

# Transienter neonataler Diabetes und Hypomethylierungssyndrome

## Transienter neonataler Diabetes

Der transiente neonatale Diabetes mellitus (TNDM) ist definiert als das Auftreten einer diabetogenen Stoffwechsellaage in den ersten 6 Lebenswochen und die Normalisierung des Stoffwechsels bis zum 18. Lebensmonat. Die Inzidenz des neonatalen Diabetes liegt bei etwa 1:215.000–1:400.000 [1, 2]. Etwa die Hälfte der Fälle verläuft transient.

Der erste Bericht eines TNDM erfolgte durch Ramsey, der 1926 einen Patienten mit niedrigem Geburtsgewicht beschrieb, bei dem im Alter von 4 Wochen ein Diabetes mellitus diagnostiziert wurde, von dem er sich im Alter von 10 Wochen komplett erholt hatte. Bei der Reevaluation im Alter von 4 Jahren wurde der Patient als gesund beschrieben [3]. In dieser ersten Arbeit wurde noch nicht zwischen transientem und permanentem neonatalen Diabetes unterschieden. Erst im Jahre 1966 wurde durch Cornblath u. Schwartz der Begriff „transienter neonataler Diabetes“ geprägt [4]. Im Jahre 1986 wurde von Briggs et al. [5] eine Patientin mit TNDM beschrieben, die später einen insulinabhängigen Diabetes entwickelte. In einer systematischen longitudinalen Studie aus dem Jahre 1995 wiesen von Mühlendahl u. Herkenhoff bei 13 Patienten mit transientem neonatalem Diabetes eine Remanifestation des Diabetes im Lauf des Lebens nach [6]. Solche Remanifestationen werden i. d. R. als Typ-2-Diabetes (T2D) klassifiziert, auch wenn die pathogenetischen Ursachen des klassischen, zumeist multifaktoriell bedingten T2D und der Re-

manifestation eines TNDM wohl unterschiedlich sind.

Die Ätiologie des transienten neonatalen Diabetes ist sehr heterogen. Im Folgenden gehen wir – entsprechend dem Schwerpunkt des vorliegenden Themenheftes – in erster Linie auf die Form des TNDM ein, die mit Veränderungen in 6q24-assoziiert ist. Phänotyp-Genotyp-Korrelationen haben allerdings gezeigt, dass sich die einzelnen ätiologischen Subgruppen des 6q24-assoziierten TNDM bezüglich der klinischen Präsentation kaum unterscheiden [7].

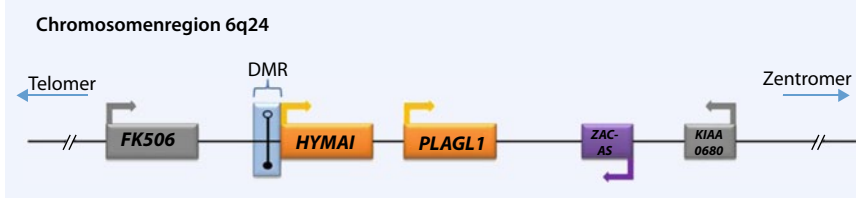
## Klinische Präsentation

Bereits in der Schwangerschaft fallen betroffene Feten zumeist mit einer erheblichen Wachstumsverzögerung im 3. Trimenon auf. In einer Studie von 30 Patienten mit TNDM betrug das mediane Geburtsgewicht in der 39. Schwangerschaftswoche (SSW) 1930 g, das mediane Alter bei Manifestation betrug 3 Tage und die mediane Zeit der Insulintherapie betrug 12 Wochen (im Durchschnitt 111 Tage; [7]). Es wird angenommen, dass die Dystrophie eine direkte Folge der pränatal niedrigen Insulinkonzentration ist, da Insulin pränatal als wichtiger Wachstumsfaktor fungiert. Kardinalsymptom neben der Hyperglykämie ist die Dehydratation. Weitere klinische Hinweise auf einen TNDM können eine Makroglossie (1/3 der Fälle; [7]) und seltener eine Nabelhernie sein. Es wurden bisher keine weiteren obligaten Dysmorphiezeichen mit der Erkrankung assoziiert.

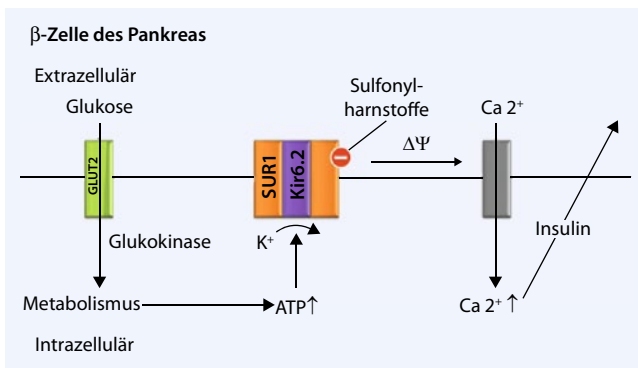
Im Durchschnitt besteht der TNDM für 3 Monate, in Einzelfällen wurde jedoch auch über eine Manifestation bis über das 1. Lebensjahr hinaus berichtet [7]. Im Kindesalter muss mit intermittierenden Hyperglykämiephasen gerechnet werden, insbesondere im Rahmen von Krankheiten [8]. Bei etwa 50–60% der Patienten manifestiert sich im Verlauf des Lebens erneut ein Diabetes mellitus. Das mittlere Remanifestationsalter für einen Diabetes fällt mit der Pubertät zusammen und liegt bei etwa 14 Jahren, einige Patienten benötigen eine Insulintherapie, andere können mit oralen Antidiabetika oder mit Diät behandelt werden [7].

Die mentale Entwicklung der Patienten ist i. d. R. unauffällig, bei Patienten mit einer Hypomethylierung an multiplen Loci kann es allerdings zu einer Entwicklungsverzögerung kommen [9, 10]. Bei diesen Patienten wurden auch Hirnfehlbildungen und Herzfehler beobachtet. Im Vergleich zu Patienten bei denen kein Imprintingdefekt zugrunde liegt, ist das Geburtsgewicht bei Patienten mit einem Hypomethylierungssyndrom signifikant höher ( $2342 \pm 420$  g). Im Vergleich zu Patienten mit einem isolierten Imprintingdefekt in 6q24 ist ein Trend zu einem höheren Geburtsgewicht zu verzeichnen, der keine Signifikanz erreicht [11].

Im Rahmen des Aufholwachstums wird zumeist eine für die Familie adäquate Endlänge erreicht. Frauen haben ein erhöhtes Remanifestationsrisiko während einer Schwangerschaft und können einen Gestationsdiabetes entwickeln.



