



# Noninsulinoma pancreatogenous hypoglycaemia in adults — a spotlight on its genetics

Nieinsulinowa hipoglikemia trzustkowa u dorosłych — przegląd genetyki

Aleksandra Gilis-Januszewska<sup>1</sup>, Jakub Piątkowski<sup>1</sup>, Anna Skalniak<sup>1</sup>, Beata Piwońska-Solska<sup>1</sup>, Joanna Nazim<sup>2</sup>, Dorota Pach<sup>1</sup>, Elwira Przybylik-Mazurek<sup>1</sup>, Anna Sowa-Staszczak<sup>1</sup>, Jerzy Starzyk<sup>2</sup>, Alicja Hubalewska-Dydejczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Chair and Department of Endocrinology, Jagiellonian University, Medical College, Krakow, Poland

<sup>2</sup>Department of Paediatric and Adolescent Endocrinology, Chair of Paediatrics, Jagiellonian University, Medical College, Polish-American Children's Hospital, Krakow, Poland

## Abstract

Hyperinsulinaemic hypoglycaemia (HH) is also classically referred to as “nesidioblastosis”. Heterogeneous clinical manifestation of the disease causes risk of late diagnosis or even misdiagnosis. In infants and children, it can lead to serious and permanent damage to the central nervous system, which leads to the manifesting mental retardation. HH is characterised by unregulated insulin secretion from pancreatic  $\beta$ -cells. This effect has been correlated with nine genes: *ABCC8*, *KCNJ11*, *GCK*, *GLUD-1*, *HADH1*, *SLC16A1*, *HNF4A*, *HNF1A*, and *UCP2*. Mutations in these genes were found in approximately 48% of cases. The genetic background of the remaining cases is unknown. Understanding the genetic basis of familial hyperinsulinism has changed the early look at the disease. It has allowed for the differentiation of specific types of the disease. Depending on which of the nine disease-associated loci bears a pathogenic mutation, they differ in phenotype and pattern of inheritance. This review provides a brief overview of the genetic mechanisms of HH and its possible clinical presentations. (*Endokrynol Pol* 2015; 66 (4): 344–354)

**Key words:** nesidioblastosis; hyperinsulinaemic hypoglycaemia; genetics; familial hyperinsulinism

## Streszczenie

Hipoglicemia hiperinsulinemiczna (HH) określana jest również terminem „nesidioblastoza”. Różnorodna kliniczna manifestacja choroby powoduje ryzyko późnej diagnozy, a nawet braku rozpoznania. U niemowląt i dzieci nesidioblastoza prowadzić może do ciężkich i trwałych uszkodzeń centralnego systemu nerwowego, manifestujących się w postaci niedorozwoju umysłowego. Hipoglicemia hiperinsulinemiczna charakteryzuje się nieregulowanym wydzielaniem insuliny przez komórki  $\beta$  trzustki. Efekt ten powiązany został z dziewięcioma genami: *ABCC8*, *KCNJ11*, *GCK*, *GLUD-1*, *HADH1*, *SLC16A1*, *HNF4A*, *HNF1A* i *UCP2*. Mutacje występujące w wymienionych genach znajdują się u 48% chorych. Genetyczne podłoże pozostałych przypadków pozostaje nieznane. Zrozumienie genetycznej przyczyny rodzinnej postaci hiperinsulinizmu zmieniło sposób, w jaki postrzegano chorobę. Pozwoliło na wyróżnienie poszczególnych jej typów. W zależności od tego, w którym z dziewięciu zasocjowanych z chorobą loci występuje patogenna mutacja, typy różnią się fenotypem i sposobem dziedziczenia. Praca stanowi krótki przegląd genetycznych patomechanizmów choroby obserwowanych w HH oraz ich możliwych prezentacji klinicznych. (*Endokrynol Pol* 2015; 66 (4): 344–354)

**Słowa kluczowe:** nesidioblastoza; hipoglikemia hiperinsulinemiczna; genetyka; rodzinny hiperinsulinizm

## Introduction

Hyperinsulinaemic hypoglycaemia has classically been referred to as “nesidioblastosis” in children only, but in later reports also cases in adults have been described, with nesidioblastosis being a more general term, designating morphologic changes in the pancreas, which lead to hyperinsulinaemia, without the presence of an insulinoma [1].

Neonatal and children's hypoglycaemia, if diagnosed late, can lead to serious and permanent damage to the central nervous system (CNS), which leads to manifesting mental retardation [2]. There are many possible

reasons of hypoglycaemia, including temporary causes related to the neonatal period, such as the temporary delay in the adaptation to starvation, as well as permanent causes as a result of metabolic or endocrine disorders caused by a disease. In both cases, the most common cause of hypoglycaemia is hyperinsulinism. Familial hyperinsulinism (FHI) occurs at a rate estimated at 1:50 000 [3] in the European population. In most patients symptoms of hypoglycaemia appear shortly after birth, although in some cases the first episodes are observed in late infancy or early childhood. In contrast to the typical symptoms of hypoglycaemia observed after a period without food (fasting), in people with



Aleksandra Gilis-Januszewska M.D., Chair and Department of Endocrinology Jagiellonian University, Medical College Kopernika St. 17, 31-501 Krakow, e-mail: myjanusz@cyfronet.pl

familial hyperinsulinism symptoms can also occur after a meal or exercise. The severity can vary significantly between patients, even between members of the same family [4].

Very often the disease is diagnosed late; unconsciousness and vegetative symptoms that repeat over a couple of years are diagnosed as epilepsy, and patients are treated with anticonvulsants. The consequences of an incorrect diagnosis and lack of proper causality management are irreversible changes in the central nervous system (CNS). The confirmation of hypoglycaemia (blood glucose less than 45 mg/dL) with concomitant hyperinsulinism (insulin level above 6  $\mu$ U/mL) allows the diagnosis of endogenous hyperinsulinaemia. However, based on blood glucose and insulin levels, an unambiguous statement is not possible; it does not, for example, distinguish between an insulin-producing pancreatic insulinoma and diffuse  $\beta$  cell proliferation. Widely available visualisation methods like ultrasound (including endoscopic — EUS), computed tomography, arteriography, and magnetic resonance do not allow clarification of the diagnosis. They are useful only in some cases of hyperinsulinaemic hypoglycaemia, as they allow for the detection of insulin-producing tumours. In other cases, for differential diagnosis and the management process, genetic studies may be useful.

Understanding the genetic basis of familial hyperinsulinism changed the early look of the disease. It allowed for the differentiation of specific types of the disease, named FHI. Depending on which of the nine disease-associated loci bears a pathogenic mutation, they differ in phenotype and pattern of inheritance.

## Mechanism of insulin secretion

The regulation of insulin secretion from pancreatic  $\beta$  cells is a complex process involving both internal and external stimuli. These include nutrients, hormones, neurotransmitters, and drugs. The main stimulus that activates insulin secretion from  $\beta$ -cells is an elevated glucose level in blood. In the normal case insulin secretion induced by glucose changes is carried out in two phases. In the first there is a “thrust” of insulin in the first few minutes after the cells become exposed to a higher concentration of glucose; in the second the secretion is slow and steady. The molecular mechanism involved in the regulation of phase secretion is essential, and it can briefly be presented as follows [5]:

1. Glucose is transported into pancreatic  $\beta$  cells by facilitated diffusion through the transport protein GLUT2.
2. Intracellular glucose is metabolised with the participation of glucokinase (GCK) to ATP.

