

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt  
Endokrinologie und Diabetologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Antikörpernegativer Diabetes mellitus Typ-1 bei Kindern und  
Jugendlichen: Klinische, laborchemische und genetische  
Charakterisierung**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Regina Heinle, geb. Mros  
aus Potsdam

Datum der Promotion: 16.06.2018

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>04</b>
<b>Abstrakt (deutsch).....</b>	<b>07</b>
<b>Abstract (english).....</b>	<b>09</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>11</b>
1.1 Klassifikation des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter.....	11
1.2 Diabetes mellitus Typ 1.....	15
1.2.1 Ätiopathogenese.....	15
1.2.2 Diabetesspezifische Autoantikörper.....	18
1.3 Fragestellung / Hypothese der Arbeit.....	21
<b>2 Methodik.....</b>	<b>22</b>
2.1 Beschreibung der untersuchten Patientenkohorte.....	22
2.2 Bestimmung der Autoantikörper.....	22
2.3 Leitlinienkonforme Einordnung der Diabetestypen und Definition der Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B.....	23
2.4 Untersuchungsparameter und -zeitpunkte für den Vergleich von Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B.....	26
2.5 Erhebung der Untersuchungsparameter.....	26
2.5.1 Klinische Parameter.....	26
2.5.2 Laborparameter.....	27
2.5.3 Molekulargenetische Diagnostik monogener Diabetesformen (MODY).....	28
2.6 Kategorisierung der Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B.....	29
2.7 Statistische Berechnungen.....	29

<b>3 Ergebnisse</b> .....	<b>31</b>
3.1 Häufigkeiten der verschiedenen Diabetesformen.....	31
3.2 Vergleich von Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B.....	33
3.2.1 Vergleich der Manifestationsparameter.....	33
3.2.2 Longitudinale Verlaufsanalyse von HbA1c-Wert, Insulinbedarf und BMI-SDS.....	34
3.3 Vergleich von Diabetes mellitus Typ-1B und Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY).....	36
3.4 Kategorisierung der Kinder und Jugendlichen mit antikörpernegativem Diabetes mellitus Typ-1B.....	37
<b>4 Diskussion</b> .....	<b>40</b>
4.1 Autoimmunologische und genetische Diagnostik beeinflussen die Prävalenzzahlen für Diabetes mellitus Typ-1B.....	40
4.2 Milderer Diabetesverlauf innerhalb der ersten 2 Jahre nach der Diabetesmanifestation beim Diabetes mellitus Typ-1B.....	44
4.3 Der Diabetes mellitus Typ-1B als Variante des autoimmunen Diabetes mellitus Typ-1A.....	46
4.4 Limitationen der Studie und Vorschläge für ein prospektives Studiendesign.....	50
4.5 Schlussfolgerungen.....	53
<b>5 Anhang</b> .....	<b>54</b>
<b>6 Literaturverzeichnis</b> .....	<b>56</b>
<b>Eidesstattliche Versicherung</b> .....	<b>64</b>
<b>Lebenslauf</b> .....	<b>65</b>
<b>Danksagung</b> .....	<b>66</b>

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABCC8	ATP binding cassette subfamily C member 8 (Gen, kodiert für SUR1 - Sulfonurea receptor, Untereinheit des ATP-sensitiven Kaliumkanals)
ADA	American Diabetes Association
AGPD	Arbeitsgemeinschaft für pädiatrische Diabetologie
AGA	Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter
bds.	beidseits
BMI	Body-Mass-Index ( $\text{kg/m}^2$ )
bzw.	beziehungsweise
CEL	Carboxyl ester lipase (Gen)
CD4+	Cluster of differentiation 4 (Glykoprotein)
CD8+	Cluster of differentiation 8 (Glykoprotein)
d	Tag
D. m.	Diabetes mellitus
DIDMOAD	englisches Akronym für: Diabetes insipidus, Diabetes mellitus, Optical Atrophy (N. opticus-Atrophie), Deafness (Taubheit)
DKA	Diabetische Ketoazidose
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPV	Diabetessoftware für prospektive Verlaufsdokumentation
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
et al.	und andere
GABA	Gamma-aminobutyric acid
GAD	Glutaminsäure-Decarboxylase
GATA6	GATA binding protein 6 (Gen für Transkriptionsfaktor der Pankreas- und Herzentwicklung)
ggf.	gegebenenfalls
GCK	Glucokinase (Gen, kodiert für das Enzym Glucokinase)
HbA1c	Hämoglobin A1c
HLA	Humanes Leukozytenantigen

## Abkürzungsverzeichnis

HLA-DQ / HLA-DR	Humanes Leukozytenantigen - Genorte
HNF	Hepatocyte nuclear factor
Hrsg.	Herausgeber
IAA	Insulinautoantikörper
IA-2A	Tyrosin-Phosphatase-2-Antikörper
IA-2 $\beta$ A	Tyrosin-Phosphatase-2-Beta-Antikörper
ICA	Zytoplasmatische Inselzellantikörper
IE	Internationale Einheiten
IE/kgKG	Internationale Einheiten pro Kilogramm Körpergewicht
INS	Insulin (Gen)
ISPAD	International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes
k.A.	keine Angaben
KCNJ11	Potassium channel, inwardly rectifying subfamily J, member 11 (Gen, kodiert für Kir6.2 Untereinheit)
kD	Kilodalton (atomare Masseneinheit)
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KV	Kassenärztliche Vereinigung
libanes.	libanesisch
LMS	Schiefe (L), Median (M) und Variationskoeffizient (S)
m	Meter
M	Altersmittelwert
M/W	männlich / weiblich
mg/dl	Milligramm pro Deziliter
MODY	Maturity-Onset-Diabetes of the Young
Ms	Mütterlicherseits
N	Anzahl
NASH	Nonalcoholic Steatohepatitis
NDM	Neonataler Diabetes mellitus
NEUROD1	Neuronal differentiation 1 (Gen für Transkriptionsfaktor der Pankreas- und Hirnentwicklung)
Nr.	Nummer

## Abkürzungsverzeichnis

OGTT	Oraler Glukosetoleranztest
P	Probability (englisch) = Wahrscheinlichkeit
pH	Potentia Hydrogenii
PNDM	Permanenter neonataler Diabetes mellitus
RIA	Radioligandenassay
RiLiBÄK	Richtlinie der Bundesärztekammer
S.	Seite
SD	Standardabweichung
SDS	Standard-Deviation-Score (individualisierte Berechnung von Standardabweichungen)
sog.	sogenannte
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SPZ	Sozialpädiatrisches Zentrum
u.a.	unter anderem
USA	United States of America
vgl.	vergleiche
Vs	Väterlicherseits
z.B.	zum Beispiel
ZnT8	Zinktransporter 8

## Abstrakt (Deutsch)

**Einleitung:** Der Diabetes mellitus Typ-1 ist die häufigste Stoffwechselerkrankung im Kindes- und Jugendalter. Liegen hierbei positive Antikörperbefunde vor, so spricht man vom autoimmunvermittelten Diabetes mellitus Typ-1A (D. m. Typ-1A), fehlt hingegen ein Antikörpernachweis, so liegt ein idiopathischer Diabetes mellitus Typ-1B (D. m. Typ-1B) vor, dessen Pathogenese bisher ungeklärt ist. Ziel dieser Arbeit war neben der Zuordnung der verschiedenen Diabetesformen ein Vergleich des D. m. Typ-1B mit dem D. m. Typ-1A sowie mit Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY).

**Methodik:** 607 Kinder und Jugendliche im Alter von 0-18 Jahren, die sich im Sozialpädiatrischen Zentrum des Virchow Klinikums Berlin in ambulanter Behandlung befanden und bei denen eine Bestimmung der Antikörper Glutaminsäure-Decarboxylase (GAD<sub>65</sub>), Tyrosin-Phosphatase (IA-2A) und der Insulinautoantikörper (IAA) vorlag, wurden anhand klinischer, laborchemischer und molekulargenetischer Kriterien den verschiedenen Diabetesformen zugeordnet. Es erfolgte ein Vergleich der Kinder und Jugendlichen mit antikörperpositivem und antikörpernegativem Diabetes mellitus Typ-1 hinsichtlich ausgewählter Manifestationsparameter (Alter, Geschlecht, BMI-SDS, Glukose, Ketoazidose, HbA1c) und ausgewählter Verlaufparameter (BMI-SDS, HbA1c, Insulinbedarf). Zudem verglichen wir Manifestationsparameter der MODY-Gruppe mit dem antikörpernegativen D. m. Typ-1.

**Ergebnisse:** Die verschiedenen Diabetesformen ergaben folgende Häufigkeiten: D. m. Typ-1A 87,5%, D. m. Typ-1B 4,7%, MODY 1,8%, Neonataler Diabetes 1,5%, Diabetes mellitus Typ-2 0,8%, andere seltene Diabetesformen 3,6%.

Der Vergleich von D. m. Typ-1A und D. m. Typ-1B ergab bei der Manifestation einen signifikant höheren HbA1c-Wert bei den antikörpernegativen Kindern und Jugendlichen (12,7% versus 11,6%). Bei den Verlaufparametern waren der HbA1c-Verlauf ( $p=0,013$ ) sowie der Insulinbedarf ( $p=0,047$ ) während der ersten 24 Monate nach der Manifestation signifikant verschieden. Beim MODY lag der Altersmedian bei Manifestation 3,2 Jahre höher, es trat bei Manifestation keine Ketoazidose auf und nur 5 von 11 MODY-Patienten benötigten initial Insulin.

**Schlussfolgerung:** Ohne die genaue Pathogenese von antikörperpositivem versus antikörpernegativem D. m. Typ-1 zu kennen, fanden wir eine länger bestehende und höhere Restaktivität der Betazellen in Bezug auf die Insulinproduktion beim D. m. Typ-1B gegenüber dem D. m. Typ-1A. Dennoch scheint der D. m. Typ-1B eine heterogene

## Abstrakt (Deutsch)

Gruppe verschiedener Diabetesformen aus (i) monogenem Diabetes (der mit zunehmender Kenntnis über neue, diabetesverursachende Gene diagnostiziert werden wird) und (ii) autoimmunem Diabetes (der zwar aktivierte, zytotoxische T-Zellen aufweist, nicht aber eine parallele Aktivierung von B-Zellen, die diagnostisch etablierte Antikörper gegen die bisher bekannten Epitope von Betazellen bilden) darzustellen.



## Abstract (English)

**Introduction:** Diabetes mellitus is the most frequent metabolic disease of infancy and adolescence with about > 90% having autoimmune type 1 diabetes. In detail, positive anti-islet-autoantibodies enable diagnosis of autoimmune type 1A diabetes (T1A), lack of the latter, idiopathic, or type 1B diabetes (T1B) – the pathogenesis of which is unknown. The aim of this study was to characterize the two distinct type 1 diabetes-types in terms of clinical presentation, but also in comparison to non-immune diabetes with clear molecular genetic diagnosis, namely maturity-onset-diabetes of the young (MODY).

**Methods:** We analyzed data of 607 children and adolescents (age  $\leq 18$  years), being continuously followed at our diabetes center. Inclusion criteria were (i) availability of autoantibodies against glutamic acid decarboxylase (GAD<sub>65</sub>), tyrosine phosphatase (IA-2A) and anti-insulin-antibodies (IAA), (ii) clinical follow up time 24 months post-diagnosis and (iii) informed consent given by parents or patients, where appropriate. Individuals with at least one antibody positive were classified as “type 1A”, those with all antibodies negative as “type 1B” diabetes, those with a clear molecular genetic diagnosis made as “MODY”. Groups were analyzed in terms of clinical, laboratory and molecular genetic criteria. In detail, our parameters at diabetes diagnosis were age, sex, BMI-SDS, glucose concentration, presence of ketoacidosis and HbA1c, at 24-month follow up BMI-SDS, HbA1c and insulin requirement adjusted to body weight.

**Results:** We found specific subtypes (frequencies): T1A (87.5%), T1B (4.7%), MODY (1.8%), neonatal diabetes (1.5%), type 2 (0.8%), and finally other rare types (syndromal and secondary, 3.6%). Analyzing type 1A and type 1B, type 1A individuals had lower HbA1c at diabetes-onset (11.6% vs. 12.7%) but higher HbA1c during the following 24 months ( $p=0.013$ ), paralleled by a lower insulin dose in type 1B individuals ( $p=0.047$ ). Individuals with MODY had a later diabetes-onset (median 3.2 years) than those with type 1B and had no ketoacidosis at diagnosis or during follow up, moreover, only 5 of 11 MODY-patients required insulin treatment, when their diabetes was diagnosed.

**Conclusions:** Without knowing a detailed pathogenesis of antibody-positive versus antibody-negative type 1 diabetes, we found a milder onset and course of diabetes in type 1B diabetes, compared to type 1A. Anyhow, T1B might still be of heterogeneous pathogenesis including (i) monogenic diabetes that might be diagnosed with increasing knowledge on novel diabetes genes and (ii) autoimmune diabetes having stimulated,

## Abstract (English)

cytotoxic T-cells but no activated B-cells producing autoantibodies against epitopes, used for diagnostic purpose.

# 1 Einleitung

## 1.1 Klassifikation des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter

Beim Diabetes mellitus handelt es sich um eine Gruppe verschiedener Stoffwechselerkrankungen. Charakteristisches Merkmal aller Formen ist die Hyperglykämie, die durch Störung der Insulinsekretion, Störung der Insulinwirkung oder einer Kombination dieser beiden Störungen hervorgerufen wird [1].

In Deutschland sind insgesamt 13.000-14.000 Kinder und Jugendliche unter 15 Jahren an Diabetes mellitus erkrankt (Stand 31.12.2003) [2]. Die Inzidenz in Deutschland beträgt 22,9 pro 100.000 Personenjahre (Stand 2004-2008), die Prävalenz beträgt 148,1 pro 100.000 (Stand 31.12.2008) [3]. Es handelt sich um die häufigste Stoffwechselerkrankung dieser Altersgruppe [4].

Diagnosekriterien sind (i) ein Gelegenheitsblutzucker von  $>200\text{mg/dl}$ , (ii) ein Nüchternblutzucker  $>126\text{ mg/dl}$ , (iii) 2-Stunden-Glucose im OGTT  $>200$  oder (iv) ein Hämoglobin A1c-Wert (HbA1c)  $>6,5\%$  [5]. Im Rahmen der Manifestation treten häufig diabetesspezifische Symptome wie Polyurie, Polydipsie und Gewichtsverlust auf [5]. Eine diabetische Ketoazidose ( $\text{pH} <7,30$ ) wird bei 25-27% aller Kinder und Jugendlichen zum Zeitpunkt ihrer Diabetesmanifestation beobachtet [6, 7].

Der **Diabetes mellitus Typ-1** ist mit über 90% die häufigste Diabetesform im Kindes- und Jugendalter [5]. Diese Diabetesform ist charakterisiert über eine chronische, immunvermittelte Zerstörung der Betazellen der Langerhans'schen Inseln was folglich zu einem absoluten Insulinmangel führt [5].

