

Aus dem Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie
der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. med. M. Tiedge

***Bedeutung und Charakterisierung autosomal-dominant erblicher
Diabetes-Erkrankungen
in einer unselektierten Diabetes-Patientengruppe***

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität Rostock

vorgelegt von
Eugen-Jean Schiopu
aus Zeiden/Codlea-Siebenbürgen-Rumänien

Rostock, 28.03.2011

Dekan: Prof. Dr. med. E. Reisinger

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Simone Baltrusch – Medizinische Fakultät, Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Klaus Badenhop – Klinikum Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main, Medizinische Klinik
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Rainer Hampel – Klinik für Innere Medizin II, Universitätsklinikum Rostock

Verteidigung am 18.10.2011

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Diabetes mellitus	1
1.2. Hereditäre Diabetesform: MODY	2
1.2.1. Polygenetische Aspekte des Diabetes mellitus	2
1.2.2. Monogene Diabetes-Erkrankungen.....	3
1.3. Relevanz des MODY-Diabetes in einer diabetologischen Praxis	7
1.4. Richtlinien zur molekulargenetischen Analyse	9
1.5. Fragestellung der Dissertation	9
2. Patienten, Material und Methoden	11
2.1. Patientenauswahl	11
2.1.1. Datenerfassung aus der elektronischen Karteiführung	11
2.1.2. Erfassung klinischer Parameter	12
2.2. Studienteilnahme	13
2.2.1. Klinische Merkmale	13
2.2.2. Eintrag im Recallsystem	14
2.2.3. Patientenaufklärung und Einbestellung	14
2.2.4. Auftrag für die genetische Untersuchung	14
2.3. Material und Methoden	15
2.3.1. Der „dynamische Glucose-Clamp“ (dGC)	15
2.3.2. Molekulargenetische Untersuchung	16
2.3.3. Laborbericht.....	17
2.3.4. Segregationsanalyse	20
3. Ergebnisse	21
3.1. Klinische Präsentation der Patienten	21
3.1.1. Beschreibung der 913 Patienten für die MODY-Präselektion.....	22
3.1.2. Präsentation der präselektierten Patienten mit Verdacht auf MODY	25
3.1.3. Präsentation der genetisch untersuchten Probanden	26
3.2. MODY-Veränderungen	28
3.2.1. MODY 1 Mutationen	30
3.2.2. MODY 2 Mutationen	33
3.2.3. MODY 3 Mutationen	35
4. Diskussion der Ergebnisse	37
4.1. Diskussion und Interpretation der Mutationen	37
4.1.1. MODY 1 Mutationen	37
4.1.2. MODY 2 Mutationen	41
4.1.3. MODY 3 Mutationen	46
4.2. Mutationsfrequenz und Modulation der Indikationskriterien	50
4.2.1. Modulation und Diskussion der Ergebnisse in Gruppe A ¹ und B ¹	51
4.2.2. Vorschlag von modifizierten Indikationskriterien mit einer Mutationsfrequenz -	52
von 10%.....	52
4.3. MODY und der "dynamische Glucose-Clamp " (dGC)	53

5. Zusammenfassung	55
6. Anhang	57
6.1. Literaturverzeichnis	57
6.2. Zusammenfassende Thesen zur Dissertationsarbeit	70
6.3. Abkürzungen	73
6.4. Tabellen und Abbildungen	77
6.4.1. Abbildungsverzeichnis	77
6.4.2. Tabellenverzeichnis	77
6.5. Formulare	79
6.5.1. Auftrag Gentest „erblicher Diabetes (MODY)“	79
6.5.2. Auftragsformular „Segregationsanalyse“	80
7. Danksagung	81

1. Einleitung

1.1. Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus umfasst eine Gruppe metabolischer Erkrankungen, die durch eine hohe Plasmaglukosekonzentration charakterisiert sind. Im Jahr 2010 litten in Europa etwa 55,4 Mio. Personen (8,5% der Bevölkerung) an Diabetes, bis zum Jahr 2030 sollen es etwa 66,5 Mio. (10% der Bevölkerung) sein. In Deutschland wird die Zahl der aufgrund eines Typ-2-Diabetes behandelten Personen derzeit auf etwa 7,5 Mio. geschätzt (1). Der Typ-1-Diabetes zeichnet sich durch eine immunologisch vermittelte Zerstörung der Betazellen des Pankreas mit einem daraus resultierenden absoluten Insulinmangel aus. Das EURODIAB-Projekt und IDF-Atlas-Diabetes schätzt (basierend auf Inzidenzdaten aus NRW und BW für 1999-2003), dass in Deutschland im Jahr 2010 14.100 bis 15.600 Kinder und Jugendliche im Alter von 0 bis 14 Jahren von einem Typ-1-Diabetes betroffen waren (2). Studien weisen darauf hin, dass Virusinfektionen eine Zerstörung von Betazellen des Pankreas triggern und damit einen Typ-1-Diabetes induzieren können (3,4). Der Typ-2-Diabetes ist dagegen durch eine Insulinresistenz der peripheren Gewebe und eine Insulinsekretionsstörung der Beta-Zellen des Pankreas charakterisiert (5). Man geht davon aus, dass sowohl eine genetische Prädisposition als auch so genannte „Umweltfaktoren“ an der Entstehung dieser multifaktoriellen Erkrankung beteiligt sind (6,7). Zahlreiche Risikofaktoren konnten für den Typ-2-Diabetes bereits identifiziert werden. Vor allem stellt eine kalorienreiche Überernährung einen Risikofaktor für den Typ-2-Diabetes dar (8). Der zentrale Fettverteilungstyp, definiert als Quotient Taillen- / Hüftumfang $>1,0$ bei Männern und $>0,85$ bei Frauen, weist eine Korrelation mit dem Typ-2-Diabetes auf (9,10). Andere experimentelle Studien weisen darauf hin, dass körperliche Aktivität eine Insulinresistenz reduziert. Ein Bewegungsmangel ist daher auch als Risikofaktor für den Typ-2-Diabetes anzusehen (11). Ein niedriges Geburtsgewicht konnte mit einem Typ-2-Diabetes im Erwachsenenalter assoziiert werden (12,13). Die Einnahme von Medikamenten wie Steroiden, Diuretika und Antihypertensiva, welche die Insulinsekretion negativ beeinflussen können auch zur Manifestation eines Typ-2-Diabetes beitragen (14-16). Die Inzidenz des Typ-2-Diabetes nimmt mit steigendem Alter zu und steigt bei Frauen, die einen Gestationsdiabetes entwickelt hatten (17). Die ethnische Herkunft scheint für das Risiko an Typ-2-Diabetes zu erkranken, eine

Rolle zu spielen, da sich die Typ-2-Diabetes-Prävalenz in verschiedenen Bevölkerungen signifikant stark unterscheidet (18,19). Weiterhin zu berücksichtigen ist, dass ein Nikotinabusus die Insulinwirkung einschränkt (20-23). Daher ist Rauchen ebenfalls als ein Risikofaktor für den Typ-2-Diabetes anzusehen.

1.2. Hereditäre Diabetesform: MODY

1.2.1. Polygenetische Aspekte des Diabetes mellitus

Zwillingsstudien (24) und das Vorkommen familiärer Häufungen des Diabetes (25) zeigten, dass nicht nur Umweltfaktoren, sondern auch erbliche Aspekte für die Entstehung eines Typ-2-Diabetes von Bedeutung sind. Dieser Typ stellt eine überwiegend multifaktorielle, polygene und genetisch heterogene Gruppe der Diabeteserkrankungen dar. Verschiedene Gene prädispositionieren in unterschiedlichen Populationen an Typ-2-Diabetes zu erkranken (25,26). Dies konnte durch mehrere große Assoziationsstudien bewiesen werden (27). Es wird erwartet, dass die Weiterentwicklung der genetischen Charakterisierung des Typ-2-Diabetes mit Sequenzierungstechniken der nächsten Generation weitere Gene mit einer hohen Assoziation zum Typ-2-Diabetes identifizieren wird (28). Die in den letzten Jahren durchgeführten genomweiten Assoziationsstudien haben Gene identifiziert, die mit einem schwachen Risiko für den Diabetes-Typ-2 assoziiert sind (29). Es sind bis jetzt 25 Risikogene des Diabetes-Typ-2 bekannt (30,31), welche etwa 10% der genetischen Prädisposition für den Typ-2-Diabetes in der Bevölkerung erklären (29). Die Suche nach Genen die mit einem Typ-2-Diabetes bei den untersuchten Personen assoziiert sind, ergab zahlreiche Loci, wie zum Beispiel Codevariationen im PPAR γ -Rezeptorgen (32) oder einem der Gene für das Kaliumkanalprotein KCNJ11 (33). Die stärkste Erhöhung des Risikos (OR 1.36, P=5.7 \times 10⁻¹³) für den Typ-2-Diabetes wurde mittels einer genomweiten Assoziationsstudie für den Transkriptionsfaktor TCF7L2 ermittelt (34-36). Ebenfalls wurden in einer systematischen Untersuchung eines Forschungsteams aus Großbritannien, Kanada und Frankreich vier Gene identifiziert, die die Entwicklung eines Typ-2-Diabetes begünstigen (37). Diese Loci beinhalten einerseits einen Polymorphismus im Zink-Transporter SLC30A8, welcher primär in den insulinsezernierenden Beta-Zellen des Pankreas exprimiert wird. Weiterhin sind die Gene IDE-KIF11-HHEX und EXT2-ALX4 enthalten, denen eine Rolle in der Beta-Zell-Entwicklung oder Funktion zugesprochen wird (37). Diese Assoziationen können als

Nachweis dienen, dass der genomweite Ansatz zur Aufklärung komplexer genetischer Merkmale wie dem Typ-2-Diabetes dienen kann (37). In Zwillingsstudien wurde gezeigt, dass über 85% der phänotypischen Varianz des Diabetes-Typ-1 auf genetische Faktoren gründet (38,39). Für sechs Gene/Regionen, besteht eine signifikante Assoziation zur Typ-1-Diabetes Pathogenese. Diese Regionen befinden sich im Bereich des MHC-Komplexes (Major Histocompatibility Complex), des Insulin-VNTRs, des CTLA-4 und des PTPN22 Gens. Auch die Genregionen um den Interleukin-2 Rezeptor alpha (IL2RA/CD25) und die Interferon-induzierte Helikase 1 sind mit der Diabetessuszeptibilität assoziiert (40). Der Einfluss dieser Regionen auf die Diabetespathogenese ist dabei sehr unterschiedlich. Während die Genvariante 1858T des PTPN22 mit einer reduzierten Restfunktion der Betazellen und somit einer schlechten Stoffwechseleinstellung assoziiert ist (41), spielen viele Gene die eine Funktion bei der Immunantwort haben (z.B. CTLA-4) ebenfalls eine entscheidende Rolle. Neue genomweite Assoziationsstudien fanden einen großen Einfluss für eine mehrere Gene umfassende Region auf Chromosom 12 (40,42). In diesem Bereich finden sich die Gene ERBB3 (Receptor Tyrosine-Protein Kinase erbB-3 precursor, 12q13) und SH2B3/LNK (SH2B Adaptor Protein), TRAFD1 (TRAF-type zinc finger domain containing 1) und PTPN11 (protein tyrosine phosphatase, non-receptor type 11), welche bei 12q24 lokalisiert sind. PTPN11 ist hierbei ein interessanter Kandidat aufgrund seiner Rolle im Immunsystem und bei der Insulinsignaltransduktion (43). Es kommt aus derselben Familie wie das PTPN22 Gen, das bereits als Suszeptibilitätsfaktor für Autoimmunerkrankungen bekannt ist (41,44).

1.2.2. Monogene Diabetes-Erkrankungen

Der Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) stellt eine nicht sehr häufige, jedoch wichtige Differentialdiagnose des Diabetes im Kindes- und Jugend- sowie im frühen Erwachsenenalter dar (45). Diese monogene Typ-2-Diabetes-Form (46) wurde zum ersten Mal 1974 als eigener Erkrankungstypus beschrieben (47). Es wurden elf verschiedene MODY-Formen beschrieben. Diese haben einen monogenen Erbgang mit autosomal-dominant vererbten Mutationen in Genen gemeinsam, die an der Regulation der Insulinsekretion aus den Beta-Zellen des Pankreas beteiligt sind (48). Nur bei einem Teil der Patienten sind „klassische“ MODY-Kriterien direkt nachweisbar. Eine Unterscheidung zwischen einem langsam verlaufenden Typ-1-Diabetes und MODY ist klinisch nicht immer möglich (45). Bei einem Diabetes mit einem lang-

samen Erkrankungsverlauf, einem geringen Insulinbedarf und bei negativem Autoantikörpernachweis sollte eine molekulargenetische Untersuchung bezüglich MODY eingeleitet werden (49,50). Die Diagnose eines MODY kann durch eine molekulargenetische Analyse gesichert werden. Als Beweis für die Diagnose eignet sich der direkte Nachweis der krankheitsverursachenden Mutation (47,51,52). In Europa wurde eine Inzidenz des monogenen Diabetes von 1-2% beschrieben (52-54). Von den seltenen MODY-Formen (MODY 4 und 6-11) gibt es nur Einzelbeschreibungen (55-60). Die Prävalenz des MODY und einzelner MODY-Formen variiert je nach Studie und Untersuchungspopulation (Abb. 1). MODY 3 und MODY 2 sind die häufigsten Formen und machen mehr als 80% bei Kaukasiern aus (61). Bei MODY im Kindes- und Jugendalter in Deutschland und Österreich ist MODY 2 die weitaus häufigste Untergruppe (62). Patienten bei denen keine Mutation nachweisbar ist, aber zumeist einem MODY 3 ähneln, werden als MODY X bezeichnet (63).

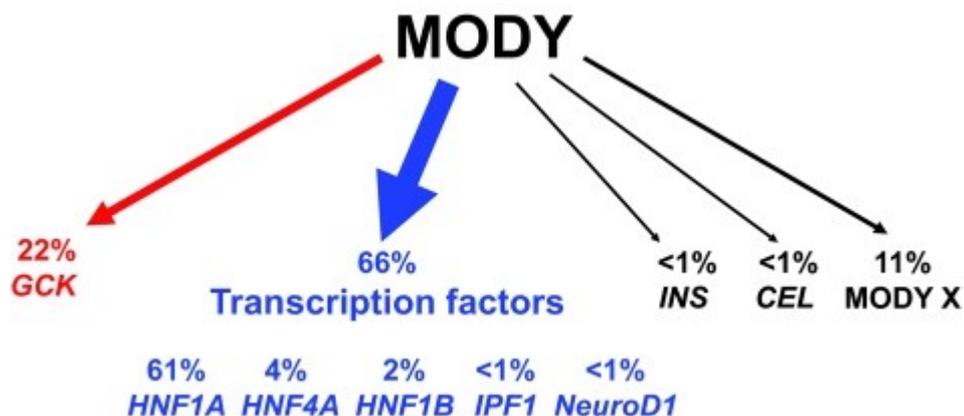


Abbildung 1: Verteilung der klinisch definierten MODY-Typen (57)

	Gen (Name)	Abkürzung	Chromosom	Häufigkeit	Hauptfunktion in der Betazelle
MODY 1	Hepatic Nuclear Factor 4 alpha	HNF-4 α	20q	Ca.5%	Transkriptionsfaktor: Regulation der Expression von HNF-1 α und IPF1
MODY 2	Glucokinase	GCK	7p	20-50%	Phosphorylierung von Glucose zu Glucose-6-Phosphat; Glucose-sensor
MODY 3	Hepatic Nuclear Factor 1 alpha	HNF-1 α	12q24.2	20-50%	Transkriptionsfaktor, Regulation der Expression des Insulingens
MODY 4	Insulin-Promotor-Factor-1	IPF-1	12q12.1	selten	Transkriptionsfaktor; Regulation der Expression von Insulin, Glut2, GCK; Suppression von Glukagongen
	Pancreatic duodenum-homeobox-1	PDX-1			
MODY 5	Hepatic Nuclear Factor 1 beta	HNF-1 β /TCF2	17cen-q21.3	Ca. 5%	Transkriptionsfaktor; Niere: Transkriptionsfaktor: Regulation Nephroentwicklung
MODY 6	Neurogenic differentiation factor	NeuroD1	2q32	sehr selten	Transkriptionsfaktor: Regulation der Transkription des Insulingens
MODY 7	Krüppel-like factor 11	KLF 11	2p25	sehr selten	Transkriptionsfaktor: Regulation der Transkription des Insulingens und IPF
MODY 8	Carboxylesterlypase	CEL	9q34	sehr selten	Keine Funktion in der Betazelle; Verminderte Bildung von Carboxylesterlipase in Azinuszelle
MODY 9	Paired box 4	PAX4	7q32	sehr selten	Transkriptionsfaktor: Regulation der Expression von IPF1 und NKX6.1.
MODY 10	Insulingen	INS	11p15.5	sehr selten	Insulingen
MODY 11	Tyrosin Kinase	BLK	8p23-p22	< 1%	Förderung der Insulinsynthese und –sekretion; Regulation der Transkriptionsfaktoren PDX1 und NKX6.1.
MODY X	unbekannt			ca. 11%	

Tabelle 1: Genetische Merkmale der unterschiedlichen MODY-Typen bei Heterozygotie (45,55-60,64).

Die in Abbildung 1 dargestellten Prozentsätze basieren auf über 1.000 Verweise des Exeter-Labors für genetische Tests für MODY (57). MODY X steht für Patienten mit einer klaren klinischen Diagnose eines MODY, ohne eine nachweisbare Mutation in einem der bekannten Gene. Den elf MODY-Formen liegen Mutationen in Genen zugrunde, die für die Insulinsekretion von Bedeutung sind (Tab. 1). Die häufigsten Mutationen kommen in dem Glucosesensorenzym Glucokinase oder in spezifischen Transkriptionsfaktoren vor. Diese sind in der Betazelle für die Insulinsekretion sowie die Transkription von Genen für Glukosetransport und -metabolismus bedeutsam (Abb. 2).

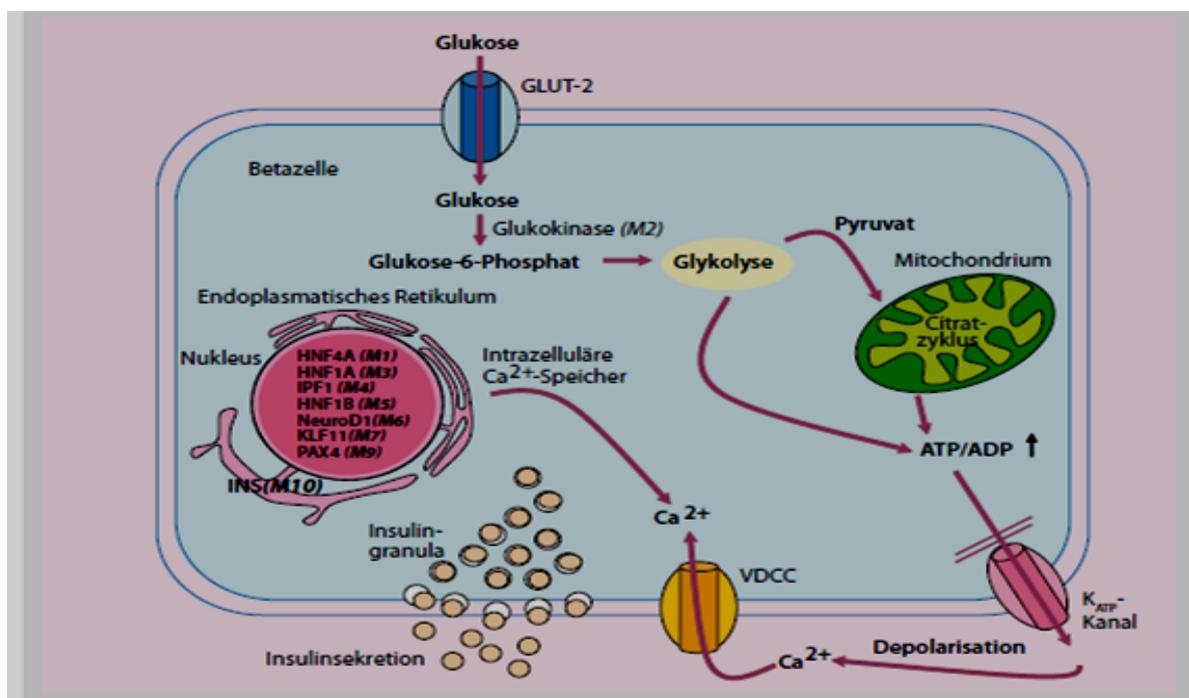


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Regulation der Insulinsekretion der pankreatischen Betazelle und Lokalisation der MODY-auslösenden Genmutationen (45,51).

Glucose wird von einem spezifischen Glucose-Transporter-Protein (GLUT-2) in die Betazelle des Pankreas transportiert. Das Enzym Glucokinase (assoziiert mit MODY 2) katalysiert den Transfer von Phosphat aus ATP zur Bildung von Glucose-6-Phosphat. Die Glucokinase hat eine niedrige Affinität zum Substrat Glucose und zeigt eine kooperative Reaktionskinetik ohne Endprodukthemmung. Damit fungiert die Glucokinase in der Beta-Zellen als Glucosesensor (65). Die nachfolgende Erzeugung von ATP durch Glykolyse und den Citratzyklus führt zu einem Verschluss der ATP-sensitiven Kalium-Kanäle. Dieser folgt die Depolarisation der Plasmamembran und die Öffnung spannungsabhängigen Calcium-Kanäle. Der Einstrom von extrazellulä-

rem Calcium und die Mobilisation von Calcium aus intrazellulären Speichern triggert die Verschmelzung der insulinhaltigen Sekretgranula mit der Plasmamembran und führt zu einer Freisetzung von Insulin in den Blutkreislauf. Eine Mutation in einem der Allele des Glucokinase-Gens (MODY 2) ruft eine Reduktion der Glucosesensorfunktion hervor, welche zu einer verminderten Insulinsekretion führt. Die MODY-assoziierten Transkriptionsfaktoren HNF-4 α (MODY 1), HNF-1 α (MODY 3), IPF-1 (MODY 4), HNF-1 β (MODY 5), NeuroD1 bzw. BETA2 (MODY 6), KLF11 (MODY 7) und PAX4 (MODY9) entfalten ihre Funktionen im Kern der Betazellen und regulieren unter anderem die Transkription des Insulin-Gens (Abb. 2) (51).