3. The increased ATP:ADP ratio inhibits the ATP-dependent membrane potassium pump (K-ATP), which leads to depolarisation of the cell membrane.
4. The change of the membrane’s electrical potential leads to opening of calcium channels (VDCC) and the influx of calcium into the cell.
5. Elevated levels of cytosolic calcium ions trigger the exocytosis of insulin.

Insulin secretion can be effected by oxidation of glucose by glucokinase or leucine-stimulated oxidation of glutamate through glutamate dehydrogenase (Fig. 1).

Currently, there are nine known genes, the mutations of which are highly associated with familial hyperinsulinism (Table I). These are as follows:

- *ABCC8* encoding sulfonylurea receptor 1 (SUR-1);
- *KCNJ11* encoding a subunit of the pump potassium channel (Kir 6.2);
- *GCK* encoding glucokinase (GCK);
- *GLUD-1* encoding glutamate dehydrogenase (GDH);
- *HADH1* encoding 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase of short-chain fatty acids (SCHAD);
- *SLC16A1* encoding monocarboxylic acids transporter 1 (MCT1);
- *HNF4A* encoding hepatocyte nuclear factor 4 alpha;
- *HNF1A* encoding hepatocyte nuclear factor 1 alpha;
- *UCP2* encoding uncoupling protein 2.

### *ABCC8/KCNJ11*

ATP-dependent potassium pump is a heterooctamer composed of four Kir6.2 subunits building the ion channel and four regulatory SUR-1 subunits. Mutations in genes *ABCC8* or *KCNJ11* lead to loss of protein function. These are the most common cause of hyperinsulinism [6]. They constitutively close the pump, regardless of the concentration of ATP, which in turn causes a constant release of insulin.

Histologically, FHI can be divided into diffuse and focal type [7]. The first is characterised by  $\beta$ -cell malfunction throughout the pancreas, whereas in the second the occurrence of abnormal cells is limited to a small area. The difference between the forms is also evident at the genetic level. The diffuse form is most often caused by recessive mutations in *ABCC8* or *KCNJ11*, while in the focused form heterozygous germline mutations are observed, which are inherited from the father, with a simultaneous loss of the maternal chromosome 11 in the region 11p15.1 to 11p15.5 [8]. The loss of that region in pancreatic progenitor cells is compensated by the duplication of genetic material of the father (somatic paternal uniparental disomy) [9].

Treatment of the focused form is based on the localisation of the lesion by positron emission tomography with 18-fluoro-L-dihydroxyphenylalanine (18F-DOPA-PET-CT) and its surgical removal. In case of the diffused

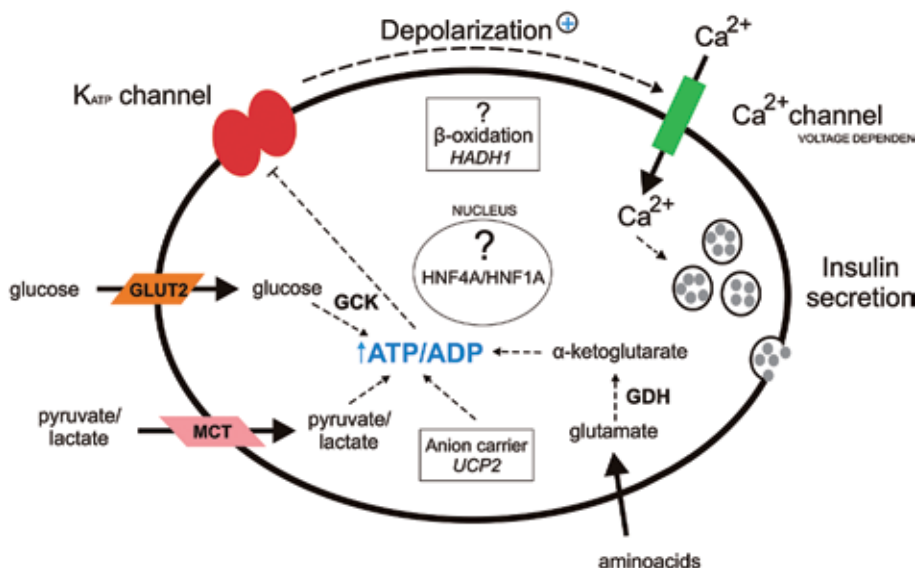


Figure 1. The mechanism of insulin secretion in pancreatic  $\beta$  cells

Table I. Summary of mutated genes involved in FHI development and responsiveness to diazoxide treatment depending on the mutated gene

Gene	<i>ABCC8</i>	<i>KCNJ11</i>	<i>GCK</i>	<i>GLUD1</i>	<i>HADH1</i>	<i>SLC16A1</i>	<i>HNF4A, HNF1A</i>	<i>UCP2</i>
Protein	<b>SUR1</b> ATP-binding cassette, subfamily C; sulfonylurea receptor	<b>Kir6.2</b> inwardly rectifying potassium channel	<b>GCK</b> glucokinase	<b>GLUD1</b> glutamate dehydrogenase	<b>SCHAD</b> 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	<b>SLC16A1/MCT1</b> Solute carrier family 16 member 1/ monocarboxylate transporter 1	<b>HNF4A, HNF1A</b> hepatocyte nuclear factors 4 $\alpha$ and 1 $\alpha$	<b>UCP2</b> mitochondrial uncoupling protein 2
Function	Subunits of the $\beta$ -cell ATP-dependent potassium channel	$\beta$ -cell glucose metabolism	$\beta$ -cell amino acid-stimulated insulin secretion	Amino acid-stimulated insulin secretion	Enzyme involved in fatty acid oxidation	Plasma membrane pyruvate transporter	Nuclear transcription factor	Mitochondrial uncoupling protein
Autosomal mutations	— recessive: • severe form of neonatal hypoglycaemia [48, 49] • diffuse FHI** [6] — dominant: • milder form [48, 49] • focal FHI — caused by a paternal mutation of one of the genes and a specific loss of maternal alleles [8]	Dominant, activating [10, 14–16]	Dominant, activating [4, 19] Relatively mild FHI, may escape recognition in infancy [20]	Recessive, loss of function [4, 25–28]	Dominant, increased expression [29]	Dominant, loss of function [35] Also associated with MODY1 (HNF4a) and MODY3 (HNF1a) [35]	Dominant, loss of function	
Characteristic	Large birth weight [4] Increased risk of diabetes in adulthood [4]	Normal birth weight [15]	Hyperammonaemia [21] Leucine-dependent protein-stimulated hypoglycaemia [4]	Elevated urinary 3-hydroxyglutaric acid excretion [4] Leucine-dependent protein-stimulated hypoglycaemia [25]	hypoglycaemia after intensive exercise [29]	Large birth weight [34] Evolution of neonatal hyperinsulinism to diabetes later in life [34, 35]		
Diazoxide treatment effective-ness	—* [4]	— or + Depending on the mutation [10, 14–16]	+ [4, 20]	+ [4, 28]	Partial response [50, 51]	+ [32, 34, 35]	+ [42]	

\*Cases with dominant KATP mutations may be responsive to diazoxide [48, 49]. \*\*Most cases. Dominant diffuse FHI is also being observed [6]

PRACE POGLADOWE

form, total pancreatectomy is the method of choice, which, however, leads to diabetes. Another possibility is pharmacological treatment. This treatment must be continued over the lifetime of the patient, is not necessarily completely effective, and may cause many side effects.