Bei 85-90% der Kinder und Jugendlichen ist mindestens ein diabetesspezifischer Autoantikörper nachweisbar, es handelt sich hierbei um den autoimmunvermittelten Diabetes mellitus Typ-1A [5]. Bei einer kleineren Gruppe mit primär insulinpflichtigem Diabetes mellitus gelingt der Nachweis der diabetesspezifischen Antikörper nicht, hier sprechen wir nach Ausschluss anderer Diabetesformen vom sogenannten Diabetes mellitus Typ-1B (entsprechend Klassifikation nach ISPAD, siehe Tabelle 1, S. 12) [5]. Auf die Ätiopathogenese und Antikörperdiagnostik des Diabetes mellitus Typ-1 wird im Kapitel 1.2 noch näher eingegangen.

**Tabelle 1: Aktuelle Klassifikation des Diabetes mellitus nach American Diabetes Association (ADA) und International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) [5].**

**Typ 1 Diabetes:** Betazell- Zerstörung, gewöhnlich absolutes Insulindefizit

*Typ 1 A:* Autoimmunvermittelt

*Typ 1 B:* Idiopathisch

**Typ 2 Diabetes:** zu Beginn Insulinresistenz mit relativem Insulinmangel, später Insulinsekretions-Defekt mit oder ohne Insulinresistenz

**Typ 3 Diabetes:** Andere spezifische Diabetes-Typen

*Typ 3 A:* Genetische Defekte der Betazell-Funktion

- Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY)
- Neonatale Diabetesformen (vorübergehender oder persistierender)
- Mitochondriale DNA-Mutation
- Andere

*Typ 3 B:* Genetische Defekte der Insulinwirkung

- Typ A Insulinresistenz
- Andere

*Typ 3 C:* Störungen der exokrinen Pankreasfunktion

- Pankreatitis / Trauma / Pankreatektomie / Multiorganversagen
- Mukoviszidose
- Andere

*Typ 3 D:* Endokrinopathien

- Cushing-Syndrom / Glukagenom
- Andere

*Typ 3 E:* Medikamenteninduziert

- Glukokortikoide
- Andere

*Typ 3 F:* Infektionen

- kongenitale Röteln/ Cytomegalievirus
- Andere

*Typ 3 G:* Seltene Formen von Immunogenem Diabetes

- „Stiff-Men-Syndrom“
- Andere

*Typ 3 H:* Andere genetische Syndrome, welche mit Diabetes assoziiert sind

- Down-Syndrom / Wolfram-Syndrom
- Andere

**Typ 4: Gestationsdiabetes**

Der **Diabetes mellitus Typ-2** ist zu 80% mit einer Adipositas (BMI >30 kg/m<sup>2</sup>) assoziiert und kennzeichnet sich durch eine Insulinresistenz in Verbindung mit einer inadäquaten Insulinsekretion [8, 9]. Insgesamt liegt dieser Diabetestyp bei 95% aller Diabeteserkrankungen im Erwachsenenalter vor [8]. Im Kindes- und Jugendalter ist diese Diabetesform eher selten, die Prävalenz des Diabetes mellitus Typ-2 in Deutschland beträgt etwa 2,3 pro 100.000 (0-20 Jahre, Mittelwert Manifestationsalter: 15,8 Jahre), verglichen hierzu ist die Prävalenz in den USA mit 22/100.000 (0-19 Jahre) bei unterschiedlichem, ethnischen Hintergrund deutlich höher [10]. Jugendliche mit Adipositas und einer positiven Familienanamnese sind bevorzugt betroffen [11]. Eine Zunahme der übergewichtigen Kinder und Jugendlichen führt aktuell zu einer steigenden Prävalenz der Erkrankung, was sich auch in der bereits zehnfach erhöhten Prävalenz in den USA zeigt [10].

Der **Diabetes mellitus Typ-3** ist ein Sammelbegriff für alle anderen, spezifischen Diabetesformen und unterteilt sich wiederum in die Unterformen A-H (siehe Tabelle 1, S. 12) [5]. Im Folgenden soll ein Überblick über ausgewählte, klinisch relevante Diabetesformen gegeben werden.

Die Diabetesgruppe Typ-3A umfasst diverse genetische Defekte der Betazellfunktion [5]. Hierzu zählen u.a. die MODY (Maturity-Onset-Diabetes of the Young) - Formen, die neonatalen Diabetesformen (Diabetesmanifestation innerhalb der ersten 6 Monate) sowie der mitochondriale Diabetes [5].

Der **Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY)** ist charakterisiert durch generationenübergreifende Diabeteserkrankungen auf Grund des dominanten Erbmodus sowie der Manifestation vor dem 25. Lebensjahr [1]. Die positive Familienanamnese kann bei „De Novo“ Mutationen jedoch auch fehlen, was die Diagnosestellung erschwert und bei ausbleibender molekulargenetischer Diagnostik auch zu falscher Zuordnung zu einem Diabetes mellitus Typ-1 oder Typ-2 führen kann [12]. Aktuell findet eine rasante Entwicklung der genetischen Testverfahren statt, was die Möglichkeiten der Durchführung stetig verbessert. Die Vielzahl der bisher bekannten monogenetischen Genlokalisationen, die für eine Diabeteserkrankung ursächlich sein können, ist im Anhang, Tabelle 9 (siehe S. 54,55) dargestellt [13]. Es handelt sich hierbei zumeist um sehr seltene Entitäten, deren klinisches Erscheinungsbild stark variiert und von dauerhaft leicht erhöhten Glukosewerten (z.B. GCK-MODY) mit

diätetischer Behandlung bis hin zum klassischen Verlauf des Diabetes mellitus Typ-1 (z.B. HNF1A- und HNF4A-MODY) mit Notwendigkeit einer Insulinbehandlung sowie Ausbildung diabetischer Folgeerkrankungen reicht [14]. Zum Zeitpunkt der Studiendurchführung war die Testung der vier häufigsten MODY-Formen im Rahmen der klinischen Forschung möglich (siehe Tabelle 2).

Die Benennung, die chromosomalen Lokalisationen sowie klinischen Merkmale dieser vier häufigsten MODY-Formen sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Insgesamt beträgt die Prävalenz der nachgewiesenen MODY-Erkrankungen in Deutschland 2,39/100.000 (0-20 Jahre) [10], das entspricht einem Anteil aller Diabeteserkrankungen im Kindes- und Jugendalter von 2,4% [6]. Da die Durchführung der genetischen Testung sehr kostenintensiv ist und in der Regel nur im Rahmen von Studien durchgeführt wird, dürfte der tatsächliche Wert allerdings noch deutlich höher liegen.

**Tabelle 2: Überblick der häufigsten MODY (Maturity-Onset-Diabetes of the Young)-Formen [14] (weitere Quelle: <http://www.genenames.org/>)**

	Protein	Gen (Chromosomale Lokalisation)	Häufigkeit (Schober et. al. 2009) [15]	Klinische Besonderheiten	Therapie
MODY-1	Hepatic Nuclear Factor-4 $\alpha$ (HNF4 $\alpha$ )	HNF4A (20q13.12)	4%	Verlauf und Folgeerkrankungen ähnlich dem Diabetes mellitus Typ-1	Sulfonylharnstoffe, ggf. Insulin
MODY-2	Enzym Glukokinase	GCK (7p15.3-p15.1)	62%	grenzwertig erhöhte Glukosewerte, in der Regel keine Spätfolgen	Lifestyle, ggf. Metformin oder Insulin
MODY-3	Hepatic Nuclear Factor-1 $\alpha$ (HNF1 $\alpha$ )	HNF1A (12q24.31)	31%	Verlauf und Folgeerkrankungen ähnlich dem Diabetes mellitus Typ-1	Sulfonylharnstoffe/ Glinide, ggf. Insulin
MODY-5	Hepatic Nuclear Factor-1 $\beta$ (HNF1 $\beta$ )	HNF1B (17q12)	<3%	urogenitale Fehlbildungen (Zystennieren, renale Dysplasie, Genitalfehlbildungen, Azoospermie)	Insulin

Als „**Neonataler Diabetes mellitus**“ (NDM) wird eine Hyperglykämie bezeichnet, die innerhalb der ersten Lebensmonate auftritt, mehr als zwei Wochen andauert und eine Behandlung mit Insulin notwendig macht [16]. Etwa eins von 400.000 Neugeborenen ist betroffen [16]. Auch dieser Diabetesform liegen verschiedene monogene Ursachen

zugrunde [17]. Obwohl in den letzten Jahren mit Hilfe molekulargenetischer Untersuchungen diverse Genmutationen als Ursache eines neonatalen Diabetes ausfindig gemacht werden konnten [18], gelingt bei Patienten mit permanentem neonatalen Diabetes mellitus (PNDM) ein Nachweis der verantwortlichen Genlokalisierung nur zu 40% [19]. Aktuell findet auch auf diesem Gebiet ein rasanter wissenschaftlicher Fortschritt statt, mit dem Ergebnis, dass bereits weitere ursächliche Genmutationen festgestellt werden konnten (siehe auch Anhang, Tabelle 9, S. 54,55).

Auch der **mitochondriale Diabetes** mellitus wird dem Diabetes mellitus Typ-3A zugeordnet [5]. Diese Diabetesform ist sehr selten und wird maternal vererbt. In mehr als 60% der betroffenen Kinder und Jugendlichen tritt gleichzeitig eine Gehörlosigkeit auf [20].

Weitere **seltene Ursachen für einen Diabetes mellitus**, bezogen auf die Pathogenese (z.B. medikamenteninduziert, Störung der exokrinen Pankreasfunktion, genetische Syndrome und andere), spielen in dieser Arbeit nur eine untergeordnete Rolle und können der Klassifikation der ISPAD (siehe Tabelle 1, S. 12) entnommen werden [5].

## 1.2 Diabetes mellitus Typ-1

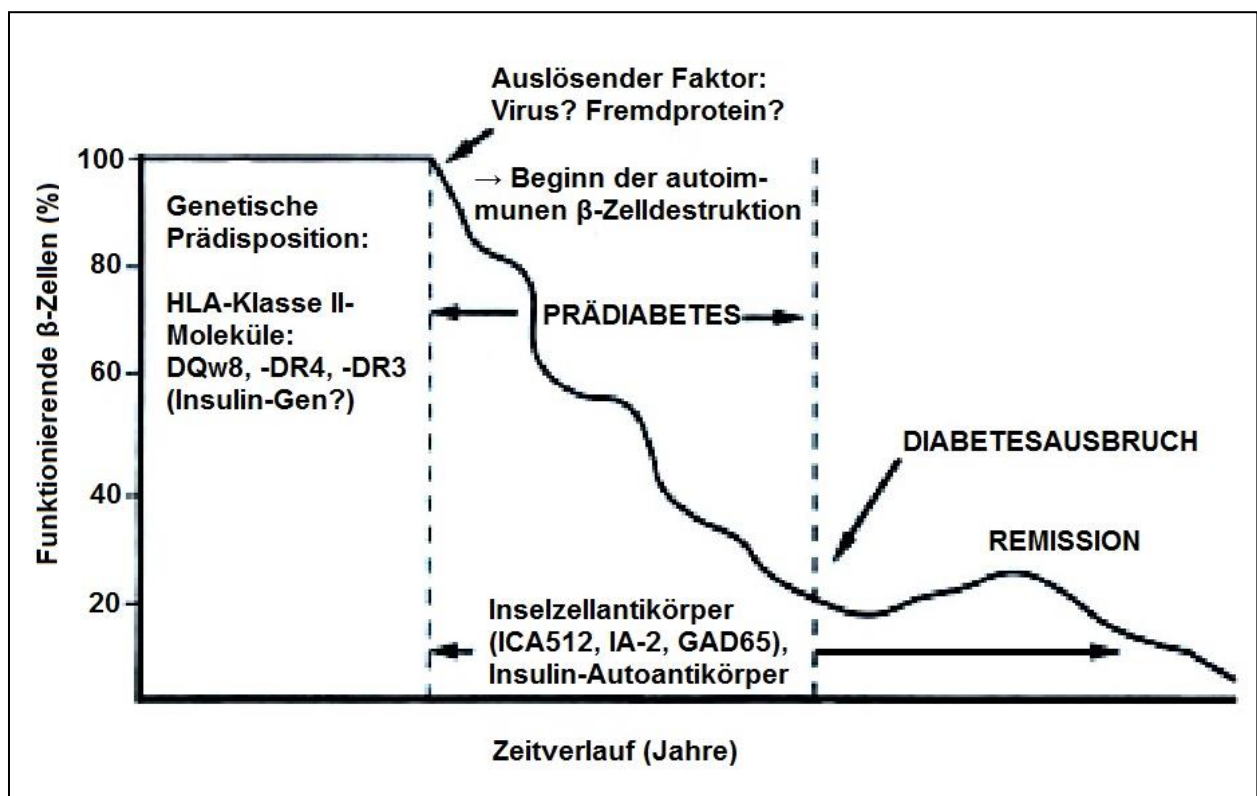
### 1.2.1 Ätiopathogenese

Der Diabetes mellitus Typ-1 ist eine immunvermittelte Erkrankung, bei der die fortschreitende Betazellzerstörung einen chronischen Insulinmangel hervorruft [21]. Der initiale Mechanismus, der den Autoimmunprozess in Gang setzt, konnte bisher noch nicht identifiziert werden, vielmehr handelt es sich um eine multifaktorielle Genese [5, 22]. Für die Entstehung eines Diabetes mellitus sind nach heutigen Erkenntnissen folgende Voraussetzungen erforderlich: (i) genetische Prädisposition (z.B. HLA-Merkmale), (ii) auslösender Faktor (Triggerfaktor) sowie (iii) eine gegen die Betazellen gerichtete Autoimmunreaktion mit Beteiligung von autoreaktiven zytotoxischen T-Lymphozyten, Zytokinen und Autoantikörpern [23].

Bezüglich der genetischen Prädisposition handelt es sich beim Diabetes mellitus um eine heterogene und polygene Störung – inzwischen sind im Rahmen von genomweiten Assoziationsstudien über 60 Risiko-Genlokalisierungen identifiziert worden [5, 24]. Die wichtigsten Gene, die mit Diabetes mellitus Typ-1 in Verbindung gebracht werden sind die Humanen Leukozytenantigene (HLA)-Klasse-II-Merkmale des kurzen Armes des

Chromosom 6 (HLA-DQ und HLA-DR), bei über 90% der Typ-1-Diabetiker können die Merkmale DR3 und/oder DR4 nachgewiesen werden [5, 21, 23, 24]. Hierbei sind sowohl protektive als auch prädisponierende Haplotypen bekannt [24]. Im klinischen Kontext spielt die Bestimmung der HLA-Marker zur Diagnosestellung oder Risikoabschätzung keine Rolle, da die immungenetische Prädisposition nicht alleine für die Entstehung einer Diabeteserkrankung ursächlich ist (unter 10% der HLA-Prädisponierten entwickeln eine Diabeteserkrankung) [21, 23].