**Abb. 1** ▲ Der mit TNDM assoziierte geprägte Genort in der Chromosomenregion 6q24. Die Region enthält für *PLAGL1* (ZAC) und *HYMAI* stromaufwärts von *HYMAI* einen gemeinsamen Promotor mit einer DMR („differentially methylated region“, entspricht einer ICR, „imprinting control region“, Imprintingkontrollregion). Beim transienten neonatalen Diabetes kommt es durch paternale uniparentale Disomie, paternale Duplikation der Region oder durch einen Methylierungsdefekt des maternalen Allels zu einer Überexpression von *PLAGL1*. Gelbe Pfeile paternale Expression, violette Pfeile maternale Expression, schwarze Kreise methyliert, weiße Kreise unmethyliert. (Mod. nach [32])



**Abb. 2** ◀ Pathogenese des mit *KCNJ11* (Kir6.2) und *ABCC8* (SUR1) assoziierten TNDM/PD-NM. Schematische Darstellung der  $\beta$ -Zelle des Pankreas; *PDNM* permanenter neonataler Diabetes mellitus; *TNDM* transienter neonataler Diabetes mellitus. (Mod. nach [18]; Erläuterung s. Text)

## Genetik

In 70% der Fälle mit TNDM ist die Erkrankung mit Aberrationen in der Chromosomenregion 6q24 assoziiert [12]. In diesen Fällen kommt es zu einer Überexpression der paternal exprimierten imprinteten Gene *PLAGL1* (ZAC) und *HYMAI* in der Chromosomenregion 6q24. Beide Gene haben einen gemeinsamen Promotor, der eine „differentially methylated region“ (DMR) enthält und auf dem maternalen Allel durch Methylierung „abgeschaltet“ ist (■ **Abb. 1**). In der Folge wird *PLAGL1* physiologisch nur vom paternalen Allel exprimiert. *HYMAI* hat kein offenes Leseraster und kodiert für eine untranslatierte RNA, deren Funktion noch nicht bekannt ist [13]. Beim 6q24-assoziierten TNDM werden je 2 Kopien von *PLAGL1* exprimiert.

In 40% der Fälle liegt eine paternale uniparentale Disomie der geprägten Region in 6q24 vor (upd(6)pat). Dies bedeutet, dass beide Kopien dieser Region vom Vater und keine von der Mutter ererbt wurden. Ursächlich kann sowohl eine komplette paternale UPD des gesamten Chromosoms 6 als auch eine partielle pa-

ternale UPD unter Einschluss der geprägten Region in 6q24 sein.

In 40% der Fälle liegt eine paternale Duplikation der geprägten Region in 6q24 zugrunde. Zumeist ist diese klein und nur mit gezielten molekular(zyto)genetischen Methoden nachweisbar.

In wenigen Fällen, in denen sich dann i. d. R. auch weitere, auf eine Chromosomenstörung hinweisende Symptome finden, ist die Duplikation zytogenetisch sichtbar. Hieraus ergibt sich die Empfehlung, die Eltern in diesen Fällen konventionell zytogenetisch zu testen. Eine maternale UPD oder eine auf die geprägte Region beschränkte maternale Duplikation sind weder mit einem TNDM noch mit einem bislang bekannten spezifischen Phänotyp assoziiert.

Die Hypomethylierung der maternalen *PLAGL1/HYMAI*DMR führt zu einer Expression von *PLAGL1* des maternalen Allels und ist für 20% der TNDM-Fälle ätiologisch verantwortlich. Die Hypomethylierung kann entweder als eine isolierte Imprintingmutation nur den *PLAGL1/HYMAI*-Promotor betreffen oder im Rahmen einer Hypomethylierung an multiplen geprägten Loci des

Genoms (Hypomethylierungssyndrom) auftreten.

Der molekulargenetische Mechanismus, über den eine *PLAGL1*-Überexpression zu einer transienten Form des neonatalen Diabetes führt, ist nicht vollständig aufgeklärt. *ZAC/PLAGL1* kodiert für ein Zinkfingerprotein, dessen Funktion die Transkriptionsregulation des PACAP1-Rezeptors („pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide receptor“) umfasst. PACAP1 seinerseits kontrolliert die Insulinsekretion der Inselzellen des Pankreas und ist ein hochpotentes Stimulans für die Insulinsekretion. *PLAGL1*-Überexpression führt zum Zellzyklusarrest und zur Apoptose von Zelllinien. Darüber hinaus kommt es vermutlich zu Veränderungen der absoluten Anzahl und der Effektivität der  $\beta$ -Zellen des Pankreas in der kritischen Phase der intrauterinen Entwicklung des Pankreas [14]. Die verbleibende Anzahl und Effektivität der  $\beta$ -Zellen ist möglicherweise in der Remissionsphase der Erkrankung ausreichend, um eine Normoglykämie aufrechtzuerhalten, führt jedoch im Rahmen von metabolischem Stress wie Krankheit und Pubertät zur Manifestation einer diabetogenen Stoffwechsellage [15].

Im TNDM-Mausmodell führt eine *Plagl1*-Überexpression zu einer Herunterregulierung von *Pdx-1*, einem Transkriptionsfaktor mit Schlüsselfunktion für die normale Entwicklung des Pankreas. Das fetale Pankreas der TNDM-Maus zeigt eine starke Reduktion der  $\beta$ -Zellen. Von Geburt an kommt es dann jedoch zu einer kontinuierlichen Zunahme der  $\beta$ -Zell-Masse. Dennoch ist die Insulinkonzentration im Vergleich zu gesund geborenen Mäusen erniedrigt. Im Alter von 2–3 Wochen hat sich die  $\beta$ -Zell-Masse im Vergleich zur Wildtypmaus verdoppelt, die Insulinkonzentration ist jedoch unverändert, jede  $\beta$ -Zelle produziert damit im Vergleich zum Wildtyp weniger Insulin. Bei erwachsenen TNDM-Mäusen ist die  $\beta$ -Zell-Masse vergleichbar mit Wildtypmäusen. Aufgrund der eingeschränkten Effektivität kommt es insgesamt zu einer erniedrigten Insulinkonzentration und zur Hyperglykämie [16, 17].