### GCK

Glucokinase catalyses the phosphorylation of glucose to glucose-6-phosphate, which is the first of a series of reactions in most glucose metabolism pathways. In pancreatic  $\beta$  cells GCK plays a unique role as a "glucose sensor". It is important in glucose-stimulated insulin secretion (GSIS), as it affects the regulation of the glucose-stimulated insulin secretion-threshold (GSIS-T) [10]. Inactivating mutations cause an increase of GSIS-T. In heterozygous mutation carriers mild fasting hyperglycaemia is observed, whereas homozygotes or mixed heterozygotes are characterised by severe diabetes. The phenotype of GCK deficiency manifests as MODY2 diabetes [11, 12], and the total loss of protein function leads to permanent neonatal diabetes mellitus (PNDM) [12, 13]. The opposite phenotypic effect occurs in activating mutation carriers. The GSIS-T value is reduced, which in turn leads to a pathological increase in blood insulin, causing hypoglycaemia, with severity depending on the type of mutation occurring in the gene [10, 14–16]. Most common changes correlated with hypoglycaemia are located within a small protein domain, bearing the binding site for its allosteric activator [12].

### GLUD-1

The second most common cause of hyperinsulinaemia is malfunction of glutamate dehydrogenase (GDH), caused by mutations in its gene, *GLUD-1*. GDH is a mitochondrial enzyme that catalyses the reaction of glutamate conversion into  $\alpha$ -ketoglutarate and ammonium ions. In pancreatic  $\beta$  cells it is involved in the regulation of insulin secretion. It is allosterically activated by binding ADP,  $\text{NAD}^+$ , and leucine, and inhibited by binding ATP, GTP, NADH, and palmitoyl-CoA [17]. Mutations preventing the inhibition of GDH by GTP attachment lead to increased stimulation of the enzyme by leucine. The ATP/ADP ratio in the cell increases, and the potassium pump is stopped. This leads to membrane depolarisation and calcium influx into the cell, and consequently to insulin secretion [18].

GDH dysfunctions are caused in 70% of cases by mutations occurring *de novo*, which are autosomally dominant [19]. They occur most frequently in the allosteric GTP binding site or within the antenna region involved in the communication with the other subunits of the enzyme – most frequently in exons 6, 7, 11, and 12 [4, 20]. Mutations lead to hyperinsulinaemia/hyperammonaemia syndrome. In carriers there is a fasting

and protein-induced hypoglycaemia, which is easily controlled by diazoxide. In addition, higher activity of liver GDH causes a 3–5-fold increase in the blood ammonia level in relation to physiological values [21].

### HADH-1

The observed phenotype of FHI can also be due to impaired fatty acid metabolism. The mitochondrial enzyme 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase (SCHAD) catalyses the dehydrogenation of 3-hydroxyacyl-CoA to 3-ketoacyl-CoA in the presence of  $\text{NAD}^+$ , the next-to-last reaction in the process of  $\beta$ -oxidation of fatty acids [22]. It plays a significant, although still unexplored, role in the regulation of insulin secretion [23, 24]. In people with lost protein function caused by autosomal recessive *HADH-1* gene mutations, there are significant abnormalities (increase) in insulin secretion [25–28]. Another interesting described effect of loss-of-function *HADH-1* mutations is severe over-reactivity to leucine [25]. This suggests that — in an as yet unexplained way - insulin secretion is reduced in leucine-stimulated pancreatic  $\beta$  cells. Reports suggest a protein-protein interaction between HADH and GDH. However, mutations in the *HADH-1* gene did not result in an increased activity of GDH or changed GTP concentration that would cause GDH inhibition ( $\text{IC}_{50}$ ) [25]. The authors suggested that the observed phenomenon may be due to SCHAD interaction through a new, as yet unrecognised, pathway in which GTP is not involved in the regulation of GDH [25].

### SLC16A1

Hyperinsulinaemia induced by physical activity is associated with autosomal dominant inherited mutations in the promoter region of the gene *SLC16A1*. Mutations cause an increase of membrane expression of the monocarboxylic acid transporter in  $\beta$  cells [29]. Under normal conditions MCT1 expression is silenced by miR29a and miR29b, and therefore remains at a very low level [30]. Its increase enables the penetration of more substrates for ATP production into the cell — pyruvate and lactate. Consequently, the ATP/ADP ratio in the cytoplasm grows, which implies a number of subsequent events that result in the release of insulin from the cell. In patients who are carriers of *SLC16A1* mutations, hypoglycaemia is directly connected to the accumulation of pyruvate and lactate in the blood, caused by intense exercise [29].

### HNF4A/HNF1A

The protein encoded by the gene *HNF4A* is a nuclear transcription factor that binds to DNA as a homodimer. It is a key protein in the transcriptional hierarchy in the  $\beta$  cell and plays role in multiple processes that are essen-

tial for  $\beta$ -cell functioning. It controls the transcription of insulin gene and other genes involved in transport and glucose metabolism [31]. Heterozygotic autosomal dominant mutations in *HNF4A* have been associated with maturity-onset diabetes of the young, type 1 (MODY1), but also with macrosomia and transient, as well as stable hyperinsulinaemic hypoglycaemia. Over 35% are *de novo* mutations [32–34].

Another gene also encoding a nuclear transcription factor the mutations of which are associated with infant hyperinsulinism is *HNF1A* [35]. This gene has previously been connected to MODY3. It encodes hepatocyte nuclear factor 1 alpha (HNF1A), an atypical homeodomain-containing protein that regulates the expression of several hepatic genes [36].

So far it has been impossible to define the mechanism of how loss-of-function mutations in both *HNF4A* and *HNF1A* lead to two completely opposing phenotypes in one patient: hypoglycaemia in early life and diabetes in later life. It has been suggested that this may be caused by a change in gene expression regulation by these factors during the patient's life [37].

### UCP2

Mitochondrial uncoupling protein 2 (UCP2) is a member of a large family of mitochondrial proteins that function as anion carriers (MACP) and separate oxidative phosphorylation from ATP synthesis. This process proceeds with energy loss, the so-called mitochondrial proton leak. In the cell MACP proteins are responsible for the transport of anions from the inner to the outer mitochondrial membrane, and protons in the opposite direction. UCP2 is therefore responsible for the controlled leak of electrons from the inner mitochondrial membrane [38], which leads to the decrease of ATP in the cell. In case of pancreatic  $\beta$  cells this additionally leads to negative GSIS regulation [39].

Mutations of the UCP2 promoter region cause a decrease in insulin secretion and have been associated with a higher risk of type 2 diabetes [40, 41]. Conversely, mutations inside the gene *UCP2L*, being loss-of-function mutations, cause an increase of ATP, which leads to excessive insulin production, and therefore hyperinsulinism [42]. Additionally, UCP2 has been shown to be important for the negative regulation of glucose sensing in neurons [43].

### Discussion

Knowledge of the genetic background of hyperinsulinaemic hypoglycaemia allows for a better understanding of the mechanism of this disease, which has a very similar clinical outcome in different patients, all resulting in hypoglycaemia. Even using advanced imaging

techniques, including methods based on PET (photo-induced electron transfer) or pathological examination [44], an early diagnosis of familial hyperinsulinaemia is difficult or even impossible.