Weiterhin wird demzufolge vermutet, dass zusätzlich zur genetischen Prädisposition ein auslösender Faktor (Triggerfaktor) den Autoimmunprozess in Gang setzt (siehe Abbildung 1) [23]. Untermuert wird diese Vermutung durch eine Reihe an evidenzbasierten Faktoren: (i) wie bereits genannt erkranken nur 10% der HLA-Exponierten an Diabetes mellitus, (ii) <40% von eineiigen Zwillingen erkranken beide an Diabetes mellitus Typ-1, (iii) über 10-fache Unterschiede in den Erkrankungsinzidenzen in Europa, (iv) ein mehrfacher Anstieg der Erkrankungsinzidenzen innerhalb der letzten 50 Jahre, (v) Migrationsstudien haben gezeigt, dass Migranten die Inzidenzen des Aufenthaltslandes angenommen haben (nicht die Inzidenzen des Herkunftslandes) [21].



**Abbildung 1: Natürlicher Verlauf des Diabetes mellitus Typ-1 (aus Spinass et. al) [23]**



Trotz umfangreicher Forschungen konnte bisher jedoch kein einzelner Umweltfaktor als Triggerfaktor zur Entstehung eines Diabetes mellitus Typ-1 ausfindig gemacht werden [24]. Man vermutet vielmehr einen Zusammenhang mit folgenden Triggerfaktoren, die sich in drei Gruppen einteilen lassen: virale Infektionen (z.B. Coxsackievirus, Cytomegalievirus), frühkindliche Diät (z.B. früher Kontakt zu Kuhmilchprodukten) und Toxine (z.B. N-Nitrosoderivate) [24]. Als weitere, nicht-genetische krankheitsmodulierende Einflussfaktoren werden Impfungen, psychischer Stress und klimatische Einflüsse gezählt [24].

Die Autoimmunreaktion, bei der die Betazellen des Pankreas zerstört werden, beginnt bereits Monate bis Jahre vor der Diabetesmanifestation (siehe Abbildung 1, S. 16). Vermutet wird ein zugrundeliegender Verlust der immunologischen Selbsttoleranz [25]. Eine wichtige Rolle bei der Infiltration und Zerstörung der Inselzellen des Pankreas spielen autoreaktive zytotoxische CD8+ T-Zellen und autoreaktive CD4+ T-Zellen zusammen mit dendritischen Zellen, die gemeinsam mit Zytokinen und Chemokinen Bestandteile des Autoimmunprozesses bilden [26]. Die CD8+ T-Zellen zerstören direkt die Betazellen wohingegen die CD4+ T-Zellen (insbesondere T-Helfer-1- oder T-Helfer-17-Zellen) über die Ausschüttung von Zytokinen Makrophagen, neutrophile Granulozyten und autoreaktive B-Zellen aktivieren, von denen letztere die beim Diabetes mellitus Typ-1A spezifischen Autoantikörper gegen Betazellepitope bilden, die als messbares Korrelat im Serum bestimmt werden können [27]. Diabetes mellitus Typ-1-assoziierte Autoantikörper werden angesehen als biologische Indikatoren der autoreaktiven B-Zell-Zerstörung, ohne dass ein direkter Beitrag zur Betazellapoptose oder Betazell dysfunction nachgewiesen werden konnte [28]. Die diabetesspezifischen Antikörper können sich im Laufe der Kindheit entwickeln, am häufigsten wurde die Serokonversion jedoch im Alter von 6 Monaten bis 2 Jahren beobachtet [29]. Je mehr Antikörper im Serum von gesunden Individuen nachgewiesen werden können, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, innerhalb der folgenden Jahre an Diabetes mellitus zu erkranken [22, 29]. Der Nachweis von diabetesspezifischen Antikörpern gelingt somit bereits Jahre vor der Diabetesmanifestation [30]. Der Zeitraum zwischen dem Beginn der Betazelldestruktion bis zur Manifestation mit klinischen Symptomen wird als „Prä-Diabetes“ bezeichnet (siehe Abbildung 1, S. 16) [23].

Zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation kann die Autoimmun-Pathogenese bei 85-90% aller Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1 über den Nachweis erhöhter, betazellspezifischer Antikörper (siehe 1.2.2) gesichert werden [24]. In diesem

Fall sprechen wir vom „klassischen“ Diabetes mellitus Typ-1A [5]. Die klinische Manifestation repräsentiert das Endstadium der (Autoimmun-) Insulinitis [31], die erfolgte Zerstörung der Inselzellen des Pankreas führt zu einem absoluten Insulinmangel und zu einem Anstieg der Glukose im Blut [32]. Bei der allgemein hohen Insulinsensitivität bei Kindern treten diabetesspezifische Symptome wie Polyurie, Polydipsie und Gewichtsverlust erst auf, wenn annähernd 90% der insulinproduzierenden Betazellen zerstört sind [5]. Mit Beginn der erfolgreichen Insulinsubstitution kommt es zu einer vorübergehenden Erholung der körpereigenen Insulinproduktion und somit zu einer Stabilisierung der Stoffwechsellage, der sogenannten Remission [11]. Diese dauert abhängig von der Ausprägung der Stoffwechsellage und dem Alter bei Manifestation wenige Wochen bis hin zu 2 Jahren [11]. Im Anschluss kommt es zum völligen Sistieren der Insulinproduktion und somit zu einem Anstieg des Insulinbedarfs [11]. Spätestens zu diesem Zeitpunkt lässt sich der absolute Insulinmangel durch signifikant erniedrigte C-Peptidlevel nachweisen, was auch ein wichtiges Kriterium in der Differenzialdiagnostik bezüglich anderer Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-2 und verschiedenen monogenetischen Diabetesformen) darstellt [33].

Bei einigen Kindern und Jugendlichen mit klinisch typischen Symptomen eines Diabetes mellitus Typ-1 (z.B. diabetische Ketoazidose, erforderliche Insulinsubstitution) fehlt ein Antikörpernachweis, auch Hochrisikogene der HLA-Merkmale fehlen [5]. Sie werden nach Ausschluss anderer möglicher Diabetesformen und entsprechend der gängigen Diabetesklassifikation, auf Grund der unklaren Ätiologie der Gruppe „idiopathischer“ Diabetes mellitus Typ-1B zugeteilt [5].

### **1.2.2 Diabetesspezifische Autoantikörper**

Mit den heute verfügbaren diagnostischen Möglichkeiten, können diabetesspezifische Antikörper beim Diabetes mellitus Typ-1 in 85-90% der Fälle zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation nachgewiesen werden [5]. Im Rahmen unserer Studie wurden die Glutaminsäure-Decarboxylase-Antikörper ( $GAD_{65}$ ), Thyrosinphosphatase-Antikörper (IA-2A), Insulinantikörper (IAA) sowie teilweise die Inselzellantikörper (ICA) bestimmt, zu denen im Folgenden kurze Hintergrundinformationen gegeben werden sollen.

**Antikörper gegen Inselzellen (ICA)** wurden erstmals 1974 durch Bottazzo et al. [34] beschrieben und waren damals die ersten detektierbaren Autoantikörper [31]. Die zytoplasmatischen Inselzellantikörper (ICA) umfassen eine Gruppe verschiedener, gegen die Betazellen des Pankreas gerichteter Antikörper, die mittels indirekter Immunfluoreszenzfärbung auf humanen Pankreasgefrierschnitten nachgewiesen werden können [35]. Zwei der zugrunde liegenden Antigene ( $GAD_{65}$  und IA-2A, siehe unten) konnten inzwischen charakterisiert werden, andere sind weiterhin unbekannt [36]. Die Prävalenz der ICA bei Manifestation eines Diabetes mellitus Typ-1 wird mit 70-90% angegeben [35].

Auf Grund schwieriger Standardisierung des Testverfahrens und fehlender automatisierter Testdurchführung wurde der semiquantitative Nachweis der ICA-Antikörper durch eine Kombination verschiedener quantitativer Assays zur Bestimmung von  $GAD_{65}$ -Antikörpern, IA-2-Antikörpern und Insulinautoantikörpern (IAA) größtenteils ersetzt [36]. Der Nachweis dieser Autoantikörper ( $GAD_{65}$ , IA-2A und IAA) wurde als Radioimmunoassay (RIA) etabliert und in der aktuellen Labordiagnostik weitestgehend als ELISA überführt [35].

**Glutaminsäure-Decarboxylase (GAD)** ist ein Enzym, das katalysierend auf die Umwandlung von Glutaminsäure zu GABA (Gamma-Aminobutyric Acid), einem inhibitorischen Neurotransmitter des Nervensystems, wirkt [37]. Es sind zwei Isoformen bekannt, deren Benennung anhand des Molekulargewichtes (65 und 67 Kilodalton) als  $GAD_{65}$  und  $GAD_{67}$  erfolgt [37]. Beide kommen im zentralen und peripheren Nervensystem vor, wobei in den Betazellen der Bauchspeicheldrüse nur  $GAD_{65}$  exprimiert wird [37].  **$GAD_{65}$ -Antikörper** sind bei 80% aller Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1 nachweisbar, treten jedoch auch bei anderen Erkrankungen wie dem Stiff-Man-Syndrom und der Polyendokrinopathie Typ II auf [35, 36]. Das zu 76% identische Isomer  $GAD_{67}$  kann lediglich bei 11-18% aller Patienten mit Diabetes nachgewiesen werden, es spielt somit für die Praxis keine Rolle [35].

Die **Tyrosin-Phosphatase-Antikörper (IA-2A)** binden an zwei nahe verwandte Transmembranproteine, mit den Bezeichnungen IA-2 (ICA512) und IA-2 $\beta$  (Phogrin) [36]. Der intrazelluläre Anteil von IA-2 und IA-2 $\beta$  stimmt zu 74% überein [37]. Die Transmembranproteine werden in den sekretorischen Granula der Betazellen und neuroendokrinen Zellen exprimiert [37]. Die entsprechenden Antikörperbindungsstellen

befinden sich im zytoplasmatischen Anteil der Membranproteine [36]. Antikörper gegen IA-2 $\beta$  sind nur bei 35-50% der Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1 nachweisbar, wohingegen die Antikörper gegen IA-2 bei 55-75% aller Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1 auftreten [37]. Da die Mehrzahl von Patienten mit Antikörpern gegen IA-2 $\beta$  zugleich Antikörper gegen IA-2 aufweist, hat ein Screening von IA-2 $\beta$  -Antikörpern keinen signifikanten Vorteil gegenüber dem alleinigen Screening von IA-2-Antikörpern [37].

**Insulinautoantikörper (IAA)** sind das einzige, ausschließlich Betazell-spezifische Antigen, das bisher identifiziert wurde [37]. Sie sind gegen körpereigenes Insulin gerichtet und müssen vor Beginn einer Therapie mit exogen zugeführtem Insulin bestimmt werden, da unter exogener Insulintherapie regelhaft erhöhte Anti-Insulin-IgG-Antikörper, nachweisbar werden [36]. Diese können dann nicht mehr im Sinne von diagnostischen Autoimmunmarkern gewertet werden [36]. Im Vorschulalter (<5 Jahre) haben die IAA mit 50-70% die höchste Prävalenz [35]. Mit steigendem Alter nimmt die Prävalenz der IAA ab und beträgt bei Manifestation im Alter >15 Jahren nur noch annähernd 30% [35].

Neben den genannten Autoantikörpern sind inzwischen weitere Autoantikörper bekannt (z.B. Autoantikörper gegen den Zinktransporter 8, ZnT8) auf die an dieser Stelle nicht näher eingegangen werden soll, die aber bereits im Rahmen von klinischen Studien mitbestimmt werden (siehe Kapitel 4.3) [38]. Der Nachweis von Antikörpern im Blut stellt allein noch kein Diagnosekriterium dar. Auch in der Normalbevölkerung (Prävalenz 0,1-5,3%) sowie bei erstgradigen Verwandten von Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1 (Prävalenz 1-13%) können Antikörper nachgewiesen werden ohne dass eine Erkrankung vorliegt [37]. Jedoch konnte gezeigt werden, dass der Nachweis von mehreren Antikörpern ( $\geq 3$ ) mit einem hohen Risiko für die Entwicklung einer Diabeteserkrankung assoziiert ist [22, 37].

### 1.3 Fragestellung/ Hypothese dieser Arbeit

Zum heutigen Zeitpunkt sind neben dem bei Kindern und Jugendlichen am häufigsten vertretenen Diabetes mellitus Typ-1A weitere Diabetesformen bzw. Subgruppen mit den entsprechenden Pathogenesen bekannt. Beim antikörpernegativen oder auch idiopathischen Diabetes mellitus Typ-1B ist die Pathogenese bis heute nicht geklärt. Aus diesem Grund befasst sich diese Arbeit mit einer umfassenden Analyse dieser Subgruppe, um möglicherweise über die Erhebung der Manifestationsdaten sowie des anschließenden Diabetesverlaufes weitere Rückschlüsse bzw. Hinweise hinsichtlich der Pathogenese zu erhalten und Abgrenzungskriterien zu anderen Diabetesformen darzustellen.

Hierzu wurden folgende Hypothesen aufgestellt:

- 1.) Im Rahmen einer umfassenden klinischen, laborchemischen und molekulargenetischen Analyse finden sich mehrere Subgruppen/ Diabetesformen. Über die Zuordnung der Kinder- und Jugendlichen zu den pathogenetisch klar definierten Diabetesformen wie Diabetes mellitus Typ-1A, Diabetes mellitus Typ-2 sowie anderen spezifische Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-3, z.B. monogenetischer Diabetes mellitus), kann eine Abgrenzung zum antikörpernegativen Diabetes mellitus Typ- 1B erfolgen.
- 2.) Wir vermuten zwischen dem antikörperpositiven und dem antikörpernegativen Diabetes mellitus Typ-1 Unterschiede hinsichtlich der Manifestationsparameter sowie des Diabetesverlaufes. Verglichen werden sollen hierzu ausgewählte Parameter am Zeitpunkt der Diabetesmanifestation (Alter, Geschlecht, BMI-SDS, Glukose, HbA1c, Ketoazidose) sowie im Verlauf der folgenden 24 Monate (BMI-SDS, HbA1c, Insulinbedarf).
- 3.) Im Vergleich der Subgruppe des antikörpernegativen Diabetes mellitus Typ-1B und nachgewiesenen MODY-Erkrankungen, sind zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation und im weiteren Verlauf Unterschiede zu erwarten. Dies liegt bei den monogenetischen Diabetesformen begründet in den verschiedenen betroffenen Genen (heterogene Gruppe) mit Ihren jeweils unterschiedlichen biologischen Funktionen, wodurch sich die monogenetischen Diabetesformen hinsichtlich klinischer, diagnostischer und prognostischer Kriterien sowie hinsichtlich der therapeutischen Verläufe voneinander unterscheiden.

## 2 Methodik

### 2.1 Beschreibung der untersuchten Patientenkohorte

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine monozentrische longitudinale deskriptive Studie. Die Studie wurde in der Diabetesambulanz des Sozialpädiatrischen Zentrums (SPZ) der Charité-Universitätsmedizin Berlin am Campus Virchow-Klinikum durchgeführt. Als Studienkollektiv dienten Kinder und Jugendliche, bei denen im Alter von 0-18 Jahren ein Diabetes mellitus, entsprechend den Kriterien der „International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes“ (ISPAD) [5], diagnostiziert wurde und die sich im Verlauf ihrer Erkrankung im Sozialpädiatrischen Zentrum in ambulanter Behandlung befanden. Die Datenerhebung erfolgte anonymisiert. Eine Beratung und Zustimmung durch die Ethikkommission der Charité unter der Antragsnummer EA2/077/06 ist erfolgt.

