
59. Meissner T., Rabl W., Mohnike K., Scholl S., Santer R., Mayatepek E. Hyperinsulinism in syndromal disorders. *Acta Paediatr.* 2001, 90 (8), 856-859.
60. Munns C., Batch J. Hyperinsulinism and Beckwith-Wiedemann syndrome. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal* 2001, 84 (1), F67-F69.
61. McCowan I., Becroft D. Beckwith-Wiedemann syndrome, placental abnormalities, and gestational proteinuric hypertension. *Obstet. Gynecol.* 1994, 83 (5 Pt2), 813-817.
62. Bitner-Glindzicz M., Lindley K., Rutland P., Blaydon D., Smith V., Milla P., Hussain K., Furth-Lavi J., Cosgrove K., Shepherd R., Barnes P., O'Brien R., Farndon P., Sowden J., Liu K., Scanlan M., Malcolm S., Dunne M., Aynsley-Green A., Glasser B. A recessive contiguous gene deletion causing infantile hyperinsulinism, enteropathy and deafness identifies the Usher type 1C gene. *Nat. Genet.* 2000, 26 (1), 56-60.
63. Ayyagari R., Nestorowicz A., Li Y., Chandrasekharappa S., Chinault C., vanTuinen P., Smith R., Heitmanck J., Permutt M. Construction of a YAC contig encompassing the Usher syndrome type 1C and familial hyperinsulinism loci on chromosome 11p14-15.1. *Genome Res.* 1996, 6 (6), 504-514.
64. Wyatt D. Transient hypoglycemia with hyperinsulinemia in a newborn infant with Rubinstein-Taybi syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 1990, 37 (1), 103-105.
65. Bellaton E., Aizenfisz S., Saizou C., Baumann C., Beauvils F., Dauger S. Trisomy 13 and neonatal hyperinsulinism. *Arch. Pediatr.* 2002, 9 (11), 1210-1211.
66. Christesen H., Feilberg-Jørgensen N., Jacobsen B. Pancreatic beta-cell stimulation tests in transient and persistent congenital hyperinsulinism. *Acta Paediatr.* 2001, 90 (10), 1116-1120.
67. Kitaura J., Miki Y., Kato H., Sakakihara Y., Yanagisawa M. Hyperinsulinaemic hypoglycaemia associated with persistent hyperammonemia. *Eur. J. Pediatr.* 1999, 158 (5), 410-413.
68. Hussain K., Aynsley-Green A. Hyperinsulinism in infancy: understanding the pathophysiology. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 2003, 35 (9) 1312-1317.

69. Radetti G., Gentili L., Paganini C., Messner H. Cholelithiasis in a newborn following treatment with the somatostatin analogue octreotide. *Eur. J. Pediatr.* 2000, 159 (7), 550.
70. Patel Y. Molecular pharmacology of somatostatin receptor subtypes. *J. Endocrinol. Invest.* 1997, 20 (6), 348-367.
71. Macfarlane W., O'Brien R., Barnes P., Shepherd R., Cosgrove K., Lindley K., Aynsley-Green A., James R., Docherty K., Dunne M. Sulfonylurea receptor 1 and Kir6.2 expression in the novel human insulin-secreting cell line NES2Y. *Diabetes* 2000, 49 (6), 953-960.
72. Katz L, Ferry R, Stanley C., Collett-Solberg P., Baker L., Cohen P. Suppression of insulin oversecretion by subcutaneous recombinant human insulin-like growth factor I in children with congenital hyperinsulinism due to defective beta-cell sulfonylurea receptor. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999, 84 (9), 3117-3124.
73. Huopio H., Otonkoski T., Vauhkonen I., Reimann F., Ashcroft F., Laakso M. A new subtype of autosomal dominant diabetes attributable to a mutation in the gene for sulfonylurea receptor 1. *Lancet* 2003, 361, 301-307.
74. Pezzati M., Barni S., Chiti G., Danesi G., Rubaltelli F. Prolonged hyperinsulinemic hypoglycemia in a small for date preterm. *Minerva Pediatr.* 2003, 55, 79-82.

Adres do korespondencji:

Dr med. Ewa Kopieczna-Grzebieniak
Katedra i Zakład Biochemii Śląskiej Akademii Medycznej
ul. Medyków 18
40-752 Katowice
tel./ fax: 2 525 -088
e-mail: grzebieniak@poczta.wp.pl