1.3. Relevanz des MODY-Diabetes in einer diabetologischen Praxis

Bei Vorliegen bestimmter klinischer und anamnestischer Kriterien für einen MODY-Diabetes (siehe Kapitel 1.4.) sollte eine gezielte molekulargenetische Untersuchung erfolgen. Die Diagnose MODY kann entscheidende therapeutische und prognostische Konsequenzen für den Patienten haben. Bei Patienten mit der Diagnose MODY-Diabetes sollte in der Regel auch eine Untersuchung von direkten Familienangehörigen über einen dGC oder eine Blutglucosebestimmung erfolgen. Bei veränderten Werten empfiehlt sich eine weiterführende genetische Abklärung. Bei unklaren Veränderungen kann eine Segregationsanalyse sowohl bei gesunden als auch bei erkrankten Angehörigen in der Familie durchgeführt werden. Eine frühe Erstdiagnose und ein niedriger BMI können klinische Hinweise für einen MODY-Diabetes darstellen (62). Der Diabetologe kann durch eine genaue Dokumentation der Familienanamnese, Erstdiagnose eines Diabetes und das Festhalten des BMI-Indexes eine rechtzeitige Diagnose der MODY-Form des Diabetes ermöglichen. Durch eine anschließende molekulargenetische Untersuchung kann dann schon in einem frühen Stadium eine MODY-Diagnose gesichert werden. Die zusätzliche Durchführung einer Stammbaumanalyse im Rahmen einer genetischen Beratung durch einen Facharzt für Humangenetik könnte gegenüber der klinisch erfassten Familienanamnese von Vorteil sein (66). Patienten mit einem MODY 2-Diabetes haben von Geburt aus eine mäßige, nicht progrediente Hyperglykämie. Mikrovaskuläre Spätkomplikationen im Sinne einer diabetischen Retinopathie oder einer diabetogenen Glomerulonephritis sind selten, eine medikamentöse Therapie ist zumeist nicht erforderlich (67,68). Es sind allerdings bestimmte Lebensumstände zu berücksichtigen. Obwohl heterozygote Glucokinase-Genmutationen einen relativ milden Phänotyp aufweisen (69), sollten

Schwangerschaftsdiabetikerinnen regelmäßige Blutglucose-Tests, Kontrolluntersuchungen und eine angepasste Ernährung vornehmen, um ein optimales individuelles Ergebnis zu erzielen. Zur Behandlung von Schwangerschaftsdiabetes ist eine Insulintherapie anzustreben, orale Antidiabetika sind während der Organogenese des Fetus/Embryos zu vermeiden (70,71). Das fetale Wachstum bedarf bei Gestationsdiabetes besonderer Aufmerksamkeit. Kinder von Frauen mit Glucokinase-Mutationen sind einem erhöhten Risiko von Makrosomien und deren Geburtsfolgen ausgesetzt. Das Geburtsgewicht wird überwiegend vom Genotyp und dem Auftreten mütterlicher Hyperglykämien bestimmt. Die Vererbung einer Glucokinase-Mutation auf den Fetus hat ein reduziertes mittleres Geburtsgewicht zur Folge (72). Dies zeigt den großen Einfluss einer fetalen Glucokinase-Mutation auf die Insulinsekretion des Feten und die gleichzeitige Schwierigkeit, auf mütterlicher Seite eine Hyperglykämie einzustellen. Fetales Insulin als Antwort auf erhöhte mütterliche Glucosekonzentrationen spielt eine wichtige Rolle für das Wachstum des Feten. Eine Hyperglykämie bei Frauen mit Glucokinase-Mutationen hat ein erhöhtes mittleres Geburtsgewicht zur Folge (73-75), wenn der Fetus die Mutation nicht trägt. Patienten mit einer Mutation in den Genen, die für die Transkriptionsfaktoren, HNF-1 α und HNF-4 α kodieren, haben ein progredientes Versagen der Beta-Zellfunktion mit deutlich reduzierter Insulinsekretion zur Folge. Dies wiederum führt zu Hyperglykämien und erfordert zumeist eine medikamentöse Therapie. Beide Gruppen (MODY 1 und MODY 3) haben ein erhöhtes Risiko, mikrovaskuläre Schäden zu entwickeln. Bei MODY 1 und insbesondere MODY 3 sprechen die Betazellen zunächst gut auf Sulfonylharnstoffe an. Sulfonylharnstoffe binden an eine Untereinheit des ATP-sensitiven Kalium-Kanals und verschließen diesen. Bei progredient nachlassender Insulinproduktion ist eine Insulintherapie anzustreben. Patienten mit Mutationen im HNF-1 α -Gen weisen phänotypisch eine niedrige Schwelle für die renale Glucosurie auf, während bei HNF-4 α -Mutationen niedrige Lipid- und Lipoproteinwerte gefunden wurden (76). Eine molekulargenetische Untersuchung ermöglicht eine Bestätigung der klinischen MODY-Diagnose und unterstützt dabei den behandelnden Arzt in der Behandlungsstrategie und verbessert die Prognose der Erkrankung (67,77). Neuere Untersuchungen haben gezeigt, dass bei Mutationen des HNF-4 α -Gens neonatale Hypoglykämien mit Hyperinsulinämien in Verbindung mit Makrosomien auftreten. Die Makrosomie bei Kindern von Frauen mit Diabetes resultiert aus einer kindlichen Hyperinsulinämie (78-80). Makrosomie-Säuglinge mit einer transienten oder persistenten hyperinsulinämischen Hypoglykämie

mie, bei denen in der Familienanamnese eine MODY-Mutation vorkommt, sollten auf eine HNF-4 α -Mutation hin untersucht werden (81). Auch ohne familiäre Hinweise empfiehlt sich bei Vorhandensein klinischer Merkmale mit Verdacht auf einen MODY-Diabetes eine weiterführende genetische Untersuchung (79,82).

1.4. Richtlinien zur molekulargenetischen Analyse

Die „Arbeitsgemeinschaft Molekularbiologie und Genetik der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG)“ (83) empfiehlt eine molekulargenetische Untersuchung zur MODY-Abklärung (MODY 1, 2, 3, 4, 5, 6) wenn folgende Indikationskriterien gegeben sind:

1. Diabetes mellitus nach den ADA-Kriterien (American Diabetes Association) 1997 oder ein Gestationsdiabetes in mindestens 2 Generationen einer Familie.
2. Manifestation beim Indexfall vor dem 35. Lebensjahr.
3. GAD-negative Antikörper.
4. BMI unter 30.

1.5. Fragestellung der Dissertation

Bei der Suche nach der Ursache für den Typ-2-Diabetes kam dem MODY-Diabetes im Laufe der letzten drei Jahrzehnte eine besondere Bedeutung als genetisch determinierter Diabetes zu. MODY wurde anhand der klinischen und anamnestischen Merkmale als Entität beschrieben, bevor man die Erkrankung molekulargenetisch abklären konnte (47,84). Der Typ-2-Diabetes ist klinisch wie genetisch heterogen. Dem gegenüber steht ein klarer Vererbungsmodus des MODY-Diabetes mit seiner hohen Penetranz, einer frühen Manifestation und der zumeist milden Verlaufsform.

Es ist daher das Ziel dieser Studie

- (1) in einer unselektierten Diabetes-Patientengruppe einer diabetologischen Praxis anhand anamnestisch und klinisch festgelegter Merkmale (BMI, Erstdiagnose, Familienanamnese, siehe Punkt 2.2.1.) nach Mutationen in den Genen HNF-4 α (MODY 1), GCK (MODY 2) und HNF-1 α (MODY 3) zu suchen
- (2) eine phänotypische Charakterisierung von identifizierten MODY-Fälle durchzuführen.

- (3) retrospektiv durch die Modulation/Änderung der von uns festgelegten klinische Parameter (siehe Punkt 2.2.1.) zu klären, wie die entsprechenden Indikationskriterien gewählt/angepasst werden können, damit in dem untersuchten Patientenkollektiv eine annähernd 10%-ige Mutationsfrequenz bezüglich des MODY erreicht wird. Diese Simulationen sollen jede Ebene (A bis C) der von uns angesetzten Indikationskriterien erfassen.
- (4) dem praktizierenden Diabetologen zu helfen, im klinischen Alltag Patienten mit Verdacht auf einen MODY-Diabetes zu identifizieren und eine vereinfachte zielgerichtete Diagnostik für MODY 1, 2 oder 3 einzuleiten.

2. Patienten, Material und Methoden

2.1. Patientenauswahl

Das Patientengut stammt aus einer südwestfälischen diabetologischen Gemeinschaftspraxis. Die Auswahl der Patienten wurde an einem Standort durchgeführt, welche durch eine VPN (Virtual Private Network)-Vernetzung über einen in der Gemeinschaftspraxis gemeinsamen Zugriff auf alle Patienten mit einer Diabetes-Diagnose ermöglichte.

2.1.1. Datenerfassung aus der elektronischen Karteiführung

In der Gemeinschaftspraxis wurden seit 1997 alle Patientendaten elektronisch (DOC-Concept, Bamberg, Deutschland) verwaltet. Daten für alle vor 1997 betreuten Diabetes-Patienten konnten aus handgeführten Karteikarten gewonnen werden. Nach Rücksprache mit dem technischen Dienst des DOC-Concept Programmes wurde ein Suchauftrag für alle Patienten mit der Diagnose Diabetes veranlasst. Die Suchfunktion war über folgende Fenster des Programmes möglich:

Statistik->KB-Info->Krankenblattübersicht->Rubrik->

1. DD-Dauerdiagnose
2. Diagnose
3. Langtext: Diab

Exportieren der Daten in einer Excel-Tabelle:

Die Suchfunktion ergab eine Excel-Tabelle mit 6.683 Patienten-Einträgen, jeweils in Zeilen geordnet, wobei folgende Daten in den Spalten ausgeworfen wurden:

Name, Vorname, Geburtsdatum, Datum, Langtext (Diagnose), Anzahl, Betrag, CKuerzel, cbsnr, clanr, cbezkkasse. Aus der Tabelle wurden wegen fehlender Relevanz folgende Spalten entfernt: Anzahl, Betrag, cbsnr, clanr, cbezkkasse. Zusätzliche Spalten wurden der Tabelle hinzugefügt. Diese enthielten folgende Parameter: Id. Nr. (elektronische Zuordnungsnummer), Gewicht, Größe, BMI (kg/m^2), Blutdruck (mm/HG), Raucher: Ja/Nein, Arterielle Hypertonie, Fettstoffwechselstörung, KHK, AVK, Schlaganfall, Chronische Herzinsuffizienz, Asthma Bronchiale, COPD, keine Erkrankungen, Serum-Kreatinin (mg/dl), Familienanamnese, Erstdiagnose, Alter bei Erstdiagnose, Geschlecht, HbA1c-Wert, Datum HbA1c-Wert, OGT/dynamischer Glu-

cose-Clamp (Glucose nüchtern/Glucose nach 60 min), Insulin nüchtern/Insulin nach 60 min, Tel. Nummer, Gentest (Ja/Nein), DNA-Nummer. Aus der Tabelle wurden die Doppelnennungen entfernt, ebenso wie alle Patienteneinträge mit einer Diabetes-Typ-1 Diagnose. Verwertet wurden zur Datenerfassung 2.772 Einträge mit einer Diabetes-Typ-2 Erkrankung oder mit einer „Verdacht auf Diabetes“-Diagnose.

2.1.2. Erfassung klinischer Parameter

Zuerst wurden die handgeführten Karteikarten ausgewertet und aus dem DIN A4-Bogen „Erst-Dokumentation Diabetes mellitus Typ-2“ die Parameter zur Erstdiagnose in der Excel-Tabelle eingetragen. Aus dem Bogen wurden folgende relevante Parameter in die Tabelle eingetragen: Diagnose (Jahr), Körpergröße, Körpergewicht, Anamnese, Blutdruck, HbA1c-Wert und Serum-Kreatinin. Der Bogen „Erst-Dokumentation Diabetes mellitus Typ-2“ enthielt ebenfalls Parameter zu Art der Blutzuckermessung, Krankenkasse, Arzt, relevante Ereignisse, aktuelle Medikation, Schulungen und Behandlungsplanung und vereinbarte Ziele. War in der Karteikarte der Bogen nicht vorhanden, wurde nach dem e-DMP-Bogen im DOC-Concept gesucht, wobei hier die Ersteinschreibung berücksichtigt wurde. Hat sowohl der Ersteinschreibungsbogen als auch die Ersteinschreibung im e-DMP Bogen gefehlt, erfolgte eine telefonische Kontaktaufnahme mit dem Patienten mit den Zielfragen nach Datum der Erstdiagnose, Körpergröße und Körpergewicht bei der Erstdiagnose, sowie der Anamnese und Familienanamnese. Die Familienanamnese wurde meistens als freier Text in der Karteikarte und in der elektronischen Karteiführung vermerkt, da ein standardisierter Bogen oder eine bestimmte Stelle im Programm oder in der Karteikarte für Familienanamnese fehlte. Im DMP-Formular waren in sieben „Fenstern“ folgende Patienteninformationen aufgelistet: Administrative Daten, Anamnese und Befunddaten, Relevante Ereignisse, Medikamente, Schulung, Behandlungsplanung. Der DMP-Bogen wurde sowohl bei der Ersteinschreibung, sowie bei jeder sogenannten „Recall-Sitzung“ (vierteljährliche Untersuchung) ausgefüllt. Aus der Unterteilung „Anamnese und Befunddaten“, „Relevante Ereignisse“, wurden folgende Parameter in die Excel-Tabelle aufgenommen: Körpergröße (m), Körpergewicht (kg), Blutdruck (mm/Hg), arterielle Hypertonie, Fettstoffwechselstörung, KHK, AVK, Schlaganfall, Chronische Herzinsuffizienz, Asthma bronchiale, COPD, keine erkannten Erkrankungen, Serum-Kreatinin (mg/dl), HbA1c-Wert. Die restlichen Parameter wurden aus den

Labordaten aufgenommen, die ebenfalls in elektronischer Form im DOC-Concept gespeichert waren, wobei die Werte chronologisch und alphabetisch geordnet wurden.

2.2. Studienteilnahme

Alle Patienten mit einer endgültigen Diagnose des Diabetes mellitus Typ-2 oder Schwangerschaftsdiabetes wurden nach der Erstdiagnose, BMI-Wert bei der Erstdiagnose und Familienanamnese selektiert. Drei Patienten mit Diabetes Typ-1 ohne Autoantikörper wurden ebenfalls in die Studie aufgenommen. Es wurden alle Patienten, die zum Zeitpunkt der Erhebung unter 70 Jahre alt waren in Betracht gezogen (ausgenommen zwei Patienten¹).

2.2.1. Klinische Merkmale

Entsprechend den „Empfehlungen zur molekulargenetischen Diagnostik bei Verdacht auf MODY“, die von der „Arbeitsgemeinschaft Molekularbiologie und Genetik der Deutschen Diabetes-Gesellschaft (DDG)“ empfohlen sind (83) und den aktuell veröffentlichten Studien (31,52), wurden die klinischen Parameter als Voraussetzung für eine molekulargenetische MODY-Untersuchung festgelegt. Diabetespatienten (Diabetes Typ-1, Diabetes Typ-2 und Schwangerschaftsdiabetes) bei welchen nicht mehr als ein Autoantikörper (GAD-Ak, IA2-, Insulin-Ak, Inselzell-Ak) nachgewiesen wurde, sollten mit Verdacht auf erblichen Diabetes weiter nach folgenden Kriterien untersucht werden:

- A.** Krankheitsbeginn unter 26 Jahren ($ED \leq 26$).
- B.** Krankheitsbeginn zwischen 26 und 36 Jahren, zusätzlich ein schlanker Habitus ($BMI \leq 26$) oder ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt.
- C.** Krankheitsbeginn egal, schlanker Habitus ($BMI \leq 26$), zusätzlich ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt (Typ-1-Diabetes oder Typ-2-Diabetes).

¹ Altersgrenze wurde nach Beginn der Studie festgelegt

2.2.2. Eintrag im Recallsystem

Waren die obengenannten Voraussetzungen für einen Verdacht auf einen erblichen Diabetes erfüllt, erfolgte die Kontaktaufnahme und Aufklärung über eine medizinische Indikation der genetischen Untersuchung bei allen ausgewählten Patienten. Die Patientendaten wurden in einem für diesen Zweck entworfenen Auftrags-Bogen: Auftrag Gentest „erblicher Diabetes (MODY)“ (Formular ist unter Punkt 7 dargestellt) eingetragen. Dieser wurde vor der Blutentnahme vollständig ausgefüllt und an das Labor zusammen mit der EDTA-Blutprobe geschickt.

2.2.3. Patientenaufklärung und Einbestellung

Die Probanden wurden über die für die weiteren Untersuchungen und Auswertungen notwendige einmalige venöse Blutentnahme ordnungsgemäß aufgeklärt, wobei jedem Patienten eine bewusst freiwillige Entscheidung für die Blutentnahme und die nachfolgende Auswertung zugrunde lag.

2.2.4. Auftrag für die genetische Untersuchung

Die Blutentnahme erfolgte aus einer der Venen der Ellbeuge (V. Cephalica, V. mediana cubiti, V. basilica) oder in seltenen Fällen aus oberflächlichen Venen des Handrückens. Die Blutentnahme erfolgte in den ersten vier Wochen in 2 x 2ml-EDTA Röhrchen und wurde danach auf 1x9ml EDTA Röhrchen (Sarstedt Monovette) umgestellt. Dabei wurde das entnommene Blut für 10 Minuten zentrifugiert (3000 U/min), und 1ml gewonnenes Serum zusätzlich in ein Kryoröhrchen abgefüllt. Die EDTA- und Kryoröhrchen wurden anschließend mit Name und Geburtsdatum des Patienten gekennzeichnet. Dabei wurde das entnommene venöse Blut nach Möglichkeit am selben Tag, spätestens aber am darauffolgenden Werktag an das Labor per Post geschickt.

2.3. Material und Methoden

2.3.1. Der „dynamische Glucose-Clamp“ (dGC)

In der Praxis wurde eine Methode weiterentwickelt und angewendet, mit der eine diabetologische Stoffwechselstörung in einem frühen Stadium der Erkrankung identifizierbar ist (85-87). Dabei wurde nicht nur der prä- und postprandiale Blutglucosewert erhoben, sondern gleichzeitig der Nüchterninsulinwert und der Insulinwert postprandial bestimmt, um Rückschlüsse über die Insulin-Eigenproduktion der Bauchspeicheldrüse und eine Insulinresistenz ziehen zu können.

Bei der dGC-Untersuchung kann das Ergebnis wie folgt eingeteilt werden:

- 1) normaler Blutzucker nüchtern wie postprandial bei normalen Insulinen nüchtern wie postprandial = kein Diabetes
- 2) normaler Blutzucker nüchtern wie postprandial bei normalem Nüchtern-Insulin aber erhöhtem postprandialem Insulin = Insulinresistenz (erhöhter Insulinbedarf)
- 3) normaler Blutzucker nüchtern und erhöhter postprandialer Blutzucker bei normalem Nüchtern-Insulin aber erhöhtem postprandialem Insulin = Insulinresistenz (fortgeschrittener Zustand, Beginn einer Betazellbelastung)
- 4) erhöhter Blutzucker nüchtern und erhöhter postprandialer Blutzucker bei erhöhtem Nüchtern-Insulin und erhöhtem postprandialem Insulin = Insulinresistenz (Betazellbelastung, Übergang zum Insulindefizit/ Diabetes mellitus)
- 5) erhöhter Blutzucker nüchtern und stark erhöhter postprandialer Blutzucker bei erniedrigten Insulin-Spiegeln = Insulindefizit (Betazellfunktionsverlust, Diabetes mellitus)

Patienten mit unauffälligen Glucosewerten aber erhöhten Insulinwerten haben eine Insulinresistenz und damit das Risiko einen Diabetes mellitus zu entwickeln. Damit wird es möglich, sowohl bei übergewichtigen Normalpatienten als auch bei Kindern und Schwangeren über die objektive Insulinkonzentration im Blut eine sichere Insulinresistenz (IRS)-Diagnose zu stellen. Die Insulinresistenz stellt bereits einen eigenen Risikofaktor für die Entstehung einer Arteriosklerose mit den Folgen eines akuten Myokardinfarkts oder Schlaganfalls dar (87). Eine Insulinresistenz ist gekennzeichnet durch Normoglykämie, die unterhalten wird durch eine Hyperinsulinämie (88). Die Insulinresistenz mündet als chronisch-progrediente Stoffwechselstörung häufig in einen Typ-2-Diabetes. Da diese Stoffwechselstörung oftmals lange vor der

Manifestation eines Diabetes besteht, leiden betroffene Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung häufig bereits an mikro- oder makrovaskuläre Komplikationen (89). Eine erste Studie weist darauf hin, dass der dynamische Glucose-Clamp (dGC) als Frühdiagnose eines Typ-2 Diabetes zu einer deutlichen Verbesserung der CVD-Prognose führt und Erblindungen, Amputationen und Dialysepflichtigkeit verhindern kann (85). Bei dem dGC werden zuerst nüchtern der Glucosewert und der Insulinwert bestimmt. Der Patient wird aufgeklärt, über Nacht vor dem Test nüchtern zu bleiben bzw. zwölf Stunden vor dem Test nichts mehr zu essen. Auf eine etwaige Insulineinnahme vor oder während des Frühstücks wird verzichtet. Mit Ausnahme von Glitazonen (z.B. Actos, ein Pioglitazon) werden alle Blutzuckermedikamente am Vorabend ausgesetzt. Der Patient bekommt ein genau berechnetes Frühstück mit 80g Weißbrot, 25g Marmelade, 2 Scheiben Käse, 25g Butter und 1-2 Tassen Kaffee (ohne Milch). Dieses enthält zusammengenommen 80g Kohlenhydrate, 20 g Fett und 20g Eiweiß. Nach dem Frühstück wartet der Patient eine Stunde, dann wird erneut venöses Blut abgenommen in dem Glucose und Insulin bestimmt werden.

2.3.2. Molekulargenetische Untersuchung

Aus Blutproben wurde die genomische DNA unter Verwendung des Puregene Kit nach SOP_M_genome DNA-Puregene oder einer gleichwertigen in Haus Methode extrahiert. Anschließend wurden die Exonbereiche, zusammen mit den 5`- und 3`-flankierenden Intronbereichen der zu untersuchenden Gene - in der Regel mindestens 20 Basenpaare - mit Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert. Dann erfolgte mittels einzelsträngiger Sequenzierung die Untersuchung auf Vorhandensein von Sequenzvariationen. Zur Detektion größerer ein oder mehrere Exons umspannender Duplikationen/Insertionen oder Deletionen wurde zusätzlich eine Multi Ligation Probe Assay-Analyse (MLPA) durchgeführt. Mithilfe beider Analysen wurden alle von den bisher publizierten Referenz-Sequenzen abweichende Einzelbasenaustausche und Sequenzbereiche erfasst und anschließend auf ihren Zusammenhang mit Diabetes-Erkrankungen oder der genetischer Prädispositionen hin ausgewertet.

2.3.3. Laborbericht

Die Laboranalysen wurden in einem detaillierten Bericht zusammengefasst, der neben probenspezifischen Daten keine personenbezogenen Informationen umfasst. Zusätzlich wurde ein zusammenfassender Befundbericht mit personenbezogenen Daten, der die Analyseergebnisse in den medizinischen Kontext setzte, erstellt.

Der erhaltene Laborbericht enthielt folgende Angaben:

1. Bezeichnung der Untersuchung (Komplett-Sequenzierung und MLPA Analyse)
2. Bezeichnung der Probe durch die laborinterne Probennummer
3. Datum der Blutabnahme
4. Datum Eingang Labor
5. Untersuchungsergebnis und dessen biomedizinische Interpretation
6. Die festgestellten Abweichungen der Sequenzanalysen von der Referenzsequenz („variants“)
7. Bei MLPA-Analysen jede Abweichung von der erwarteten Peakfläche um mehr als 30%
8. Diskussion der möglichen Krankheitsassoziationen der in 6. und 7. genannten Abweichungen sofern sie keine Polymorphismen darstellten.

Gennomenklatur

Für die Nomenklatur von Abweichungen im Vergleich zur Referenzsequenz wurden die Richtlinien der Human Genome Variation Society HGVS (90) übernommen. Berücksichtigt wurden die allgemeinen Empfehlungen sowie die Kennzeichnungsvorgaben für DNA und Proteine. In den Laborberichten wurden die Namen der untersuchten Gene entsprechend der genspezifischen SOP genannt (Tab. 2).