Neben Aberrationen der Chromosomenregion 6q24 können Mutationen in *KCNJ11* und *ABCC8* zu einem neona-

talen Diabetes mellitus führen. *KCNJ11* und *ABCC8* kodieren für die Kir6.2- und SUR1-Untereinheiten des ATP-abhängigen Kaliumkanals der  $\beta$ -Zellen (■ **Abb. 2**). Heterozygote Mutationen dieser beiden Gene sind in 33–50% mit einem permanenten neonatalen Diabetes [18] und in 26% mit einem TNDM assoziiert [12]. Im Vergleich zu Patienten mit einer Aberration in 6q24 manifestiert sich der Phänotyp etwas später, das Geburtsgewicht liegt im Durchschnitt etwas höher, die Remissionsphase tritt später ein, und es kann zu einer Ketoazidose kommen. Einige Kinder entwickeln eine Epilepsie, Hypotonie und Entwicklungsverzögerung (DEND-Syndrom: „developmental delay, epilepsy, neonatal diabetes mellitus“; [19]). Die Ausprägung des Phänotyps hängt von der Mutation und Auswirkung auf die ATP-Bindung ab [20, 21]. Durch die Funktion von Kir6.2 und SUR1 als Untereinheiten des ATP-abhängigen Kaliumkanals der  $\beta$ -Zellen ergibt sich die Möglichkeit einer Therapie mit Sulfonylharnstoffen, die an die SUR1-Untereinheit binden und zu einem Verschluss des K-ATP-Kanals führen.

Wie in ■ **Abb. 2** dargestellt, wird Glukose über den GLUT2-Transporter in die Zelle gebracht. Die Glukoseverstoffwechslung führt intrazellulär zur ATP-Bildung. ATP führt zum Verschluss des K-ATP-Kanals. Dies führt zu einer Membrandepolarisation, die einen Kalziumeinstrom in die Zelle zur Folge hat. Der intrazelluläre Kalziumanstieg führt dann zur Freisetzung von Insulin durch Exozytose. Der K-ATP-Kanal besteht aus den Untereinheiten Kir6.2 und SUR1. Die Bindung von Sulfonylharnstoffen an die SUR1-Untereinheit führt zu einem Verschluss des K-ATP-Kanals, Einstrom von Kalzium und Freisetzung von Insulin aus der  $\beta$ -Zelle.

### Differenzialdiagnosen

Eine tabellarische Übersicht über verschiedene Formen des neonatalen Diabetes mellitus findet sich in ■ **Tab. 1**.

### Permanenter neonataler Diabetes mellitus

Wie der TNDM ist auch der *permanente* neonatale Diabetes mellitus (PNDM) mit

medgen 2010 · 22:411–418 DOI 10.1007/s11825-010-0246-8  
© Springer-Verlag 2010

S. Bens · R. Siebert · A. Caliebe

## Transienter neonataler Diabetes und Hypomethylierungssyndrome

### Zusammenfassung

Der transiente neonatale Diabetes (TNDM) ist definiert als Manifestation einer diabetogenen Stoffwechsellage in den ersten Lebenswochen und Normalisierung des Glukosestoffwechsels bis zum 18. Lebensmonat. Zu den klinischen Kardinalsymptomen zählen intrauterine Wachstumsverzögerung, Hyperglykämie und Dehydratation bei fehlender Ketoazidose. Die Ätiologie des TNDM ist sehr heterogen. In 70% der Fälle ist die Erkrankung mit Aberrationen in der Chromosomenregion 6q24 assoziiert. Diese Chromosomenregion enthält die genomisch geprägten Gene *PLAGL1/ZAC* und *HYMAI*. Durch eine paternale uniparentale Disomie 6 (upd(6)pat), eine paternale Duplikation der geprägten Region in 6q24 oder durch Imprintingdefekte des maternalen Allels kommt es zu einer Überexpression des paternal exprimierten Gens *PLAGL1*. Imprintingdefekte können

isoliert oder im Rahmen eines Hypomethylierungssyndroms mit Beteiligung mehrerer geprägter Loci des Genoms auftreten. Hypomethylierung an multiplen Loci wurde bis jetzt bei Patienten mit TNDM, Silver-Russell-Syndrom (SRS) und Beckwith-Wiedemann-Syndrom (BWS) beobachtet. Das Wiederholungsrisiko hängt wesentlich von der Ursache des TNDM an. Chromosomale Aberrationen der Eltern unter Beteiligung des Chromosoms 6 erhöhen das Risiko sowohl für eine UPD des geprägten Bereichs in 6q24 als auch für eine paternale Duplikation. Jedoch entstehen sowohl UPD als auch Duplikationen zumeist de novo.

### Schlüsselwörter

Genomische Prägung · Humanes *PLAGL1*-Protein · Beckwith-Wiedemann-Syndrom · Silver-Russell-Syndrom · Blasenmole

## Transient neonatal diabetes and hypomethylation syndromes

### Abstract

Transient neonatal diabetes (TNDM) is manifested before the age of 6 weeks and typically resolves within 18 months. Main clinical features include intrauterine growth retardation, hyperglycemia and dehydration with absent ketoacidosis. Causes of TNDM are heterogeneous but 70% are due to a chromosomal aberration in the region 6q24 which contains the imprinted genes *PLAGL1/ZAC* and *HYMAI*. Paternal uniparental disomy 6 (upd(6)pat) or paternal duplications of the imprinted region as well as imprinting defects of the maternal allele all result in an overexpression of the paternally expressed gene *PLAGL1*. Imprinting defects in 6q24 can occur as isolated events or can affect more

than one locus (hypomethylation syndrome). Hypomethylation at multiple loci has so far been observed in patients with TNDM, Silver-Russell syndrome (SRS) and Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS). The risk of recurrence depends on the underlying cause of TNDM. Chromosomal aberrations in the parents affecting chromosome 6 increase the risk for UPD or duplication of the imprinted locus in 6q24. Nevertheless, UPD and duplication 6q24 are mostly de novo occurrences.