Einschlusskriterien der Studienteilnehmer waren der Geburtstag sowie der Zeitpunkt der Manifestation des Diabetes mellitus im Zeitraum zwischen dem 01.01.1988 und dem 31.12.2008 sowie die ambulante Betreuung im SPZ innerhalb des Zeitraums vom 01.01.1988 bis 31.03.2011. Die Daten der Probanden wurden retrospektiv der EDV-basierten Datenbank DPV („Diabetessoftware für prospektive Verlaufsdokumentation“, Version 6,04; Stand 31.03.2011) entnommen [39]. DPV wird in ganz Deutschland von vielen Diabeteszentren, so auch vom SPZ der Charité, zur Dokumentation von Untersuchungsdaten verwendet. Ziel ist neben der elektronischen Datenspeicherung und -verarbeitung u.a. für die Erstellung von Arztbriefen auch die Qualitätssicherung in der Behandlung des Diabetes mellitus [39].

### 2.2 Bestimmung der Autoantikörper

Die Messung der diabetesspezifischen Autoantikörper Glutaminsäure-Decarboxylase-Autoantikörper (GAD<sub>65</sub>), Tyrosin-Phosphatase-Autoantikörper (IA-2) und der Insulinautoantikörper (IAA) erfolgte im Interdisziplinären Endokrinologischen Speziallabor der Charité anhand direkter Radioligandenassays: CentAK<sup>®</sup> anti-GAD<sub>65</sub>, CentAK<sup>®</sup> anti-IA2, CentAK<sup>®</sup>-IAA; MEDIPAN GMBH, Dahlewitz / Berlin, Deutschland. Die Cut Offs für die Bestimmung als „antikörperpositiv“ lagen entsprechend der angegebenen Referenzwerte (funktionelle Sensitivitäten) bei: GAD<sub>65</sub> > 1 U/ml (0,6 U/ml); IA-2A > 0,75 U/ml (0,7 U/ml); IAA ≥ 1 U/ml (0,5 U/ml).

Bei Patienten, die uns nach Manifestation zugewiesen wurden, waren teilweise ausschließlich die Inselzellantikörper (ICA) bestimmt worden. Verwendet wurde hierfür der indirekte Immunfluoreszenztest „ICA IFA von GA Generic Assays GmbH, Dahlewitz, Deutschland“. Es handelt sich bei der Bestimmung von Inselzellantikörpern um ein semi-quantitatives Testverfahren.

Etwa 15% der Kinder und Jugendlichen erlebten ihre Manifestation außerhalb der Charité Berlin, daher konnten vor Beginn der Insulintherapie keine Charité-internen Antikörperbestimmungen durchgeführt werden. In diesen Fällen wurden die Antikörperbefunde den entsprechenden Arztbriefen entnommen und die jeweiligen Normwertgrenzen der Assays als Bewertungsgrundlage genommen.

Die Antikörperbefunde liegen lediglich vom Zeitpunkt der Diabetesmanifestation vor. Wiederholte Bestimmungen der Antikörper lagen routinemäßig nicht vor und konnten auf Grund des retrospektiven Studiendesigns nicht erhoben werden.

### **2.3 Leitlinienkonforme Einordnung der Diabetestypen und Definition der Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B**

Die Zuordnung der Kinder und Jugendlichen zu den verschiedenen Diabetesformen erfolgte entsprechend verschiedener Kriterien, wie in Abbildung 2 (siehe S. 25) ersichtlich.

Studienteilnehmer, bei denen die Diabetesmanifestation innerhalb der ersten 6 Lebensmonate lag, wurden dem „neonatalen Diabetes mellitus“ zugeordnet [40].

Anhand einer ausführlichen Eigen- und Medikamentenanamnese wurden Diabetesformen auf Grund von Störungen des exokrinen Pankreas, Infektionen, Medikamenteneinnahme sowie Diabeteserkrankungen im Rahmen komplexer Syndrome/ Chromosomenanomalien erfragt und die betroffenen Kinder und Jugendlichen der Gruppe „andere seltene Diabetesformen“ zugeordnet.

War nach Ausschluss der oben genannten Diabetesformen mindestens ein Antikörper positiv (GAD<sub>65</sub> oder IA-2A oder IAA oder ICA), erfolgte die Zuordnung zum antikörperpositiven Diabetes mellitus Typ-1A.

Bei klinischer Adipositas der Kinder oder Jugendlichen, die in der Regel mit einem Body-Mass-Index-Standard-Deviation-Score [BMI-SDS] > 2 einhergeht (entsprechend alters- und geschlechtsspezifischen BMI-Perzentilenwerten nach Kromeyer-Hauschild, siehe auch 2.5.1) [41], wurden klinische und laborchemische Kriterien (z.B. OGTT, C-

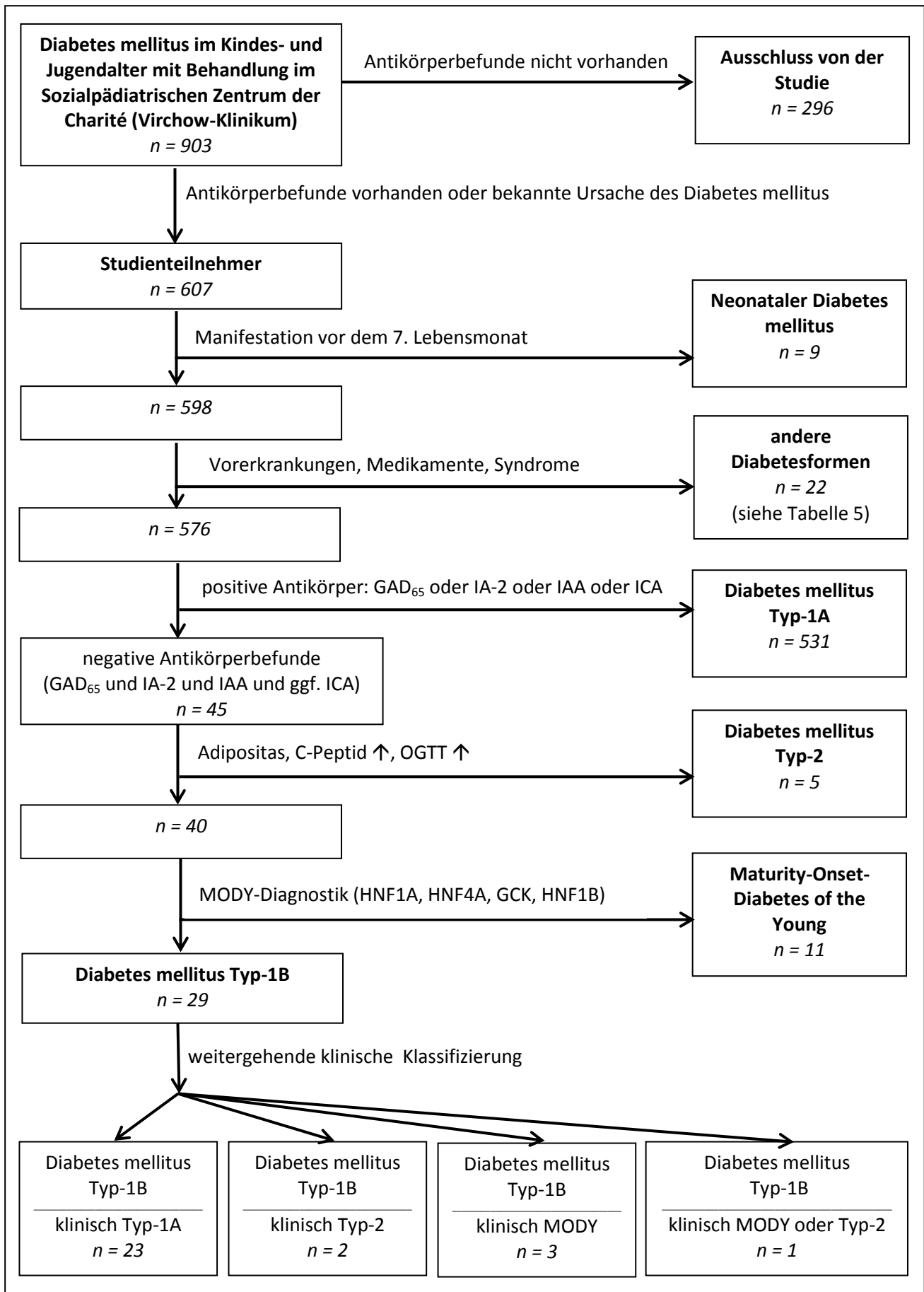
Peptidbestimmung) zur Diagnosestellung und im weiteren Verlauf verwendet, um die Diagnose eines Diabetes mellitus Typ-2 nach den Leitlinie der AGPD [4] und AGA [42] zu stellen.

Beim antikörpernegativen Diabetes mellitus ( $GAD_{65}$  und IA-2A und IAA negativ und ggf. ICA negativ) erfolgte eine weitergehende Charakterisierung der Kinder und Jugendlichen. Diese umfasste anamnestische Befragungen (Familienanamnese, Klinik der Diabetesmanifestation) sowie klinische und molekulargenetische Untersuchungen zum Ausschluss eines Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY, siehe Kapitel 2.5.3). Wurde hierbei eine ursächliche MODY-Mutation festgestellt, erfolgte die Zuordnung der Kinder und Jugendlichen zu den entsprechenden MODY-Formen.

Kinder und Jugendliche mit negativen Antikörperbefunden, bei denen keine MODY-Mutationen gefunden wurden und die klinisch einem Diabetes mellitus Typ-1 glichen (z.B. Ketoazidoseneigung, Insulintherapie), zählen zur Gruppe des „idiopathischen“ Diabetes mellitus Typ-1B [5].

Für die nachfolgenden Vergleiche von Manifestations- und Verlaufsdaten wurden nur Kinder und Jugendliche mit einem Diabetes mellitus Typ-1A, Diabetes mellitus Typ-1B und MODY (hier nur Manifestationsdaten) näher betrachtet. Alle anderen Diabetesformen wurden für die weiterführenden Untersuchungen ausgeschlossen.





**Abbildung 2: Klinische, laborchemische und molekulargenetische Charakterisierung der Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus (Übersicht)**

## **2.4 Untersuchungsparameter und -zeitpunkte für den Vergleich von Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B**

Die folgend genannten Untersuchungen wurden bei Kindern und Jugendlichen mit einem Diabetes mellitus Typ-1 durchgeführt. Zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation (Zeitpunkt 1) wurden folgende Parameter miteinander verglichen: Geschlecht, Alter, BMI-SDS, Glukosewert, das Auftreten einer Ketoazidose sowie der Hämoglobin A1c-Wert (HbA1c). Darüber hinaus wurden in den ersten 2 Jahren nach der Manifestation des Diabetes mellitus die Parameter BMI-SDS, HbA1c-Wert und der jeweilige Insulinbedarf erhoben. Hierfür wurden vier weitere Zeitpunkte nach 7 (5-9), 12 (9-15), 18 (15-21) und 24 (21-27) Monaten festgelegt. Waren mehrere Vorstellungstermine in dem genannten Zeitintervall vorhanden, so wurde immer der Termin ausgewählt, der dem angegebenen „Monat nach Manifestation“ am nächsten lag. Die entsprechenden Angaben der Behandlungstermine wurden der Datenbank DPV entnommen.

## **2.5 Erhebung der Untersuchungsparameter**

### **2.5.1 Klinische Parameter**

Das Geschlecht, das Geburtsdatum, die Körpergröße, das Körpergewicht sowie das Manifestationsdatum wurden der Datenbank DPV entnommen.

Die Messung der Körpergröße erfolgte im Rahmen der Diabetessprechstunde im Sozialpädiatrischen Zentrum des Virchow Klinikums der Charité mit einer Messvorrichtung der Firma „Holtain Limited, CRYMMYCH, PEMBS., U.K.“ Das Körpergewicht wurde mit einer Waage der Firma „Seca, D98-09-005“ erhoben. Die Angaben zu Körpergröße und Körpergewicht zum Zeitpunkt der Manifestation wurden den Arztbriefen entnommen.

Die Angaben Körpergröße und Körpergewicht wurden prospektiv in die Datenbank DPV eingegeben. Der BMI wurde berechnet über das Gewicht in kg dividiert durch das Quadrat der Größe in m. Um die Schiefe der BMI-Verteilung auszugleichen und die Messwerte „normalverteilungsbasierten“ Messverfahren zugänglich zu machen, erfolgte über eine Box-Cox-Transformation nach der LMS-Methode von Cole die datenbankbasierte Berechnung des BMI-SDS [43, 44]. Als alters- und geschlechtsadaptierte BMI-Referenzwerte dienten Daten der AGA Studie von Kromeyer-Hauschild (2001). [41]. Diese Methode ermöglicht die alters- und

geschlechtsadaptierte Berechnung von Standardabweichungen des BMI, ausgehend von der 50. Perzentile nach Kromeyer-Hauschild [41]. Wenn der Messwert um 2 Standardabweichungen nach oben (+2) bzw. nach unten (-2) abweicht, entspricht dieser Wert dem 97,7. bzw. 2,3. Perzentil der Referenzgruppe.

Der Insulinbedarf wurde mittels des aktuellen Körpergewichts sowie der durchschnittlichen täglichen Insulindosis berechnet. Der Insulinbedarf der Kinder und Jugendlichen wurde anamnestisch erfragt oder bei Insulinpumpenträgern direkt via Datenspeicherung und Datenauslesung der Pumpen ermittelt. Die Angabe des Insulinbedarfes erfolgte in Internationalen Einheiten [IE] pro Kilogramm Körpergewicht [kgKG] pro Tag [d] (IE/kgKG/d).

### **2.5.2 Laborparameter**

Die Glukosewerte vom Zeitpunkt der Manifestation wurden den entsprechenden Arztbriefen entnommen. Die Bestimmungen für die Diagnosestellung erfolgten mit den etablierten Labormethoden der Kliniken (nasschemische Labormethoden entsprechend RiLiBÄK für Qualitätsstandards diagnostischer Labormethoden). Eine einheitliche Methodik der Bestimmung war nicht möglich, da die Erstvorstellung bei Manifestation in verschiedenen Kliniken bzw. Arztpraxen erfolgte und Angaben der jeweiligen Messmethoden nicht explizit in den Arztbriefen vermerkt sind.

Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgte mit der jeweiligen etablierten Labormethode der Akut-Kliniken oder Stationen der Charité (im Rahmen einer Blutgasanalyse). Das Auftreten einer Ketoazidose ist über einen pH-Wert  $< 7,3$  definiert [45]. Keine Ketoazidose lag vor, wenn der pH-Wert  $\geq 7,3$  betrug bzw. wenn aus der Epikrise hervorging, dass direkt mit subkutanen Insulingaben begonnen wurde, da hierfür eine stabile Stoffwechsellage Voraussetzung ist.