Approved Gene Name	Hauptsymbol	Synonym 1	Synonym 2
Hepatocyte Nuclear Factor 4, alpha	HNF-4 α	MODY 1	TCF14
Glucokinase (Hexokinase4)	GCK	MODY 2	
HNF1 homebox A	HNF-1 α	MODY 3	TCF1
HNF2 homebox B	HNF-1 β	MODY 5	TCF2

Tabelle 2: Gennomenklatur nach HGVS

Interpretation der Analyseergebnisse

Die Interpretation der Untersuchungsergebnisse durch das Labor erfolgte vor dem Hintergrund der angefragten Analyse, der Ergebnisse der Probeneingangskontrolle, der Plausibilitätsprüfung der Laborergebnisse, ihrer technischen Validierung sowie der verfügbaren wissenschaftlichen Literatur. Sie bezog sich im Wesentlichen auf die Bewertung von gefundenen Sequenzabweichungen der untersuchten Gene, sowie deren mögliche Relevanz für das Auftreten einer Erkrankung.

Literaturrecherche

Zur Interpretation gefundener Mutationen wurde unter Verwendung der gängigen Genbezeichnung und der üblichen Nomenklatur eine Recherche bei Google und „PubMed“ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) durchgeführt und auf der Checkliste unter „Bewertung“ vermerkt. Anschließend wurde nach einem Eintrag in öffentlich zugänglichen Datenbanken gesucht. Auflistungen von LSDBs (Locus Specific Data Bases) wurden aus folgenden Seiten entnommen:

-HGMD (Cardiff) - http://www.hgmd.cf.ac.uk/docs/oth_mut.html

-HGVS – <http://www.hgvs.org/dblist/dblist.html>

In den jeweiligen genspezifischen SOPs wurden relevante Daten für die untersuchten Gene genannt und auf der Checkliste unter „Bewertung“ eingetragen.

Angabe der im Laborbericht verwendeten Literatur

Zitate wurden aus „PubMed“ entnommen. Für die biomedizinische Bewertung, Interpretation und Angabe der Laborergebnisse im Laborbericht galten die folgenden Vorgaben:

- Ist eine Mutation in der Literatur nicht beschrieben, wurde sie als „Unknown Variant“ (UV) bewertet.
- Ist die Mutation beschrieben, ihre Auswirkungen jedoch nicht klar, wurde die Mutation mit „Unknown Significance“ bewertet und die gefundene Literatur diskutiert.
- Ist die Mutation und deren Auswirkung beschrieben, wird die Interpretation aus der Literatur übernommen, dabei aber kritisch überprüft.

Erstellung der Laborberichte

Die Laborberichte wurden mit Hilfe des Programms SeqPilot (Kippenheim, Deutschland) generiert. Durch das vorgegebene Layout des Berichts ist sichergestellt, dass alle wichtigen Angaben enthalten sind. Die Bewertung einer Abweichung wird als Text (external info) an der Position der Abweichung gespeichert und automatisch in den Bericht eingefügt. Bei den MLPA-Analysen wurden die untersuchten Gene und Exons aufgelistet und die Peakflächen graphisch den Kontrollgruppen gegenübergestellt. Prüfung und Freigabe des Laborberichtes erfolgten durch den ärztlichen Leiter des Labors oder einen qualifizierten wissenschaftlichen Mitarbeiter (91).

Archivierung von Laborberichten und Analysedaten

Alle relevanten Befunde und Unterlagen werden mindestens für die nach Berufsrecht vorgeschriebene Dauer von zehn Jahren nach Abschluss der Analyse aufbewahrt.

2.3.4. Segregationsanalyse

Bei abklärungsbedürftigen identifizierten Sequenzveränderungen wurde eine Segregationsanalyse durchgeführt. Ziel einer Segregationsanalyse ist es, aufgrund der in der Familie genetisch diagnostizierten Veränderungen einen möglichen Vererbungsgang zu identifizieren. Dabei werden sowohl kranke als auch gesunde Verwandte des Patienten mit der identifizierten Veränderung untersucht. In unserer Untersuchung wurden die Patienten zuerst auf eine diabetische Stoffwechselstörung hin untersucht. Mit Hilfe des dGC wurden die Insulin- und Glucosekonzentrationen nüchtern und postprandial sowie der HbA1c-Wert bestimmt. Die Einwilligung des Patienten (siehe 7.4.2.), Blutentnahme und Versand der Blutprobe geschah analog zu einer molekulargenetischen Untersuchung, mit dem Unterschied, dass die molekulargenetische Untersuchung sich auf die jeweilig zu identifizierende Mutation beschränkte.

3. Ergebnisse

3.1. Klinische Präsentation der Patienten

Insgesamt wurden 2.772 Patienten, 1.435 (51,76 %) Männer und 1.337 (48,23%) Frauen, in die Studie aufgenommen (Abb. 3a). Von den 2.772 untersuchten Patienten bestand bei 855 (30,84%) ein „Verdacht auf Diabetes“, bei 1.917 (69,15%) Patienten bestand die Diagnose „Diabetes“. Die 855 Patienten mit „Verdacht auf Diabetes“ wurden nicht weiter für die genetische Präselektion in Betracht gezogen (Abb 3b).

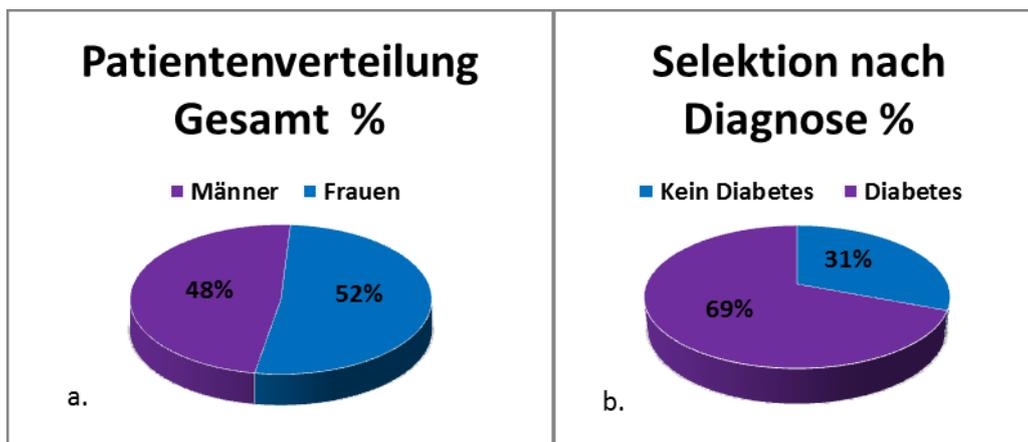


Abbildung 3 (a, b): Verteilung der Gesamtpatienten nach Geschlecht und Diabetes/nicht Diabetes

Von den 1.917 Probanden mit Diabetesdiagnose waren 41 verstorben (24 Männer, 17 Frauen). Von den 1.876 zum Untersuchungszeitpunkt lebenden Patienten haben 1.842 (98,18%) Diabetes-Typ-2, 31 Gestationsdiabetes (1,65 %) und 3 (0,15%) Diabetes-Typ-1 ohne Antikörper (GAD, IA2, Insulin, Inselzell) (Abb. 4a). Die 1.876 untersuchten Patienten wurden dem Alter nach folgendermaßen aufgeteilt (Bezugsdatum war der 21.5.2010) (Abb. 4b):

11 Patienten (0,58%) waren unter 26 Jahre, 59 (3,14%) zwischen 26 Jahre und 36 Jahre, 841 (44,82%) zwischen 37 Jahre und 70 Jahre und 965 (51,27%) über 70 Jahre alt. Für die genetische Untersuchung wurden, bis auf zwei Ausnahmen nur Patienten unter 70 Jahren in Betracht gezogen.

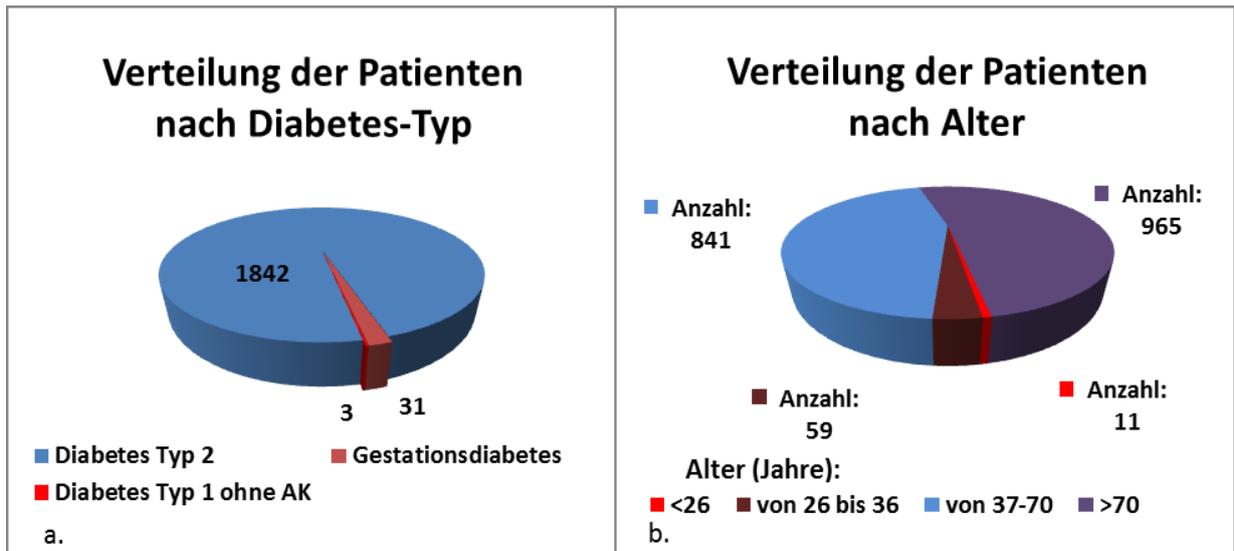


Abbildung 4 (a, b): Selektion der Patienten nach dem Diabetes-Typ und Alter (n=1876)

3.1.1. Beschreibung der 913 Patienten für die MODY-Präselektion

Von den vorselektierten 1.876 Patienten waren 911 Patienten weniger als 70 Jahr alt und konnten somit für die weitere Auswahl in der Studie beibehalten werden. Zwei Patienten wurden zusätzlich aus der Altersgruppe über 70 Jahre in die Studie mit einbezogen (siehe Punkt 3.1.). Insgesamt ergab sich ein verbleibendes Patientenkollektiv von 913 Patienten, 496 (54,32%) Männer und 417 (45,67%) Frauen (Abb. 5a). Für die Diabetes-Diagnose wurden 304 Patienten zusätzlich mit dem dGC auf Diabetes untersucht (Abb. 5b).

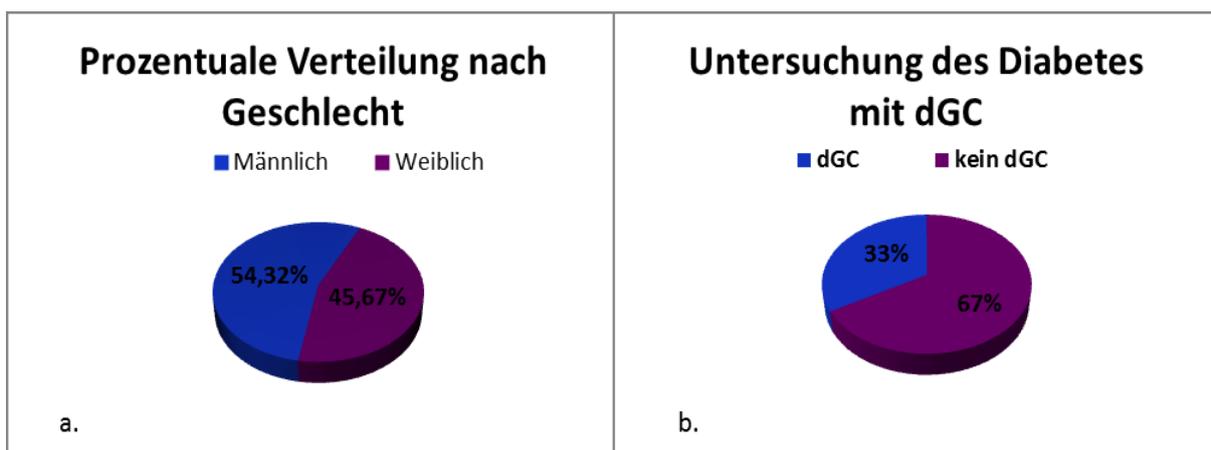


Abbildung 5 (a, b): Verteilung der 913 Patienten nach Geschlecht und Diagnosestellung mit dem dGC

Dem Alter bei Erstdiagnose Diabetes nach geordnet ergab sich folgende Verteilung der 913 Patienten (Abb. 6a, 6b):

27 Patienten (3%) hatten eine Erstdiagnose im Alter zwischen 11 und 26 Jahren (7 männlich, 20 weiblich).

100 Patienten (11%) hatten eine Erstdiagnose im Alter zwischen 26 und 36 Jahren (36 männlich, 64 weiblich).

Eine Erstdiagnose im Alter von mehr als 36 Jahren hatten 786 Patienten (86%) (453 männlich und 333 weiblich) (Abb. 6).

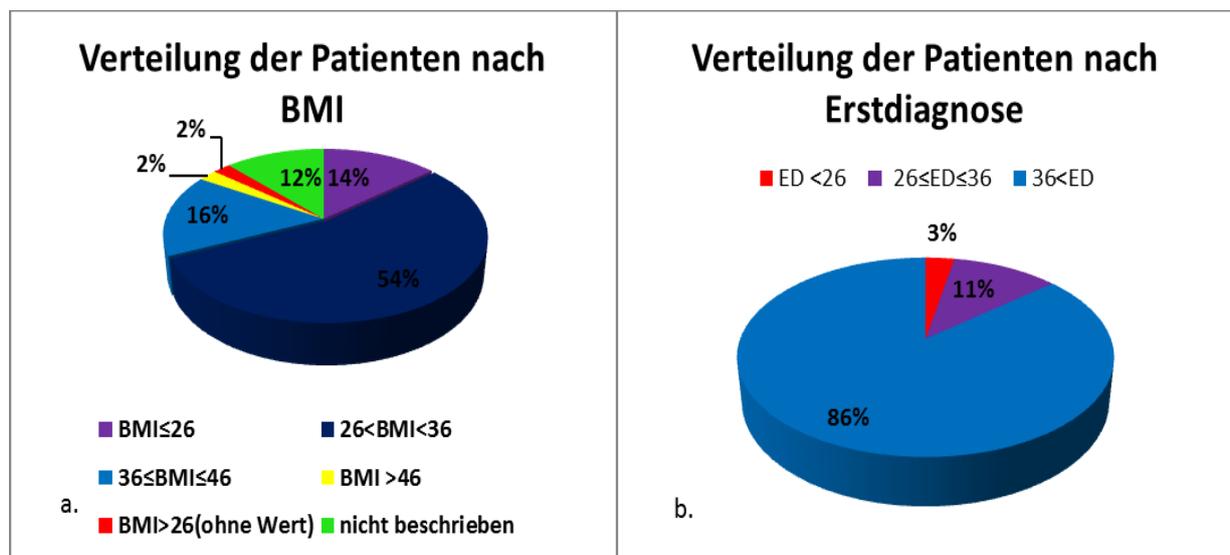


Abbildung 6 (a, b): Prozentuale Verteilung nach BMI und Alter bei Erstdiagnose der 913 untersuchten Patienten

Das aus 913 Personen bestehende Patientenkollektiv wurde nach BMI und Geschlecht verteilt/ausgewertet (Tab. 3):

126 Patienten, 58 männlich und 68 weiblich, hatten einen BMI ≤ 26. Der Mittelwert des BMI-Indexes betrug 24,0 bei Männern und 23,7 bei Frauen, 23,8 gemischt die Mittelabweichung war 1,4.

496 Patienten, davon 286 männlich und 210 weiblich, hatten einen BMI zwischen 26 und 36. Der Mittelwert des BMI-Indexes betrug 30,4 bei Männern und 29,9 bei Frauen, 30,2 gemischt mit einer Mittelabweichung von 2,2.

143 Patienten, 61 männlich und 82 weiblich hatten einen BMI zwischen 36 und 46. Der Mittelwert des BMI-Indexes betrug 39,5 bei Männern und 37,6 bei Frauen, 37,2 gemischt mit einer Mittelabweichung von 11,1.

20 Patienten, davon 6 männlich und 14 weiblich hatten einen BMI grösser als 46. Der Mittelwert des BMI-Indexes betrug 49,0 bei Männern und 49,4 bei Frauen, 49,3 gemischt mit einer Mittelabweichung von 2,3.

Bei 19 Patienten wurde ein BMI über 26 dokumentiert jedoch ohne weitere Angaben zu Gewicht und Körpergröße. Bei 109 Patienten war aufgrund fehlender Angaben der BMI nicht berechenbar (Tab. 5). Die Berechnung/Auswertung der Mittelwerte erfolgte mit Office 2010.

BMI-Wert	Patienten Insgesamt	Männlich	Weiblich	Mittelwert BMI Männer	Mittelwert BMI Frauen	Mittelwert ins- gesamt	Abweichung Mittelwert
BMI≤26	126	58	68	24,0	23,7	23,8	1,4
26<BMI<36	496	286	210	30,4	29,9	30,2	2,2
36≤BMI≤46	143	61	82	39,5	37,6	37,2	11,1
BMI >46	20	6	14	49,0	49,4	49,3	2,3
BMI>26 (ohne Wert)	19	11	8				
nicht be- schrieben	109						

Tabelle 3: Verteilung der Patienten nach BMI und Geschlecht

Die erfassten Co-Morbiditäten sind in Tab.4 zusammengefasst und in Abb.7 graphisch dargestellt.

	Ja	Nein	Nicht klassifi- ziert
Raucher	56	536	321
Arterielle Hypertonie	466	161	286
Fettstoffwechselstörung	142	452	319
KHK	55	539	319
AVK	5	588	320
Schlaganfall	6	586	321
Chronische Herzinsuffizienz	2	590	321
Asthma	8	584	321
COPD	35	556	322
Keine Krankheiten	118	508	287

Tabelle 4: Geführte Co-Morbiditäten der 913 untersuchten Probanden

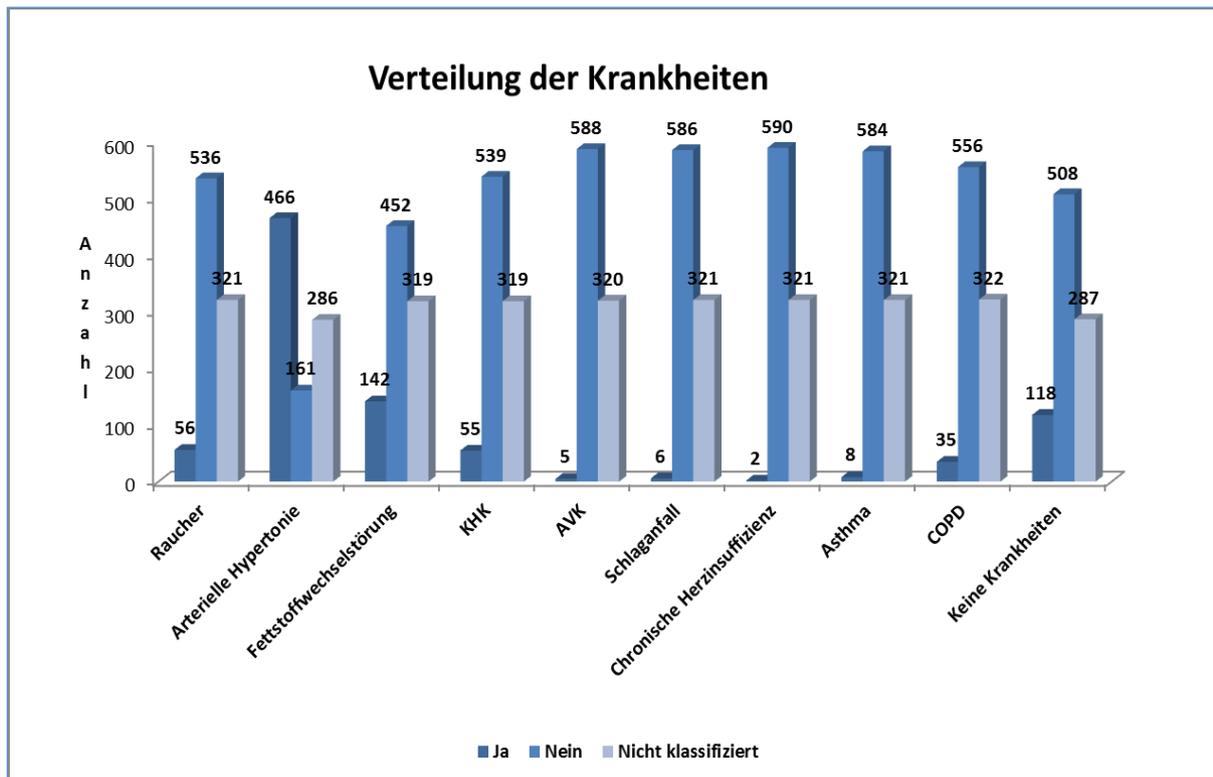


Abbildung 7: Verteilung der Krankheiten (n=913)

3.1.2. Präsentation der präselektierten Patienten mit Verdacht auf MODY

Von dem aus 913 Patienten bestehenden Patientenkollektiv wurden 174 (19,05%) Patienten mit einem „Verdacht auf erblichen Diabetes“ für die genetische Untersuchung vorselektiert. Das untersuchte Patientenkollektiv wurde nach den in 2.2.1 angeführten Indikationskriterien folgendermaßen weiter unterteilt (Tab. 5):

- A.** Krankheitsbeginn unter 26 Jahren ($ED \leq 26$):
30 Patienten (5 männlich, 25 weiblich)
- B.** Krankheitsbeginn zwischen 26 und 36 Jahren ($26 < ED \leq 36$), zusätzlich ein schlanker Habitus ($BMI \leq 26$) oder ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt:
61 Patienten (27 männlich, 34 weiblich)
- C.** Krankheitsbeginn egal, schlanker Habitus ($BMI \leq 26$), zusätzlich ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt (Typ-1-Diabetes oder Typ-2-Diabetes):
46 Patienten (22 männlich, 24 weiblich)

	A		B		C	
Anzahl Gesamt	30		61		46	
(männlich/weiblich)	5	25	27	34	22	24

Tabelle 5: Einteilung der MODY präselektierten Fälle nach Indikationskriterien (Anzahl=137)

137 Patienten erfüllten die von uns festgelegten Indikationskriterien. Die restlichen 37 Patienten erfüllten jeweils nur annähernd die von uns geführten Indikationskriterien, d.h. diese wurden aufgrund fehlender oder mangelnder Information über die Familienanamnese oder einer ungenaueren Übermittlung des Körpergewichts zum Zeitpunkt der Erstdiagnose, für eine molekulargenetische Untersuchung empfohlen. Dabei erfüllten 12 Patienten annähernd die Indikationskriterien der Gruppe **B** mit Abweichung in der Familienanamnese (keine Familienanamnese oder Diabetes kommt in der Familie bei Bruder, Schwester, Großmutter, Großvater, Onkel, Tante, Cousine vor) bzw. BMI und 25 Patienten erfüllten annähernd die Indikationskriterien der Gruppe **C** die ebenfalls Abweichungen in der Familienanamnese (z.B. Diabetes kommt in der Familie bei Bruder, Schwester, Großmutter, Großvater, Onkel, Tante, Cousine) oder BMI ($BMI < 42$).