### Keywords

Genomic imprinting · *PLAGL1* protein, human · Beckwith-Wiedemann syndrome · Silver-Russell syndrome · Hydatidiform mole

**Tab. 1** Gene, Erbgang und Phänotyp zu den bisher bekannten Genen, die mit einem neonatalen Diabetes assoziiert wurden

Nicht 6q24-assoziierte Formen des neonatalen Diabetes mellitus			
Gen	Vererbung	Diagnosen	Assoziierte Fehlbildungen/Symptome
<i>KCNJ11</i>	AD	PNDM, TNDM DEND-Syndrom	Entwicklungsverzögerung, Epilepsie
<i>ABCC8</i>	AD und AR	PNDM, TNDM	
<i>INS</i>	AD	PNDM, TNDM MODY10 (selten)	
<i>GCK</i>	AR Anlageträger	PNDM, TNDM MODY2, Gestationsdiabetes	
<i>PDX1</i>	AR Anlageträger	NDM MODY4, DM 2	Pankreasagenesie
<i>HNF1β</i>	AD	TNDM, MODY5	Renale Zysten
<i>PTF1A</i>	AR	NDM	Kleinhirnagenesie, Pankreasagenesie, Beugekontrakturen
<i>GLIS3</i>	AR	NDM	Kongenitale Hypothyreose, polyzy- stische Nieren, Glaukom, Leberfibrose, Cholestase, Entwicklungsverzögerung
?	?	NDM	Herzfehler
?	Vermutlich AR	NDM	Intestinale Fehlbildungen
<i>EIF2AK3</i>	AR	NDM (Wolcott-Rallison-Syndrom)	Spondyloepiphysäre Dysplasie
<i>FOXP3</i>	X-gebunden	NDM (IPEX-Syndrom)	Polyendokrinopathie, Enteropathie, Autoimmunopathie, Dermatitis

PNDM Permanenter neonataler Diabetes mellitus; TNDM transienter neonataler Diabetes mellitus; NDM neonataler Diabetes mellitus; MODY „maturity-onset diabetes of the young“; AD autosomal-dominant; AR autosomal-rezessiv; DM 2 Diabetes mellitus Typ 2; IPEX-Syndrom „immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked“; DEND-Syndrom „developmental delay, epilepsy, neonatal diabetes“.

einer intrauterinen Wachstumsverzögerung assoziiert und manifestiert sich innerhalb der ersten 6 Lebensmonate mit Hyperglykämie, Glukosurie, Polyurie, Dehydratation und Gedeihstörung. Die 5 Gene, die mit einem nichtsyndromalen PNDM assoziiert wurden, sind

- *KCNJ11* (30%),
- *ABCC8* (19%),
- *INS* (23%),
- *GCK* (4%) und
- *PDX1* (<1%).

Das Manifestationsalter bei Mutationen in *INS*, dem Insulin-Gen, liegt im Durchschnitt bei 11 Wochen. Das Zeitfenster der Manifestation überlappt jedoch mit dem neonatalen Diabetes, sodass differenzialdiagnostisch auch beim TNDM Mutationen in *INS* in Erwägung gezogen werden sollten. In der Hälfte der Fälle kommt es bei Erkrankungsmanifestation zu einer Ketoazidose. Der klinische Phänotyp kann auch intrafamiliär stark variieren. Es ist mindestens eine Familie beschrieben, in der ein zunächst vorliegender TNDM im Alter von 2 Jahren in eine permanente

Form übergegangen ist. *GCK* kodiert für die Glukokinase. Homozygote Missensemutationen in diesem Gen sind sehr selten und sollten insbesondere in konsanguinen Familien in Erwägung gezogen werden. *PDX1*-Genmutationen können in sehr seltenen Fällen zu einer Pankreasagenesie führen. *HNF1β*-Mutationen führen in den meisten Fällen zum MODY5 („maturity-onset diabetes of the young type 5“), für den es charakteristisch ist, dass er sich erst im jugendlichen Alter manifestiert und autosomal-dominant vererbt wird. Er ist mit renalen Zysten assoziiert. In Einzelberichten kam es jedoch auch zu einem TNDM mit Remanifestation im Alter von 8 Jahren [22].

Weitere seltene Formen des neonatalen Diabetes können mit Kleinhirnagenesien (Assoziation zu Mutationen in *PTF1A*, „pancreas transkription factor 1α“), kongenitaler Hypothyreose (Assoziation mit Mutationen in *GLIS3*), kongenitalen Herzfehlern (vor allem VSD in Kombination mit Pankreashypoplasie) oder variablen Formen von intestinalen Fehlbildungen (Pancreas anulare, Gallen-

blasenagenesie oder Darmatresien) einhergehen.

### Wolcott-Rallison-Syndrom

Das Wolcott-Rallison-Syndrom wird autosomal-rezessiv vererbt und ist charakterisiert durch einen sich früh manifestierenden Diabetes mellitus in Kombination mit einer spondyloepiphysären Dysplasie, die sich auch nach der Neonatalperiode manifestieren kann. Das Syndrom wurde mit Mutationen in *EIF2AK3* assoziiert. Weitere seltene X-gebundene Formen des neonatalen Diabetes mellitus wurden in Kombination mit Polyendokrinopathien, Autoimmunopathien und Enteropathien (IPEX-Syndrom) beobachtet. Die Erkrankung wurde mit Mutationen in *FOXP3* assoziiert.