Der HbA1c-Wert vom Zeitpunkt der Manifestation (und die entsprechenden Cut-Offs) wurde im Falle externer Manifestation den entsprechenden Arztbriefen entnommen, bei Manifestation in der Kinderklinik der Charité dem Klinikinternen-Informationssystem (KIS). Die Bestimmung des HbA1c-Wertes zur Verlaufskontrolle erfolgte in der Regel vierteljährlich mittels „DCA 2000®“ Analysegerät der Firma Bayer Health Care, Leverkusen, Deutschland. Der Referenzbereich lag entsprechend der Herstellerangaben zwischen 4,3 und 5,7 %, eigene altersspezifische Referenzwerte liegen nicht vor. Die Dokumentation der HbA1c-Werte erfolgte in der Datenbank DPV.

Die Bestimmung von C-Peptid wird bei typischer, pädiatrischer Manifestation derzeit nicht explizit empfohlen, wurde jedoch in Einzelfällen, z.B. bei antikörpernegativen Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus oder bei klinischem Verdacht auf Diabetes mellitus Typ-2 gemessen. Die Bestimmung erfolgte mittels der in den Kliniken etablierten Labormethoden und war in der Regel bei Manifestation und nicht nüchtern abgenommen worden. Insgesamt lagen C-Peptidwerte nur bei unter 30% der Kinder und Jugendlichen vor, daher wurde das C-Peptid bei den weitergehenden, statistischen Berechnungen nicht berücksichtigt.

### **2.5.3 Molekulargenetische Diagnostik monogener Diabetesformen (MODY)**

Bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus, bei denen keine Antikörper nachweisbar waren, erfolgte mit den Eltern ein detailliertes Aufklärungsgespräch bezüglich der Möglichkeit einer molekulargenetischen Untersuchung sowie deren Nutzen und Risiken. Nach Zustimmung durch eine schriftliche Einwilligung, wurde bei den antikörpernegativen Kindern und Jugendlichen eine molekulargenetische Diagnostik bezüglich der vier häufigsten MODY-Formen (GCK-, HNF1A-, HNF1B- und HNF4A-MODY; chromosomale Lokalisationen siehe Tabelle 2, S. 14) durchgeführt. Die Untersuchung erfolgte im Institut für Experimentelle pädiatrische Endokrinologie der Charité sowie in kommerziellen genetischen Laboren. Zum Untersuchungszeitpunkt wurden die kodierenden Abschnitte (Exons) der Gene und die angrenzenden intronischen Sequenzen (ca. 50 Basenpaare) mittels Kapillarsequenzierung (Methode nach Sanger) untersucht. Nach größeren Deletionen wurde mittels „Multiplex-Ligation-Dependent Probe Amplification“ (MLPA) gesucht. Das Labor des Instituts für experimentelle, pädiatrische Endokrinologie (mittlerweile Labor-Berlin) und die externen Labore nahmen entsprechend der Richtlinie der Bundesärztkammer zur Qualitätssicherung labormedizinischer Untersuchungen (Rili-BAeK) an internen und externen Qualitätskontrollen teil. Inwieweit identifizierte Mutationen als pathogen einzustufen sind, wurde den ursprünglichen, zum Zeitpunkt der Sequenzierung erstellten, molekulargenetischen Befunden entnommen und bei Verfassung der Promotionsarbeit unabhängig davon in einer aktuellen Datenbankabfrage 2016 validiert um sicher Polymorphismen auszuschließen (Mutation Taster [46]).

## **2.6 Kategorisierung der Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B**

Eine weiterführende Charakterisierung und Kategorisierung der Gruppe mit negativen Antikörperbestimmungen (IA-2A, GAD<sub>65</sub> und IAA) bei Manifestation - gemäß der Diagnose eines Diabetes mellitus Typ-1B - wurde durchgeführt. Ziel war es, anhand verschiedener Kriterien aufzuzeigen, welche Diabetesform (insbesondere Diabetes mellitus Typ-1A, Diabetes mellitus Typ-2, MODY) bei den Kindern und Jugendlichen mit idiopathischem Diabetes mellitus Typ-1B möglicherweise vorliegen könnte bzw. welcher Diabetesform der individuelle Krankheitsverlauf am ehesten glich. Die Kategorisierung wurde entsprechend der ADA-Kriterien [1] von zwei pädiatrischen Diabetologen (Herr Priv.- Doz. Dr. Raile und Frau Dr. Galler) im SPZ der Charité vorgenommen und erfolgte klinisch für den Diabetes mellitus Typ-2 anhand der Merkmale (i) erhöhter BMI-SDS ( $> +2,0$ ), (ii) Insulinresistenz (normales bis erhöhtes C-Peptid, Akanthosis Nigricans) und (iii) fehlende Ketoazidose. Als zusätzliches Kriterium für MODY wurde eine autosomal-dominante Vererbung gewertet. Weitere Kriterien, die tabellarisch dargestellt wurden (siehe Tabelle 8, S. 38,39), sind das Geschlecht, das Alter bei Manifestation, die Nationalität, eventuelle Begleiterkrankungen sowie die Dauer der Remission, definiert über einen Insulinbedarf  $< 0,5$  IE/kgKG/d. Konkret wird in der Übersicht zudem dargestellt, welche genetischen Diabetesformen im Einzelnen ausgeschlossen wurden.

## **2.7 Statistische Berechnungen**

Die erhobenen Daten wurden in Microsoft Excel gesammelt und dann für die Berechnungen in SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Version 18, Chicago, U.S.A.) importiert. Die Berechnung der Daten erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Dietz und Frau Scheufele vom Institut für Biometrie und klinische Epidemiologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin.

Die nominalen Daten „Geschlecht der Teilnehmer“ sowie die „Ketoazidosehäufigkeit“ wurden anhand des Chi-Quadrat-Tests auf signifikante Unterschiede hin verglichen. Für die metrischen Daten „BMI-SDS“ und „HbA1c-Wert“ vom Zeitpunkt der Manifestation, wurde mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests eine Normalverteilung festgestellt. Die Berechnung von Signifikanzen erfolgte mit dem T-Test bei unverbundenen Stichproben. Es wurden die Mittelwerte und

## Methodik

Standardabweichungen angegeben. Die nicht normalverteilten Parameter „Alter bei Manifestation“ und „Glukose“ wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test auf Signifikanzen hin untersucht. Bei der Darstellung der Ergebnisse wurden die Mediane mit Minimum/Maximum („Alter bei Manifestation“) oder der 25./75. Perzentile (Glukose) angegeben.

Die Verlaufsdaten wurden mit Hilfe der Brunneranalyse, einem longitudinalen, nichtparametrischen Testverfahren auf mögliche Signifikanzen hin untersucht. Für die Darstellung der Ergebnisse wurden für die normalverteilten BMI-SDS-Werte die Mittelwerte mit Standardabweichung angegeben. HbA1c-Werte und Insulinbedarf waren nicht normalverteilt, so dass hier die Mediane mit der 25./75. Perzentile berechnet wurden. Als Signifikanzniveau wurde ein „p“-Wert von  $<0,05$  festgelegt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Häufigkeiten der verschiedenen Diabetesformen

Im Zeitraum vom 01.01.1988 bis zum 31.03.2011 waren im Sozialpädiatrischen Zentrum der Charité insgesamt 903 Kinder und Jugendliche mit Diabetes mellitus in Behandlung, deren Geburtstag und Manifestationszeitpunkt zwischen dem 01.01.1988 und dem 31.12.2008 lagen. Der Altersmedian bei der Diabetesmanifestation betrug 7,4 Jahre. Insgesamt waren 54% des Studienkollektives männlichen und 46% weiblichen Geschlechts.

**Tabelle 3: Häufigkeiten, Geschlechterverhältnis sowie Altersmedian der verschiedenen Diabetesformen (Klassifikation gemäß ADA [1])**

Diabetesformen	Anzahl Patienten		männlich / weiblich		Altersmedian bei Manifestation
	absolut	in %	absolut	in %	in Jahren (min/max)
<b>I: Diabetes mellitus Typ-1 (Betazelldestruktion, absoluter Insulinmangel)</b>					
<b>IA:</b> Diabetes mellitus Typ-1A (mindestens ein Antikörper positiv)	531	87,5	282 / 249	53 / 47	8,3 (0,7 / 17,8)
<b>IB:</b> Diabetes mellitus Typ-1B (IAA, GAD <sub>65</sub> , IA-2A und ggf. ICA negativ)	29	4,7	18 / 11	62 / 38	8,6 (1,4 / 16,4)
<b>II: Diabetes mellitus Typ-2 (Primäre Insulinresistenz, sekundäres Betazellversagen)</b>					
Diabetes mellitus Typ-2	5	0,8	2 / 3	40 / 60	13,1 (9,6 / 14,8)
<b>III: Andere, spezifische Diabetestypen</b>					
<b>III A: Monogene Diabetesformen</b>					
MODY (Maturity-Onset-Diabetes of the Young)	11	1,8	6 / 5	55 / 45	11,8 (2,5 / 16,5)
Neonataler Diabetes mellitus (Manifest. < 6 Monate)	9	1,5	6 / 3	67 / 33	0,1 (0 / 0,3)
<b>III B-H: Andere, seltene Diabetesformen, Syndromaler Diabetes</b>					
Andere Diabetesformen (siehe Tabelle 4, S. 32)	22	3,6	14 / 8	64 / 36	6,8 (0,9 / 16,4)
<b>Gesamt</b>	607	100	486 / 417	54 / 46	7,4 (0 / 17,8)

## Ergebnisse

Bei 607 Kindern und Jugendlichen lag eine verwertbare Antikörperdiagnostik vor. Die 296 (32,8%) Kinder und Jugendlichen mit fehlenden oder unvollständigen Antikörperbefunden, blieben bei der folgenden Zuordnung zu den verschiedenen Diabetesformen unberücksichtigt. Die nachfolgende Charakterisierung der Studienteilnehmer ergab die in Tabelle 3 (siehe S. 31) genannten Häufigkeiten, Geschlechterverhältnisse und Altersmediane der verschiedenen ermittelten Diabetesformen.

Bei neun Kindern wurde auf Grund der Manifestation im Alter von <6 Monaten ein neonataler Diabetes mellitus diagnostiziert. Weitere 22 Kinder und Jugendliche konnten auf Grund vorliegender Begleiterkrankungen „anderen, seltenen Diabetesformen“ (siehe Tabelle 4) zugeordnet werden, hierzu zählen insbesondere Diabetesformen der Gruppe „Diabetes mellitus Typ-3“ (Klassifikation nach ISPAD, siehe Tabelle 1, S.12) [5].

### ***Tabelle 4: Darstellung der verschiedenen Grunderkrankungen bei einer Gruppe von 22 Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-3 mit „anderen seltenen Diabetesformen“***

- Zustand nach Hämolytisch-urämischem Syndrom (HUS), Multiorganversagen und/ oder Nierentransplantation: n = 7; m = 7,6 Jahre
- Cystische Fibrose: n = 2; m = 15,3 Jahre
- Trisomie 21: n = 2; m = 12,4 Jahre
- Wolfram-Syndrom (DIDMOAD): n = 2; m = 1 Jahr
- Syndrom unbekannter Ursache: n = 4; m = 7,3 Jahre
- Verdacht auf Mitochondropathie: n = 2; m = 7,7 Jahre
- Zustand nach Hyperinsulinismus, Pankreatektomie, Heterozygote ABCC8-Mutation: n = 1; m = 5,9 Jahre
- Galaktosämie Typ 1: n = 1; m = 14,7 Jahre
- Mukopolysaccharidose: n = 1; m = 4,7 Jahre

---

*n - Anzahl; m - Altersmittelwert/ Alter bei der Manifestation*

Nach Ausschluss dieser Diabetesformen konnten 531 (87,5%) Kinder und Jugendliche einem klassischen Diabetes mellitus Typ-1A mit positivem Antikörperbefund zugeordnet werden. Ein Diabetes mellitus Typ-2 lag bei 5 Jugendlichen vor. Von den verbleibenden 40 Kindern und Jugendlichen mit negativen Antikörperbefunden wurde anhand der



molekulargenetischen Diagnostik bei 11 Studienteilnehmern ein Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY) diagnostiziert (siehe Tabelle 7, S. 36,37). Davon waren vier Studienteilnehmer an einem GCK-MODY (MODY2), vier an HNF1A-MODY (MODY3) und drei an HNF1B-MODY (MODY5) erkrankt.

Verbleibende 29 (4,7%) Kinder und Jugendliche, bei denen die Antikörperbestimmung negativ ausfiel und bei denen andere Diabetesformen ausgeschlossen wurden, gehörten der Gruppe mit Diabetes mellitus Typ-1B an. Anschließend erfolgte der Vergleich dieser Diabetesgruppe mit Studienteilnehmern mit antikörperpositivem Diabetes mellitus Typ-1A sowie mit den MODY-Patienten.

### **3.2 Vergleich von Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B**

#### **3.2.1 Vergleich der Manifestationsparameter**

Nach dem Ausschluss anderer Diabetesformen, blieben insgesamt 560 Kinder und Jugendliche mit einem Diabetes mellitus Typ-1. Davon waren 29 Kinder und Jugendliche antikörpernegativ, das entspricht 5,2% aller Kinder und Jugendlichen mit einem Diabetes mellitus Typ-1 (siehe Tabelle 5, S. 34). Der Vergleich der antikörperpositiven und antikörpernegativen Kohorte anhand ausgewählter Manifestationsparameter ist in Tabelle 5 (siehe S. 34) dargestellt.

Bei der Manifestation war der HbA1c-Wert in der antikörpernegativen Gruppe als einziges Merkmal signifikant erhöht, während die weiteren Parameter Geschlecht, Altersmedian, BMI-SDS, Glukose und Auftreten einer Ketoazidose keinen signifikanten Unterschied zeigten.