3.1.3. Präsentation der genetisch untersuchten Probanden

Von den 174 Patienten mit einem Verdacht auf erblichen Diabetes haben 90 die genetische Untersuchung in Anspruch genommen. Das aus 90 Personen bestehende genetisch untersuchte Patientenkollektiv lässt sich nach den Indikationskriterien folgendermaßen unterteilen (Tab. 6):

- A.** Krankheitsbeginn unter 26 Jahren ($ED \leq 26$).
18 Patienten (1 männlich, 17 weiblich)
- B.** Krankheitsbeginn zwischen 26 und 36 Jahren ($26 < ED \leq 36$), zusätzlich ein schlanker Habitus ($BMI \leq 26$) oder ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt:
27 Patienten (9 männlich, 18 weiblich)
- C.** Krankheitsbeginn egal, schlanker Habitus ($BMI \leq 26$), zusätzlich ein Eltern teil oder Kind an Diabetes erkrankt (Typ-1-Diabetes oder Typ-2-Diabetes).
25 Patienten (11 männlich, 14 weiblich)

	A		B		C	
Anzahl Gesamt	18		27		25	
(männlich/weiblich)	1	17	9	18	11	14

Tabelle 6: Einteilung der MODY untersuchten Fälle nach Indikationskriterien (Anzahl=70)

70 Patienten erfüllten die von uns festgelegten Indikationskriterien. Die restlichen 20 Patienten erfüllten nur teilweise die von uns festgelegten Indikationskriterien und wurden für eine molekulargenetische Untersuchung empfohlen. Diese zeigten folgende klinische Merkmale annähernd den Indikationskriterien der Gruppen **B** und **C**:

- 4 Patienten (1 männlich, 3 weiblich) erfüllten eher die Indikationskriterien der Gruppe **B** mit einem Krankheitsbeginn zwischen 26 und 36 Jahren ($26 < ED \leq 36$), zusätzlich eine Diabetes Erkrankung in der Verwandtschaft (Großmutter, Großvater) oder einen BMI < 28.

- 16 Patienten (8 männlich, 7 weiblich) erfüllten eher die Indikationskriterien der Gruppe **C** mit einem BMI < 42, zusätzlich eine Diabetes-Erkrankung in der Verwandtschaft (Großmutter, Großvater, Bruder, Schwester, Couseng, Cousine, Tante, Onkel)

3.2. MODY-Veränderungen

Alle 90 Patienten wurden genetisch auf MODY 1, 2 und 3 untersucht. Die erfassten MODY-Veränderungen sind in Tab.7 zusammengefasst. Insgesamt konnten 8 MODY-Mutationen identifiziert werden (8,88%).

Abkürzungen für die Interpretation der Mutationen:

PoDV - krankheitsassoziierte Sequenzveränderung (Possibly Disease Associated Variant)

DV - abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare, möglicherweise krankheitsassoziierte Sequenzveränderung (Disease Variant)

PrDV – abklärungsbedürftige, eher krankheitsassoziierte Sequenzveränderung (Predicted Disease Variant)

Nr.	Gesch. (m/w)	Veränderung	Diabetes-Typ	Erst diagnose (Jahre)	Alter	BMI	Glucose/dGC (mg/dl)	Insulin Ins0/Ins1 µu/ml	HbA1c bei ED	Familien-Anamnese	Interpretation
1.	w	Mody 1 p.R317H	Gestationsdiabetes	25	28	28	88/172	13,8/96,5	5,5	keine	PoDV
2.	w	Mody 1 c.358+2T>C	Diab. Typ-1 o. Ak	18	22	28,7			11,2	keine	PrDV
3.	w	Mody 2 p.V455E	Gest./Diab. Typ-2	24	48	20,9	98/100	4,5/35,6	5,7	Großvater/Mutter/Sohn Typ2	PrDV
4.	w	Mody 2 c.209-8G>A	Diab. Typ-2	42	48	22	150		6,9	Vater/Tante/Großmutter väterl. Typ-2	PoDV
5.	w	Mody 2 c.209-8G>A	Diab. Typ-2	40	57	26,2	107		6,5	Mutter/Schwester Typ-2	PoDV
6.	w	Mody 2 p.E112K	Diab. Typ-2	52	61	25,1	110		6,3	Mutter/Vater/Typ-2	PoDV
7.	w	Mody 3 p.N614I	Diab. Typ-2	33	35	47,4	88/92	15,6/77,1	5,9	Tochter/Sohn/Typ-2	PoDV
8.	m	Mody 3 p.G31D	Diab. Typ-2	39	46	26	139		6,5	Vater/Schwester/Großmutter väterl. Typ-2	DV

Tabelle 7: Zusammengefasste Darstellung der MODY-Veränderungen (n=8)

Die 90 untersuchten Patienten wurden nach dem im Punkt 2.2.1. für die Studie festgelegten Indikationskriterien selektiert. Insgesamt waren es 70 Patienten, die diese Indikationskriterien erfüllten. In diesem Kollektiv (70 Patienten) wurden sieben MODY-Mutationen (10%) in folgenden Gruppen identifiziert (Tab. 8):

A. Krankheitsbeginn unter 26 Jahren ($ED \leq 26$):

In dieser Gruppe konnten drei MODY-Mutationen - Patient Nr. 1, 2 (MODY 1) und Patient Nr. 3 (MODY 2) – identifiziert werden.

B. Krankheitsbeginn zwischen 26 und 36 Jahren ($26 < ED \leq 36$), zusätzlich ein schlanker Habitus ($BMI \leq 26$) oder ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt:
In dieser Gruppe konnte eine MODY 3 Mutation (Patient Nr. 7) identifiziert werden.

C. Krankheitsbeginn egal, schlanker Habitus ($BMI \leq 26$), zusätzlich ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt (Typ-1-Diabetes oder Typ-2-Diabetes):
In dieser Gruppe konnten drei MODY-Mutationen - Patient Nr. 4, 6 (MODY 2) und Patient Nr. 8 (MODY 3) – identifiziert werden.

	A		B		C	
Anzahl Patienten	18		27		25	
(männlich/weiblich)	1	17	9	18	11	14
MODY-Mutationen (Gesamt)	3		1		3	

Tabelle 8: Verteilung der MODY-Mutationen in den A, B, C-Gruppen (n=7)

3.2.1. MODY 1 Mutationen

Die Mittelwerte und Mittelabweichungen des BMI-Indexes, des Alters bei Erstdiagnose sowie der Zeitspanne zwischen Erstdiagnose Diabetes und der von uns getroffenen Diagnose MODY 1 sind in Tabelle Nr. 9 aufgelistet:

MODY 1 Patienten, Anzahl (n) =2	
Mittelwert BMI	28,35
Abweichung Mittelwert BMI	0,35
Mittelwert Alter Erstdiagnose (Jahre)	21,5
Abweichung Mittelwert Erstdiagnose (Jahre)	3,5
Mittelwert Zeitspanne nach Erstdiagnose (Jahre)	3,5
Abweichung Mittelwert Zeitspanne nach Erstdiagnose (Jahre)	0,5

Tabelle 9: Mittelwerte und Mittelabweichungen der MODY 1 Patienten (n=2)

Bei zwei Patienten wurde eine genetische Veränderung des HNF-4 α -Gens festgestellt:

Patient Nr. 1, MODY 1, HNF-4 α -Gen p.R317H

Der erste MODY 1-Patient mit einer nachgewiesenen genetischen Veränderung zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Abklärungsbedürftige, möglicherweise krankheitsassoziierte Sequenzveränderung HNF-4 α (Hepatocyte Nuclear Factor 4, alpha; MODY 1; TCF14), Exon 8, c.950G>A (p.R317H; p.Arg317His) heterozygot.

Geschlecht weiblich, geb. 1982, Gestationsdiabetes; Erstdiagnose 25 Jahre; BMI=28; Familienanamnese-unauffällig; dGC-Test: Glucose - 88/172mg/dl, Insulin - 13,8/96,5 μ U/ml; HbA1c-Wert: 5,5%.

Patient Nr. 2, MODY 1, HNF-4 α -Gen c.358+2T>C

Der zweite MODY 1-Patient mit einer nachgewiesenen genetischen Veränderung zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Wahrscheinlich krankheitsassoziierte Sequenzveränderung HNF-4 α (Hepatocyte Nuclear Factor 4, alpha; MODY 1; TCF14) Intron 3, c.358+2T>C heterozygot.

Geschlecht weiblich, geb. 1987; Diabetes-Typ-1 (ohne Antikörper), Erstdiagnose im Alter von 18 Jahren, BMI=28,7, keine positive Familienanamnese, HbA1c-Wert: 11,2%.

p.T130I-Polymorphismus

Folgende Patienten wiesen eine p.T130I Variante des MODY 1 Gens auf (Tab. 12):

Pat. Nr.	Geschlecht (m/w)	BMI	Diabetes-Typ	Alter Erstdiagnose	Alter	BMI	Glucose/dGC mg/dl	Insulin Ins0/Ins1 µU/ml	HbA1c (%) bei ED	Fam. Anamnese
1.	w	34	Gestat. Diab.	35	37	34	67/85	7,7/30,7	5,5	Vater/Oma/Tante Typ-2
2.	w	29,4	Diab.-Typ-2	26	50	29,4	237/299	26/41	6,6	Tante-Typ-2
3.	w	23,1	Diab.-Typ-2	42	52	23,1	153/259	9,7/48,8	6,2	Mutter-Typ-2
4.	w	25,8	Gestat. Diab/ Diab.-Typ-2	21	59	25,8	128/261	5,7/23,8	7,3	Mutter-Typ-2
5.	m	29,1	Diab.-Typ-2	42	56	29,1	236/349	7,9/37	5,9	Mutter/Brüder/ Typ-2
6.	m	34,4	Diab.-Typ-2	33	34	34,4	201/286	23,4/50,9	8	Mutter/Oma/ 2xCouseng-Typ-2
7.	m	25,3	Diab.-Typ-2	55	61	25,3	376/526	8,3/16,6	9,6	Oma mütterlicherseits-Typ-2

Tabelle 10: Zusammengefasste Darstellung der p.T130I-Veränderungen (n=7)

Patient Nr. 1, p.T130I

Geschlecht weiblich, geb. 1973 (37 Jahre); Gestationsdiabetes; Erstdiagnose: 34 Jahre; BMI=34; Familienanamnese: Vater, Oma, Tante Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 67/85mg/dl; Insulin 7,7/30,7 µU/ml; HbA1c-Wert: 5,5%.

Patient Nr. 2, p.T130I

Geschlecht weiblich, geb. 1960 (50 Jahre); Diabetes-Typ-2; Erstdiagnose: 26 Jahre; BMI=29,5; Familienanamnese: Tante Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 237/299mg/dl; Insulin 26/41 µU/ml; HbA1c-Wert: 6,6%.

Patient Nr. 3, p.T130I

Geschlecht weiblich, geb. 1957 (53 Jahre), Diabetes-Typ-2, Erstdiagnose: 42 Jahre; BMI=23,1; Familienanamnese: Mutter Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 153/259mg/dl; Insulin 9,7/48,8 μ U/ml; HbA1c-Wert: 6,2%.

Patient Nr. 4, p.T130I

Geschlecht weiblich, geb. 1951 (59 Jahre); Diabetes-Typ-2: Erstdiagnose 21 Jahre; BMI=25,8; Familienanamnese: Mutter Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 127/261mg/dl; Insulin 5,7/23,8 μ U/ml; HbA1c-Wert: 7,3%.

Patient Nr. 5, p.T130I

Geschlecht männlich, geb. 1954 (55 Jahre); Diabetes-Typ-2, Erstdiagnose: 42 Jahre; BMI=29,1; Familienanamnese: Mutter und zwei Brüder Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 236/349mg/dl, Insulin 7,9/37 μ U/ml; HbA1c-Wert: 5,9%.

Patient Nr. 6, p.T130I

Geschlecht weiblich, geb. 1976 (34 Jahre); Diabetes-Typ-2: Erstdiagnose 33 Jahre; BMI=34,4; Familienanamnese: Mutter, Oma, zwei Cousins Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 201/286 mg/dl; Insulin 23,4/50,9 μ U/ml; HbA1c-Wert: 8,0%.

Patient Nr. 7, p.T130I

Geschlecht weiblich, geb. 1949 (60 Jahre); Diabetes-Typ-2: Erstdiagnose 55 Jahre; BMI=25,3; Familienanamnese: Oma mütterlicherseits Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 376/526 mg/dl; Insulin 8,3/16,6 μ U/ml; HbA1c-Wert: 9,6%.

3.2.2. MODY 2 Mutationen

Die Mittelwerte und Mittelabweichungen des BMI-Indexes, des Alters bei Erstdiagnose sowie der Zeitspanne zwischen Erstdiagnose Diabetes und der von uns getroffenen Diagnose MODY 2 sind in Tabelle Nr. 10 aufgelistet:

MODY 2 Patienten, Anzahl (n) =4	
Mittelwert BMI	23,5
Abweichung Mittelwert BMI	2,2
Mittelwert Alter Erstdiagnose (Jahre)	39,5
Abweichung Mittelwert Erstdiagnose (Jahre)	7,8
Mittelwert Zeitspanne nach Erstdiagnose (Jahre)	14
Abweichung Mittelwert Zeitspanne nach Erstdiagnose (Jahre)	6,5

Tabelle 11: Mittelwerte und Mittelabweichungen der MODY 2 Patienten (n=4)

Bei folgenden vier Patienten wurde eine genetische Veränderung des GCK-Gens festgestellt:

Patient Nr. 3, MODY 2, GCK-Gen p.V455E

Der dritte untersuchte Patient mit einer genetischen Veränderung und der erste MODY 2 Patient zeigte folgende Untersuchungsergebnisse: Diagnose:

Abklärungsbedürftige möglicherweise krankheitsassoziierte Sequenzveränderung MODY 2 (Glucokinase (Hexokinase 4)), Exon 10, c.1364T>A (p.V455E; p.Val455Glu) heterozygot.

Geschlecht weiblich, geb. 1962 (48 Jahre); Gestationsdiabetes, Diabetes-Typ-2, Erstdiagnose 24 Jahre; BMI=20,9; Familienanamnese: Großvater, Mutter, Sohn Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose- 98/100mg/dl, Insulin - 4,5/35,6 µU/ml, HbA1c-Wert: 5,7%.

Patient Nr. 4, MODY 2, GCK-Gen c.209-8G>A

Der vierte Patient mit einer genetischen Veränderung und der zweite MODY 2 Patient zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Abklärungsbedürftige Sequenzveränderung MODY 2 (GCK), Intron2, c.209-8G>A (IVS-8G>A) heterozygot.

Geschlecht weiblich, geb. 1962 (48 Jahre); Diabetes-Typ-2; Erstdiagnose 42 Jahre, BMI=22; Familienanamnese: Vater Diabetes Typ-2, Tante väterlicherseits Diabetes-Typ-2, Großmutter väterlicherseits Diabetes-Typ-2; Glucose - 150mg/dl; HbA1c-Wert: 6,9%. Patientin hatte im Jahre 1988 (26J) eine Nierentransplantation bei festgestellten Lupus erythematodes.

Patient Nr. 5, MODY 2, GCK-Gen c.209-8G>A

Der fünfte Patient mit einer genetischen Veränderung und der dritte MODY 2 Patient zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Nichtklassifizierbare, möglicherweise krankheitsassoziierte Sequenzveränderung MODY 2 (GCK), Intron2, c.209-8G>A (IVS2-8G>A) heterozygot. Zur weiteren Abklärung sollte eine Segregationsanalyse in der Familie durchgeführt werden.

Geschlecht weiblich, geb. 1953 (56 Jahre); Diabetes-Typ-2; Erstdiagnose 40 Jahre, BMI=26,2; Familienanamnese: Mutter und Schwester haben Diabetes Typ-2; Glucose - 107 mg/dl, HbA1c-Wert: 6,5%.

Patient Nr. 6, MODY 2, GCK-Gen p.E112K

Der sechste Patient mit einer genetischen Veränderung und der vierte MODY 2 Patient zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare (möglicherweise krankheitsassoziierte) Sequenzveränderung GCK (Glucokinase (Hexokinase 4); MODY 2) Exon 3, c.334G>A (p.E112K; p.Glu112Lys) heterozygot.

Geschlecht weiblich, geb. 1948 (61 Jahre); Diabetes-Typ-2; Erstdiagnose 52 Jahre; BMI=25,1; Familienanamnese: Mutter, Vater und Bruder haben Diabetes Typ-2; Glucose - 110mg/dl, HbA1c-Wert: 6,3%.

3.2.3. MODY 3 Mutationen

Die Mittelwerte und Mittelabweichungen des BMI-Indexes, des Alters bei Erstdiagnose sowie der Zeitspanne zwischen Erstdiagnose Diabetes und der von uns getroffenen Diagnose MODY 3 sind in Tabelle Nr. 11 aufgelistet:

MODY 3 Patienten, Anzahl (n) =2	
Mittelwert BMI	36,7
Abweichung Mittelwert BMI	10,7
Mittelwert Alter Erstdiagnose (Jahre)	36
Abweichung Mittelwert Erstdiagnose (Jahre)	3
Mittelwert Zeitspanne nach Erstdiagnose (Jahre)	4,5
Abweichung Mittelwert Zeitspanne nach Erstdiagnose (Jahre)	2,5

Tabelle 12: Mittelwerte und Mittelabweichungen der MODY 3 Patienten (n=2)

Die im Folgenden diskutierten Patienten weisen eine MODY 3 Mutation im HNF-4 α - Gen auf.

Patient Nr. 7, MODY 3, HNF-1 α -Gen p.N614I

Der siebte Patient mit einer genetischen Veränderung und der erste MODY 3 Patient zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Abklärungsbedürftige, möglicherweise krankheitsassoziierte Sequenzveränderung HNF-1 α (HNF1 homeobox A; MODY3; TCF1) Exon 10, c.1841 A>T (p.N614I; p.Asn614Ile) heterozygot.

Geschlecht weiblich, geb. 1975 (35 Jahre), Diabetes-Typ-2, Erstdiagnose 33 Jahre, BMI=47,4; Familienanamnese: Tochter, Sohn haben Diabetes-Typ-2; dGC-Test: Glucose - 88/92mg/dl, Insulin - 15,6/77,1 μ U/ml, HbA1c-Wert: 5,9%.

Patient Nr. 8, MODY 3, HNF-1 α -Gen p.G31D

Der achte Patient mit einer genetischen Veränderung und der zweite MODY 3 Patient zeigte folgende Untersuchungsergebnisse:

Krankheitsassoziierte Sequenzveränderung HNF-1 α (HNF-1 homeobox A; MODY 3; TCF1) Exon 1, c.92G>A (p.G31D; p.Gly31Asp) heterozygot.

Geschlecht männlich, geb. 1964 (45 Jahre), Diabetes-Typ-2, Erstdiagnose 39 Jahre, BMI=26; Familienanamnese: Vater, Schwester und Großmutter väterlicherseits haben Diabetes-Typ-2; Glucose - 139mg/dl; HbA1c-Wert: 6,5%.

4. Diskussion der Ergebnisse

4.1. Diskussion und Interpretation der Mutationen

4.1.1. MODY 1 Mutationen

Heterozygote Mutationen des humanen HNF-4 α -Gens (hepatic nuclear factor 4 α), welches für einen Transkriptionsfaktor kodiert, führen zu MODY 1 (maturity-onset diabetes of the young 1). Dieser genetische Diabetes ist durch eine frühe Manifestation, zumeist vor dem 25. Lebensjahr und durch eine gestörte glukoseinduzierte Insulinsekretion der Beta-Zellen des Pankreas charakterisiert (51). HNF-4 α reguliert die Transkription von Genen, die für den Glukosetransport und Glukosestoffwechsel sowie weiterer Funktionen der Betazellen des Pankreas notwendig sind (92). Als übergeordneter Transkriptionsfaktor ist HNF-4 α an der Regulation des Transkriptionsfaktors HNF-1 α beteiligt (93,94), welcher wiederum die Expression verschiedener Gene wie z. B. das Gen für den Glukose-Transporter und die Transkription des Insulin-Gens steuert (92,94). Klinisch besteht eine signifikante und progressive Hyperglykämie. Im weiteren Verlauf der Erkrankung treten Diabeteskomplikationen auf (95,96). Eine Abgrenzung zu einem festgestellten Typ-1-Diabetes kann schwierig sein, weil in seltenen Fällen Diabetes-Typ-1 Patienten keine Autoantikörper aufweisen (45). Bisher sind 57 unterschiedliche Mutationen des HNF-4 α -Gens identifiziert worden (97), die sowohl die kodierende als auch die regulatorische Region des Gens betreffen (93,98). Ein Teil der MODY 1-Mutationen blockieren die Funktion von HNF-4 α vollständig, während andere nur einen eher geringen Einfluss auf die Aktivität des Transkriptionsfaktors haben (98,99). Bei heterozygoten Trägern von Mutationen des HNF-4 α -Gens werden zusätzlich zu einer eingeschränkten Insulinfreisetzung auch verminderte Plasmaspiegel von Triglyzeriden und Apolipoproteinen beschrieben (100). Im Zellmodell wurde in einer dominant negativen HNF-4 α -Mutante eine Störung des mitochondrialen Stoffwechsels mit einer nachfolgender Reduktion der Insulinproduktion und -sekretion festgestellt (101). Homozygote HNF-4 α -Mutationen waren im Tiermodell letal (102). Zusätzlich zu den beschriebenen Mutationen wurde in einer untersuchten Familie eine Mutation im pankreasspezifischen Promotor des HNF-4 α -Gens entdeckt (103). An diese DNA-Sequenz bindet normalerweise der Transkriptionsfaktor PDX-1. Dies zeigt auf, dass Beta-Zellfunktionen durch komplexe Interaktionen auf Ebene der Gentranskription reguliert werden (93).

In der vorliegenden Studie wurden zwei MODY 1 Mutationen bei zwei weiblichen Patientinnen identifiziert, davon war eine Patientin an „Diabetes-Typ-1“ (Antikörper negativ) und eine Patientin an „Gestationsdiabetes“ erkrankt. Ihre Erstdiagnose erhielten diese beiden MODY 1 Patientinnen im Alter zwischen 18 und 25 Jahren. Eine Veränderung davon war als krankheitsassoziiert und eine als eine abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare (möglicherweise krankheitsassoziierte) Sequenzveränderung eingestuft. Alle genetischen Veränderungen sollten durch eine Segregationsanalyse in der Familie auf den Krankheitswert der Veränderung untersucht werden. Der mittlere BMI der Probanden betrug 28,35. Die Abweichung des Mittelwertes betrug 0,35. Das Alter der Patienten bei Erstdiagnose war im Mittel bei 21,5 Jahren mit einer Mittelabweichung von 3,5. Im Schnitt vergingen 3,5 Jahre zwischen der Erstdiagnose und der MODY-Diagnose. In den Familien der beiden MODY 1 Patientinnen war keine Diabeteserkrankung bekannt.

Patient Nr. 1, MODY 1, HNF-4 α -Gen p.R317H

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante handelt es sich um einen Austausch der DNA-Base Guanin zu Adenin an der Position 950 der codierenden genomischen DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1) in Exon 8 des HNF-4 α -Gens (MODY 1). Diese Veränderung führt auf Proteinebene an Position 317 zum Austausch der polaren, stark basischen Aminosäure Arginin in Histidin, eine ebenfalls polare, aber schwach basische Aminosäure. (104). In der öffentlich zugänglichen Datenbank LOVD (97) des Leiden University Medical Center ist die Veränderung nicht eingetragen. Dieser Locus scheint ein sehr konservierter Bereich zu sein, wie ein Vergleich der Gensequenzen mit 10 verschiedenen Organismen (Spezies) bei *Bos taurus* (Rind), *Canis familiaris* (Hund), *Equus caballus* (Pferd), *Macaca mulatta* (Rhesusaffe), *Monodelphis domestica* (Opossum), *Mus musculus* (Maus), *Ornithorhynchus anatinus* (Schnabeltier), *Pan troglodytes* (Schimpanse), *Pongo pygmaeus* (Orang Utan) und *Rattus norvegicus* (Ratte) zeigt (105). Diese Veränderung ist in der Literatur noch nicht beschrieben. Sie kann deshalb nicht eindeutig interpretiert oder diskutiert werden und wurde als "abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare (möglicherweise krankheitsassoziierte) Sequenzveränderung" geführt. Für eine Segregationsanalyse zeigte die Patientin kein weiteres Interesse.