It is the molecular level that allows for the precise understanding of the disease's background. The huge progress that has been made in recent years in the understanding of the pathogenesis of hyperinsulinaemia has allowed a closer look at the problem of infant hypoglycaemia and the differentiation of separate diseases that have previously been considered to be one, termed nesidioblastosis. Genetics also allows us to predict which patients will benefit from diazoxide treatment, and which of them will remain unresponsive to this therapy (see Table I). We cannot be certain that the results of genetic research will lead us to a conscious use of medications that have not correlated with hyperinsulinaemic hypoglycaemia so far, for example: calcium channel blockers (verapamil, amlodipine) [45, 46]. The research that has been performed so far, although being of invaluable importance, does not exhaust this topic, because the number of patients in which no mutation in any of the described genes can be found accounts for about 45% [47], which means that over half of the analysed cases remain with an unknown reason for their disease.

Molecular diagnostics are costly and time-consuming, and therefore the availability of these examinations is restricted. Molecular methods are not first-line tests in the case of FHI suspicion. However, bearing in mind their huge diagnostic value as well as the possibilities offered by next-generation sequencing devices, it seems possible that for proper planning the importance of molecular methods in nesidioblastosis diagnostics may rise in the near future.

### References

1. Anlauf M, Wieben D, Perren A et al. Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia in 15 adults with diffuse nesidioblastosis: diagnostic criteria, incidence, and characterization of beta-cell changes. *Am J Surg Pathol* 2005; 29: 524–533.
2. Roher HD, Simon D, Starke A et al. Special diagnostic and therapeutic aspects of insulinoma. *Chirurg* 1997; 68: 116–121.
3. Arnoux JB, Verkarre V, Saint-Martin C et al. Congenital hyperinsulinism: current trends in diagnosis and therapy. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6: 63. DOI: 10.1186/1750-1172-6-63.
4. Glaser B: Familial Hyperinsulinism. In GeneReviews [Internet], Seattle (WA): University of Washington, Seattle 2003.
5. Seino S., Plenary Lecture: Molecular mechanisms of insulin secretion. Program and abstracts of the 62nd Scientific Sessions of the American Diabetes Association; June 14-18, 2002; San Francisco, California [abstract]. *Diabetes* 2002; 51 (Suppl. 2).
6. Stanley CA, De Leon DD. Monogenic Hyperinsulinemic Hypoglycemia Disorders. 1st edition. Basel: Karger 2012.
7. Goossens A, Gepts W, Saudubray JM et al. Diffuse and focal nesidioblastosis. A clinicopathological study of 24 patients with persistent neonatal hyperinsulinemic hypoglycemia. *Am J Surg Pathol* 1989; 13: 766–775.
8. de Lonlay P, Fournet JC, Rahier J et al. Somatic deletion of the imprinted 11p15 region in sporadic persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy is specific of focal adenomatous hyperplasia and endorses partial pancreatectomy. *J Clin Invest* 1997; 100: 802–807.

9. Damaj L, le Lorch M, Verkarre V et al. Chromosome 11p15 paternal isodisomy in focal forms of neonatal hyperinsulinism. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 4941–4947.
10. Glaser B, Kesavan P, Heyman M et al. Familial hyperinsulinism caused by an activating glucokinase mutation. *N Engl J Med* 1998; 338: 226–230.
11. Vaxillaire M, Froguel P. Monogenic diabetes in the young, pharmacogenetics and relevance to multifactorial forms of type 2 diabetes. *Endocr Rev* 2008; 29: 254–264.
12. Osbak KK, Colclough K, Saint-Martin C et al. Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat* 2009; 30: 1512–1526.
13. Njolstad PR, Sovik O, Cuesta-Munoz A et al. Neonatal diabetes mellitus due to complete glucokinase deficiency. *N Engl J Med* 2001; 344: 1588–1592.
14. Cuesta-Munoz AL, Huopio H, Otonkoski T et al. Severe persistent hyperinsulinemic hypoglycemia due to a de novo glucokinase mutation. *Diabetes* 2004; 53: 2164–2168.
15. Gloyn AL, Noordam K, Willemsen MA et al. Insights into the biochemical and genetic basis of glucokinase activation from naturally occurring hypoglycemia mutations. *Diabetes* 2003; 52: 2433–2440.
16. Barbetti F, Cobo-Vuilleumier N, Dionisi-Vici C, et al. Opposite clinical phenotypes of glucokinase disease: Description of a novel activating mutation and contiguous inactivating mutations in human glucokinase (GCK) gene. *Mol Endocrinol* 2009; 23: 1983–1989.
17. Tomita T, Kuzuyama T, Nishiyama M. Structural basis for leucine-induced allosteric activation of glutamate dehydrogenase. *J Biol Chem* 2011; 286: 37406–37413.
18. Stanley CA, Lieu YK, Hsu BY et al. Hyperinsulinism and hyperammonemia in infants with regulatory mutations of the glutamate dehydrogenase gene. *N Engl J Med* 1998; 338: 1352–1357.
19. Palladino AA, Stanley CA. The hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome. *Rev Endocr Metab Disord* 2010; 11: 171–178.
20. Chik KK, Chan CW, Lam CW et al. Hyperinsulinism and hyperammonemia syndrome due to a novel missense mutation in the allosteric domain of the glutamate dehydrogenase 1 gene. *J Paediatr Child Health* 2008; 44: 517–519.
21. Kelly A, Ng D, Ferry RJ et al. Acute insulin responses to leucine in children with the hyperinsulinism/hyperammonemia syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3724–3728.
22. Agren A, Borg K, Brodin SE et al. Hydroxyacyl CoA dehydrogenase, an enzyme important in fat metabolism in different cell types in the islets of Langerhans. *Diabetes Metab* 1977; 3: 169–172.
23. Hardy OT, Hohmeier HE, Becker TC et al. Functional genomics of the beta-cell: short-chain 3-hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase regulates insulin secretion independent of K<sup>+</sup> currents. *Mol Endocrinol* 2007; 21: 765–773.
24. Martens GA, Vervoort A, Van de Castele M et al. 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: 21134–21144.
25. Heslegrave AJ, Kapoor RR, Eaton S et al. Leucine-sensitive hyperinsulinemic hypoglycemia in patients with loss of function mutations in 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase. *Orphanet J Rare Dis* 2012; 7: 25. DOI: 10.1186/1750-1172-7-25.
26. Molven A, Matre GE, Duran M et al. Familial hyperinsulinemic hypoglycemia caused by a defect in the SCHAD enzyme of mitochondrial fatty acid oxidation. *Diabetes* 2004; 53: 221–227.
27. Clayton PT, Eaton S, Aynsley-Green A 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.
28. Flanagan SE, Patch AM, Locke JM et al. Genome-wide homozygosity analysis reveals HADH mutations as a common cause of diazoxide-responsive hyperinsulinemic-hypoglycemia in consanguineous pedigrees. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: E498–502.
29. Otonkoski T, Jiao H, Kaminen-Ahola N 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.
30. Pullen TJ, da Silva Xavier G et al. miR-29a and miR-29b contribute to pancreatic beta-cell-specific silencing of monocarboxylate transporter 1 (Mct1). *Mol Cell Biol* 2011; 31: 3182–3194.
31. 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: 13209–13214.
32. Flanagan SE, Kapoor RR, Mali G et al. Diazoxide-responsive hyperinsulinemic hypoglycemia caused by HNF4A gene mutations. *Eur J Endocrinol* 2010; 162: 987–992.
33. Pingul MM, Hughes N, Wu A et al. Hepatocyte nuclear factor 4alpha gene mutation associated with familial neonatal hyperinsulinism and maturity-onset diabetes of the young. *J Pediatr* 2011; 158: 852–854.
34. Pearson ER, Boj SF, Steele AM et al. Macrosomia and hyperinsulinemic hypoglycemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. *PLoS Med* 2007; 4: e118.
35. Stancu DE, Hughes N, Kaplan B et al. Novel presentations of congenital hyperinsulinism due to mutations in the MODY genes: HNF1A and HNF4A. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: E2026–30.
36. Yu M, Wang J, Li W et al. Proteomic screen defines the hepatocyte nuclear factor 1alpha-binding partners and identifies HMGB1 as a new cofactor of HNF1alpha. *Nucleic Acids Res* 2008; 36: 1209–1219.
37. Lord K, De Leon DD. Monogenic hyperinsulinemic hypoglycemia: current insights into the pathogenesis and management. *Int J Pediatr Endocrinol* 2013; 2013: 3. DOI: 10.1186/1687-9856-2013-3.
38. Krauss S, Zhang CY, Lowell BB. A significant portion of mitochondrial proton leak in intact thymocytes depends on expression of UCP2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 118–122.
39. Chan CB, MacDonald PE, Saleh MC et al. Overexpression of uncoupling protein 2 inhibits glucose-stimulated insulin secretion from rat islets. *Diabetes* 1999; 48: 1482–1486.
40. Esterbauer H, Schneitler C, Oberkofler H et al. A common polymorphism in the promoter of UCP2 is associated with decreased risk of obesity in middle-aged humans. *Nat Genet* 2001; 28: 178–183.
41. Sesti G, Cardellini M, Marini MA et al. A common polymorphism in the promoter of UCP2 contributes to the variation in insulin secretion in glucose-tolerant subjects. *Diabetes* 2003; 52: 1280–1283.
42. Gonzalez-Barroso MM, Giurgea I, Bouillaud F et al. Mutations in UCP2 in congenital hyperinsulinism reveal a role for regulation of insulin secretion. *PLoS One* 2008; 3: e3850.
43. Parton LE, Ye CP, Coppari R et al. Glucose sensing by POMC neurons regulates glucose homeostasis and is impaired in obesity. *Nature* 2007; 449: 228–232.
44. Pronicki M, Grajkowska W, Iwanicka K et al. Pathology of endocrine pancreas in persistent hyperinsulinemic hypoglycemia in children — practical diagnostic considerations. *Annals of Diagnostic Paediatric Pathology* 2002; 6: 101–106.
45. Ulbrecht JS, Schmeltz R, Jerome H et al. Insulinoma in a 94-year-old Woman: Long-term Therapy with Verapamil. *Diabetes Care* 1986; 9: 186–188.
46. Owecki M, Sowiński J. Successful pharmacological treatment of hyperinsulinemic hypoglycemia with verapamil and amlodipine — case report. *Pol Merkur Lekarski* 2005; 19: 196–198.
47. Kapoor RR, Flanagan SE, Arya VB et al. Clinical and molecular characterization of 300 patients with congenital hyperinsulinism. *Eur J Endocrinol* 2013; 168: 557–564.
48. Pinney SE, MacMullen C, Becker S et al. Clinical characteristics and biochemical mechanisms of congenital hyperinsulinism associated with dominant KATP channel mutations. *J Clin Invest* 2008; 118: 2877–2886. DOI: 10.1172/JCI35414
49. Thornton PS, Satin-Smith MS, Herold K et al. Familial hyperinsulinism with apparent autosomal dominant inheritance: clinical and genetic differences from the autosomal recessive variant. *J Pediatr* 1998; 132: 9–14.
50. Meissner T, Otonkoski T, Feneberg R et al. Exercise induced hypoglycemia in congenital hyperinsulinism. *Arch Dis Child* 2001; 84: 254–257.
51. Otonkoski T, Kaminen N, Ustinov J et al. Physical exercise-induced hyperinsulinemic hypoglycemia is an autosomal-dominant trait characterized by abnormal pyruvate-induced insulin release. *Diabetes* 2003; 52: 199–204.