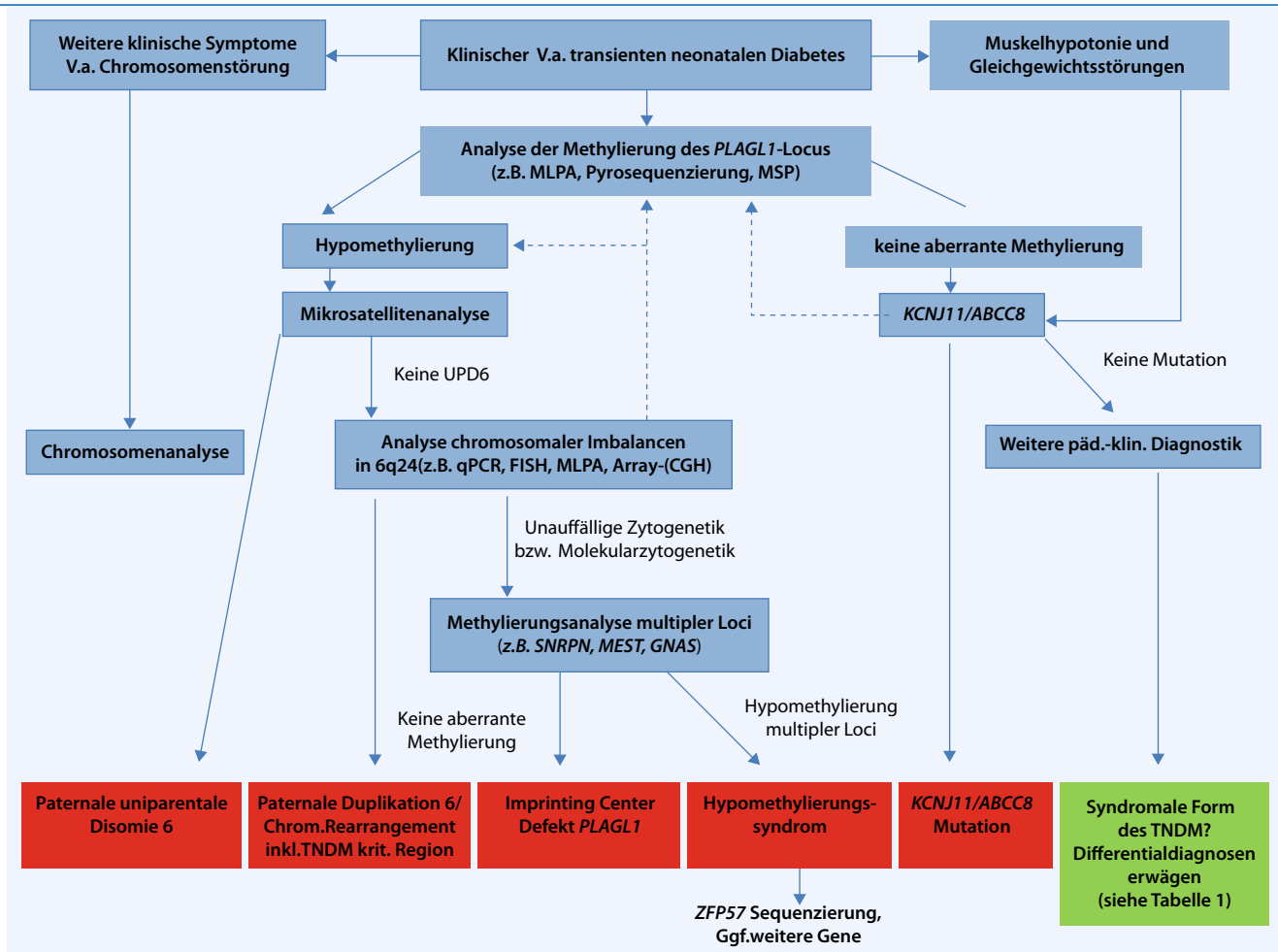
### Diagnostik

In **Abb. 3** findet sich eine schematische Übersicht über das von Temple und Mackay empfohlene diagnostische Vorgehen bei Verdacht auf einen TNDM [33]. Für die klinische Diagnose sind die Kardinalsymptome

- intrauterine Wachstumsretardierung,
- Hyperglykämie,
- Dehydratation und
- das Fehlen einer Ketoazidose

die entscheidenden Hinweise. Im Rahmen der Initialdiagnose wird empfohlen, folgende Parameter zu erheben bzw. Untersuchungen durchzuführen:

- Plazentahistologie, makroskopisch und mikroskopisch;
- Geburtsgewicht, Geburtslänge, Kopfumfang und ggf. weitere relevante Körpermaße, falls diese auffällig erscheinen;
- Klinisch-genetische Untersuchung, insbesondere sollte auf eine möglicherweise vorliegende Makroglossie oder Nabelhernie geachtet werden;
- neurologische Untersuchung und Evaluation der mentalen und statomotorischen Entwicklung;
- Glukosekonzentration, Plasmainsulinkonzentration, C-Peptid, Inselzellantikörper, Ketonkörper im Serum und Urin;
- Transaminasen und Schilddrüsenhormone sowie TSH;



**Abb. 3** ▲ Stufenschema der empfohlenen genetischen Diagnostik bei klinischem Verdacht auf einen transienten neonatalen Diabetes. (Mod. nach [33])

- Ultraschall des Abdomens inklusive Pankreas, Leber und Nieren;
- Echokardiographie;
- bei Entwicklungsverzögerung kraniale MRT-Untersuchung.

In der Regel kommt es trotz niedriger oder nicht detektierbarer Insulinkonzentrationen nicht zur Ketonurie. Im Gegensatz zum Diabetes mellitus Typ 1 (T1D) besteht keine Assoziation zu bestimmten HLA-Antigenen. Es gibt keine Hinweise, dass der Erkrankung eine autoimmune Genese zugrunde liegt.

### Therapie

Die Therapie umfasst vorrangig die Rehydratation. Sollte die Restinsulinproduktion nicht ausreichen, muss Insulin über subkutane Injektionen oder eine Insulinpumpe zugeführt werden. Die In-

sulintherapie kann i. d. R. nach 2 Wochen beendet werden. In der Remissionsphase sollten die Eltern auf die Symptome einer Remanifestation, z. B. im Rahmen von Krankheiten aufmerksam gemacht werden. Bei ausgeprägtem Durstgefühl, Polyurie oder rezidivierenden bakteriellen Infekten sollte der Blutzucker bestimmt werden. Bei Remanifestation des Diabetes mellitus sollte die Therapie individuell angepasst werden. Einige Patienten bedürfen lediglich einer Diät, andere können mit oralen Antidiabetika (Sulfonylharnstoffe; ■ **Abb. 2**) behandelt werden und in einigen Fällen ist erneut eine Insulintherapie notwendig.

Bezüglich detaillierter Informationen zur klinischen Diagnose und Therapie des neonatalen Diabetes sei auf die evidenzbasierte Leitlinie zur „Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter“

hingewiesen [34], die im Internet frei zugänglich ist.

### Hypomethylierungssyndrome

#### Störungen des Imprintings an multiplen Genorten

Wie oben beschrieben, kann der TNDM auch eine Manifestationsform eines Hypomethylierungssyndroms sein, d. h. einer unvollständigen oder fehlenden DNA-Methylierung an multiplen geprägten Genorten. Erstmals beschrieben Arima et al. [23], dass es bei Mäusen Hinweise darauf gibt, dass Cdkn1c und Zac funktionell miteinander verbunden sind. Weiterhin identifizierten sie einen Patienten mit TNDM, der Hypomethylierungen sowohl in der differenziell methylierten Region von *PLAGL1* als auch von *KCNQ1OT1* aufwies. In einer Studie an 12



Patienten mit TNDM, bei denen als Ursache eine Hypomethylierung in 6q24 nachgewiesen worden war, identifizierten Mackay et al. 6 Patienten, die eine Hypomethylierung an weiteren maternal geprägten Loci aufwiesen [11]. Charakteristika dieser Patienten waren

- der partielle oder komplette Verlust der Methylierung,
- das Vorliegen somatischer Mosaik bei den Patienten, von denen mehrere Gewebe untersucht werden konnten, und
- veränderte Loci auf verschiedenen Chromosomen.

Da die Hypomethylierung nur maternal geprägte Loci betraf, verwendeten sie den Begriff „maternales Hypomethylierungssyndrom“. Wie bereits im Abschnitt zum TNDM dargestellt, gab es zwischen diesen beiden Gruppen leichte Unterschiede. Im Folgenden konnten weitere Gruppen eine Hypomethylierung an mehreren Loci auch bei Patienten mit einem Beckwith-Wiedemann-Syndrom (BWS; [24, 25]) und einem Silver-Russell-Syndrom (SRS; [26]) nachweisen.