Patient Nr. 2, MODY 1, HNF-4 α -Gen c.358+2T>C

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante handelt es sich um einen Austausch der DNA-Base Thymin zu Cytosin an der Position 358+2 der codierenden genomischen DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1) in Intron 3 des HNF-4 α -Gens (MODY 1). Diese Veränderung führt auf Proteinebene nicht zum Austausch einer Aminosäure des Proteins HNF-4 α . Da jedoch die Splice-Stelle direkt betroffen ist, kann davon ausgegangen werden, dass es durch fehlerhaftes Spleißen und daraus resultierender Verschiebung des Leserasters zur Ausbildung eines ab Aminosäure 119 veränderten und insgesamt verkürzten Proteins kommt (106). Durch die Veränderung wird die DNA-Bindungsdomäne (AS 51-112) nicht beeinflusst. Betroffen ist die Transaktivierungsdomäne (AS 1-24 und 128-366), die die Dimerisierungsdomäne (AS 175 - 360) beinhaltet (107). In der öffentlich zugänglichen Datenbank LOVD (97) des Leiden University Medical Center ist die Veränderung nicht eingetragen. Wie schon bei der bei Patient 1 diskutierten genetischen Veränderung, scheint auch in diesem Fall der untersuchte Locus hochkonserviert zu sein, wie der Vergleich der Gensequenzen mit 10 verschiedenen Organismen (Spezies) bei *Bos taurus* (Rind), *Canis familiaris* (Hund), *Equus caballus* (Pferd), *Macaca mulatta* (Rhesusaffe), *Monodelphis domestica* (Opossum), *Mus musculus* (Maus), *Ornithorhynchus anatinus* (Schnabeltier), *Pan troglodytes* (Schimpanse), *Pongo pygmaeus* (Orang Utan) und *Rattus norvegicus* (Ratte) zeigt (105). Auch diese Veränderung ist in der Literatur nicht vorherbeschrieben, kann deshalb nicht eindeutig interpretiert oder diskutiert werden und wird von uns als "wahrscheinlich krankheitsassoziierte Sequenzveränderung" bezeichnet. Für eine Segregationsanalyse zeigte die Patientin kein weiteres Interesse.

p.T130I-Veränderungen

Charakterisierung der beobachteten p.T130I-Veränderung:

Bei der pT130I Sequenzvariante ist an Position 416 der codierenden DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1), Exon 4 des MODY 1-Gens, die DNA-Base Cytosin gegen Thymin ausgetauscht. Diese Veränderung führt auf Proteinebene an Position 139 von 465 des Proteins HNF-4 α zum Austausch der polaren und neutralen Aminosäure Threonin gegen die unpolare und ebenfalls neutrale Aminosäure Isoleucin. Hier ist eine ansonsten konservierte Aminosäure innerhalb der DNA-

Bindungsdomäne betroffen. In der wissenschaftlichen Literatur wurden aufgrund einer Vielzahl verschiedener Splice-Varianten unterschiedliche Start-Codons postuliert, was dazu führte, dass die Position der hier identifizierten Veränderung um 9 Aminosäuren weiter nach vorne verschoben wurde:

c.416C>T (p.T139I; p.Thr139Ile) oder c.389C>T (P.T130I; p.Thr130Ile). Nach den aktuell gültigen Guidelines (52) sollte die Veränderung wie folgt bezeichnet werden: c.389C>T (p.T130I; p.Thr130Ile).

Die Mutation T130I wurde bei 423 nicht verwandten japanischen Patienten mit Typ-2-Diabetes 15 Mal gefunden (3,5%), in der gesunden Kontrollgruppe von 354 Personen dagegen nur 3 Mal (0,8%). Die Assoziation dieser Veränderung mit Diabetes war bei der untersuchten Population statistisch signifikant ($p=0,015$, odds ratio 4,3; 95%CI 1.24-14.98). In dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Transaktivierungsaktivität in Hepatozyten durch die Veränderung/Mutation stark herabgesetzt ist, wenn sie homozygot vorliegt (bei HepG2 um 46%; $p=0,001$; bei Maus-Hepatozyten um mehr als 70%, ($p=9,7 \times 10^{-5}$). Dies lässt den Schluss zu, dass auch in vivo die Aktivität vermindert ist. Die Autoren sehen einen Zusammenhang mit Typ-2-Diabetes in der japanischen Bevölkerung (108). Einen ähnlichen Zusammenhang zwischen der Mutation und dem Typ-2-Diabetes zeigte eine Gruppe aus Mexiko, die die Veränderung T130I bei 16 von 100 Patienten in der Typ-2-Diabetes Gruppe und nur bei 4 von 75 in der gesunden Kontrollgruppe beobachtete (T130I Genotyp: 16% für Diabetiker vs 5.6% für Nicht-Diabetiker, odds ratio=3.38, 95% CI=1.14-10.03, $p=0.028$). Die Diabetiker (100 Patienten) mit dem Genotyp T130I zeigten im Vergleich zu den Diabetikern ohne die Veränderung doppelt so häufig Nephropathien ($p=0,06$) und entwickelten chronische Komplikationen frühzeitiger ($p=0,078$) (109). Bei ENSEMBL wird die Allelfrequenz für die veränderte Base T je nach Population mit maximal 0,062 angegeben, homozygot TT ist bisher nicht beobachtet worden (110). Die p.T130I-Veränderungen wurden in mehreren Untersuchungen sowohl bei an Diabetes erkrankten Personen wie auch an gesunden Kontrollen identifiziert und ist im Rahmen einer weiteren mexikanischen Studie statistisch signifikant häufiger bei den Erkrankten nachgewiesen worden (109). Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die veränderten Proteine eine verminderte Transaktivität entfalten. Die bisher publizierten Daten weisen darauf hin, dass die Veränderung/Mutation T130I mit einem erhöhten Diabetes-Risiko assoziiert sein könnte. Da die Penetranz der Veränderung nicht bekannt ist, kann man nicht sicher vorhersagen, ob Träger der Verände-

rung/Mutation erkranken oder nicht. Gestützt wird diese Behauptung dadurch, dass die Veränderung T130I auch in getesteten Kontrollpersonen ohne Diabeteserkrankung gefunden wurde, wenn auch mit deutlich niedrigerer Häufigkeit. Denkbar ist ebenfalls, dass weitere obligate Faktoren für die Entwicklung des Typ-2-Diabetes existieren. Unwahrscheinlich ist es, dass diese Veränderung eine autosomal-dominant erbliche MODY 1 Erkrankung verursachen kann. Bei unseren Untersuchungen wurde die Veränderung in einer Familie bei zwei an Diabetes erkrankten Familienmitgliedern gefunden, bei einem Patienten zusammen mit einer krankheits-assoziierten Veränderung des MODY 2 Gens und in neun weiteren Familien bei Indexpatienten mit der Diagnose-MODY.

4.1.2. MODY 2 Mutationen

MODY 2 (maturity-onset diabetes of the young 2) wird durch heterozygote Mutationen im Glucokinasegen verursacht und ist die häufigste MODY-Form (62), die sich bereits in der Kindheit oder im Erwachsenenalter manifestieren kann (69,111). Es wurden mittlerweile über 600 Mutationen im Glucokinasegen beschrieben (69,112). Das Enzym Glucokinase besitzt eine Schlüsselrolle im Glucosestoffwechsel von Beta-Zellen des Pankreas und der Leber (65). Im Gegensatz zu den ubiquitär vorkommenden Hexokinasen ist die Glucokinase in der Lage den Anstieg der extrazellulären Glucosekonzentrationen an glykolytische Fluxänderungen in der Beta-Zelle zu koppeln, was final zur Exocytose der Insulingranula führt (113,114). Heterozygote inaktivierende Mutationen im Glucokinasegen sind durch milde Hyperglykämien charakterisiert, die schon bei der Geburt auftreten. Teilweise werden sie jedoch erst mit höherem Lebensalter oder während der Schwangerschaft entdeckt. Homozygote inaktivierende Glucokinase-Mutationen führen zu einem schwerwiegenderen Phänotyp mit starker Aktivitätsminderung und werden als neonataler Diabetes mit Manifestation in den ersten Lebenswochen oder -monaten diagnostiziert (112). Andererseits sind auch aktivierende Mutationen im Glucokinasegen bekannt, welche die Affinität der Glucokinase zum Substrat Glucose steigern und in Betazellen des Pankreas bereits bei niedrigen Blutglukosewerten zu einer inadäquaten Insulinausschüttung führen. Dieses hat als Folge das Krankheitsbild des kongenitalen Hyperinsulinismus mit rezidivierenden Hypoglykämien (115). Die Identifizierung einer Glucokinase-Mutation als Ursache einer klinisch manifesten Hyper- oder Hypoglykämie ist die Voraussetzung für eine optimierte Behandlung dieser Funktionsstörung (112).

In unserer Studie wurden vier MODY 2-Mutationen bei vier weiblichen Patientinnen festgestellt, davon waren drei Patientinnen an Diabetes-Typ-2 erkrankt und eine Patientin sowohl an Schwangerschaftsdiabetes als auch an Diabetes-Typ-2. Das Alter der Erstdiagnose lag zwischen 24 und 52 Jahren. Zwei Veränderungen wurden als abklärungsbedürftige, eher krankheitsassoziierte Sequenzveränderungen und zwei als nichtklassifizierbare, möglicherweise krankheitsassoziierte Sequenzveränderungen eingestuft. Die gefundenen genetischen Veränderungen sollten durch eine Segregationsanalyse in der Familie auf den Krankheitswert der Mutation untersucht werden. Zwei identische MODY-Veränderungen wurden bei zwei Patientinnen festgestellt, bei denen in einem Alter von 40 und 42 die Erstdiagnose des Diabetes-Typ-2 festgestellt wurde. Nach gängiger Nomenklatur (90) kann die Veränderung auf DNA-Ebene wie folgt bezeichnet werden: MODY 2 (GCK), Intron2, c.209-8G>A (IVS2-8G>A) heterozygot. Aus der Segregationsanalyse der einen Patientin (Patient Nr. 4) konnte bei aktueller Datenlage kein Krankheitswert bei der obengenannten Veränderung definiert werden. Der mittlere BMI-Wert der Probanden betrug 23,5. Die Mittelabweichung vom BMI betrug 2,2. Das Durchschnittsalter bei Diagnosestellung betrug 39,5 Jahre, Mittelabweichung 7,8 Jahre. Die durchschnittliche Zeitdauer zwischen Erstdiagnose und MODY-Diagnose war 14 Jahre, Mittelabweichung 6,5 Jahre. Die Familienanamnese ergab bei zwei Patientinnen über drei Generationen und bei zwei Patientinnen über zwei Generationen diagnostizierte Diabetes-Typ-2 Erkrankungen.

Patient Nr. 3, MODY 2, GCK-Gen p.V455E

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante ist an Position 1.364 der codierenden DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1) in Exon 10 des Glucokinase-Gens (MODY 2) die DNA-Base Thymin gegen Adenin ausgetauscht. Diese Veränderung führt auf Proteinebene zum Austausch der unpolaren, neutralen Aminosäure Valin gegen die polare und „saure“ Glutaminsäure an Position 455 von 465 des Enzyms Glucokinase. Bei dem Vergleich der Gensequenzen mit 10 verschiedenen Organismen (Spezies) bei *Bos taurus* (Rind), *Canis familiaris* (Hund), *Equus caballus* (Pferd), *Macaca mulatta* (Rhesusaffe), *Monodelphis domestica* (Opossum), *Mus musculus* (Maus), *Ornithorhynchus anatinus* (Schnabeltier), *Pan troglodytes* (Schimpanse), *Pongo pygmaeus* (Orang Utan) und *Rattus norvegicus* (Ratte) erscheint auch hier der Locus hochkonserviert (105). Die Veränderung wurde bereits einmal bei einem 15-jährigen In-

dexpatienten gefunden, bei dem während eines fiebrigen Infekts Hyperglykämie diagnostiziert wurde. Der Patient war betreffend dieser Mutation homozygot und zeigte einen Monat nach der Erkrankung wieder eine unauffällige Glucosetoleranz. Beide Eltern und einige getestete Familienmitglieder waren heterozygot und wiesen eine unauffällige Glucosetoleranz auf (116). Diese Aminosäure V455 ist weder Bestandteil der Mg-ATP- noch der Glucosebindungsstelle der Glucokinase. Allerdings ist an gleicher Position eine weitere Veränderung, die Mutation V455M bekannt. Hierbei handelt es sich um eine aktivierende Mutation. Träger dieser dominant vererbten Veränderung (heterozygot) leiden an einer milden Form der Hypoglykämie (117). V455M ist auch in einer Funktionsanalyse als aktivierende Glucokinase-Mutation, die zu Hypoglykämie führt, beschrieben worden (118). Kürzlich wurde die bei Patient 3 festgestellte Veränderung die Mutation V455E bei einem anderen MODY Patienten identifiziert (119). In dieser Studie konnte durch Funktionsanalyse gezeigt werden, dass es sich um eine inaktivierende Mutation handelt (119). Damit kann aufgrund der veröffentlichten Daten unsere Veränderung dahingehend interpretiert werden, dass es sich um eine weiter "abklärungsbedürftige, wahrscheinlich krankheitsassoziierte Sequenzveränderung" handelt. Die Patientin zeigte klinisch im dGC eine Normoglykämie mit einer Hyperinsulinämie (Insulinresistenz siehe Punkt 2.3.1.). Für eine Segregationsanalyse zeigte die Patientin kein weiteres Interesse.

Patient Nr. 4, MODY 2, GCK-Gen c.209-8G>A

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante ist an Position 209-8 (das A des Startcodons entspricht Pos. +1), im Intron 2, 8 Basen vor Beginn von Exon 3 des Gens Glucokinase (GCK, MODY 2) Guanin zu Adenin ausgetauscht. Dies führt nicht zu einem Aminosäureaustausch, die Splice-Stelle ist nicht direkt betroffen.

In einer Studie wurden 119 vor der Schwangerschaft schlanke (BMI<25) kaukasische Patientinnen mit einem Alter von unter 35 Jahren mit der Diagnose Gestationsdiabetes analysiert. In dieser Kohorte wurde die bei Patient 4 festgestellte Veränderung IVS3-8G>A nachgewiesen. Diese Veränderung wurde in einer Kontrollgruppe mit 120 Normalprobanden ohne Diabetes nicht gefunden (120). Bei einer anderen Untersuchung ist die Veränderung mit der Bezeichnung IVS2-7G>A bei drei MODY-Patienten in einer Familie gefunden worden. Es liegt die Vermutung nahe, dass auf Translationsebene das RNA-Splicing von der Veränderung beeinflusst werden könn-

te. In einer anderen Untersuchung bei in Kanada lebenden Familien wurden die Gene für HNF-1 α und Glucokinase vollständig sequenziert. In einer aus Nordeuropa abstammenden Familie wurde dabei bei Mutter, Sohn und Tochter jeweils mit 10, 16 bzw. 10 Jahren ein insulinpflichtiger Diabetes diagnostiziert (121). Der direkte Kontakt mit der Erstautorin ergab, dass diese Patienten die gleiche Veränderung im Glucokinasegen tragen, wie sie bei dem von uns untersuchten Patienten Nr. 4 festgestellt wurde. Die Veränderung wurde bei keiner der 100 Kontrollpersonen ohne Diabetes nachgewiesen. In einer weiteren Studie konnte in einem anderen Patientenkollektiv bestehend aus 37 kanadischen Patienten mit der Diagnose LADA (Latent Autoimmune Diabetes of the Adult) und 54 Typ-2-Diabetes Patienten dieselbe Veränderung in beiden Gruppen je einmal identifiziert werden. Bei 250 Nicht-Diabetikern konnte sie in dieser Studie nicht nachgewiesen werden (122). In einer Untersuchung zur Häufigkeitsverteilung der verschiedenen MODY-Subtypen in der Tschechischen Republik wurde die Veränderung unter 61 nicht verwandten Patienten mit der klinischen Diagnose MODY und ihren 202 Familienangehörigen gefunden und ohne weitere genetische Untersuchungen als Polymorphismus eingestuft. Die Häufigkeit für die Wildtyp-Base Guanin wird mit 0,99 angegeben, diejenige für Adenin entsprechend mit 0,01 (123). In einer aktuellen Übersichtsarbeit zu Mutationen im Glucokinase-Gen (69) wird die Veränderung in einer Tabelle mit 114 Polymorphismen separat von den bislang bekannten 620 Mutationen aufgelistet. Insgesamt wurde Die Veränderung im Münchener Labor bereits fünfmal bei einem Indexpatienten gefunden. Im Rahmen der Untersuchungen konnten in den Genen für MODY 1, 2, 3 und 5 keine weiteren Veränderungen, die mit der Erkrankung in Zusammenhang stehen könnten, identifiziert werden (Stand: 04.05.2010). Die Splice-Stelle ist nicht direkt betroffen. Deshalb ist von einer Assoziation der beobachteten Veränderung mit der Erkrankung im Sinne eines autosomal dominanten Erbgangs aufgrund des Mutationstyps alleine zur Zeit nicht auszugehen. Die bisher veröffentlichten Daten reichen nicht aus, um diese Veränderung als krankheitsassoziiert einzustufen.

Segregationsanalyse:

Zur Segregationsanalyse wurde die gesunde Schwester der an Diabetes erkrankten Patientin Nr. 4 untersucht. Die Segregationsanalyse der betroffenen Familie ergab, dass die gesunde Schwester – Träger der Veränderung ist. Bei der ebenfalls an Dia-

betes erkrankten Mutter ist die Veränderung nicht aufgetreten. Daraus ergibt sich, dass die Veränderung höchstwahrscheinlich keinen Krankheitswert besitzt.

Patient Nr. 5, MODY 2, GCK-Gen c.209-8G>A

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Die beobachtete Veränderung entspricht der bei Patient Nr. 4 ermittelten identischen weiter oben diskutierten Veränderung. Für eine Segregationsanalyse zeigte die Patientin kein weiteres Interesse.

Patient Nr. 6, MODY 2, GCK-Gen p.E112K

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante ist an Position 334, Exon 3, der codierenden DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1) des Glucokinase-Gens die Base Guanin gegen Adenin ausgetauscht (MODY 2). Diese Veränderung führt auf Proteinebene zum Austausch der polaren, sauren Aminosäure Glutaminsäure gegen die ebenfalls polare, aber basische Aminosäure Lysin (104) an Position 112 von 465 des Proteins Glucokinase. Glucokinase besteht aus einer großen und einer kleinen Domäne, die wiederum aus α -Helices und β -Faltblättern aufgebaut sind. Diese beiden Domänen werden über drei Verbindungen zusammengehalten. In dem Spalt zwischen den Domänen befindet sich die Glucosebindungsstelle, wobei die Aminosäuren E256, E290, T168, K169, N204 und D205 an der Bindung des Glucosemoleküls beteiligt sind. Die Glucokinase besitzt eine große Flexibilität in ihrer Konformation. In seiner aktiven Form nähern sich beide Domänen an und das Substrat Glucose kann gebunden werden. In der inaktiven Form ist der Spalt weiter geöffnet (124). Die Position 112 befindet sich in der kleinen Domäne und ist nicht direkt an der Glucosebindung oder Mg-ATP-Bindung beteiligt. In der öffentlich zugänglichen Datenbank LOVD des Leiden University Medical Center ist die Veränderung nicht eingetragen (125). Ein Vergleich der Gensequenzen mit 10 verschiedenen Organismen (Spezies) bei *Bos taurus* (Rind), *Canis familiaris* (Hund), *Equus caballus* (Pferd), *Macaca mulatta* (Rhesusaffe), *Monodelphis domestica* (Opossum), *Mus musculus* (Maus), *Pan troglodytes* (Schimpanse), *Pongo pygmaeus* (Orang Utan) und *Rattus norvegicus* (Ratte) erscheint der untersuchte Locus sowohl auf DNA- als auch auf Proteinebene konserviert. Bei *Ornithorhynchus anatinus* (Schnabeltier) liegt an der entsprechenden Position mit der Basenfolge ACA die Aminosäure Threonin vor (105). In einer aktuellen

Übersichtsarbeit über Mutationen im Glucokinase Gen (MODY 2), in der über 620 Mutationen aufgelistet sind, ist die beschriebene Veränderung nicht enthalten (69). Die Veränderung kann somit auch nach ausführlicher Literaturrecherche nicht eindeutig interpretiert werden und wird von uns deshalb als "abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare (möglicherweise krankheitsassoziierte) Sequenzveränderung" bezeichnet. Eine Segregationsanalyse konnte bisher nicht durchgeführt werden.

4.1.3. MODY 3 Mutationen

MODY 3 (maturity-onset diabetes of the young 3) ist die häufigste Form aller MODY-Erkrankungen in Europa, Nordamerika und Japan, gekennzeichnet durch Mutationen an unterschiedlicher Lokalisation des HNF-1 α -Gens (93). Das Genprodukt ist der Transkriptionsfaktor HNF-1 α und entfaltet seine Wirkung im Zellkern. Der HNF-1 α -Transkriptionsfaktor steuert die Expression verschiedener Gene der Leber (94) wie z.B. das Gen des Glukose-Transporters und ist für die Transkription des Insulin-Gens im Pankreas essentiell (92). Mutationen im HNF-1 α -Gen führen zu einem Defekt der Insulinsekretion und einer daraus resultierenden eingeschränkten und progredient sich verschlechternden Insulinausschüttung (93). Die Mutationen des HNF-1 α -Gens führen damit zu einem langsamen Verlust der Funktion der Betazellen des Pankreas (126). Das HNF-1 α -Gen wird auch in den Tubuli der Niere exprimiert (127). und beeinflusst dort die Regulation des Glukosetransports. Patienten mit MODY 3 weisen häufig eine Glukosurie bei reduzierter Nierenschwelle für Glukose auf (76). Kürzlich wurde über einen Polymorphismus im HNF-1 α -Gen berichtet, der mit einer peripheren Insulinresistenz bei erhaltener Funktion der Insulinsekretion assoziiert ist (128). Eine Störung des hepatischen Glucosemetabolismus wird zudem vermutet. Zu beachten ist, dass ein Teil der Patientinnen mit Gestationsdiabetes klinisch sonst unauffällige Träger einer HNF-1 α -Genmutationen sind (129). Ein Anteil der Autoantikörpernegativen Patienten mit Typ-1-Diabetes und positiver Familienanamnese trägt ebenfalls Mutationen des HNF-1 α -Gens und sollte daher als MODY 3 klassifiziert werden. Für die Prognose und Therapie ist dies von entscheidender Bedeutung (93). In der vorliegenden Studie konnten zwei MODY 3 Mutationen, eine bei einem Mann und eine bei einer Frau, beide mit der ursprünglichen Diagnose Diabetes-Typ-2 identifiziert werden. Eine Veränderung war als „krankheitsassoziiert“ und eine als „nicht-klassifizierbare möglicherweise krankheitsassoziierte Veränderung“ eingestuft. Aus der Segregationsanalyse der Patientin mit der nicht klassifizierbaren Veränderung

konnte man nicht auf einen Krankheitswert bei der obengenannten Mutation schließen. Das Alter bei Erstdiagnose der MODY 3 Patienten war 33 bzw. 39 Jahre. Der mittlere BMI der beiden Probanden betrug 36,7 mit einer Mittelabweichung von 10,7. Die Zeitspanne zwischen der Erstdiagnose und der von uns gestellten MODY-Diagnose beträgt 4,5 Jahre mit einer Mittelabweichung von 2,5. Die beiden Patienten haben Kinder teils bis in die zweite Generation mit diagnostiziertem Typ-2-Diabetes. Unsere Ergebnisse konnten zeigen, dass auch ein adipöser Patient ein MODY-Diabetiker sein kann.