## Polish version

### Wstęp

Termin hipoglikemia hiperinsulinemiczna odnosił się w swojej pierwotnej postaci wyłącznie do „nesidioblastozy” dzieci. Po opisaniu występowania przypadków choroby u dorosłych stał się on jednak terminem bardziej ogólnym, oznaczającym zmiany morfologiczne w trzustce, które prowadzą do hiperinsulinemii bez obecności guza insulinowego [1].

Hipoglikemia występująca u noworodków i dzieci w przypadku późnego rozpoznania może prowadzić do poważnych trwałych uszkodzeń ośrodkowego układu nerwowego (OUN), których obserwowanym następstwem jest opóźnienie umysłowe [2]. Spośród wielu możliwych przyczyn hipoglikemii należy wymienić przyczyny czasowe związane z okresem noworodkowym, jak na przykład przejściowe opóźnienie w adaptacji na głód oraz przyczyny trwałe, będące wynikiem zaburzeń endokrynologicznych lub metabolicznych spowodowanych chorobą. W obu przypadkach najczęstszą przyczyną występowania hipoglikemii jest hiperinsulinizm.

Omawiana rodzinna postać hiperinsulinizmu (FHI) występuje z częstością szacowaną na 1:50 000 [3] w populacji europejskiej. U większości chorych symptomy hipoglikemii pojawiają się zaraz po urodzeniu, chociaż w niektórych przypadkach pierwsze epizody obserwowane są dopiero w późnym niemowlęctwie lub wczesnym dzieciństwie. W przeciwieństwie do typowych objawów hipoglikemii obserwowanych po okresie bez jedzenia (głodzeniu), u osób z rodzinnym insulinizmem objawy mogą występować również po spożyciu posiłku lub ćwiczeniach fizycznych. Ich nasilenie może różnić się znacząco pomiędzy chorymi nawet członkami tej samej rodziny [4].

Bardzo często choroba rozpoznawana jest późno, powtarzające się przez wiele lat utraty przytomności oraz objawy wegetatywne rozpoznawane są jako padaczka, a chorzy leczeni są lekami przeciwdrgawkowymi. Konsekwencją nieprawidłowego rozpoznania i braku właściwego postępowania przyczynowego są nieodwracalne zmiany w OUN. Stwierdzenie hipoglikemii (stężenie glukozy < 45 mg/dl) z towarzyszącą insulinemią (stężenie insuliny > 6 μj/ml) pozwala na rozpoznanie endogennej hiperinsulinemii. Aczkolwiek w oparciu o badanie glikemii i insulinemii jednoznaczne stwierdzenie przyczyny, na przykład rozróżnienie pomiędzy wyspiakiem trzustki produkującym insulinę a rozproszonym rozrostem komórek β, nie jest możliwe. Powszechnie dostęp-

ne metody wizualizacyjne: ultrasonografia (w tym endoskopowa — EUS), tomografia komputerowa, arteriografia oraz rezonans magnetyczny nie pozwalają na uściślenie rozpoznania. Tylko w niektórych przypadkach hipoglikemii spowodowanej hiperinsulinemią okazują się przydatne, gdyż umożliwiają wykrycie guza produkującego insulinę. W innych przypadkach w różnicowaniu i zarządzaniu procesem terapeutycznym przydatne mogą okazać się badania genetyczne.