**Tabelle 5: Vergleich der Manifestationsparameter von Diabetes mellitus Typ-1A und Diabetes mellitus Typ-1B**

Parameter bei Manifestation	Diabetes mellitus Typ-1A	Diabetes mellitus Typ-1B	P (*)
Anzahl (absolut)	531	29	-
Prozentualer Anteil an Diabetes mellitus Typ-1 in %	94,8	5,2	-
Geschlecht: männlich / weiblich in %	53 / 47	62 / 38	0,445 (Pearson Chi-Square)
Altersmedian bei Manifestation in Jahren [Minimum / Maximum]	8,3 [0,7 / 17,8]	8,6 [1,4 / 16,4]	0,420 (Mann-Whitney-U-Test)
BMI-SDS bei Manifestation Mittelwert [Standardabweichung]	- 0,65 [1,4]	- 0,68 [2]	0,948 (T-Test)
Glukose bei Manifestation Median in mg/dl [25. / 75. Perzentile]	502 [384 / 641]	500 [308 / 567]	0,132 (Mann-Whitney-U-Test)
Auftreten einer Ketoazidose: ja / nein / keine Angaben (absolut) [in Prozent]	109 / 231 / 191 [21 / 44 / 36]	8 / 16 / 5 [28 / 55 / 17]	1,00 (Pearson Chi-Square)
HbA1c bei Manifestation in % Mittelwert [Standardabweichung]	11,6 [2,5]	12,7 [2,4]	<b>0,039 (T-Test)</b>

(\*) statistisches Testverfahren

### 3.2.2 Longitudinale Verlaufsanalyse von HbA1c-Wert, Insulinbedarf und BMI-SDS

Wir überprüften die Hypothese, dass dem Diabetes mellitus Typ-1A und Typ-1B eine unterschiedliche Pathogenese zugrunde liegt und daher mit Unterschieden in den diabetesspezifischen Verläufen zu rechnen ist. In diesem Zusammenhang wurde der longitudinale Verlauf bezüglich (i) HbA1c-Wert, (ii) Insulinbedarf (Insulin/kg/d) und (iii) BMI-Entwicklung (BMI-SDS) analysiert. Wir konnten im longitudinalen Verlauf (mittels Brunner-Analyse) über die ersten 24 Monate nach Manifestation in der Diabetes mellitus Typ-1B-Gruppe einen niedrigeren HbA1c-Wert ( $p = 0,013$ ) sowie einen geringeren Insulinbedarf ( $p = 0,047$ ) feststellen (siehe Tabelle 6, S. 35).

**Tabelle 6: Vergleich des zeitlichen Verlaufes von Diabetes mellitus Typ-1A und Diabetes mellitus Typ-1B bezüglich BMI-SDS, HbA1c sowie Insulinbedarf mit Ergebnissen der Brunneranalyse**

Verlaufsparameter	Diabetes mellitus	Manifestation	7 Monate	12 Monate	18 Monate	24 Monate	P <sup>1)</sup>
<b>BMI-SDS</b> Mittelwert (± SD)	<b>Typ-1A</b>	<b>- 0,65</b> (±1,4)	<b>0,39</b> (±0,95)	<b>0,42</b> (±0,92)	<b>0,4</b> (±0,88)	<b>0,4</b> (±0,89)	0,460
	<b>Typ-1B</b>	<b>- 0,68</b> (±2)	<b>0,42</b> (±1,09)	<b>0,43</b> (±1,17)	<b>0,66</b> (±1,1)	<b>0,58</b> (±1,08)	
<b>HbA1c in %</b> Median (25./ 75. Perzentile)	<b>Typ-1A</b>	<b>11,4</b> (9,9/13,3)	<b>7,2</b> (6,6/8,1)	<b>7,5</b> (6,9/8,3)	<b>7,7</b> (7/8,6)	<b>7,8</b> (7,2/8,8)	<b>0,013</b>
	<b>Typ-1B</b>	<b>12,9</b> (11,4/14,3)	<b>6,5</b> (6,1/7,8)	<b>7,3</b> (6,6/8,4)	<b>7,3</b> (6,6/8,1)	<b>7,8</b> (6,9/9)	
<b>Insulinbedarf in IE/ kg</b> Median (25./ 75. Perzentile)	<b>Typ-1A</b>	-	<b>0,56</b> (0,41/0,73)	<b>0,68</b> (0,53/0,85)	<b>0,75</b> (0,61/0,94)	<b>0,78</b> (0,63/0,99)	<b>0,047</b>
	<b>Typ-1B</b>	-	<b>0,58</b> (0,27/0,74)	<b>0,64</b> (0,51/0,84)	<b>0,65</b> (0,38/0,84)	<b>0,69</b> (0,45/0,91)	

<sup>1)</sup> zeitlicher Verlauf zwischen den verschiedenen Gruppen, Brunneranalyse

Der HbA1c-Wert, der zum Zeitpunkt der Manifestation bei den Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B signifikant höher war, fiel bereits nach 7 Monaten unter die Werte der antikörperpositiven Gruppe (6,5% gegenüber 7,2%; siehe Tabelle 6). Im weiteren Verlauf blieben die HbA1c-Werte der antikörpernegativen Studienteilnehmer niedriger und glichen sich erst nach 24 Monaten den Werten der antikörperpositiven Kinder und Jugendlichen an (HbA1c-Wert beide 7,8%).

Der Insulinbedarf 7 Monate nach der Manifestation war bei den Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1A minimal geringer als bei Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus Typ-1B (0,56 IE/kgKG gegenüber 0,58 IE/kgKG). Im weiteren Verlauf lag der Insulinbedarf bei den Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus Typ-1B deutlich unter dem Bedarf der Kohorte mit Diabetes mellitus Typ-1A. Am deutlichsten wurde der geringere Insulinbedarf bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B nach 18 Monaten (0,55 IE/kgKG gegenüber 0,65 IE/kgKG; siehe Tabelle 6).

### 3.3 Vergleich von Diabetes mellitus Typ-1B und Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY)

Im Vergleich zum antikörpernegativen Diabetes mellitus Typ-1B lag der Altersmedian bei der Manifestation des Maturity-Onset-Diabetes of the Young 3,2 Jahre höher (8,6 versus 11,8 Jahre). Zudem war bei keinem Studienteilnehmer mit einem Maturity-Onset-Diabetes of the Young bei der Manifestation eine diabetische Ketoazidose aufgetreten. Nur fünf von elf Patienten benötigten innerhalb der ersten zwei Jahre nach der Diabetesmanifestation eine Behandlung mit Insulin, davon drei von drei mit HNF1B-MODY (MODY5) und zwei von vier mit HNF1A-MODY (MODY3). Tabelle 7 zeigt eine Übersicht der Studienteilnehmer mit diagnostizierten MODY-Formen bezüglich ihres Krankheitsbeginns sowie Angaben zur Therapie und zur Familienanamnese.

**Tabelle 7: Klinische Angaben zu den Kindern und Jugendlichen mit einem diagnostizierten Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY)**

Nr.	M/W	Genlokalisierung (MODY-Typ)	Erkrankungsbeginn und Symptome	Angabe zur Therapie	Familienanamnese für Diabetes mellitus
1	M	GCK (MODY2)	im 2. Lebensjahr bei Infekt erhöhte BZ-Werte (~150 mg/dl); im 9. Lebensjahr erhöhter HbA1c von 6,7%	Keine Pharmakotherapie	keine Angaben
2	M	GCK (MODY2)	im 10. Lebensjahr bei Infekt erhöhte BZ-Werte (~150 mg/dl); HbA1c 6,6%	Keine Pharmakotherapie	Vater erhöhte BZ-Werte; Nichte (ms)
3	M	GCK (MODY2)	im 11. Lebensjahr rezidivierend erhöhte BZ-Werte ~200 mg/dl; HbA1c 6,9%	Keine Pharmakotherapie	Mutter Diabetes bei Übergewicht mit Normalisierung BZ-Werte nach Gewichtsreduktion; Großvater (ms); Urgroßmutter (ms)
4	W	GCK (MODY2)	im 11. Lebensjahr Diagnosestellung; HbA1c 6,5%	Keine Pharmakotherapie	Mutter Gestationsdiabetes (2. Schwangerschaft insulinpflichtig); Tante (ms) erhöhte BZ-Werte; Großmutter
5	M	HNF1A (MODY3)	im 14. Lebensjahr Glukosurie bei Infekt aufgefallen; HbA1c 7%	Insulintherapie	Halbbruder von Nr. 6; Vater ebenfalls MODY-Diabetes; Mutter Gestationsdiabetes
6	W	HNF1A (MODY3)	im 3. Lebensjahr Diagnosestellung nach positiver MODY-Diagnostik bei Halbbruder; normaler BZ- und HbA1c-Wert	keine Pharmakotherapie	Halbschwester von Nr. 5; Vater ebenfalls MODY-Diabetes
7 *)	W	HNF1A (MODY3)	im 9. Lebensjahr einmalig erhöhter BZ; im 11. Lebensjahr Infekt mit erhöhten BZ-Werten ~300 mg/dl; HbA1c 10,1%	initial Insulin, Umstellung auf Meglitinid, später zusätzlich Insulin	Vater; Tante (vs)
8	M	HNF1A (MODY3)	im 12. Lebensjahr erhöhte Nüchtern glukose sowie pathologischer OGTT; HbA1c 6,6%	keine Pharmakotherapie	kein Diabetes in Familie

**Fortsetzung Tabelle 7: Klinische Angaben zu den Kindern und Jugendlichen mit einem diagnostizierten Maturity-Onset-Diabetes of the Young (MODY)**

Nr.	M/W	Genlokalisierung (MODY-Typ)	Erkrankungsbeginn und Symptome	Angabe zur Therapie	Familienanamnese für Diabetes mellitus
9 #)	W	<b>HNF1B</b> 17q12 Deletion (inkl. HNF1B-Gen), De Novo ( <b>MODY5</b> )	<b>im 17. Lebensjahr</b> Sehstörungen, bds. Katarakt, Polyurie, Polydipsie; BZ-Messung von 574 mg/dl; HbA1c 19,4%; Weitere Organbeteiligungen: Pankreasschwanz- und Corpusaplasie mit exokriner Pankreasinsuffizienz; Nierenzysten bds.; Hepatopathie, Katarakt	Insulintherapie	Vater nicht verfügbar für Anamnese und Genetik, Mutter gesund und keine HNF1B-Deletion
10 #)	M	<b>HNF1B</b> 17q12 Deletion (inkl. HNF1B-Gen), De Novo ( <b>MODY5</b> )	<b>im 13. Lebensjahr</b> pathologischer OGTT; Alagille-Syndrom mit angeborener Gallengangshypoplasie und Cholestase, Niereninsuffizienz; Ureterabgangsstenose links; multizystische Nierendegeneration rechts, exokrine Pankreasinsuffizienz, prä- und postnatale Wachstumsretardierung	Insulintherapie	Eltern gesund, De Novo-Deletion
11 #)	W	<b>HNF1B</b> 17q12 Deletion (inkl. HNF1B-Gen), De Novo ( <b>MODY5</b> )	<b>im 14. Lebensjahr</b> erhöhte BZ-Werte ~170 mg/dl; HbA1c 7%; multizystische Nierendysplasie	Insulintherapie	Eltern gesund, De Novo-Deletion

M/W - männlich / weiblich; ms - mütterlicherseits; vs - väterlicherseits; BZ – Blutzucker; Normalwert HbA1c 4,3-5,6%;  
\*) publiziert in Becker et al. 2014 [47] ; #) publiziert in Raile et al. 2009 [48]

### 3.4 Kategorisierung der Kinder und Jugendlichen mit antikörper-negativem Diabetes mellitus Typ-1B

Diabetes mellitus Typ-1B wird in erster Linie charakterisiert durch den fehlenden Nachweis spezifischer Anti-Betazell-Antikörper zum Zeitpunkt der Diabetesmanifestation, in dieser Arbeit bezogen auf GAD<sub>65</sub>, IA-2A und Insulinautoantikörper. Bei den insgesamt 29 Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus Typ-1B erfolgte eine sub-Kategorisierung entsprechend der Kriterien Begleiterkrankungen (u.a. BMI-SDS), Diabetische Ketoazidose, Dauer der Remission (definiert über einen Insulinbedarf < 0,5 IE/kgKG/d), Diabetestherapie und Familienanamnese, die in Tabelle 8 (siehe S. 38,39) dargestellt sind. Insgesamt ergab sich hierbei, dass 23 Kinder und Jugendliche dem Diabetes mellitus Typ-1A am ähnlichsten waren, sie benötigten eine Insulintherapie, waren bis auf zwei Ausnahmen nicht übergewichtig und es fanden sich keine gehäuften Diabeteserkrankungen in der Familie. Beim Patient Nr. 11 (siehe Tabelle 8, S. 38,39) war bei deutlicher Adipositas (BMI-SDS 3,18) und positiver Familienanamnese (Mutter, Großmutter, Tante) die Zuordnung nicht eindeutig möglich. Hier wäre sowohl ein Diabetes mellitus Typ-2 als

## Ergebnisse

auch ein sog. MODY-X, das heißt ein autosomal-dominanter Diabetes ohne spezifischen Mutationsnachweis, möglich. Weitere zwei Patienten (Nr. 14 und Nr. 28, siehe Tabelle 8) waren, auf Grund einer Adipositas, dem Diabetes mellitus Typ-2 ähnlich, beide Patienten wurden initial mit Insulin behandelt, wobei Patient Nr. 28 nach zwei Jahren bei deutlicher Gewichtsreduktion ohne Insulin behandelt werden konnte (GCK-MODY ausgeschlossen). Weitere drei Patienten (Nr. 20, Nr. 25 und Nr. 27, siehe Tabelle 8) zeigten eine dominant vererbte Diabetesanamnese ohne nachweisbaren Gendefekt im GCK, HNF1A und HNF1B-Gen, Patientin Nr. 27 (siehe Tabelle 8) konnte nach 2,5 Jahren von Insulin auf Repaglinide umgestellt werden und war klinisch einem HNF1A-Diabetes ähnlich (molekulargenetischer Ausschluss erfolgt).

Insgesamt waren somit entsprechend der vorgenommenen Kategorisierung 6 von 29 Patienten (20,7%) in ihrem klinischen Erscheinungsbild nicht dem Diabetes mellitus Typ-1(A), sondern anderen Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-2, MODY) ähnlich.