Bei den von Azzi et al. beschriebenen Patienten [26] war bei etwa 66% der Patienten mit einer Hypomethylierung in multiplen Regionen auch der paternal geprägte *DLK1/GTL2*-Locus betroffen, sodass nicht von einem maternalen Hypomethylierungssyndrom gesprochen werden kann. Vier Patienten in ihrem Kollektiv hatten eine Hypomethylierung sowohl in *H19/IGF2* als auch *KCNQ1/CDKN1C* in 11p15. Drei Patienten wiesen klinisch ein SRS und einer ein BWS auf. Bis auf einen Patienten mit Hypomethylierung von *H19/IGF2*, *KCNQ1/CDKN1C*, *SNRPN*, *IGF2R*, *PEG/MEST* und *DLK1/GTL2*, der eine schwere intrauterine Wachstumsretardierung, ein intersexuelles Genitale, eine schwere mentale Retardierung und eine fröhliches Verhalten zeigte, unterschieden sich die anderen Patienten mit Hypomethylierung in verschiedenen Loci klinisch nicht von den Patienten, bei denen nur ein Locus hypomethyliert war. Somit scheinen Methylierungsstörungen mehrerer Genorte bei 10–25% der Patienten mit BWS und bei etwa 10% der Patienten mit SRS vorzuliegen [26].

Interessant war, dass keiner dieser Patienten, bei denen klinisch ein BWS bzw. SRS diagnostiziert worden war und auch eine Hypomethylierung von *PLAGL1* bestand, Symptome des TNDM aufwies. Es gibt widersprüchliche Ergebnisse hinsichtlich der Frage, ob Verfahren der assistierten Reproduktion die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines generalisierten Hypomethylierungssyndroms erhöhen [26, 27].

Bei einigen Patienten mit TNDM und maternalem Hypomethylierungssyndrom konnte eine Homozygotie bzw. Compoundheterozygotie für Mutationen im *ZFP57*-Gen identifiziert werden [10]. Dieses Gen, das in 6p22 lokalisiert ist, kodiert für ein Protein, das eine KRAB-Domäne und 7 Zinkfinger aufweist. KRAB-Zinkfinger-Proteine sind potente Repressoren der Transkription. Da bei Patienten mit Mutationen in *ZFP57* ein stabiles Mosaik für eine Störung der genomischen Prägung vorliegt, spielt das Protein vermutlich bei der Aufrechterhaltung der Methylierung in den frühesten Stadien der Keimesentwicklung eine Rolle [10].

Die Patienten, bei denen ein Hypomethylierungssyndrom infolge von *ZFP57*-Mutationen festgestellt wurde, unterschieden sich klinisch von den Patienten, bei denen ein Hypomethylierungssyndrom ohne Mutation in *ZFP57* diagnostiziert wurde. Wesentliche Unterschiede sind das Auftreten einer Entwicklungsstörung unterschiedlichen Schweregrades, einer Epilepsie und verschiedener Fehlbildungen (Hirnfehlbildungen, Herzfehler). Wichtig ist die Beobachtung, dass der Phänotyp variabel sein kann. Es wurde ein erwachsener Patient beobachtet, der ähnliche epigenetische Veränderungen wie sein Sohn hatte, der von einem TNDM betroffen war. Der Vater war im Alter von 38 Jahren klinisch gesund. Hinweise auf einen TNDM bestanden bei ihm nicht [10]. Bei einem Patienten mit SRS konnte Homozygotie für einen Polymorphismus in *ZFP57* nachgewiesen werden [28], im Übrigen scheinen aber Mutationen in diesem Gen keine wesentliche Rolle für die Genese des BWS oder SRS zu spielen [29].

Während bei der *ZFP57*-assoziierten Form der Hypomethylierung an verschiedenen Loci die Patienten selbst homozy-

gote bzw. compound heterozygote Träger der Mutationen sind, finden sich bei 2 anderen Typen die für die Hypomethylierung verantwortlichen Mutationen im Sinne einer „maternalen Effektmutation“ bei der Mutter. Diese Hypomethylierungssyndrome sind durch maternale Mutationen in den Genen *NLRP7* (*NALP7*) und *NLRP2* (*NALP2*) bei der Mutter bedingt: Maternale Effektmutationen in *NLRP7* wurden erstmals bei Frauen beschrieben, die rekurrende Fehlgeburten mit dem histologischen Bild einer Blasenmole („familial recurrent hydatidiform mole“, FRHM, OMIM 231090) erlitten. Diese Molen zeigen eine Hypomethylierung multipler maternal geprägter Genorte. Die Frauen tragen i. d. R. eine biallelische Mutation des *NLRP7*-Gens, wobei in Einzelfällen nur die Mutation eines Allels detektiert wurde. Nur in sehr seltenen Einzelfällen konnten Frauen mit FRHM Kinder zur Welt bringen, die dann zumeist phänotypisch unauffällig waren. Männer, die Mutationen in diesem Gen tragen, haben gesunde Kinder [30].

Eine homozygote Mutation in *NLRP2* wurde bei einer Frau beobachtet, die 2 Kinder hatte, die von einem BWS betroffen waren. Bei beiden Kindern bestand eine Hypomethylierung in *KCNQ1/CDKN1C*. Eines der Kinder hatte zusätzlich einen partiellen Verlust der Methylierung im *PEG1*-Locus. Ein Geschwister war klinisch unauffällig und hatte eine normale Methylierung [31]. Die Bedeutung der Gene *NLRP2* und *NLRP7* bei der Regulation des Imprintings ist weitgehend ungeklärt. Bemerkenswert ist, dass Mutationen in diesen Genen nur mit einem partiellen Verlust der DNA-Methylierung geprägter Genorte im Sinne eines somatischen Mosaiks oder einer Störung der Aufrechterhaltung der Methylierung einherzugehen scheinen.

## Genetische Beratung

Wie beschrieben, sind sowohl die genetischen Ursachen des TNDM und der Hypomethylierungssyndrome als auch der molekulare Phänotyp im Sinne der Zahl der betroffenen geprägten Genorte und des Ausmaßes der Hypomethylierung heterogen. Entsprechend ist es für die genetische Beratung und die Bestimmung des

Wiederholungsrisikos essenziell, das molekulare Korrelat für den jeweiligen Phänotyp zu charakterisieren. Hinsichtlich der Hypomethylierungssyndrome ist zu bedenken, dass bei Patienten mit TNDM, SRS oder BWS ein möglicherweise zugrunde liegendes Hypomethylierungssyndrom klinisch nicht auffällt. Deshalb sollte bei Patienten mit TNDM, SRS und BWS bei Nachweis eines hypomethylierenden Genorts in Erwägung gezogen werden, weitere Loci zu untersuchen.