Poznanie genetycznego podłoża rodzinnego insulinizmu zmieniło wcześniejsze spojrzenie na chorobę. Pozwoliło na rozróżnienie konkretnych rodzajów choroby z grupy wspólnie określanej mianem FHI. Gdyż w zależności od tego, w którym ze zdefiniowanych dziewięciu różnych loci zasocjowanych z chorobą występuje patologiczna mutacja różnią się one fenotypem i wzorem dziedziczenia.

### Mechanizm wydzielania insuliny

Regulacja wydzielania insuliny z komórek β trzustki jest złożonym procesem angażującym zarówno wewnętrzne, jak i zewnętrzne czynniki stymulacyjne. Wśród nich wymienić można: składniki pokarmowe, hormony, neurotransmitery czy leki. Głównym bodźcem stymulacyjnym aktywację wydzielania insuliny z komórek β jest podwyższone stężenie glukozy we krwi. W zdrowym organizmie indukowane zmianami stężenia glukozy wydzielanie insuliny realizowane jest w dwóch fazach. W pierwszej dochodzi do „wyrzutu” insuliny w przeciągu pierwszych kilku minut po ekspozycji komórek na wyższe stężenie glukozy, w drugiej wydzielanie jest wolne i na stałym poziomie. Istotny jest tutaj zaangażowany w regulację fazowego wydzielania mechanizm molekularny, który w skrócie przedstawia się, jak poniżej [5]:

1. Glukoza jest transportowana do komórek β trzustki na drodze ułatwionej dyfuzji przez białko transportowe GLUT2.
2. Wewnątrzkomórkowa glukoza metabolizowana jest przy udziale glukokinazy (GCK) do ATP.
3. Wzrost stosunku ATP:ADP inhibuje błonową zależną od ATP pompę potasową (K-ATP), co w konsekwencji prowadzi do depolaryzacji błony komórkowej.
4. Zmiana potencjału elektrycznego błony skutkuje otwarciem kanałów wapniowych (VDCC) i napływem wapnia do komórki.
5. Podwyższone stężenie jonów wapnia w cytozolu wyzwała egzocytozę insuliny.

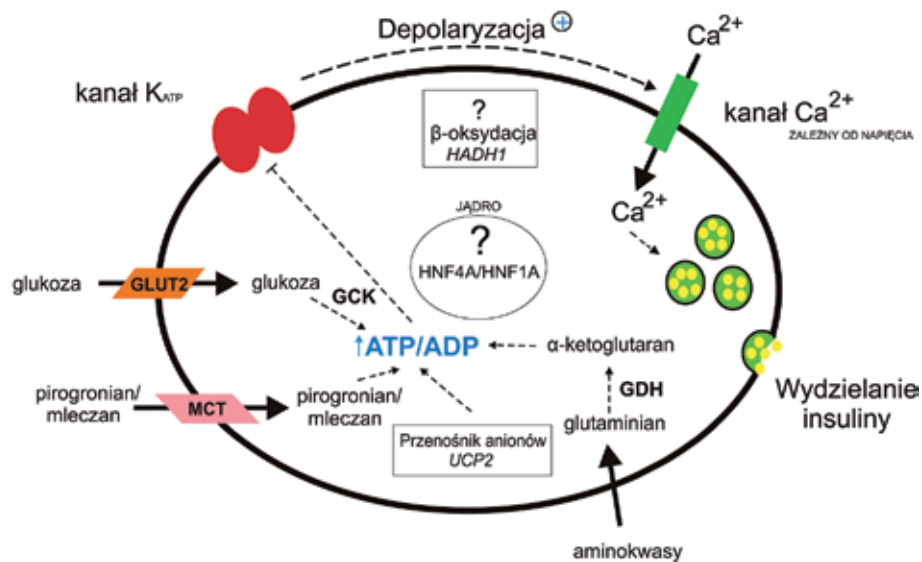
Rycina 1. Mechanizm wydzielania insuliny w komórkach  $\beta$  trzustki

Tabela I. Podsumowanie genów, których mutacje zaangażowane są w rozwój FHI i odpowiedzi na leczenie diazoksydem w zależności od zmutowanego genu

Gen	<i>ABCC8</i>	<i>KCNJ11</i>	<i>GCK</i>	<i>GLUD1</i>	<i>HADH1</i>	<i>SLC16A1</i>	<i>HNF4A, HNF1A</i>	<i>UCP2</i>
Białko	<b>SUR1</b> Kaseta wiążąca ATP, podrodzina C; receptor pochodnych sulfonilomocznika	<b>Kir6.2</b> Dokomórkowy prostowniczy kanał potasowy	<b>GCK</b> Glukokinaza	<b>GLUD1</b> Dehydrogenaza glutaminianowa	<b>SCHAD</b> Dehydrogenaza 3-hydroksyacylo-CoA	<b>SLC16A1/MCT1</b> Transporter kwasów monokarboxylowych 1	<b>HNF4A, HNF1A</b> Czynnik jądrowy hepatocytów 4 $\alpha$ i 1 $\alpha$	<b>UCP2</b> Mitochondrialne białko rozpręgające
Funkcja	Podjednostka kanału potasowego zależnego od ATP komórek	Metabolizm glukozy komórek	Wydzielane insuliny zależne od aminokwasów	Enzym zaangażowany w utlenianie kwasów tłuszczowych	Błonowy transporter kwasu pirogrogowego	Jądrowy czynnik transkrypcyjny	Mitochondrialne białko rozpręgające	
Mutacje autosomalne	— recesywne: > ciężka postać hipoglikemii noworodków [48, 49] > rozlane FHI** [6] — dominujące: > postać umiarkowana [48, 49] > ogniskowa postać FHI — powodowana ojcowską mutacją jednego z genów i utratą allelu matczynego [8]	Dominujące, aktywujące [10, 14–16]	Dominujące, aktywujące [4, 19]  Relatywnie umiarkowana postać FHI, może nie zostać rozpoznana w dzieciństwie [20]	Recesywne, utrata funkcji [4, 25–28]	Dominujące, zwiększona ekspresja [29]	Dominujące, utrata funkcji [35]  Zasocjowane z MODY1 [HNF4a] i MODY3 [HNF1a] [35]	Dominujące, utrata funkcji	
Charakterystyka	Duża masa urodzeniowa [4] Zwiększone ryzyko cukrzycy w wieku dorosłym [4]	Normalna masa urodzeniowa [15]	Hyperammone-mia [21] Leucyno zależna hipoglikemia białkiem [4]	Zwiększone wydalanie kwasu 3-hydroksyglutaminianowego [4] Leucyno zależna hipoglikemia stymulowana białkiem [25]	Hipoglikemia po intensywnych ćwiczeniach [29]	Duża masa urodzeniowa [34] Rozwój z hiperinsulinemizmu w niemowlęctwie do cukrzycy w wieku późniejszym [34, 35]		
Skuteczność leczenia diazoksydem	—* [4]	— lub + Zależy od mutacji [10, 14–16]	+ [4, 20]	+ [4, 28]	Częściowa odpowiedź [50, 51]	+ [32, 34, 35]	+ [42]	

\*Przypadki z dominującymi mutacjami KATP mogą reagować na leczenie diazoksydem [48, 49]. \*\*Większość przypadków. Dominujące mutacje w rozlanej postaci FHI również były obserwowane [6]



Wydzielanie insuliny może odbywać się na drodze utleniania glukozy przez glukokinazę lub stymulowanym leucyną utlenianiu glutaminianu przez dehydrogenazę glutaminianową (ryc. 1).