**Tabelle 8: Charakterisierung der Probanden mit Diabetes mellitus Typ-1B**

Pat.-Nr.	Alter	M/W 1)	Nationalität	Begleiterkrankungen	DKA 2)	Remission in Jahren 3)	Therapie	Familienanamnese für D. m. 4)	Kategorisierung 5)
1 <sup>III)</sup>	1,4	M	deutsch		ja	< 0,1	Insulin		Typ-1-ähnlich
2 <sup>I)</sup>	1,5	M	türkisch	Adipositas (BMI-SDS 2,02)	ja	0,2	Insulin	Mutter Gestationsdiabetes	Typ-1-ähnlich
3 <sup>III)</sup>	2,9	W	deutsch	Zöliakie	ja	0	Insulin		Typ-1-ähnlich
4 <sup>I)</sup>	3,1	M	irakisch	Kleinwuchs, Wachstumshormonmangel, Entwicklungsretardierung, psychomotorische Retardierung	ja	0	Insulin		Typ-1-ähnlich
5 <sup>III)</sup>	3,4	M	türkisch	Adipositas (BMI-SDS 2,21)	ja	1,3	Insulin	Mutter Gestationsdiabetes	Typ-1-ähnlich
6 <sup>III)</sup>	3,8	W	deutsch		nein	0,9	Insulin		Typ-1-ähnlich
7 <sup>III)</sup>	4,3	M	libanes. arabisch	Zöliakie, Anämie, Thrombozytopenie	nein	0,6	Insulin		Typ-1-ähnlich
8 <sup>III)</sup>	4,4	W	deutsch		nein	0,1	Insulin		Typ-1-ähnlich
9 <sup>III)</sup>	6,5	W	deutsch		ja	3	Insulin		Typ-1-ähnlich
10 <sup>III)</sup>	7	M	deutsch		nein	k.A.	Insulin	k.A.	Typ-1-ähnlich
11 <sup>I)</sup>	7,2	W	deutsch	Adipositas (BMI-SDS 3,18)	nein	0	Insulin nach erfolgloser Lifestyleintervention und Metformin	Mutter, Großmutter (ms), Tante (ms)	Typ-2-ähnlich/MODY-ähnlich
12 <sup>III)</sup>	7,6	M	deutsch		nein	0,5	Insulin		Typ-1-ähnlich
13 <sup>III)</sup>	8	W	deutsch		nein	0,5	Insulin	Großmutter	Typ-1-ähnlich

**Fortsetzung Tabelle 8: Charakterisierung der Probanden mit Diabetes mellitus Typ-1B**

Pat.-Nr.	Alter	M/W 1)	Nationalität	Begleiterkrankungen	DKA 2)	Remission in Jahren 3)	Therapie	Familienanamnese für D. m. 4)	Kategorisierung 5)
14 <sup>1)</sup>	8,4	M	deutsch	Adipositas (BMI-SDS 2,43), Hypertonie, NASH	nein	0,5	Insulin	Mutter Gestationsdiabetes, Großmutter (ms)	Typ-2-ähnlich
15 <sup>1)</sup>	8,6	M	deutsch		nein	2	Insulin		Typ-1-ähnlich
16 <sup>III)</sup>	8,6	M	deutsch		k.A.	k.A.	Insulin	k.A.	Typ-1-ähnlich
17 <sup>III)</sup>	9	W	iranisch		nein	0,3	Insulin	Großmutter (ms), Tante (ms)	Typ-1-ähnlich
18 <sup>III)</sup>	9	M	deutsch		nein	k.A.	Insulin		Typ-1-ähnlich
19 <sup>II)</sup>	11,2	M	türkisch		nein	3,5	Insulin		Typ-1-ähnlich
20 <sup>1)</sup>	11,6	M	vietnamesisch	Hypertonie	nein	0	Insulin	Mutter, 4 von 5 Geschwistern, Tante (vs)	MODY-ähnlich
21 <sup>III)</sup>	11,7	M	deutsch		k.A.	0,4	Insulin		Typ-1-ähnlich
22 <sup>III)</sup>	12,3	M	deutsch		nein	0,8	Insulin		Typ-1-ähnlich
23 <sup>1)</sup>	12,6	M	deutsch		nein	0	Insulin	Großmutter (vs)	Typ-1-ähnlich
24 <sup>II)</sup>	13,6	W	deutsch		ja	0	Insulin		Typ-1-ähnlich
25 <sup>II)</sup>	13,9	W	deutsch		nein	> 3	Insulin	Mutter und Onkel (ms)	MODY-ähnlich
26 <sup>III)</sup>	14	W	deutsch	Zöliakie	nein	0	Insulin	Großmutter	Typ-1-ähnlich
27 <sup>1)</sup>	14,5	W	türkisch		nein	> 4	initial Insulin; nach 2,5 Jahren Repaglinide (HbA1c 6,1%)	Mutter, Großmutter (ms)	MODY-ähnlich
28 <sup>II)</sup>	14,9	M	deutsch	Adipositas (BMI-SDS 2,13)	nein	0	initial Insulin; nach 2 Jahren Gewichtsreduktion (BMI-SDS 2,53 -> 1,91); darunter insulinfrei (HbA1c 5,3%)		Typ-2-ähnlich
29 <sup>1)</sup>	16,4	M	libanes.		ja	0,8	Insulin	Cousin	Typ-1-ähnlich

1) M/W - Männlich/ Weiblich; 2) DKA - Diabetische Ketoazidose; 3) Insulinbedarf < 0,5 IE/kg/Tag; 4) D.m. - Diabetes mellitus; 5) Kategorisierung des Diabetes mellitus nach den Angaben: Familienanamnese, Adipositas, Therapie; I) MODY1,2,3 und 5 ausgeschlossen, II) nur MODY2 und 3 ausgeschlossen; III) MODY-Diagnostik steht aus; ms-mütterlicherseits, vs-väterlicherseits; k.A.-keine Angaben

## 4 Diskussion

### 4.1 Autoimmunologische und genetische Diagnostik beeinflussen die Prävalenzzahlen für Diabetes mellitus Typ-1B

In der vorliegend dargestellten Studie wurde nach Ausschluss bekannter Diabetesformen ermittelt, dass der idiopathische Diabetes mellitus Typ-1B mit einer Häufigkeit von 4,7% in dem untersuchten Kollektiv vertreten war (siehe Tabelle 3, S. 31). Definitionsgemäß liegt ein Diabetes mellitus Typ-1B vor, wenn das klinische Erscheinungsbild einem klassischen Diabetes mellitus Typ-1A gleicht, jedoch keine Antikörper nachgewiesen werden können [5].

In verschiedenen Studien erfolgt jedoch eine unterschiedlich intensive Diagnostik, bevor die Patienten den jeweiligen Diabetesformen zugeordnet werden. Teilweise ist die Anzahl der bestimmten Antikörper unterschiedlich und/oder eine molekulargenetische Diagnostik wurde nicht durchgeführt. Um Studien miteinander vergleichen zu können, ist es notwendig, die Zuordnungskriterien der verschiedenen Diabetesformen zu kennen. Beispielsweise ergab eine finnische Studie (Sabbah et al., 1999), in der die vier diabetesspezifischen Antikörper gegen Glutaminsäure-Decarboxylase ( $GAD_{65}$ ), Tyrosin-Phosphatase (IA-2A), Insulin (IAA) und Inselzellen (ICA) bestimmt wurden, nur bei 1,7% der Kinder und Jugendlichen negative Antikörperbefunde [49], wohingegen eine Studie in Tunesien (Fakhfakh et al., 2008) bei gleicher Antikörperdiagnostik negative Antikörperbefunde bei 9,3% der Kinder und Jugendlichen zeigte [50]. In einer dänischen Studie (Pörksen et al., 2010) wurden die Insulinautoantikörper (IAA) nicht bestimmt (Bestimmung von  $GAD_{65}$ , IA-2A und ICA erfolgt), und es zeigte sich trotzdem eine vergleichbare Häufigkeit des Diabetes mellitus Typ-1B von 9,1% [51]. In einer Studie (Balasubramanian et al., 2003) an 55 indischen Kindern und Jugendlichen (<20 Jahre) wurde der antikörpernegative Diabetes mellitus Typ-1 lediglich über die Bestimmung der  $GAD_{65}$  und IA-2-Antikörper definiert, hier zeigten sich in 45% der Fälle beide Antikörper negativ, und auch diese Gruppe wurde dem Diabetes mellitus Typ-1B zugeordnet [52].

Hier wird die Bedeutung einer umfangreichen Bestimmung möglichst aller diabetesspezifischen Antikörper deutlich, da ansonsten eine unbestimmte Zahl an Probanden fälschlicherweise dem antikörpernegativen Diabetes mellitus zugeordnet wird. Bezeichnenderweise ist der Anteil an antikörperpositiven Patienten in Ländern mit



einer sehr hohen Diabetes mellitus Typ-1-Inzidenz wie z.B. in Finnland [5] (vgl. Sabah et al.) [49] auch am höchsten, während relativ gesehen andere, seltene Diabetesformen insbesondere in asiatischen und arabischen Populationen häufiger vertreten sind (vgl. Balasubramanian) [52].

Die Prävalenz antikörperpositiver Befunde bei genetisch definiertem MODY-Diabetes variiert stark, insbesondere in einer Studie bei Kinder und Jugendlichen mit HNF1A-Diabetes von Raile et al. zeigten 20 von 114 Kindern und Jugendlichen (17,5%) mindestens einen positiven Antikörperbefund (GAD<sub>65</sub>, IA-2A, IAA oder ICA) und somit eine ungewöhnlich hohe Prävalenz [53]. Hingegen wurde in einer weiteren Studie in Großbritannien (McDonald et al., 2011) mit 508 an monogenetischem Diabetes erkrankten Kindern und Jugendlichen (GCK-, HNF1A- und HNF4A-MODY) eine Prävalenz von positiven Antikörpern (nur GAD<sub>65</sub> und IA-2A) von <1% gezeigt, was vergleichbar ist mit der Prävalenz der Normalbevölkerung [54]. Die Daten der Studie von Raile et al. [53] machen zudem deutlich, dass sich auch in unserer Studie unter den Kindern und Jugendlichen mit positivem Antikörperbefund, versteckte monogenetische Diabetesformen verbergen könnten, die auf Grund des klinischen Erscheinungsbildes im Zusammenhang mit dem positiven Antikörperbefund dem Diabetes mellitus Typ-1A zugeordnet wurden – hier besteht insbesondere bei „De Novo“-Mutationen, die eben keine dominante Diabetesprävalenz innerhalb der Familien zeigen, die Gefahr der falschen Zuordnung zum antikörperpositiven Diabetes mellitus Typ-1A.

Wichtig ist darüber hinaus bei der Beurteilung der in der Literatur verfügbaren Studien die teilweise sehr unterschiedliche Vorgehensweise bei der Diagnose von anderen Diabetesformen im Vorfeld als Ausschlusskriterium für einen Diabetes mellitus Typ-1B. In der vorliegenden Studie konnten insgesamt 7,7% der Kinder und Jugendlichen anderen, spezifischen Diabetesformen zugeordnet werden (siehe Tabelle 3, S. 31). Dieser nicht unbeträchtliche Anteil an Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus stellt eine heterogene Gruppe hinsichtlich verschiedener Pathogenesen dar (z.B. monogenetische Diabetesformen, Diabetes mellitus Typ-2, syndromale Erkrankungen, Störungen der exokrinen Pankreasfunktion) und unterscheidet sich klinisch doch zum Teil recht deutlich vom „klassischen“ Diabetes mellitus Typ-1. Die Zuordnung zu den monogenetischen Diabetesformen stellt jedoch in vielerlei Hinsicht eine Herausforderung dar, da die „MODY-Patienten“ klinisch nicht eindeutig von einem Diabetes mellitus Typ-1 oder Diabetes mellitus Typ-2 abzugrenzen sind. Derzeit sind

noch ein Großteil der klinischen Diabetologen wenig sensitiv bezüglich monogenetischer Diabetes-Phänotypen und ein zusätzlicher Grund könnten hohe Kosten für molekulargenetische Diagnostik sein, die von niedergelassenen Diabetologen zurückhaltend veranlasst wird. Daher bleiben vor allem sporadische Fälle mit „De Novo“-Mutationen unerkannt als Diabetes mellitus Typ-1 oder Diabetes mellitus Typ-2 diagnostiziert [55]. Im Hinblick auf die Kosteneffizienz sollte jedoch mit bedacht werden, dass die häufigsten, monogenetischen Diabetesformen, mit GCK und HNF1A-Mutationen, zu einem wesentlichen Teil weniger invasiv (orale Medikation, Lifestyle-Interventionen) behandelt werden können, mit geringerer Komplikationsrate, höherer diabetesspezifischer Lebensqualität der Kinder und Jugendlichen sowie geringeren, langfristigen Behandlungskosten.

Ein zunehmendes Bewusstsein für monogene Diabetesformen zeigen die Zahlen des sächsischen Diabetes Registers (Galler et al., 2010) mit einer Häufigkeit der MODY-Erkrankungen von 2,4% [6], während das deutsch-österreichische DPV-Register (Schober et al., 2009) [15] noch eine Prävalenz von deutlich unter 1% zeigt. In unserer pädiatrischen Kohorte wurden die antikörpernegativen Studienteilnehmer einer konsequenten molekulargenetischen Untersuchung unterzogen und mit insgesamt 1,8% (siehe Tabelle 3, S. 31) ebenfalls eine relativ hohe Prävalenz der MODY-Formen produziert, vergleichbar mit dem oben genannten pädiatrischen, sächsischen Diabetesregister [6].

Nach Identifizierung von MODY-Patienten in unserer antikörpernegativen Kohorte waren z.B. die Altersunterschiede bei Manifestation zwischen Diabetes mellitus Typ-1B und Typ-1A nicht mehr signifikant, während explizit die diagnostizierten MODY-Patienten bei Diabetesbeginn im Median 3,2 Jahre älter waren. Daher könnte in der finnischen Studie (Sabbah et al., 1999) das signifikant höhere Manifestationsalter der Kinder und Jugendlichen mit negativem Antikörperbefund bei Manifestation einer inkompletten Identifizierung von MODY-Patienten (die Durchführung einer genetischen Diagnostik wird in der Studie nicht benannt) innerhalb der Diabetes mellitus Typ-1B-Kohorte entsprechen [56]. Auf Grund der Heterogenität der verschiedenen MODY-Formen ist es denkbar, dass in den antikörpernegativen Kohorten der verschiedenen Studien bei weiteren Kindern oder Jugendlichen ein monogener Diabetes mellitus ursächlich ist.

Darüber hinaus werden zunehmend weitere, monogene Diabetesformen mit pädiatrischem Manifestationsalter identifiziert, die verzögert in die KV-finanzierte molekulare Diagnostik eingeschlossen werden und somit in der flächendeckenden Patientenversorgung nicht diagnostiziert werden. Hierzu zählen Mutationen u.a. der Gene INS, ABCC8, KCNJ11, CEL und GATA6 (siehe auch Tabelle 9 im Anhang, S. 54,55) [13, 57-61]. Eine italienische Studie (Bonfanti et al., 2009) zeigt dies am Beispiel von 2 Kindern mit negativen Antikörpern (ICA, GAD, IA-2A, IAA, ZnT8), bei denen eine INS-Mutation nachgewiesen werden konnte (0,6% von 326 Studienteilnehmern) [62]. Eine dänische Studie (Pörksen et al., 2010) wies bei einem als Diabetes mellitus Typ-1 klassifizierten Jugendlichen eine ABCC8-Mutation nach [51]. Auch in einer Studie aus China (Zhang et al., 2005), bei der 33 erwachsene Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1B genetisch untersucht wurden, konnte bei 7 Patienten (21%) eine genetische Veränderung diagnostiziert werden (HNF1-alpha, Mitochondriale DNA, NeuroD1-Gen) [63]. Somit ist zu vermuten, dass auch bei unseren Diabetes mellitus Typ-1B-Patienten weitere seltene monogene Diabetesformen vorliegen könnten, deren genetische Testung zum Zeitpunkt der Studiendurchführung noch nicht verfügbar war.

Ein weiterer Aspekt zeigt sich in einer in Colorado (Wang et al., 2007) durchgeführten Studie (Altersmedian 10,7 Jahre), in der alle 4 Antikörper (GAD, IA-2A, IAA, ICA) bestimmt wurden und sich mit 20% eine unerwartet hohe Prävalenz antikörpernegativer Kinder und Jugendlicher mit Diabetes mellitus zeigte [30]. Hier waren antikörpernegative Studienteilnehmer älter und hatten häufig erhöhte BMI-Werte  $> 30 \text{ kg/m}^2$  [30]. Somit ist anzunehmen, dass in US-Amerikanischen Kohorten, bei zunehmender Prävalenz der Adipositas bereits im Kindes- und Jugendalter, der verhältnismäßig hohe Anteil von Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-2 eine nicht zu vernachlässigende Rolle spielt [64]. In Deutschland ist der Diabetes mellitus Typ-2 bei Kindern und Jugendlichen weiterhin eine seltene Erkrankung und die Prävalenzen in Deutschland und den USA unterscheiden sich um den Faktor 10 mit 2,3 (0-20 Jahre) versus 22 (0-19 Jahre) Erkrankungen pro 100.000 Einwohner [10]. Insgesamt konnte in unserer unizentrischen Studie lediglich bei 0,8% der Studienteilnehmer ein Diabetes mellitus Typ-2 festgestellt werden, dies allerdings bei Jugendlichen unter 18 Jahren, die auch unter Ernährungs- und Lifestyleintervention therapiebedürftig waren (Metformin/Insulin).