Das Wiederholungsrisiko ergibt sich bei den beschriebenen monogenen Formen des TNDM bzw. Hypomethylierungssyndroms aus dem zugrunde liegenden Erbgang. Über die Penetranz kann aufgrund der Seltenheit bislang nur unzuverlässig gemutmaßt werden, sie ist aber möglicherweise z. T. reduziert. Bei den maternalen Effektmutationen in *NLRP7* und *NLRP2* ist theoretisch von einem 100%igen Wiederholungsrisiko auszugehen. Da der molekulare Phänotyp, d. h. die Hypomethylierung an multiplen Genorten, aber offensichtlich sowohl hinsichtlich der Zahl der betroffenen Loci als auch der Stärke der Ausprägung variabel ist, kann sich hier auf somatischer Ebene ein breites Spektrum ergeben, wie die – wenn auch sehr seltene – Geburt gesunder Kinder bei Patientinnen mit homozygoten *NLRP7*-Mutationen zeigt.

Hinsichtlich isolierter Veränderungen der geprägten Region in 6q24 ist zu beachten, dass chromosomale Aberrationen der Eltern unter Beteiligung des Chromosoms 6 das Risiko sowohl für eine paternale uniparentale Disomie des geprägten Bereichs von in 6q24 als auch einer paternalen Duplikation erhöhen. Dabei können prinzipiell auch chromosomale Veränderungen bei der Mutter zur paternalen UDP (z. B. im Sinne von „Monosomie-Rescues“ von 6q24) oder Duplikation führen. Sowohl UPD als auch Duplikationen entstehen aber zumeist de novo. Dabei ist zu berücksichtigen, dass das Risiko für eine UPD allgemein mit dem maternalen Alter assoziiert ist, wobei konkrete Daten für die UPD6 nicht vorliegen. Auch Keimzellmosaiken sind zu bedenken.

Zur Abklärung einer paternalen UPD 6q24 oder einer Duplikation in 6q24 ist deshalb ggf. die zytogenetische und/oder molekular(zyto)genetische Analyse bei-

der Eltern indiziert. Aus dem Befund dieser Analysen kann dann das Wiederholungsrisiko abgeleitet werden. Alle bisher publizierten Fälle mit Imprintingdefekt sind Einzelfälle. Da der Mechanismus, der einem Imprintingdefekt zugrunde liegt, nicht vollständig verstanden ist, sollte den Geschwistern des Indexpatienten eine genetische Untersuchung angeboten werden. Für weibliche Indexpatientinnen mit Imprintingdefekt besteht möglicherweise ein erhöhtes Risiko der Vererbung. Diese Annahme beruht auf der theoretischen Überlegung, dass eine Hypomethylierung durch eine bisher unbekannte Deletion eines maternalen Allels entstehen könnte, welches an Nachkommen weitergegeben werden könnte.

### Fazit für die Praxis

- **Kardinalsymptome des transienten neonatalen Diabetes (TNDM) sind intrauterine Wachstumsverzögerung, Hyperglykämie und Dehydratation. Weitere Symptome können eine Makroglossie und eine Nabelhernie sein.**
- **Mit intermittierenden Phasen der Hyperglykämie ist v. a. im Rahmen von Krankheiten im Kindesalter zu rechnen. Etwa 50–60% der Patienten entwickeln im späteren Leben erneut einen Diabetes mellitus, der sich dann klinisch zumeist einem Typ-2-Diabetes vergleichbar präsentiert.**
- **Ursachen für nicht 6q24-assoziierten TNDM sind u. a. Mutationen in den Genen *KCNJ11* und *ABCC8*, die für die Kir6.2- und SUR1-Untereinheiten des K-ATP-abhängigen Kaliumkanals der  $\beta$ -Zellen des Pankreas kodieren.**
- **Alle bisher publizierten Fälle mit isoliertem Imprintingdefekt in 6q24 sind Einzelfälle. Die Mechanismen, die einem isolierten Imprintingdefekt zugrunde liegen, sind noch weitgehend unbekannt.**
- **Bei einem Teil der Patienten mit Hypomethylierungssyndrom und TNDM wurden Mutationen in *ZFP57* nachgewiesen. Mutationen in diesem Gen scheinen bei multipler Hypomethylierung und klinischem SRS und BWS eher keine Rolle zu spielen. Des Weiteren können maternale Mutationen in den Genen *NLRP2* (*NALP2*) und**

Hier steht eine Anzeige.

 Springer

**NLRP7 (NALP7) Ursache für Hypomethylierung an multiplen Loci sein.**

- Aufgrund der genetischen Heterogenität von TNDM und Hypomethylierungssyndromen sollte grundsätzlich Patienten und deren Verwandten eine genetische Beratung angeboten werden, in der evtl. weitergehende genetische Untersuchungen zur Klärung der Ätiologie und damit auch des Wiederholungsrisikos veranlasst werden können.

**Korrespondenzadresse****S. Bens**

Institut für Humangenetik  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
& Universitätsklinikum Schleswig-Holstein,  
Campus Kiel  
Schwanenweg 24, 24105 Kiel  
office@medgen.uni-kiel.de

**Danksagung.** Die eigenen Arbeiten der Autoren zu TNDM und zu Störungen der Methylierung als Ursache von Fehlbildungs-Retardierungs-Syndromen werden gefördert durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) im Rahmen des Netzwerks „Imprintingstörungen“ (FKZ: 01GM0886), im Rahmen des Exzellenzclusters „Inflammation at Interfaces“ und durch die Medizinische Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Die Autoren bedanken sich für anregende Hinweise von K. Temple und D. Mackay (University of Southampton, Großbritannien).