Patient Nr. 7, MODY 3, HNF-1 α -Gen p.N614I

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante ist die Base Adenin an Position 1.841 der codierenden DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1), Exon 10, des HNF-1 α oder A homeobox A-Gens (MODY 3) zu Thymin ausgetauscht. Diese Veränderung führt auf Proteinebene an Position 614 von 631 des Proteins HNF-1 homeobox A zum Austausch der polaren, neutralen Aminosäure Asparagin gegen die unpolare und ebenfalls neutrale Aminosäure Isoleucin (104). Diese Position ist Bestandteil der Transaktivierungsdomäne (AS 281 bis 631) des Transkriptionsfaktors (107). In der öffentlich zugänglichen Datenbank LOVD (125) des Leiden University Medical Center ist die Veränderung nicht eingetragen. Bei einem Vergleich der Gensequenz mit 10 verschiedenen Organismen (Spezies) bei *Bos taurus* (Rind), *Canis familiaris* (Hund), *Equus caballus* (Pferd), *Macaca mulatta* (Rhesusaffe), *Monodelphis domestica* (Opossum), *Mus musculus* (Maus), *Ornithorhynchus anatinus* (Schnabeltier), *Pan troglodytes* (Schimpanse), *Pongo pygmaeus* (Orang Utan) und *Rattus norvegicus* (Ratte) erscheint der untersuchte Locus sowohl auf DNA- als auch auf Proteinebene konserviert (105). Die Veränderung kann aufgrund des Fehlens veröffentlichter Daten nicht eindeutig interpretiert werden und wird von uns deshalb als "abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare (möglicherweise krankheitsassoziierte) Sequenzveränderung" bezeichnet. Zur weiteren Abklärung wurde zusätzlich eine Segregationsanalyse in der Familie durchgeführt.

Segregationsanalyse:

Sowohl die Indexpatientin als auch ihre beiden Kinder (Sohn und Tochter) wurden daraufhin klinisch und genetisch untersucht. Bei beiden Kindern waren erhöhte Insulinwerte bekannt. Die Indexpatientin ist eine übergewichtige Diabetikerin. Die Veränderung konnte neben der Indexpatientin auch beim Sohn nachgewiesen werden, wobei die Tochter der von uns untersuchten Patientin Nr. 7 diese Veränderung nicht zeigte. Damit ergeben sich eher Hinweise, dass die Veränderung keine diabetische Erkrankung vom Typ MODY 3 verursacht. Ob die Veränderung weitere klinische Auswirkungen hat, kann nicht sicher beurteilt werden. Um dies weiterführend zu klären, sollten noch mehr Familienmitglieder in die Segregationsanalyse miteinbezogen werden.

Patient Nr. 8, MODY 3, HNF-1 α -Gen p.G31D

Charakterisierung der beobachteten MODY-Veränderung:

Bei dieser Sequenzvariante ist die Base Guanin an Position 92 der codierenden DNA (das A des Startcodons entspricht Pos. +1), Exon 1, des HNF-1 homeobox A - Gens gegen Adenin ausgetauscht (MODY 3). Diese Veränderung führt auf Proteinebene an Position 31 von 631 des Proteins HNF-1 homeobox A zum Austausch der unpolaren, neutralen Aminosäure Glycin gegen die polare und saure Aminosäure Asparaginsäure (104). Diese Position ist Bestandteil der Dimerisierungs-Domäne (AS1 bis 32) des Transkriptionsfaktors (107). In der öffentlich zugänglichen Datenbank LOVD (125) des Leiden University Medical Center ist die Veränderung drei Mal gelistet und als krankheitsassoziiert eingetragen. Bei dem Vergleich der Gensequenzen mit 10 verschiedenen Organismen (Spezies) bei *Bos taurus* (Rind), *Canis familiaris* (Hund), *Equus caballus* (Pferd), *Macaca mulatta* (Rhesusaffe), *Monodelphis domestica* (Opossum), *Mus musculus* (Maus), *Ornithorhynchus anatinus* (Schnabeltier), *Pan troglodytes* (Schimpanse), *Pongo pygmaeus* (Orang Utan) und *Rattus norvegicus* erscheint dieser Locus bei allen Spezies auf DNA- und Proteinebene konserviert (105). Erstmals veröffentlicht wurde die Veränderung im Rahmen einer Untersuchung von 18 MODY-Patienten, für die in einer vorangegangenen Studie keine Veränderung im Glucokinase-Gen nachgewiesen worden war. Dabei waren 16 der untersuchten Patienten französischer Herkunft, einer belgischen und einer brasilianischen Ursprungs. Bei diesen Patienten wurden die Gene HNF-4 α (MODY 1) und HNF-1 α

(MODY 3) untersucht und, sofern sie keine Veränderung aufwiesen, auch noch das Gen HNF-1 β (MODY 5). Bei einem der französischen Patienten wurde im Rahmen dieser Untersuchungen eine Veränderung im Gen HNF-1 α nachgewiesen. Für alle neu beschriebenen Veränderungen konnte in einer nachfolgenden Untersuchung von Familienangehörigen nachgewiesen werden, dass die Veränderung mit der Erkrankung segregierte. Allen in dieser Studie neu gefundenen Veränderungen im HNF-1 α -Gen wird eine verursachende Wirkung für die Entstehung von MODY 3 angenommen und mit der Lage in der wichtigen Dimerisierungsdomäne des weiter oben angeführten Transkriptionsfaktors in Verbindung gebracht (104). Bei einem anderen Screening von über 4.000 italienischen Kindern und Jugendlichen wurden 20 Patienten mit erhöhtem Glucosespiegel (zwischen 5,6 und 6,7 mmol/l) und familiärer Häufung von Typ-2-Diabetes genetisch auf Veränderungen im HNF-1 α -Gen (MODY 3) und Glucokinase-Gen (MODY 2) untersucht. Die bei Patient Nr. 8 gefundene Veränderung G31D konnte dort bei zwei nicht verwandten Indexpatienten nachgewiesen werden. Es fehlten jedoch weitere Angaben zu klinischen Daten und untersuchten Familienmitgliedern (130). In einer anderen zusammenfassenden Arbeit über bisher veröffentlichte Veränderungen im HNF-1 α -Gen (MODY 3) ist die von uns beobachtete Veränderung ebenfalls genannt (131). In dieser Arbeit wird auf die Entstehungsmechanismen von Veränderungen eingegangen, die hier gefundene Veränderung G31D jedoch nicht weiter diskutiert (131). Bei einer anderen Untersuchung an 36 Personen mit renalen Tumoren wurde die Veränderung bei einer nicht-diabetischen 75-jährigen Frau ohne Diabetes in der Familienanamnese gefunden. Die beobachtete Veränderung konnte bei dieser Patientin im Tumorgewebe sowie in nicht vom Tumor betroffenen Proben nachgewiesen werden und stellt somit eine Keimbahnmutation dar. Im Tumorgewebe konnte eine Deaktivierung des Wildtyp-Gens nicht nachgewiesen werden. Bei über 200 gesunden französischen Kontrollen wurde an dieser Position keine Veränderung gefunden (132). In einer weiteren Übersichtsarbeit über die Veränderungen und Funktionsweisen der bekannten MODY Gene wird berichtet, dass die hier gefundene Veränderung in sechs unabhängigen Familien nachgewiesen wurde, ohne jedoch weitere Auswirkungen oder Hinweise zu Untersuchungen zu geben (133). Die Veränderung wird zusammenfassend als „wahrscheinlich krankheitsassoziierte Sequenzveränderung“ bezeichnet. Trotz der in der Literatur vorgenommenen Einschätzung als krankheitsassoziierte Veränderung bleiben durch das Vorkommen bei einer nicht an Diabetes erkrankten Patientin Zweifel an einer alleinigen

Ursache für die Entwicklung von MODY. Eine Segregationsanalyse konnte bisher nicht durchgeführt werden.

4.2. Mutationsfrequenz und Modulation der Indikationskriterien

In den 90 molekulargenetisch untersuchten Fällen (aus 174 präselektierte Patienten) wurden die von uns ursprünglich angesetzten Indikationskriterien/Auswahlkriterien (siehe Punkt 2.2.1.) so moduliert bzw. geändert, dass eine vereinfachte Einteilung nach Indikationskriterien zu einer annähernd 10%-igen Mutationsfrequenz bezüglich des MODY führt.

In Tabelle 13 sind die erfassten MODY Fälle aus der 70 untersuchten Patienten (prozentual und absolut) dargestellt. Diese verteilen sich folgendermaßen in den Gruppen der ursprünglich festgelegten Indikationskriterien:

	A		B		C	
Anzahl Patienten (männlich/weiblich)	18		27		25	
	1	17	9	18	11	14
MODY-Mutationen (Gesamt)	3		1		3	
MODY-Mutationen männlich/weiblich	0	3	0	1	1	2
Mutationsrate MODY-Gesamt/Anzahl Gesamt (%)	16,6%		3,7%		12%	

Tabelle 13: Zusammengefasste Darstellung der MODY-Mutationen (absolut, prozentual) in Gruppen A-C (n=7)

Für die Gruppe **A** (ED≤26 Jahre) wurde eine Mutationsfrequenz von 16,6% bei drei identifizierten MODY-Patientinnen (zwei MODY 1 Mutationen und eine MODY 2 Mutation) aus 18 untersuchten Probanden (einer männlich, siebzehn weibliche) ermittelt. In dieser Indikationsgruppe erreichten wir eine über den Erwartungen liegende Mutationsfrequenz. Diese Gruppe wurde für eine 10%-ige Mutationfrequenz möglicherweise zu streng definiert und könnte bezüglich der festgelegten Erstdiagnose weiter gefasst werden.

Für die Gruppe **B** (Krankheitsbeginn/ED zwischen 26 und 36 Jahren, zusätzlich schlanker Habitus oder ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt) wurde eine Mutationsfrequenz von 3,7% bei einer identifizierten MODY 3 Patientin aus 27 untersuchten Probanden (9 männlich, 18 weiblich) ermittelt. Diese Gruppe wurde für eine 10%-ige Mutationfrequenz zu großzügig definiert und erfordert mehr Stringenz bezüglich der festgelegten Erstdiagnose und BMI.

Für die Gruppe **C** (Krankheitsbeginn/ED nicht relevant, schlanker Habitus, zusätzlich ein Elternteil oder Kind an Diabetes erkrankt) wurde eine Mutationsfrequenz von 12% bei zwei identifizierten MODY 2 Patientinnen und einem MODY 3 Patient aus 25 untersuchten Probanden (11 männlich, 14 weiblich) ermittelt und liegt damit leicht oberhalb der von uns angestrebten 10%-igen Mutationfrequenz. Ziel ist auch hier mit einer Veränderung des BMI-Indexes auf eine annähernd 10%-ige Mutationfrequenz zu kommen.

Die von uns festgelegten Indikationskriterien führen in unserer Studie zu einer von uns erwünschten 10%-igen Mutationsrate. Dabei wird eine MODY-Veränderung (Patient Nr.5, MODY 2) nicht erfasst, die bei einer geringen Überschreitung des BMI-Indexes (BMI=26,2) nur annähernd die Indikationskriterien der Gruppe **C** erfüllt

4.2.1. Modulation und Diskussion der Ergebnisse in Gruppe A¹ und B¹

Um eine vereinfachte Einteilung der Patienten nach Indikationskriterien zu erzielen, die annähernd zu einer 10%-igen Mutationfrequenz führen, wurden aus den drei Gruppen (**A**, **B**, **C**) zwei neue Gruppen **A¹** und **B¹** gebildet. Nach Erstdiagnose und BMI ergibt sich folgende Definition:

A¹. Krankheitsbeginn unter 30 Jahren (ED≤30).

Die neue Gruppe **A¹** (ED≤30) enthält 27 Patienten (2 männlich, 25 weiblich). In dieser Gruppe wurden drei MODY-Mutationen - Patient Nr. 1, 2 (MODY 1) und Patient Nr. 3 (MODY 2) – erfasst und damit eine Mutationfrequenz von 11,1% erzielt (Tab.13). In dieser Gruppe zeigten die Patienten folgende Familienanamnese:

13 Patienten haben eine positive Familienanamnese ersten Grades (Vater, Mutter, Sohn, Tochter haben Diabetes).

6 Patienten haben in der Familienverwandtschaft eine Diabetes-Erkrankung (Großmutter, Großvater, Onkel, Tante, Bruder, Schwester, Cousin)

8 Patienten haben keine positive Familienanamnese bezüglich Diabetes.

B¹. BMI≤30

Die neue Gruppe **B¹** (BMI≤30) enthält 48 Patienten (22 männlich, 26 weiblich). In dieser Gruppe wurden vier MODY-Mutationen - Patient Nr. 4, 5, 6 (MODY 2) und Patient Nr. 8 (MODY 3) – erfasst und damit eine Mutationsfrequenz von 8,33% erzielt (Tab.13). In dieser Gruppe zeigten die Patienten folgende Familienanamnese:

35 Patienten haben eine positive Familienanamnese ersten Grades (Vater, Mutter, Sohn, Tochter haben eine Diabetes-Erkrankung).

10 Patienten haben in der Familienverwandtschaft eine Diabetes-Erkrankung (Großmutter, Großvater, Onkel, Tante, Bruder, Schwester, Cousin).

3 Patienten haben keine positive Familienanamnese bezüglich Diabetes.

Modulation nach A	A¹		B¹	
Anzahl Gesamt	27		48	
(männlich/weiblich)	2	25	22	26
MODY-Mutationen (Gesamt)	3		4	
MODY-Mutationen männlich/weiblich	0	3	1	3
Mutationsrate MODY-Gesamt/Anzahl Gesamt (%)	11,1%		8,33%	

Tabelle 14: Verteilung der Mutationen in den neuen Gruppen A¹ und B¹

4.2.2. Vorschlag von modifizierten Indikationskriterien mit einer Mutationsfrequenz von 10%

Nach der von uns retrospektiv durchgeführten neuen Einteilung der 90 molekulargenetisch untersuchten Patienten in Gruppe **A¹** und **B¹** wurden 75 Patienten mit 7 MODY-Veränderungen erfasst (Patient Nr. 1 bis 6 und Nr. 8), wobei die Familienanamnese nicht berücksichtigt wurde. 64 Patienten (85,33%) haben eine Diabeteserkrankung in der Familie – 48 Patienten (64,10%) haben eine Familienanamnese ersten Grades (Vater, Mutter, Sohn, Tochter), 16 Patienten (21,33%) eine Familienanamnese in der Verwandtschaft (Großmutter, Großvater, Onkel, Tante, Bruder,

Schwester, Cousin) - und 11 Patienten zeigen keine positive Familienanamnese bezüglich Diabetes. Die Mutationsrate liegt nach dieser Einteilung bei 9,33% und somit annähernd einer der von uns ursprünglich festgelegten Indikationskriterien und erwünschten Mutationsfrequenz von 10%. Dabei werden hier bis auf eine MODY 3 Veränderung (Patient Nr. 7) alle Mutationen erfasst, wobei die MODY 2 Veränderung (Patient Nr. 5), welche in den Gruppen **A, B, C** nicht erfasst wurde, hier einbezogen ist. Bei der nicht erfassten MODY 3 Veränderung handelt es sich um eine Mutation bei der durch die Segregationsanalyse keine Krankheitsassoziation festgestellt werden konnte. Die Patientin Nr. 7 leidet an einer Hyperinsulinämie mit einer Insulinresistenz bei einer ED von 33 Jahre und einem BMI von 47,4. Die 15 nicht erfassten Patienten (8 männlich, 7 weiblich) zeigen insgesamt in 13 Fälle eine positive Familienanamnese ersten Grades (Vater, Mutter, Sohn, Tochter) bezüglich Diabetes, einmal eine Familienanamnese in der Verwandtschaft und einmal keine positive Familienanamnese. Bei dieser Einteilung der molekulargenetisch untersuchten Patienten sollte nach der 30-30 Regel ($ED \leq 30$, $BMI \leq 30$) bei einer positiven Familienanamnese bezüglich Diabetes eine molekulargenetische Untersuchung auf MODY 1, 2 und 3 durchgeführt werden. Es ist zu bedenken, dass die Erfassung der Familienanamnesen aufwendig und nicht immer aussagekräftig sein kann. Vor allem bei sehr kleinen Familien, unbekannter Vaterschaft, frühem Tod der Eltern oder im Falle von Aussiedler welche keine genaue Angaben über die Verwandtschaft äußern können kann eine Familienanamnesen schwierig sein. Eine Stammbaumanalyse sowie eine durch einen Facharzt für Humangenetik initiierte Segregationsanalysen fördert die Diabetes Klassifikation in betroffenen Familien (66).

4.3. MODY und der "dynamische Glucose-Clamp " (dGC)

In unserer Studie wurden von den 90 genetisch untersuchten Patienten 44 zuvor mit dem dynamischen Glucose-Clamp (dGC) untersucht, wobei bei drei Patienten eine MODY-Veränderung festgestellt wurde. Bei den Patienten mit diagnostizierter MODY-Veränderung (Patient Nr. 1, Patient Nr. 3 und Patient Nr. 7) wurde im dGC eine Insulinresistenz festgestellt (= Ergebnisvariante Nr. 2, siehe Punkt 2.3.1). Durch die dGC-Untersuchung ist es somit gelungen, im frühen Erkrankungsstadium einen MODY 2 und MODY 3 Diabetes zu identifizieren. Diese wäre nach den allgemeinen Diagnosekriterien nicht als Diabetes erkannt worden. Dies entspricht 25% der insgesamt identifizierten MODY-Patienten in unserer Studie. Dem dGC kommt somit im

Sinne einer rechtzeitigen Diagnosestellung eine hohe Bedeutung nicht nur in der frühen Identifikation einer diabetologischen Stoffwechselstörung, sondern gleichzeitig auch in der frühen Identifikation eines MODY-Diabetes zu. Durch den dGC erhält der Diabetologe eine genauere Information über die Betazellfunktion. Hierdurch kann perspektivisch auch die Therapie verbessert werden.

5. Zusammenfassung

Die Diagnose der monogenen Formen des Diabetes, die auch als MODY (maturity-onset diabetes of the young) in Abgrenzung zum Typ-2 Diabetes oder auch Typ-1 Diabetes fällt häufig schwer (52). In der vorliegenden Studie wurden 90 Diabetes-Patienten molekulargenetisch auf MODY 1, 2 und 3 untersucht. Diese 90 erfassten Patienten wurden anhand aktueller Indikationskriterien (siehe 2.2.1.) aus dem gesamten Patientenkollektiv ($n=2.772$) selektiert. Bei den 90 molekulargenetisch untersuchten Patienten konnten 8 Veränderungen in MODY Genen (8,8%) (zweimal MODY 1, viermal MODY 2 und zweimal MODY 3) festgestellt werden. Diese Varianten wurden anhand aktuell veröffentlichter Daten auf den Krankheitswert hin interpretiert und diskutiert. Aus 90 Patienten erfüllten 70 genau die von uns im Punkt 2.2.1. festgelegten Indikationskriterien. Die restlichen 20 Patienten erfüllten mit einem $BMI < 42$ sowie einer fehlender Familienanamnese ersten Grades annähernd die von uns festgelegten Indikationskriterien. In der Gruppe der 70 Patienten sind 7 der identifizierten MODY-Mutationen (ein Mann, sechs Frauen) enthalten. Dieses entspricht der von uns in der Studie angestrebten Mutationsfrequenz von 10%. Die vorliegende Studie zeigt damit, dass durch eine gezielte Selektierung der Patienten anhand klinischer Parameter eine Identifizierung des MODY-Diabetes möglich ist. Aus jedem Kollektiv (Diabetes-Typ-1, Diabetes-Typ-2, Schwangerschaftsdiabetes) der Diabetes-Erkrankungen konnten MODY Fälle identifiziert werden. Zwei Mutationen waren MODY 1 Fälle, vier MODY 2 Fälle und zwei MODY 3 Fälle. Zwei der sieben abklärungsbedürftigen Mutationen wurden durch eine Segregationsanalyse in der Familie weiter untersucht (Patient Nr. 4, Patient Nr. 7). Damit konnte in einem Fall (Patient Nr. 4, MODY-2) der Rückschluss gezogen werden, dass diese Mutation wahrscheinlich keinen Krankheitswert besitzt. Durch die Modulation der Indikationskriterien wurden retrospektiv die festgelegten Determinanten verändert und eine für den praktizierenden Diabetologen vereinfachte 30-30 Regel herausgearbeitet. Daraus ergibt sich die Empfehlung einer molekulargenetischen Untersuchung eines Diabetes-Patienten bei einer $ED \leq 30$ und $BMI \leq 30$, wenn eine positive Familienanamnese in der Familie bezüglich Diabetes vorliegt. Durch diese neue Einteilung der Patienten erreichten wir bei dann 75 erfassten Patienten insgesamt 7 MODY-Veränderungen und damit eine Mutationsfrequenz von 9,33%, welche im von uns angestrebten Bereich liegt. Die Erfassung einer diabetologischen Stoffwechselstörung mit dem dGC erhöht die

Wahrscheinlichkeit eine Diabetes-Erkrankung frühzeitig zu identifizieren und damit auch eine frühzeitige Einleitung einer molekulargenetischen Untersuchung bezüglich MODY. Durch den dCG konnten in dieser Studie 25% der MODY Fälle identifiziert werden. Diese wären durch die allgemeinen Diagnoseleitlinien nicht als Diabetes-Patienten klassifiziert worden. Der Nachweis eines monogenen Diabetes in den betroffenen Familien führt zu einer besseren Betreuung der Patienten und einer adäquaten Therapie. Der Ausschluss einer genetischen Veränderung schafft ebenfalls Klarheit für die betroffene Familie. Eine korrekte MODY-Diagnose mit einer Abgrenzung vom Diabetes-Typ-1 und -Typ-2 sowie eine ausführliche Aufklärung des Patienten erscheint in einer diabetologischen Praxis besonders wichtig (134).

6. Anhang

6.1. Literaturverzeichnis

1. Federation, I.D., *Diabetes atlas*, 4th edn. 2009, Brüssel, Belgien. Aufgerufen am 12.08.2010 vom: <http://www.diabetesatlas.org/map>
2. Christopher, C.P., Gisela, G.D., Eva, G., Anders, G. Gyula, S. Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989-2003 and predicted new cases 2005-20: a multicentre prospective registration study. *The Lancet* **373**, 2027-2033 (2009).
3. King, M.L., Shaikh, A., Bidwell, D., Voller, A. Banatvala, J.E. Coxsackie-B-virus-specific IgM responses in children with insulin-dependent (juvenile-onset; type I) diabetes mellitus. *Lancet* **1**, 1397-9 (1983).
4. Pak, C.Y., Eun, H.M., McArthur, R.G. Yoon, J.W. Association of cytomegalovirus infection with autoimmune type 1 diabetes. *Lancet* **2**, 1-4 (1988).
5. Gerich, J. The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity. *Endocrine Reviews*, 491-503 (1998).
6. Busch, C.P. Hegele, R.A. Genetic determinants of type 2 diabetes mellitus. *Clin Genet* **60**, 243-54 (2001).
7. Stumvoll, M., Goldstein, B.J. van Haeften, T.W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet* **365**, 1333-46 (2005).
8. Ramlo-Halsted, B.A. Edelman, S.V. The natural history of type 2 diabetes. Implications for clinical practice. *Prim Care* **26**, 771-89 (1999).
9. Despres, J.P. The insulin resistance-dyslipidemic syndrome of visceral obesity: effect on patients' risk. *Obes Res* **6 Suppl 1**, 8S-17S (1998).
10. Reaven, G.M. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiol Rev* **75**, 473-86 (1995).
11. James, D.E., Kraegen, E.W. Chisholm, D.J. Effects of exercise training on in vivo insulin action in individual tissues of the rat. *J Clin Invest* **76**, 657-66 (1985).
12. Hales, C.N., Barker, D.J., Clark, P.M., Cox, L.J., Fall, C., Osmond, C. Winter, P.D. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ* **303**, 1019-22 (1991).