Obecnie znanych jest 9 genów, których mutacje zaszczepione zostały z rodzinną hiperinsulinemią (tab. I). Są to:

- *ABCC8* kodujący receptor sulfonilomocznika 1 (SUR-1);
- *KCNJ11* kodujący podjednostkę kanału pompy potasowej (Kir 6.2);
- *GCK* kodujący glukokinazę (GCK);
- *GLUD-1* kodujący dehydrogenazę glutaminianową (GDH);
- *HADH1* kodujący dehydrogenazę 3-hydroksyacylo-koenzymu A krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCHAD);
- *SLC16A1* kodujący transporter kwasów monokarboksylowych 1 (MCT1);
- *HNF4A* kodujący czynnik jądrowy hepatocytów 4 alfa;
- *HNF1A* kodujący czynnik jądrowy hepatocytów 1 alfa;
- *UCP2* kodujący białko rozsprzęgające 2.

### ***ABCC8/KCNJ11***

Pompa potasowa zależna od ATP jest heterooktamerem zbudowanym z 4 podjednostek Kir6.2 budujących kanał jonowy oraz 4 podjednostek regulatorowych SUR-1. Występujące w obrębie genów *ABCC8* i *KCNJ11* mutacje prowadzą do utraty funkcji białka. Są najczęstszą przyczyną występowania hiperinsulinizmu [6]. Na ich skutek pompa jest konstytutywnie zamknięta, niezależnie od stężenia ATP, co w konsekwencji powoduje stałe uwalnianie insuliny. Histologicznie FHI można podzielić na postać rozlaną i zogniskowaną [7]. Pierwsza charakteryzuje się nieprawidłowym działaniem komórek  $\beta$  w obrębie całej trzustki, w drugiej występowanie anormalnych komórek ograniczone jest do niewielkiego obszaru. Różnica pomiędzy postaciami widoczna jest również na poziomie genów. Za postać rozlaną odpowiadają najczęściej recesywne mutacje *ABCC8/KCNJ11*. Podczas gdy w patogenezie postaci zogniskowanej obserwuje się występowanie mutacji germinalnych w układzie heterozygotycznym, dziedziczonych od ojca z jednoczesną utratą matczynego chromosomu 11 w regionie p15.1 do p.15.5 [8]. Utrata wymienionego regionu w obrębie komórek progenitorowych trzustki zostaje skompensowana przez duplikację materiału genetycznego ojca, zatem somatyczną ojcowską disomię jednorodzicielską [9].

Leczenie postaci zogniskowanej polega na zlokalizowaniu zmiany za pomocą pozytonowej emisyjnej tomografii komputerowej z 18-fluoro-L-dihydroksyfenyloala-

niną ( $^{18}$ F-DOPA-PET-CT) i jej chirurgicznym usunięciu. W przypadku postaci rozlanej całkowita resekcja trzustki jest metodą z wyboru, niemniej jednak prowadzi ona do cukrzycy. Inną możliwością jest w takim przypadku farmakoterapia. Leczenie obowiązkowo prowadzone przez całe życie pacjenta nie zawsze jednak bywa całkowicie skuteczne i może powodować liczne efekty uboczne.

### ***GCK***

Glukokinaza katalizuje reakcję fosforylacji glukozy do glukozo-6-fosforanu, będącą pierwszą z szeregu reakcji w większości szlaków metabolizmu glukozy. W komórkach  $\beta$  trzustki *GCK* pełni unikalną funkcję „czujnika glukozy”. Odgrywa istotną rolę w wydzielaniu insuliny zależnym od glukozy (GSIS), gdyż wpływa na regulację wartości granicznej stężenia glukozy, od której to wydzielanie zachodzi (GSIS-T) [10]. Mutacje inaktywujące powodują wzrost wartości GSIS-T. U nosicieli mutacji heterozygotycznych obserwuje się łagodną hipoglikemię na czczo, podczas gdy homozygoty lub mieszane heterozygoty cechują się ciężką cukrzycą. Fenotypowo niedobór *GCK* objawia się jako cukrzyca MODY2 [11, 12], natomiast całkowita utrata funkcji białka prowadzi do utrwalonej cukrzycy noworodkowej (PNDM) [12, 13]. Przeciwny efekt fenotypowy występuje u nosicieli mutacji aktywujących. Wartość GSIS-T zostaje obniżona, co w rezultacie prowadzi do patologicznego zwiększenia insuliny we krwi, powodującego hipoglikemię o stopniu nasilenia zależnym od rodzaju występującej w genie mutacji [10, 14–16]. Najczęściej zmiany skorelowane z wystąpieniem hipoglikemii są zlokalizowane w obrębie niewielkiej domeny białka, w której znajduje się miejsce wiążące dla aktywatora allosterycznego [12].

### ***GLUD-1***

Drugą pod względem częstości występowania przyczyną hiperinsulinemii są zaburzenia funkcjonowania dehydrogenazy glutaminianowej, spowodowane mutacjami genu *GLUD-1*. GDH jest enzymem mitochondrialnym katalizującym reakcję przekształcenia glutaminianu w  $\alpha$ -ketoglutaran i jon amonowy. W komórkach  $\beta$  trzustki bierze udział w regulacji wydzielania insuliny. Jest allosterycznie aktywowana przyłączeniem ADP, NAD<sup>+</sup> i leucyny oraz inhibowana przyłączeniem ATP, GTP, NADH i palmitoilo-CoA [17]. Mutacje uniemożliwiające inhibicję GDH przez przyłączenie GTP prowadzą do zwiększonej stymulacji enzymu na leucynę. Stosunek ATP/ADP w komórce wzrasta. Pompa potasowa zostaje zatrzymana. Dochodzi do depolaryzacji błony i napływu jonów wapnia do komórki, w konsekwencji czego wydzielana jest insulina [18].

Za dysfunkcję GDH odpowiedzialne są w 70% przypadków mutacje powstające *de novo* i mają charakter

autosomalnie dominujący [19]. Występują najczęściej w allosterycznym miejscu wiązania GTP lub w obrębie regionu antenowego biorącego udział w komunikacji z pozostałymi podjednostkami enzymu — najczęściej w eksonach 6, 7, 11 i 12 [4, 20]. Mutacje są przyczyną występowania zespołu hiperinsulinemia/hiperamonemia. U nosicieli stwierdza się występowanie hipoglikemii indukowanej głodem i zwiększonym spożyciem białka, która jest łatwo kontrolowana przez diazoksyd. Ponadto wyższa aktywność wątrobowego GDH powoduje 3–5-krotne podwyższenie stężenia amoniaku we krwi w stosunku do wartości fizjologicznych [21].

### **HADH-1**

Obserwowaną przyczyną FHI mogą być również zaburzenia metabolizmu kwasów tłuszczowych. Mitochondrialny enzym dehydrogenaza 3-hydroksyacylo-koenzymu A katalizuje reakcję dehydrogenacji 3-hydroksyacylo-koenzymu A do 3-ketoacylo-koenzymu A w obecności  $NAD^+$ , przedostatnią reakcję w procesie  $\beta$ -oksydacji kwasów tłuszczowych [22]. Pełni on istotną, choć niepoznaną wciąż funkcję w regulacji wydzielania insuliny [23, 24]. U osób z utraconą funkcją białka, powodowaną wystąpieniem autosomalnie recesywnych mutacji genu *HADH-1*, dochodzi do istotnych zaburzeń w wydzielaniu insuliny [25–28]. Innym ciekawym, opisanym efektem wystąpienia mutacji utraty funkcji *HADH-1* jest ciężka nadreaktywność na leucynę [25]. Sugeruje to, że w komórkach  $\beta$  trzustki dochodzi w jakiś, niewyjaśniony jak dotąd sposób do obniżenia wydzielania insuliny stymulowanego leucyną. Prawdopodobnie oddziaływanie typu białko–białko pomiędzy HADH i GDH. Niemniej jednak mutacje tego genu nie powodują podwyższonej aktywności GDH ani zmiany wartości stężenia GTP powodującej inhibicję ( $IC_{50}$ ) GDH [25]. Autorzy sugerują, że zaobserwowane zjawisko może być spowodowane oddziaływaniem SCHAD przez nowy, nie poznany jak dotąd szlak, w którym GTP nie jest zaangażowane w regulację GDH [25].