**Interessenkonflikt.** Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

**Literatur**

- Polak M, Shield J (2004) Neonatal and very-early-onset diabetes mellitus. *Semin Neonatol* 9:59–65
- Wiedemann B, Schober E, Waldhoer T et al (2010) Incidence of neonatal diabetes in Austria – calculation based on the Austrian Diabetes Register. *Pediatr Diabetes* 11:18–23
- Ramsey WR (1926) Glycosuria of the newborn treated with insulin. *Trans Am Pediatr Soc* 38:100–101
- Comblath M, Schwartz R (1966) Disorders of carbohydrate metabolism: major problems in clinical paediatrics. Saunders, Philadelphia 3:105–112
- Briggs JR (1986) Permanent non-insulin dependent diabetes mellitus after congenital transient neonatal diabetes. *Scott Med J* 31:41–42
- Mühlendorf KE von, Herkenhoff H (1995) Long-term course of neonatal diabetes. *N Engl J Med* 333:704–708
- Temple IK, Gardner RJ, Mackay DJG et al (2000) Transient neonatal diabetes: widening the understanding of the etiopathogenesis of diabetes. *Diabetes* 49:1359–1366
- Shield JP, Temple IK, Sabin M et al (2004) An assessment of pancreatic endocrine function and insulin sensitivity in patients with transient neonatal diabetes in remission. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 89:F341–F343
- Boonen SE, Pörksen S, Mackay DJG et al (2008) Clinical characterisation of the multiple maternal hypomethylation syndrome in siblings. *Eur J Hum Genet* 16:453–461
- Mackay DJG, Callaway J, Marks SM et al (2008) Hypomethylation of multiple imprinted loci in individuals with transient neonatal diabetes is associated with mutations in ZFP57. *Nat Genet* 40:949–951
- Mackay DJG, Boonen SE, Clayton-Smith J et al (2006) A maternal hypomethylation syndrome presenting as transient neonatal diabetes mellitus. *Hum Genet* 120:262–269
- Flanagan S, Patch A, Mackay DJG et al (2007) Mutations in ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel genes cause transient neonatal diabetes and permanent diabetes in childhood or adulthood. *Diabetes* 56:1930–1937
- Mackay DJG, Coupe AM, Shield JP et al (2002) Relaxation of imprinted expression of ZAC and HYMAI in a patient with transient neonatal diabetes mellitus. *Hum Genet* 110:139–144
- Varrault A, Ciani E, Apiou F et al (1998) hZAC encodes a zinc finger protein with antiproliferative properties and maps to a chromosomal region frequently lost in cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:8835–8840
- Temple IK, Shield JP (2002) Transient neonatal diabetes, a disorder of imprinting. *J Med Genet* 39:872–875
- Ma D, Shield JP, Dean W et al (2004) Impaired glucose homeostasis in transgenic mice expressing the human transient neonatal diabetes mellitus locus, TNDM. *J Clin Invest* 114:339–348
- Hattersley AT (2004) Unlocking the secrets of the pancreatic beta cell: man and mouse provide the key. *J Clin Invest* 114:314–316
- Gloyn AL, Pearson ER, Antcliff JF et al (2004) Activating mutations in the gene encoding the ATP-sensitive potassium-channel subunit Kir6.2 and permanent neonatal diabetes. *N Engl J Med* 350:1838–1849
- Proks P, Shimomura K, Craig TJ et al (2007) Mechanism of action of a sulphonylurea receptor SUR1 mutation (F132L) that causes DEND syndrome. *Hum Mol Genet* 16:2011–2019
- Gloyn AL, Reimann F, Girard CA et al (2005) Relapsing diabetes can result from moderately activating mutations in KCNJ11. *Hum Mol Genet* 14:925–934
- Gloyn AL, Diatloff-Zito C, Edghill EL et al (2006) KCNJ11 activating mutations are associated with developmental delay, epilepsy and neonatal diabetes syndrome and other neurological features. *Eur J Hum Genet* 14:824–830
- Edghill EL, Bingham C, Slingerland AS et al (2006) Hepatocyte nuclear factor-1 beta mutations cause neonatal diabetes and intrauterine growth retardation: support for a critical role of HNF-1beta in human pancreatic development. *Diabet Med* 23:1301–1306
- Arima T, Kamikihara T, Hayashida T et al (2005) ZAC, LIT1 (KCNQ1OT1) and p57KIP2 (CDKN1C) are in an imprinted gene network that may play a role in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Nucleic Acids Res* 33:2650–2660
- Rossignol S, Steunou V, Chalas C et al (2006) The epigenetic imprinting defect of patients with Beckwith-Wiedemann syndrome born after assisted reproductive technology is not restricted to the 11p15 region. *J Med Genet* 43:902–907
- Blik J, Verde G, Callaway J et al (2009) Hypomethylation at multiple maternally methylated imprinted regions including PLAGL1 and GNAS loci in Beckwith-Wiedemann syndrome. *Eur J Hum Genet* 17:611–619
- Azzi S, Rossignol S, Steunou V et al (2009) Multilocus methylation analysis in a large cohort of 11p15-related foetal growth disorders (Russell-Silver and Beckwith-Wiedemann syndromes) reveals simultaneous loss of methylation at paternal and maternal imprinted loci. *Hum Mol Genet* 18:4724–4733
- Lim D, Bowdin SC, Tee L et al (2009) Clinical and molecular genetic features of Beckwith-Wiedemann syndrome associated with assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 24:741–747
- Spengler S, Gogiel M, Schönherr N et al (2009) Screening for genomic variants in ZFP57 in Silver-Russell syndrome patients with 11p15 epimutations. *Eur J Med Genet* 52:415–416
- Begemann M, Spengler S, Kanber D et al (2010) Silver-Russell patients showing a broad range of ICR1 and ICR2 hypomethylation in different tissues. *Clin Genet* 22 July Epub ahead of print
- Wang CM, Dixon PH, Decordova S et al (2009) Identification of 13 novel NLRP7 mutations in 20 families with recurrent hydatidiform mole; mis-sense mutations cluster in the leucine-rich region. *J Med Genet* 46:569–575
- Meyer E, Lim D, Pasha S et al (2009) Germline mutations in NLRP2 (NALP2) in a familial imprinting disorder (Beckwith-Wiedemann syndrome). *PLoS Genet* 5:e1000423
- Robertson KD (2005) DNA methylation and human disease. *Nat Rev Genet* 6:597–610
- Temple IK, Mackay DJG (2005) Diabetes mellitus, 6q24-related transient neonatal: chromosome 6-associated transient diabetes mellitus, TNDM. *Gene Reviews*, University of Washington, Seattle/WA, PMID: 20301706. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=gene&part=dmtn#dmtn>. REF:shield.2004.F341
- Holterhus PM et al (2009) Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter: Aktualisierung 2009 – Version 1.0. Deutsche Diabetes-Gesellschaft/diabetesDE, Kirchheim, Mainz. <http://www.diabetes-kinder.de/modularx/include/module/dateimanager/data/leitlinie-kinderdiabetologie-2009.pdf>