13. Lithell, H.O., McKeigue, P.M., Berglund, L., Mohsen, R., Lithell, U.B. Leon, D.A. Relation of size at birth to non-insulin dependent diabetes and insulin concentrations in men aged 50-60 years. *BMJ* **312**, 406-10 (1996).
14. SPRAGUE, R.G., HAYLES, A.B., POWER, M.H., MASON, H.L. BENNETT, W.A. "STEROID DIABETES" AND ALKALOSIS ASSOCIATED WITH CUSHING'S SYNDROME: REPORT OF CASE, ISOLATION OF 17-HYDROXY-CORTICOSTERONE (COMPOUND F) FROM URINE, AND METABOLIC STUDIES. *J Clin Endocrinol* **10**, 289-306 (1950).
15. Donihi, A.C., Raval, D., Saul, M., Korytkowski, M.T. DeVita, M.A. Prevalence and predictors of corticosteroid-related hyperglycemia in hospitalized patients. *Endocr Pract* **12**, 358-62 (2006).
16. Gress, T.W., Nieto, F.J., Shahar, E., Wofford, M.R. Brancati, F.L. Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 diabetes mellitus. Atherosclerosis Risk in Communities Study. *N Engl J Med* **342**, 905-12 (2000).
17. O'Sullivan, J.B. Diabetes mellitus after GDM. *Diabetes* **40 Suppl 2**, 131-5 (1991).
18. Knowler, W.C., Pettitt, D.J., Saad, M.F. Bennett, P.H. Diabetes mellitus in the Pima Indians: incidence, risk factors and pathogenesis. *Diabetes Metab Rev* **6**, 1-27 (1990).
19. Zimmet, P., Dowse, G., Finch, C., Serjeantson, S. King, H. The epidemiology and natural history of NIDDM--lessons from the South Pacific. *Diabetes Metab Rev* **6**, 91-124 (1990).
20. Attvall, S., Fowelin, J., Lager, I., Von Schenck, H. Smith, U. Smoking induces insulin resistance--a potential link with the insulin resistance syndrome. *J Intern Med* **233**, 327-32 (1993).
21. Eliasson, B., Attvall, S., Taskinen, M.R. Smith, U. The insulin resistance syndrome in smokers is related to smoking habits. *Arterioscler Thromb* **14**, 1946-50 (1994).
22. Frati, A.C., Iniestra, F. Ariza, C.R. Acute effect of cigarette smoking on glucose tolerance and other cardiovascular risk factors. *Diabetes Care* **19**, 112-8 (1996).

23. Ronnema, T., Ronnema, E.M., Puukka, P., Pyorala, K. Laakso, M. Smoking is independently associated with high plasma insulin levels in nondiabetic men. *Diabetes Care* **19**, 1229-32 (1996).
24. Poulsen, P., Kyvik, K.O., Vaag, A. Beck-Nielsen, H. Heritability of type II (non-insulin-dependent) diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance--a population-based twin study. *Diabetologia* **42**, 139-45 (1999).
25. Almind, K., Doria, A. Kahn, C.R. Putting the genes for type II diabetes on the map. *Nat Med* **7**, 277-9 (2001).
26. Liese, A.D., Mayer-Davis, E.J. Haffner, S.M. Development of the multiple metabolic syndrome: an epidemiologic perspective. *Epidemiol Rev* **20**, 157-72 (1998).
27. Florez, J.C., Hirschhorn, J. Altshuler, D. The inherited basis of diabetes mellitus: implications for the genetic analysis of complex traits. *Annu Rev Genomics Hum Genet* **4**, 257-91 (2003).
28. Ahlqvist, E., Ahluwalia, T.S. Groop, L. Genetics of Type 2 Diabetes. *Clin Chem* (2010).
29. Billings, L.K. Florez, J.C. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS? *Ann N Y Acad Sci* **1212**, 59-77 (2010).
30. Dupuis, J., Langenberg, C., Prokopenko, I., Saxena, R., Soranzo, N., Jackson, A.U., Wheeler, E., Glazer, N.L., Bouatia-Naji, N., Gloyn, A.L. et al. New genetic loci implicated in fasting glucose homeostasis and their impact on type 2 diabetes risk. *Nat Genet* **42**, 105-16 (2010).
31. Doria, A., Patti, M.E. Kahn, C.R. The emerging genetic architecture of type 2 diabetes. *Cell Metab* **8**, 186-200 (2008).
32. Altshuler, D., Hirschhorn, J.N., Klannemark, M., Lindgren, C.M., Vohl, M.C., Nemesh, J., Lane, C.R., Schaffner, S.F., Bolk, S., Brewer, C. et al. The common PPARgamma Pro12Ala polymorphism is associated with decreased risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* **26**, 76-80 (2000).
33. Gloyn, A.L., Weedon, M.N., Owen, K.R., Turner, M.J., Knight, B.A., Hitman, G., Walker, M., Levy, J.C., Sampson, M., Halford, S. et al. Large-scale association studies of variants in genes encoding the pancreatic beta-cell KATP channel subunits Kir6.2 (KCNJ11) and SUR1 (ABCC8) confirm that the KCNJ11 E23K variant is associated with type 2 diabetes. *Diabetes* **52**, 568-72 (2003).

34. Grant, S.F., Thorleifsson, G., Reynisdottir, I., Benediktsson, R., Manolescu, A., Sainz, J., Helgason, A., Stefansson, H., Emilsson, V., Helgadottir, A. et al. Variant of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene confers risk of type 2 diabetes. *Nat Genet* **38**, 320-3 (2006).
35. Zeggini, E. McCarthy, M.I. TCF7L2: the biggest story in diabetes genetics since HLA? *Diabetologia* **50**, 1-4 (2007).
36. Franklin, C.S., Aulchenko, Y.S., Huffman, J.E., Vitart, V., Hayward, C., Polasek, O., Knott, S., Zgaga, L., Zemunik, T., Rudan, I. et al. The TCF7L2 diabetes risk variant is associated with HbA(C) levels: a genome-wide association meta-analysis. *Ann Hum Genet* **74**, 471-8 (2010).
37. Sladek, R., Rocheleau, G., Rung, J., Dina, C., Shen, L., Serre, D., Boutin, P., Vincent, D., Belisle, A., Hadjadj, S. et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* **445**, 881-5 (2007).
38. Hyttinen, V., Kaprio, J., Kinnunen, L., Koskenvuo, M. Tuomilehto, J. Genetic liability of type 1 diabetes and the onset age among 22,650 young Finnish twin pairs: a nationwide follow-up study. *Diabetes* **52**, 1052-5 (2003).
39. Petrone, A., Spoletini, M., Zampetti, S., Capizzi, M., Zavarella, S., Osborn, J., Pozzilli, P. Buzzetti, R. The PTPN22 1858T gene variant in type 1 diabetes is associated with reduced residual beta-cell function and worse metabolic control. *Diabetes Care* **31**, 1214-8 (2008).
40. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* **447**, 661-78 (2007).
41. Bottini, N., Musumeci, L., Alonso, A., Rahmouni, S., Nika, K., Rostamkhani, M., MacMurray, J., Meloni, G.F., Lucarelli, P., Pellecchia, M. et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes. *Nat Genet* **36**, 337-8 (2004).
42. Todd, J.A., Walker, N.M., Cooper, J.D., Smyth, D.J., Downes, K., Plagnol, V., Bailey, R., Nejentsev, S., Field, S.F., Payne, F. et al. Robust associations of four new chromosome regions from genome-wide analyses of type 1 diabetes. *Nat Genet* **39**, 857-64 (2007).
43. Mustelin, T., Vang, T. Bottini, N. Protein tyrosine phosphatases and the immune response. *Nat Rev Immunol* **5**, 43-57 (2005).

44. Smyth, D.J., Cooper, J.D., Bailey, R., Field, S., Burren, O., Smink, L.J., Guja, C., Ionescu-Tirgoviste, C., Widmer, B., Dunger, D.B. et al. A genome-wide association study of nonsynonymous SNPs identifies a type 1 diabetes locus in the interferon-induced helicase (IFIH1) region. *Nat Genet* **38**, 617-9 (2006).
45. Meissner T, M.J., Schober E. Maturity-onset diabetes of the young (MODY). *Diabetologe* **6**, 219-230 (2010).
46. Velho, G. Froguel, P. Genetic, metabolic and clinical characteristics of maturity onset diabetes of the young. *Eur J Endocrinol* **138**, 233-9 (1998).
47. Tattersall, R. Maturity-onset diabetes of the young: a clinical history. *Diabet Med* **15**, 11-4 (1998).
48. Man, O.M.I.i. *TYROSINE KINASE, B-LYMPHOCYTE SPECIFIC; BLK*. 2010; Aufgerufen am 27.10.2010 vom: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/191305>
49. Molven, A., Ringdal, M., Nordbo, A.M., Raeder, H., Stoy, J., Lipkind, G.M., Steiner, D.F., Philipson, L.H., Bergmann, I., Aarskog, D. et al. Mutations in the insulin gene can cause MODY and autoantibody-negative type 1 diabetes. *Diabetes* **57**, 1131-5 (2008).
50. Winter, W.E., Nakamura, M. House, D.V. Monogenic diabetes mellitus in youth. The MODY syndromes. *Endocrinol Metab Clin North Am* **28**, 765-85 (1999).
51. Fajans, S.S., Bell, G.I. Polonsky, K.S. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of maturity-onset diabetes of the young. *N Engl J Med* **345**, 971-80 (2001).
52. Ellard, S., Bellanne-Chantelot, C. Hattersley, A.T. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* **51**, 546-53 (2008).
53. Frayling, T.M., Lindgren, C.M., Chevre, J.C., Menzel, S., Wishart, M., Benmezroua, Y., Brown, A., Evans, J.C., Rao, P.S., Dina, C. et al. A genome-wide scan in families with maturity-onset diabetes of the young: evidence for further genetic heterogeneity. *Diabetes* **52**, 872-81 (2003).
54. Ledermann, H.M. Is maturity onset diabetes at young age (MODY) more common in Europe than previously assumed? *Lancet* **345**, 648 (1995).

55. Fernandez-Zapico, M.E., van Velkinburgh, J.C., Gutiérrez-Aguilar, R., Neve, B., Froguel, P., Urrutia, R. Stein, R. MODY7 Gene, KLF11, Is a Novel p300-dependent Regulator of Pdx-1 (MODY4) Transcription in Pancreatic Islet β Cells. *Journal of Biological Chemistry* **284**, 36482-36490 (2009).
56. Liu, L., Furuta, H., Minami, A., Zheng, T., Jia, W., Nanjo, K. Xiang, K. A novel mutation, Ser159Pro in the NeuroD1/BETA2 gene contributes to the development of diabetes in a Chinese potential MODY family. *Molecular and Cellular Biochemistry* **303**, 115-120 (2007).
57. McCarthy, M.I. Hattersley, A.T. Learning from molecular genetics: novel insights arising from the definition of genes for monogenic and type 2 diabetes. *Diabetes* **57**, 2889-98 (2008).
58. Neve, B., Fernandez-Zapico, M.E., Ashkenazi-Katalan, V., Dina, C., Hamid, Y.H., Joly, E., Vaillant, E., Benmezroua, Y., Durand, E., Bakaher, N. et al. Role of transcription factor KLF11 and its diabetes-associated gene variants in pancreatic beta cell function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **102**, 4807-12 (2005).
59. Raeder, H., Johansson, S., Holm, P.I., Haldorsen, I.S., Mas, E., Sbarra, V., Neramoen, I., Eide, S.A., Grevle, L., Bjorkhaug, L. et al. Mutations in the CEL VNTR cause a syndrome of diabetes and pancreatic exocrine dysfunction. *Nat Genet* **38**, 54-62 (2006).
60. Torsvik, J., Johansson, S., Johansen, A., Ek, J., Minton, J., Ræder, H., Ellard, S., Hattersley, A., Pedersen, O., Hansen, T. et al. Mutations in the VNTR of the carboxyl-ester lipase gene (&i&t;CEL&/i&t;) are a rare cause of monogenic diabetes. *Human Genetics* **127**, 55-64 (2010).
61. Frayling, T.M., Evans, J.C., Bulman, M.P., Pearson, E., Allen, L., Owen, K., Bingham, C., Hannemann, M., Shepherd, M., Ellard, S. et al. beta-cell genes and diabetes: molecular and clinical characterization of mutations in transcription factors. *Diabetes* **50 Suppl 1**, S94-100 (2001).
62. Schober, E., Rami, B., Grabert, M., Thon, A., Kapellen, T., Reinehr, T. Holl, R.W. Phenotypical aspects of maturity-onset diabetes of the young (MODY diabetes) in comparison with Type 2 diabetes mellitus (T2DM) in children and adolescents: experience from a large multicentre database. *Diabetic Medicine* **26**, 466-473 (2009).

63. Barrio, R., Bellanne-Chantelot, C., Moreno, J.C., Morel, V., Calle, H., Alonso, M. Mustieles, C. Nine novel mutations in maturity-onset diabetes of the young (MODY) candidate genes in 22 Spanish families. *J Clin Endocrinol Metab* **87**, 2532-9 (2002).
64. Borowiec, M., Liew, C.W., Thompson, R., Boonyasrisawat, W., Hu, J., Mlynarski, W.M., El Khattabi, I., Kim, S.H., Marselli, L., Rich, S.S. et al. Mutations at the BLK locus linked to maturity onset diabetes of the young and beta-cell dysfunction. *Proc Natl Acad Sci U S A* **106**, 14460-5 (2009).
65. Baltrusch, S. Tiedge, M. Glucokinase Regulatory Network in Pancreatic β -Cells and Liver. *Diabetes* **55**, S55-S64 (2006).
66. Meyer P., M.B., Schmitt C., Stapelmann H., Garbe C. Stammbaumanalyse versus Familienanamnese bei der Erfassung familiärer Krebserkrankungen. *DBI Der Bay. Int.* (2006).
67. Velho, G. Froguel, P. Maturity-onset diabetes of the young (MODY), MODY genes and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Metab* **23 Suppl 2**, 34-7 (1997).
68. Timsit, J., Bellanne-Chantelot, C., Dubois-Laforgue, D. Velho, G. Diagnosis and management of maturity-onset diabetes of the young. *Treat Endocrinol* **4**, 9-18 (2005).
69. Osbak, K.K., Colclough, K., Saint-Martin, C., Beer, N.L., Bellanne-Chantelot, C., Ellard, S. Gloyn, A.L. Update on mutations in glucokinase (GCK), which cause maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemic hypoglycemia. *Hum Mutat* **30**, 1512-26 (2009).
70. Cheng, Y.W. Caughey, A.B. Gestational diabetes: diagnosis and management. *J Perinatol* **28**, 657-64 (2008).
71. Lehmann, R., Troendle, A. Brandle, M. [New insights into diagnosis and management of gestational diabetes mellitus: recommendations of the Swiss Society for Endocrinology and Diabetes]. *Ther Umsch* **66**, 695-706 (2009).
72. Shields, B.M., Spyer, G., Slingerland, A.S., Knight, B.A., Ellard, S., Clark, P.M., Hauguel-de Mouzon, S. Hattersley, A.T. Mutations in the glucokinase gene of the fetus result in reduced placental weight. *Diabetes Care* **31**, 753-7 (2008).

73. Hattersley, A.T., Beards, F., Ballantyne, E., Appleton, M., Harvey, R. Ellard, S. Mutations in the glucokinase gene of the fetus result in reduced birth weight. *Nat Genet* **19**, 268-70 (1998).
74. Hattersley, A.T. Tooke, J.E. The fetal insulin hypothesis: an alternative explanation of the association of low birthweight with diabetes and vascular disease. *Lancet* **353**, 1789-92 (1999).
75. Spyer, G., Macleod, K.M., Shepherd, M., Ellard, S. Hattersley, A.T. Pregnancy outcome in patients with raised blood glucose due to a heterozygous glucokinase gene mutation. *Diabet Med* **26**, 14-8 (2009).
76. Stride, A. Hattersley, A.T. Different genes, different diabetes: lessons from maturity-onset diabetes of the young. *Ann Med* **34**, 207-16 (2002).
77. Hattersley, A.T. Maturity-onset diabetes of the young: clinical heterogeneity explained by genetic heterogeneity. *Diabet Med* **15**, 15-24 (1998).
78. Conn, J.J., Simm, P.J., Oats, J.J., Nankervis, A.J., Jacobs, S.E., Ellard, S. Hattersley, A.T. Neonatal hyperinsulinaemic hypoglycaemia and monogenic diabetes due to a heterozygous mutation of the HNF4A gene. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* **49**, 328-30 (2009).
79. Kapoor, R.R., Locke, J., Colclough, K., Wales, J., Conn, J.J., Hattersley, A.T., Ellard, S. Hussain, K. Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia and maturity-onset diabetes of the young due to heterozygous HNF4A mutations. *Diabetes* **57**, 1659-63 (2008).
80. Pearson, E.R., Boj, S.F., Steele, A.M., Barrett, T., Stals, K., Shield, J.P., Ellard, S., Ferrer, J. Hattersley, A.T. Macrosomia and hyperinsulinaemic hypoglycaemia in patients with heterozygous mutations in the HNF4A gene. *PLoS Med* **4**, e118 (2007).
81. Mitchell, S.M. Frayling, T.M. The role of transcription factors in maturity-onset diabetes of the young. *Mol Genet Metab* **77**, 35-43 (2002).
82. Pearson, E.R., Pruhova, S., Tack, C.J., Johansen, A., Castleden, H.A., Lumb, P.J., Wierzbicki, A.S., Clark, P.M., Lebl, J., Pedersen, O. et al. Molecular genetics and phenotypic characteristics of MODY caused by hepatocyte nuclear factor 4alpha mutations in a large European collection. *Diabetologia* **48**, 878-85 (2005).
83. Pfeiffer, A.F.H. Jahresbericht 2002. (Arbeitsgemeinschaft Molekularbiologie und Genetik des Diabetes, Dresden, 2006).

84. Tattersall, R.B. Fajans, S.S. A difference between the inheritance of classical juvenile-onset and maturity-onset type diabetes of young people. *Diabetes* **24**, 44-53 (1975).
85. Finkernagel, H. Früherkennung einer diabetischen Stoffwechsellage mit dem dynamischen Glucose Clamp dGC early detection of diabetes EDD-study 2004-2008. (Leipzig, 2009).
86. Hegener-Hachmann, A. Dissertation Hohen Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum (2001).
87. Marx, N. Pathophysiologie der Arteriosklerose bei Diabetes mellitus. *Clinical Research in Cardiology Supplements*, 31-38 (2006).
88. Kasuga, M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. *J Clin Invest* **116**, 1756-60 (2006).
89. Matthaei, S., Stumvoll, M., Kellerer, M. Haring, H.U. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocr Rev* **21**, 585-618 (2000).
90. Dunnen, J.d. *Nomenclature for the description of sequence variants*. 2010; Aufgerufen am 27.10.2010 vom: <http://www.hgvs.org/mutnomen>
91. Chemie, D.A. Gremienbeschlüsse für den Bereich Medizinische Laboratoriumsdiagnostik. 29.04.2008 edn (DACH, 2008).
92. Odom, D.T., Zizlsperger, N., Gordon, D.B., Bell, G.W., Rinaldi, N.J., Murray, H.L., Volkert, T.L., Schreiber, J., Rolfe, P.A., Gifford, D.K. et al. Control of pancreas and liver gene expression by HNF transcription factors. *Science* **303**, 1378-81 (2004).
93. Thomas, H., Jaschkowitz, K., Bulman, M., Frayling, T.M., Mitchell, S.M., Roosen, S., Lingott-Frieg, A., Tack, C.J., Ellard, S., Ryffel, G.U. et al. A distant upstream promoter of the HNF-4alpha gene connects the transcription factors involved in maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mol Genet* **10**, 2089-97 (2001).
94. Chartier, F.L., Bossu, J.P., Laudet, V., Fruchart, J.C. Laine, B. Cloning and sequencing of cDNAs encoding the human hepatocyte nuclear factor 4 indicate the presence of two isoforms in human liver. *Gene* **147**, 269-72 (1994).

95. Yamagata, K., Furuta, H., Oda, N., Kaisaki, P.J., Menzel, S., Cox, N.J., Fajans, S.S., Signorini, S., Stoffel, M. Bell, G.I. Mutations in the hepatocyte nuclear factor-4alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY1). *Nature* **384**, 458-60 (1996).
96. Eeckhoutte, J., Formstecher, P. Laine, B. Maturity-Onset Diabetes of the Young Type 1 (MODY1)-Associated Mutations R154X and E276Q in Hepatocyte Nuclear Factor 4 $\{\{\alpha\}\}$ (HNF4 $\{\{\alpha\}\}$) Gene Impair Recruitment of p300, a Key Transcriptional Coactivator. *Mol Endocrinol* **15**, 1200-1210 (2001).
97. Monique Losekoot, V.J. *Hepatocyte Nuclear Factor 4, alpha*. Aufgerufen am 28.10.2010 vom: <http://grenada.lumc.nl/LOVD2/diabetes/home.php>
98. Ryffel, G.U. Mutations in the human genes encoding the transcription factors of the hepatocyte nuclear factor (HNF)1 and HNF4 families: functional and pathological consequences. *J Mol Endocrinol* **27**, 11-29 (2001).
99. Lausen, J., Thomas, H., Lemm, I., Bulman, M., Borgschulze, M., Lingott, A., Hattersley, A.T. Ryffel, G.U. Naturally occurring mutations in the human HNF4alpha gene impair the function of the transcription factor to a varying degree. *Nucleic Acids Res* **28**, 430-7 (2000).
100. Lehto, M., Bitzen, P.O., Isomaa, B., Wipemo, C., Wessman, Y., Forsblom, C., Tuomi, T., Taskinen, M.R. Groop, L. Mutation in the HNF-4alpha gene affects insulin secretion and triglyceride metabolism. *Diabetes* **48**, 423-5 (1999).
101. Wang, H., Maechler, P., Antinozzi, P.A., Hagenfeldt, K.A. Wollheim, C.B. Hepatocyte nuclear factor 4alpha regulates the expression of pancreatic beta - cell genes implicated in glucose metabolism and nutrient-induced insulin secretion. *J Biol Chem* **275**, 35953-9 (2000).
102. Chen, W.S., Manova, K., Weinstein, D.C., Duncan, S.A., Plump, A.S., Prezioso, V.R., Bachvarova, R.F. Darnell, J.E., Jr. Disruption of the HNF-4 gene, expressed in visceral endoderm, leads to cell death in embryonic ectoderm and impaired gastrulation of mouse embryos. *Genes Dev* **8**, 2466-77 (1994).
103. Stride, A., Vaxillaire, M., Tuomi, T., Barbetti, F., Njolstad, P.R., Hansen, T., Costa, A., Conget, I., Pedersen, O., Sovik, O. et al. The genetic abnormality in the beta cell determines the response to an oral glucose load. *Diabetologia* **45**, 427-35 (2002).