### **SLC16A1**

Hiperinsulinizm indukowany wysiłkiem fizycznym jest związany z dziedzicznymi autosomalnie dominującymi mutacjami regionu promotorowego genu *SLC16A1*. Mutacje powodują wzrost ekspresji błonowego transportera kwasów monokarboksylowych w komórkach  $\beta$  [29]. W warunkach normalnych ekspresja MCT1 jest wyciszana przez miR-20a i miR20b, przez co utrzymywana jest na bardzo niskim poziomie [30]. Jej zwiększenie umożliwia wnikięcie do wnętrza komórki większej ilości substratów do produkcji ATP: pirogronianu i mleczanu. W konsekwencji stosunek ATP/ADP w cytoplazmie rośnie, co implikuje szereg kolejnych zdarzeń, w wyniku

których z komórki uwolniona zostaje insulina. U pacjentów, będących nosicielami mutacji genu *SLC16A1* wystąpienie hipoglikemii bezpośrednio jest związane z nagromadzeniem się pirogronianu i mleczanu we krwi, powodowanych intensywnym wysiłkiem fizycznym [29].

### **HNF4A/ HNF1A**

Kodowane przez gen *HNF4A* białko jest jądrowym czynnikiem transkrypcyjnym. Wiąże się do DNA w postaci homodimeru. W komórkach  $\beta$  reguluje wiele istotnych dla prawidłowego funkcjonowania komórki procesów, jak transkrypcja genu dla insuliny oraz innych genów związanych z transportem i metabolizmem glukozy [31]. Heterozygotyczne mutacje genu *HNF4A* dziedziczone w sposób autosomalny dominujący powiązane zostały z cukrzycą MODY 1 (*Maturity Onset Diabetes of the Young*), ale także makrosomią i przejściową oraz trwałą hipoglikemią hiperinsulinemiczną. Ponad 35% wykrywanych mutacji to mutacje *de novo* [32–34].

Innym z genów kodujących odrębny jądrowy czynnik transkrypcyjny, którego mutacje powodują występowanie hiperinsulinizmu u niemowląt jest *HNF1A* [35], dotychczas znany z powodowania cukrzycy MODY 3. Gen koduje hepatocytowy czynnik jądrowy 1 alfa (HNF1A), nietypową homologiczną domenę zawierającą białko regulujące ekspresję kilku genów wątroby [36].

Jak dotąd nie udało się sprecyzować mechanizmu działania w jakim mutacje utraty funkcji genów *HNF4A* i *HNF1A* mogą prowadzić do występowania dwóch skrajnie różnych fenotypów u jednego pacjenta: hipoglikemii we wczesnym etapie życia i cukrzycy w późniejszym. Przypuszcza się, że może to mieć związek ze zmianą regulacji ekspresji genów przez te czynniki na przestrzeni lat życia pacjenta [37].

### **UCP2**

Mitochondrialne białko rozsprężające 2 (UCP2) jest członkiem dużej rodziny mitochondrialnych białek przenoszących aniony (MACP). Powodują one rozdzielanie reakcji fosforylacji oksydacyjnej od syntezy ATP z jednoczesną utratą energii (uwolnienie energii w postaci ciepła), tak zwany mitochondrialny wyciek protonów. W komórce białka MACP są odpowiedzialne za transport anionów z wewnętrznej do zewnętrznej błony mitochondrialnej, natomiast protonów w przeciwnym kierunku. Mitochondrialne białko rozsprężające 2 odpowiada zatem za kontrolowany wyciek elektronów wzdłuż wewnętrznej błony mitochondrialnej [38], przyczyniając się w ten sposób do zmniejszenia poziomu ATP w komórce. Co w przypadku komórek  $\beta$  trzustki dodatkowo przekłada się na negatywną regulację GISIS [39].

Aktywujące mutacje promotora genu *UCP2* powodujące zmniejszenie wydzielania insuliny zostały zasocjowane ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia cukrzycy typu 2 [40, 41]. Natomiast mutacje genu *UCP2* skutkujące utratą funkcji białka, powodują wzrost produkcji ATP, a przez to nadmierny wzrost wydzielania insuliny, co jest bezpośrednią przyczyną hiperinsulinizmu [42]. Dodatkowo zaobserwowano, że *UCP2* jest istotne dla negatywnej regulacji wykrywania glukozy w neuronach [43].

## Dyskusja

Poznanie genetycznych przyczyn hipoglikemii hiperinsulinemicznej pozwala na lepsze zrozumienie mechanizmu choroby, której kliniczny obraz jest bardzo podobny u chorych z hipoglikemią. Nawet przy zastosowaniu zaawansowanych technik obrazowania, włączając metody oparte na PET (pozytonowa tomografia emisyjna), ale także ocenę patofizjologiczną [44] wczesne zdiagnozowanie rodzinnej hiperinsulinemii jest trudne, a niejednokrotnie okazuje się niemożliwe.

Dopiero spojrzenie na poziom molekularny umożliwia precyzyjne poznanie przyczyny choroby. Ogromny postęp, który został poczyniony na przestrzeni ostatnich lat w poznaniu patogenezy hiperinsulinizmu pozwolił na dokładniejsze przyjrzenie

się problemowi hipoglikemii dziecięcej i rozróżnienie różnych jednostek chorobowych, które wcześniej traktowane były jako jedna nazywana wspólnym mianem nesidioblastozy.

Badania genetyczne pozwalają również przewidzieć, którzy z pacjentów odniosą korzyść w wyniku leczenia diazoksydem, a którzy nie odpowiedzą na terapię (tab. I). Niewykluczone również, że umożliwią świadome zastosowanie w leczeniu hipoglikemii hiperinsulinemicznej leków powszechnie wykorzystywanych do leczenia innych chorób, jak np. blokery pompy wapniowej (werapamil, amlodypina) [45, 46]. Przeprowadzone dotąd badania nie wyczerpują jednak w pełni tematu, gdyż liczba pacjentów z FHI, u których udaje się znaleźć mutacje w jednym z opisanych genów stanowi około 45% [47]. Pozostawia to ponad połowę badanych z niepoznaną przyczyną choroby.

Wysoki koszt i duża ilość czasu potrzebne na przeprowadzenie diagnostyki molekularnej sprawiają, że dostęp do tego rodzaju badań jest ograniczony i nie są to badania pierwszego rzutu w przypadku FHI. Niemniej jednak, mając na uwadze dużą wartość diagnostyczną i możliwości oferowane przez aparaty do sekwencjonowania nowej generacji niewykluczone, że przy zaplanowaniu odpowiedniego postępowania w niedalekiej przyszłości ich znaczenie diagnostyczne wzrośnie na wartości.