104. Lottspeich F., Z.H. (ed.) *Bioanalytik* (Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Heidelberg., 1998).
105. *Ensembl*. 2010; Aufgerufen am 27.10.2010 vom: <http://www.ensembl.org>
106. Nakai, K. Sakamoto, H. Construction of a novel database containing aberrant splicing mutations of mammalian genes. *Gene* **141**, 171-7 (1994).
107. Ellard, S. Colclough, K. Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha (HNF1A) and 4 alpha (HNF4A) in maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mutat* **27**, 854-69 (2006).
108. Zhu, Q., Yamagata, K., Miura, A., Shihara, N., Horikawa, Y., Takeda, J., Miyagawa, J. Matsuzawa, Y. T130I mutation in <SMALL>HNF-4a</SMALL> gene is a loss-of-function mutation in hepatocytes and is associated with late-onset Type 2 diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia* **46**, 567-573 (2003).
109. Menjivar, M., Granados-Silvestre, M.A., Montufar-Robles, I., Herrera, M., Tusie-Luna, M.T., Canizales-Quinteros, S., Aguilar-Salinas, C.A. Ortiz-Lopez, M.G. High frequency of T130I mutation of HNF4A gene in Mexican patients with early-onset type 2 diabetes. *Clin Genet* **73**, 185-7 (2008).
110. *Ensembl*. 2010; Aufgerufen am 27.10.2010 vom: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?r=20:43041864-43042864;v=rs1800961;vdb=variation;vf=24694394
111. Johansen, A., Ek, J., Mortensen, H.B., Pedersen, O. Hansen, T. Half of clinically defined maturity-onset diabetes of the young patients in Denmark do not have mutations in HNF4A, GCK, and TCF1. *J Clin Endocrinol Metab* **90**, 4607-14 (2005).
112. Gloyn, A.L. Glucokinase (GCK) mutations in hyper- and hypoglycemia: maturity-onset diabetes of the young, permanent neonatal diabetes, and hyperinsulinemia of infancy. *Hum Mutat* **22**, 353-62 (2003).
113. Baltrusch, S., Langer, S., Massa, L., Tiedge, M. Lenzen, S. Improved metabolic stimulus for glucose-induced insulin secretion through GK and PFK-2/FBPase-2 coexpression in insulin-producing RINm5F cells. *Endocrinology* **147**, 5768-76 (2006).
114. Baltrusch, S. Lenzen, S. Novel insights into the regulation of the bound and diffusible glucokinase in MIN6 beta-cells. *Diabetes* **56**, 1305-15 (2007).

115. Cuesta-Munoz, A.L., Huopio, H., Otonkoski, T., Gomez-Zumaquero, J.M., Nanto-Salonen, K., Rahier, J., Lopez-Enriquez, S., Garcia-Gimeno, M.A., Sanz, P., Soriguer, F.C. et al. Severe persistent hyperinsulinemic hypoglycemia due to a de novo glucokinase mutation. *Diabetes* **53**, 2164-8 (2004).
116. Wueller, A.P.K.K.S. Glucokinase mutant V455E causing MODY2. *Horm Res* **68(suppl1)**, 79 (2007).
117. Sharma, N., Crane, A., Gonzalez, G., Bryan, J. Aguilar-Bryan, L. Familial hyperinsulinism and pancreatic beta-cell ATP-sensitive potassium channels. *Kidney Int* **57**, 803-8 (2000).
118. Glaser, B., Kesavan, P., Heyman, M., Davis, E., Cuesta, A., Buchs, A., Stanley, C.A., Thornton, P.S., Permutt, M.A., Matschinsky, F.M. et al. Familial hyperinsulinism caused by an activating glucokinase mutation. *N Engl J Med* **338**, 226-30 (1998).
119. Gloyn, A.L., Tribble, N.D., van de Bunt, M., Barrett, A. Johnson, P.R. Glucokinase (GCK) and other susceptibility genes for beta-cell dysfunction: the candidate approach. *Biochem Soc Trans* **36**, 306-11 (2008).
120. Zurawek, M., Wender-Ozegowska, E., Januszkiewicz-Lewandowska, D., Zawiejska, A. Nowak, J. GCK and HNF1alpha mutations and polymorphisms in Polish women with gestational diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* **76**, 157-8 (2007).
121. Cao, H., Shorey, S., Robinson, J., Metzger, D.L., Stewart, L., Cummings, E. Hegele, R.A. GCK and HNF1A mutations in Canadian families with maturity onset diabetes of the young (MODY). *Hum Mutat* **20**, 478-9 (2002).
122. McKinney, J., Cao, H., Behme, M.T., Mahon, J.L. Hegele, R.A. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) mutation in type 2 diabetes and latent autoimmune diabetes of the adult. *Diabetes Care* **26**, 3358-9 (2003).
123. Pruhova, S., Ek, J., Lebl, J., Sumnik, Z., Saudek, F., Andel, M., Pedersen, O. Hansen, T. Genetic epidemiology of MODY in the Czech republic: new mutations in the MODY genes HNF-4alpha, GCK and HNF-1alpha. *Diabetologia* **46**, 291-5 (2003).
124. Kamata, K., Mitsuya, M., Nishimura, T., Eiki, J. Nagata, Y. Structural basis for allosteric regulation of the monomeric allosteric enzyme human glucokinase. *Structure* **12**, 429-38 (2004).

125. Monique Losekoot, V.J.; Aufgerufen am 31.10.2010 vom:
<http://grenada.lumc.nl/LOVD2/diabetes/home.php>
126. Bjorkhaug, L., Sagen, J.V., Thorsby, P., Sovik, O., Molven, A. Njolstad, P.R. Hepatocyte nuclear factor-1 alpha gene mutations and diabetes in Norway. *J Clin Endocrinol Metab* **88**, 920-31 (2003).
127. Shih, D.Q., Screenan, S., Munoz, K.N., Philipson, L., Pontoglio, M., Yaniv, M., Polonsky, K.S. Stoffel, M. Loss of HNF-1alpha function in mice leads to abnormal expression of genes involved in pancreatic islet development and metabolism. *Diabetes* **50**, 2472-80 (2001).
128. Chiu, K.C., Chuang, L.M., Ryu, J.M., Tsai, G.P. Saad, M.F. The I27L amino acid polymorphism of hepatic nuclear factor-1alpha is associated with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 2178-83 (2000).
129. Stride, A., Shepherd, M., Frayling, T.M., Bulman, M.P., Ellard, S. Hattersley, A.T. Intrauterine hyperglycemia is associated with an earlier diagnosis of diabetes in HNF-1alpha gene mutation carriers. *Diabetes Care* **25**, 2287-91 (2002).
130. Bartolotta E, G.L., Blanche H, Clauin S, Morel V, Bellane-Chantelot C;. Prevalence of the maturity onset diabetes of the young (MODY) in the pediatric population of the Italy's Marche region. *Diabetologia* (1999).
131. Ellard, S. Hepatocyte nuclear factor 1 alpha (HNF-1 alpha) mutations in maturity-onset diabetes of the young. *Hum Mutat* **16**, 377-85 (2000).
132. Rebouissou, S., Vasiliu, V., Thomas, C., Bellanne-Chantelot, C., Bui, H., Chretien, Y., Timsit, J., Rosty, C., Laurent-Puig, P., Chauveau, D. et al. Germline hepatocyte nuclear factor 1alpha and 1beta mutations in renal cell carcinomas. *Hum Mol Genet* **14**, 603-14 (2005).
133. Sujjitjoo J, Jungtrakoon P, Boonyasrisawat W, Chongjaroen N, Chukijrungrat T, Kooptiwut S, Plengvidhya N, Banchuin N Yenchitsomanus P. Molecular genetics of monogenetic beta-cell diabetes. *Thai Journal of Genetics* **1(2)**, 93-108 (2008).
134. Fehmann, H.-C., Strowski, M.Z. Göke, B. Diabetes mellitus mit monogen determinierter Störung der Beta-Zell-Funktion: Maturity-onset Diabetes of the Young. *Dtsch Arztebl* **101**, A-860 (2004).

6.2. Zusammenfassende Thesen zur Dissertationsarbeit

1. Während die durch einen Autoimmunprozess ausgelöste Zerstörung der pankreatischen Betazellen einen Typ 1 Diabetes mellitus (T1DM) hervorruft, führen Sekretionsdefekte der Betazellen, Insulinresistenz und genetische Prädisposition zum Typ 2 Diabetes mellitus (T2DM).
2. Monogenetische Defekte führen ebenfalls zu einer Dysfunktion der Beta-Zelle. Diese Form des Diabetes ist unter der Abkürzung MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young) bekannt. In den letzten Jahren hat sich die Bezeichnung erblicher Diabetes durchgesetzt.
3. MODY 1, MODY 2 und MODY 3 stellen die wichtigsten monogene Diabetes-Formen dar. Mutationen im Glucokinasegen führen zum MODY 2. Die Glucokinase spielt eine Schlüsselrolle im Glucosestoffwechsel. Als Glucosesensor in den Betazellen des Pankreas spielt sie eine wesentliche Rolle für adäquate Insulinsekretion. Mutationen im HNF4 α Gen führen zum MODY 1 und solche im HNF1 α Gen zum MODY3. HNF4 α und HNF1 α sind Transkriptionsfaktoren, die eine wesentliche Rolle in der Regulation von Genen des Glucosestoffwechsels spielen.
4. Genetische Untersuchungen werden in der diabetologischen Praxis bislang noch selten durchgeführt. Daher wird ein erblicher Diabetes nicht selten als T1DM oder T2DM falsch diagnostiziert und behandelt.
5. Um den erblichen Diabetes vom T1DM und T2DM zu unterscheiden, müssen Selektionskriterien festgelegt werden.
6. Alter der Erstdiagnose, BODY-Mass Index und die Familienanamnese sind wichtige Indikationskriterien für eine genetische Charakterisierung.

7. In dieser Arbeit wurde zur Präselektion von Patienten mit erblichem Diabetes ein strukturierter Anamnesebogen erstellt in dem diese Kriterien berücksichtigt wurden.
8. Für die durchgeführte Studie wurden 90 Patienten selektioniert und auf MODY 1, MODY 2 und MODY 3 untersucht. Bei 8 Patienten (sieben Frauen und ein Mann) wurde ein erblicher Diabetes diagnostiziert, was 8,8 % der untersuchten Fälle entspricht (zweimal MODY 1, viermal MODY 2 und zweimal MODY 3). Die MODY-Veränderungen wurden anhand aktuell veröffentlichten Daten auf den Krankheitswert hin interpretiert und diskutiert.
9. Die 90 Patienten wurden anhand festgelegter Indikationskriterien aus dem gesamten Patientenkollektiv von 2.772 Patienten selektiert. Bei der Untersuchung erfüllten 70 Patienten die Indikationskriterien. In dieser Gruppe konnten 7 MODY-Mutationen (ein Mann, sechs Frauen) identifiziert werden. Dies entspricht 10% der untersuchten Fälle.
10. Die dem erblichen Diabetes zugrunde liegende Mutation wurden zum Teil durch Segregationsanalysen auf ihren Krankheitswert weiter untersucht. In einem MODY 2 Fall konnte ein Krankheitswert dadurch nahezu ausgeschlossen werden.
11. In dieser Arbeit wurde zudem eine dynamische GlucoseClamp (dCG) Untersuchung zur präzisen Erfassung einer Betazellfunktionsstörung und Insulinresistenz entwickelt.
12. Mit Hilfe des dCG ist es möglich, frühzeitig eine Betazellfunktionsstörung zu identifizieren. In diesem Stadium liegt noch keine manifeste Hyperglykämie vor.
13. Durch den dCG konnten 25% der MODY Fälle dieser Studie identifiziert werden. Diese wären nach den allgemeinen Diagnoseleitlinien nicht als Diabetes-Patienten klassifiziert worden.

14. Durch die Modulation der von uns ursprünglich festgelegten Indikationskriterien sowie die Durchführung der dCG Untersuchung ergibt sich eine annähernd 10%ige Wahrscheinlichkeit, Mutationen in den MODY Genen zu identifizieren.

15. Aufgrund der Ergebnisse dieser Studie kann folgende Empfehlung an den praktizierenden Diabetologen gegeben werden: Eine molekulargenetische Untersuchung auf MODY 1, 2 und 3 ist bei einer $ED \leq 30$ oder einem $BMI \leq 30$ durchzuführen, wenn eine positive Familienanamnese bezüglich Diabetes vorliegt.

16. Eine rechtzeitige und sichere Diagnose des MODY-Diabetes ermöglicht dem Diabetologen eine langfristig adäquate Behandlung der betroffenen Patienten unter Vermeidung von Spätkomplikationen sowie eine umfassende Familienberatung bezüglich der genetisch determinierten Erkrankung.

6.3. Abkürzungen

A	Purinbase Adenin
Abb	Abbildung
Ak	Antikörper
Arg	Arginin
AVK	arterielle Verschlusskrankheit
ATP	Adenosintriphosphat
BW	Baden Württemberg
BZ	Blutzucker
bzw.	Beziehungsweise
C	Pyrimidinbase Cytosin
Ca ²⁺	Kalzium
PAX4	Paired box4
CEL	Carboxylester-Lipase
Cm	Zentimeter
COPD	Chronisch obstruktive pulmonale Erkrankung
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4
CVD	Cardiovascular disease (Herz-Kreislauf Erkrankung)
dGC	dynamischer GlucoseClamp
Diab.	Diabetes
DI	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DV	krankheitsassoziierte Sequenzveränderung (Disease Variant)
ED	Erstdiagnose
G	Purinbase Guanin
G	Gramm
GAD	Glutamat Decarboxylase

GCK	Glucokinase
Gesch.	Geschlecht
GLUT-2	Glucosetransporter
GOÄ	Gebührenordnung für Ärzte
HbA1c	Glykiertes Hämoglobin
His	Histidin
HNF-1 α	Hepatic Nuclear Factor 1alpha
HNF-1 β /TCF2	Hepatic Nuclear Factor 1beta
HNF-4 α	Hepatic Nuclear Factor 4alpha
IA2	Thyrosin-Phosphatase
IDF	International Diabetes Atlas
Igel	Individuelle Gesundheitsleistung
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IFIH1/MDA5	Interferon-Induced helicase C Protein 1
IL2RA/CD25	Interleukin 2 Rezeptor alpha
INS	Insulinen
IPF1/PDX1	Insulin promotor-factor-1
IRS	Insulinresistenz
K	Kalium
Kg	Kilogramm
KHK	Koronare Herzkrankheit
KIF11	Kinesin Like Protein
KLF11	Krüppel-like –factor
LSDB	Locus Specific Data Bases
Mio	Milionen
Mg	Magnesium
MHC	Major Histocompatibility Complex
ml	Milliliter

MLPA	<u>M</u> ulti <u>L</u> igation dependent <u>P</u> robe <u>A</u> ssay
M	Meter
MODY	Maturity onset Diabetes of the young
m/w	männlich/weiblich
NCBI	National Center for Biotechnology Information
NEUROD1	Neurogenic differentiation factor
NIDDM	Non insulin dependent Diabetes (nicht Insulinabhängiger Diabetes)
NRW	Nordrhein-Westfalen
OGT	oraler Glucosetoleranztest
PAX4	Paired Box 4
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PDX1	Insulin Promotor factor
PLZ	Postleitzahl
PoDV	abklärungsbedürftige, nicht-klassifizierbare (möglicherweise krankheitsassoziierte) Sequenzveränderung (Possibly Disease Associated Variant)
PrDV	abklärungsbedürftige-eher krankheitsassoziierte Sequenzveränderung (Pre dicted Disease Associated Variant)
PTPN11	Protein Tyrosine Phosphatase, Non-Receptor Type 11
PTPN22	Protein Tyrosine Phosphatase, Non-Receptor Type 22
SH2B3	Adaptor Protein 3
SNP	Single Nucleotid Polymorphism
SOP	Standard Operating Procedure (Standardvorgehensweise)
T1DM	Typ-1-Diabetes-mellitus
T2DM	Typ-2-Diabetes mellitus

T	Pyrimidinbase Thymidin
Tab.	Tabelle
TRAFD1	Type Zinc Finger Domain Containing 1
V	Vena
väterl	Väterlicherseits
VDCC	Voltage-dependent calcium channel
VPN	Virtual Private Network
3' UTR	Untranslatierter Bereich private Network

Symbole für Aminosäuren:

S	Serin
N	Asparagin
L	Leucin
V	Valin
I	Isoleucin

6.4. Tabellen und Abbildungen

6.4.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verteilung der klinisch definierten MODY-Typen	4
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Regulation der Insulinsekretion der pankreatischen Betazelle und Lokalisation der MODY-auslösenden Genmutationen	6
Abbildung 3 (a, b): Verteilung der Gesamtpatienten nach Geschlecht und Diabetes/ nicht Diabetes	21
Abbildung 4 (a, b): Selektion der Patienten nach dem Diabetes-Typ und Alter (n=1876)	22
Abbildung 5 (a, b): Verteilung der 913 Patienten nach Geschlecht und Diagnosestellung mit dem dGC	22
Abbildung 6 (a, b): Prozentuale Verteilung nach BMI und Alter bei Erstdiagnose der 913 Patienten.....	23
Abbildung 7: Verteilung der Krankheiten (n=913).....	25

6.4.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Genetische Merkmale der unterschiedlichen MODY-Typen bei Heterozygotie.....	5
Tabelle 2: Gennomenklatur nach HGVS.....	18
Tabelle 3: Verteilung der Patienten nach BMI und Geschlecht.....	24
Tabelle 4: Geführte Co-Morbiditäten der 913 untersuchten Probanden	24
Tabelle 5: Einteilung der MODY präselektierten Fälle nach Indikationskriterien (Anzahl=137)	26
Tabelle 6: Einteilung der MODY untersuchten Fälle nach Indikationskriterien (Anzahl=70)	27
Tabelle 7: Zusammengefasste Darstellung der MODY-Veränderungen (n=8)	28
Tabelle 8: Verteilung der MODY-Mutationen in den A, B, C-Gruppen (n=7)	29
Tabelle 9: Mittelwerte und Mittelabweichungen der MODY 1 Patienten (n=2).....	30
Tabelle 10: Zusammengefasste Darstellung der p.T130I-Veränderungen (n=7).....	31
Tabelle 11: Mittelwerte und Mittelabweichungen der MODY 2 Patienten (n=4).....	33
Tabelle 12: Mittelwerte und Mittelabweichungen der MODY 3 Patienten (n=2).....	35

Tabelle 13: Zusammengefasste Darstellung der MODY-Mutationen (absolut, prozentual) in Gruppen A-C (n=7)	50
Tabelle 14: Verteilung der Mutationen in den neuen Gruppen A ¹ und B ¹	52

6.5. Formulare

6.5.1. Auftrag Gentest „erblicher Diabetes (MODY)“

Auftrag Gentest „erblicher Diabetes (MODY)“



Institut für Molekulare Medizin

Bitte ausfüllen und/oder Aufkleber Patient anbringen

Patient Name	Patient Vorname
Geburtsdatum	Krankenversicherung
Straße, Hausnummer	PLZ, Ort
Telefonnummer	E-Mail Adresse Patient

Institut für Molekulare Medizin
 Priv.-Doz. Dr. med. Peter Meyer
 Facharzt für Humangenetik
 Sperberstraße 2, 81827 München
 Telefon (0 89) 45 54 66 66
 peter.meyer@onkogenetik.de

Anfordernder Arzt / Praxismitarbeiter:

.....
 Name, Unterschrift

Stempel anfordernde Klinik/Arztpraxis

E-Mail Adresse anfordernder Arzt (für Eingangsbestätigung Auftrag und Befund)

Sonstige Mitteilungen

Analyseauftrag an das Institut für Molekulare Medizin, München:

Proben: Anzahl EDTA Blutproben: _____; Volumen: à _____ ml; Datum Abnahme: _____

Methode: Komplettssequenzierung zur Mutationssuche, MLPA zur Abklärung von Deletionen/Duplikat.

Indikation: Z. A. / Verdacht auf erblichen Diabetes (MODY)

Gene: MODY2 (GCK) MODY3 (HNF1A) MODY1 (HNF4A) MODY5 (HNF1B)

Bitte ankreuzen!
 prädiktive Diagnostik bei bekannter Mutation: _____

Klinische Angaben über den Patienten und seine Familie:

Größe: _____ cm **Gewicht:** _____ kg **Erkrankungsalter Diabetes:** _____ Jahre

HbA1c (3 letzte Werte): _____ % _____ % _____ %
Datum, Wert Datum, Wert Datum, Wert

OGT: _____ Datum _____ mg% _____ mg% _____ mg%
Serum-Glukose initial nach 60 Minuten nach 120 Minuten

Familienanamnese: Z. B. Onkel mütterlicherseits (T1D, 45 J.)
In Bezug auf Diabetes Bitte alle Blutsverwandten mit Diabetes eintragen. Bitte möglichst Erkrankungsalter und Diabetestyp beschreiben.

Ich möchte, dass mein Blut zur Abklärung des Verdachtes auf eine erbliche Zuckerkrankheit genetisch untersucht wird. Ich habe Zweck und Konsequenzen der Untersuchung verstanden und im Moment keine weiteren Fragen. Nach Abschluss der Analyse übriges Probenmaterial übereigne ich hiermit gemäß § 950 BGB an das Institut für Molekulare Medizin (München). Dort dürfen die Proben und das Ergebnis des Gentests unbefristet aufbewahrt und für Qualitätssicherung und Forschung weiterverwendet werden.

Unterschrift Patient/in _____
Ort, Datum Bei Minderjährigen der Erziehungsberechtigte

Das Institut für Molekulare Medizin in München nimmt regelmäßig an qualitätssichernden Maßnahmen und Ringversuchen teil.

7. Danksagung

Herzlich bedanken möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. rer. nat. Simone Erika Baltrusch für die Möglichkeit, die Dissertationsarbeit an Ihrem Institut erarbeiten zu dürfen.

Ich danke Herrn Privatdozent Dr. med. Peter Meyer für die Überlassung des interessanten, anspruchsvollen Themas. Durch seine fortwährende Anleitung und Betreuung hatte ich die Möglichkeit, mich mit dem Fach Humangenetik und dem erblichen Diabetes auf vielfältige Art und Weise auseinander zu setzen. Vor allem danke ich ihm für seine konstruktive Diskussionsbereitschaft und seine anhaltende Motivation und Koordination, die klinische Datenrecherche und Patientenrekrutierung in der diabetologischen Praxis von Herrn Dr. Finkernagel durchzuführen.

Einen besonderen Dank möchte ich Herrn Dr. Holger Finkernagel und seiner Ehefrau Ulrike Finkernagel aussprechen. Herr Dr. Finkernagel stellte mir in seiner diabetologischen Praxis die Patienten zur Verfügung und machte mir somit möglich, diese für die genetische Untersuchung zu rekrutieren und zu befragen. Durch seine kontinuierliche Betreuung habe ich einen wertvollen Einblick in der Diagnostik und Weiterbehandlung der Diabetes-Patienten bekommen und wurde dadurch für die klinischen Merkmale einer diabetologischen Stoffwechselstörung sensibilisiert. Über die ganze Zeit, die ich in Bad Berleburg verbrachte, stellte mir Familie Finkernagel eine Unterkunft zur Verfügung und machte es mir möglich, eine wertvolle Zeit in der landschaftlich beeindruckenden Region zu verbringen.

Ebenfalls gilt ein besonderer Dank den Kollegen von Dr. Finkernagel: Dr. Hans-Joachim Kunz, Dr. Oliver Haas, Dr. Jörg Weidemann und Dr. Hans Becker, die sich bereit erklärt haben, mir ihre Patienten in dieser Studie zur Verfügung zu stellen.

Mein Dank gilt dem ganzen Team der diabetologischen Praxis von Dr. Finkernagel, das sich auch in meiner Abwesenheit weiterhin um die schon vorgemerkten Patienten gekümmert hat.

Mein Dank gilt den Patienten der diabetologischen Gemeinschaftspraxis Bad Berleburg, die durch ihr Vertrauen und ihre Teilnahme diese Studie ermöglichten.