Ein weiteres Beispiel einer schwierigen, klinischen Differenzierung von Diabetes mellitus Typ-1A, Typ-1B und Typ-2 bei Kindern und Jugendlichen zeigt eine aktuelle Studie aus dem DPV-Register (Awa et al., 2013); hier erfolgte eine Charakterisierung der Studienteilnehmer mit klinischem Diabetes mellitus Typ-2, wobei sich im Rahmen der Antikörperdiagnostik bei 16% positive Antikörperbefunde zeigten, davon mehrfach-positive Antikörperbefunde bei 6,5% der Jugendlichen [64]. Auch in der dänischen Studie (Pörksen et al., 2010) entwickelte der Studienteilnehmer mit der ABCC8-Mutation nach 6 Monaten Antikörper gegen IA-2A, und es zeigte sich in diesem Zusammenhang das typische Bild eines Diabetes mellitus Typ-1 mit fehlendem Ansprechen auf Sulfonylharnstoffe (trotz Nachweis des hochsensitiven Ansprechens des Rezeptors), Nachweis von HLA-Risikogenen sowie negativem C-Peptid – es wurde das spätere Auftreten eines Diabetes mellitus Typ-1A zusätzlich zur vorliegenden Genmutation diskutiert [51].

Je umsichtiger somit die Pathogenese einer Diabeteserkrankung klinisch, immunologisch und nachgeordnet auch molekulargenetisch evaluiert wird, desto vollständiger lassen sich die anderen Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-2, monogener Diabetes, Diabetessyndrome) aus einer antikörpernegativen Patientengruppe ausschließen und eine „reine“ Diabetes mellitus Typ-1B-Gruppe abgrenzen. Studien mit dem Fokus auf einen idiopathischen Diabetes mellitus Typ-1B können damit überhaupt erst durchgeführt und verglichen werden.

### **4.2 Milderer Diabetesverlauf innerhalb der ersten 2 Jahre nach der Diabetesmanifestation beim Diabetes mellitus Typ-1B**

Ergebnis dieser Studie ist, dass sich die Gruppen des Diabetes mellitus Typ-1A und des Diabetes mellitus Typ-1B in verschiedenen klinischen und laborchemischen Kriterien signifikant voneinander unterscheiden. Der bei der Manifestation signifikant höhere HbA1c-Wert der Kinder und Jugendlichen mit negativem Antikörpernachweis ist möglicherweise durch einen längeren latenten, prädiabetischen Verlauf zu erklären. Dadurch treten die ersten Diabetessymptome später auf und verursachen einen kontinuierlichen Anstieg des HbA1c-Wertes über Wochen und Monate. Der in einer finnischen Studie (Sabbah et al., 1999) mit 747 Kindern und Jugendlichen (<15 Jahren) untersuchte C-Peptid-Wert bei Manifestation war bei den antikörpernegativen Studienteilnehmern signifikant höher als in der antikörperpositiven Kohorte [56], was für

eine bessere Restfunktion der Betazellen und somit ebenfalls für einen milderen Verlauf spricht.

Nach Beginn der Diabetestherapie zeigte sich ein deutlicher Abfall des HbA1c-Wertes bei den Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B, was im Verlauf der ersten 18 Monate nach der Manifestation konstant bleibt, sich jedoch nach 24 Monaten den HbA1c-Werten der Gruppe mit Diabetes mellitus Typ-1A annäherte. Auch die niedrigeren HbA1c-Werte nach Beginn der Diabetestherapie wären durch eine bessere Restfunktion der Betazellen und damit einer verlängerten Remissionsphase erklärbar, die bei den Kindern und Jugendlichen eine verbesserte Stoffwechseleinstellung ermöglicht. Untermuert wird diese Annahme ebenfalls mit der genannten finnischen Studie (Sabbah et al., 1999), die gezeigt hat, dass sich nach 18 Monaten signifikant mehr Kinder und Jugendliche ohne Antikörpernachweis in Remission befinden als solche mit positivem Antikörperbefund [56]. Auch in einer Studie in Australien (Hameed et al., 2010) wurde gezeigt, dass nach einer durchschnittlich 3,9-jährigen Diabetesdauer bei antikörperpositiven Kindern und Jugendlichen signifikant seltener ein C-Peptid nachweisbar war als bei der antikörpernegativen Gruppe [65]. Dies entspricht Beobachtungen des Reviews von Jones und Hattersley [33], dass nach 3-5-jähriger Diabetesdauer der Unterschied des C-Peptidlevels zwischen Diabetes mellitus Typ-1A und anderen Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-2 und MODY) am größten sei.

Ein weiteres Merkmal des milderen Verlaufes der Erkrankung ist der in unserer Studie signifikant niedrigere Insulinbedarf der Gruppe mit Diabetes mellitus Typ-1B, welcher ebenfalls Ergebnisse der finnischen Studie (Sabbah et al., 1999) bestätigt [56] – die zusätzlich erfolgte Bestimmung des C-Peptid-Wertes untermuert die Vermutung, dass die antikörpernegativen Studienteilnehmer eine höhere Restinsulinsekretion aufweisen als die antikörperpositiven Studienteilnehmer [56].

Auch in weiteren Studien (Pörksen et al., 2010; Hameed et al., 2011), die in verschiedenen Diabeteszentren auf verschiedenen Kontinenten durchgeführt wurden, zeigten sich bei der antikörpernegativen Gruppe Hinweise für eine bessere Restfunktion des Pankreas (u.a. höhere C-Peptidwerte, niedrigere Blutzuckerspiegel, niedrigerer Insulinbedarf) [51, 65].

Anhand dieser Ergebnisse ist davon auszugehen, dass der „idiopathische“ Diabetes mellitus Typ-1B während der ersten zwei Jahre nach der Manifestation eine bessere Restfunktion des endokrinen Pankreas aufweist, was sich klinisch durch einen milderen Verlauf zeigt. Unsere Ergebnisse zusammen mit den vorangehend genannten Studien

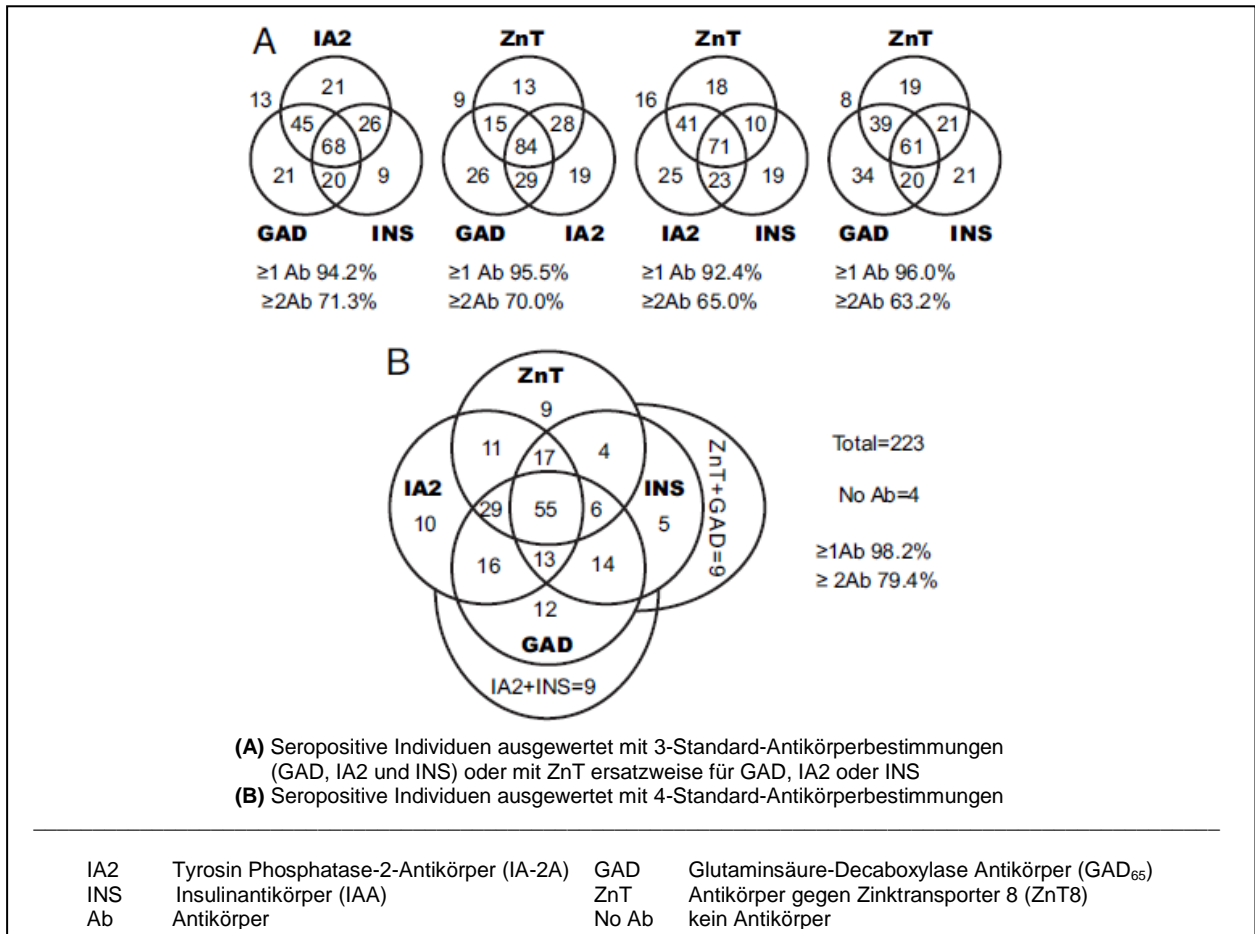
bestätigen die Hypothese, dass es sich beim „idiopathischen“ Diabetes mellitus Typ-1B um eine eigene pathogenetische Entität des Diabetes mellitus Typ-1 handelt. Je akribischer andere, spezifische Diabetesformen diagnostisch aussortiert werden, umso klarer zeigt sich dieser Unterschied in den ersten zwei Jahren nach Diabetesmanifestation.

Im Folgenden werden unterschiedliche Hypothesen zur Pathogenese des Diabetes mellitus Typ-1B anhand unserer neuen Daten diskutiert.

### **4.3 Der Diabetes mellitus Typ-1B als Variante des autoimmunen Diabetes mellitus Typ-1A**

Grundsätzlich stellt sich also die Frage, ob die Kinder und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B, also ohne Antikörpernachweis und nach Ausschluss von monogenetischen Diabetesformen, tatsächlich eine völlig andere bisher unbekannte Pathogenese aufweisen, oder ob es sich ebenfalls um eine autoimmune Form des Diabetes mellitus Typ-1A handelt, bei der ein spezifischer Betazell-Antikörpernachweis nicht gelingt.

Inzwischen wurde beispielsweise ein weiterer Antikörper gegen einen Zinktransporter der Bauchspeicheldrüse (ZnT8) entdeckt, welcher im Rahmen einer Neumanifestation bei etwa 63% der Patienten in einer Studie in den USA (Wenzlau et al., 2007) nachgewiesen werden konnte [38]. Studienteilnehmer, bei denen die Antikörper GAD<sub>65</sub>, IA-2A, IAA und ICA negativ bestimmt wurden, zeigten in 26% einen positiven Nachweis der ZnT8-Antikörper [38]. Die Häufigkeit des Diabetes mellitus Typ-1B konnte in dieser Studie mit Hilfe dieses weiteren ZnT8-Antikörpers von 5,8% auf 1,8% gesenkt werden (siehe Abbildung 3, S. 47, Wenzlau et al., 2007) [38]. Ein Antikörperscreening bei Manifestation mit Bestimmung der GAD<sub>65</sub>-, IA-2A-, IAA- und ZnT8-Antikörper ergab somit eine Nachweisrate für den autoimmunvermittelten Diabetes mellitus Typ-1A von 98% [38].



**Abbildung 3: Überlappende Prävalenz von ZnT8-, GAD-, IA2- und Insulinautoantikörpern bei Manifestation nach Wenzlau et al., 2007 [38]**

Weiterhin hat eine Studie in Japan (Shimama et al., 2003), bei der die Bestimmung der Antikörper GAD<sub>65</sub> und IA-2A durchgeführt wurde, versucht, diese Hypothese mit der Bestimmung von GAD-reaktiven CD4+Zellen zu untersuchen [66]. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die GAD-reaktiven CD4+Zellen nur im Rahmen eines Diabetes mellitus Typ-1 auftreten und bei Probanden mit Diabetes mellitus Typ-2 sowie bei gesunden Probanden praktisch nicht nachweisbar sind [66]. Der Nachweis zeigt zudem keinen signifikanten Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens in der Diabetes mellitus Typ-1A- und Diabetes mellitus Typ-1B-Gruppe, insgesamt gelang bei 52,4% aller Studienteilnehmer mit einem antikörpernegativen Diabetes mellitus Typ-1B der positive Nachweis von GAD-reaktiven CD4+Zellen [66]. Bei diesen asiatischen Patienten ist also bei > 50% der Patienten von einem T-Zell-vermittelten autoimmunem Diabetes mellitus ohne Antikörper-Nachweis auszugehen. Da in dieser Studie lediglich die Bestimmung der Antikörper GAD<sub>65</sub> und IA-2A durchgeführt wurde, bleibt die Frage

nach der Häufigkeit der GAD-reaktiven CD4+Zellen in einem Kollektiv mit weiteren negativen Antikörperbestimmungen (z.B. IAA, ZnT8) vorerst offen. Auch sind die zirkulierenden Autoantikörper gegen Betazellepitope ohne pathogenetische Funktion und werden als Epiphänomen der zytotoxischen, T-Zell-vermittelten Inflammation aktiviert und diagnostisch genutzt, indem positive Autoantikörper bei Hyperglykämie die Diagnose „Autoimmundiabetes“ sehr wahrscheinlich machen [28].

Abgesehen davon, dass wir in unserer Analyse von den Antikörperassays zum Zeitpunkt der individuellen Manifestationen ausgehen mussten, würden in einer prospektiven Studie mit der zusätzlichen Bestimmung der ICAs, ZnT8-Antikörper und der „GAD-reaktiven CD4+Zellen“ weitere Assays zur Verfügung stehen, die den Anteil der Studienteilnehmer mit einem antikörpernegativem Diabetes mellitus Typ-1B weiter präzisieren [38, 66]. Somit würden weniger antikörpernegative Kinder und Jugendliche verbleiben, die im weiteren Schritt einer kostenintensiven molekulargenetischen Diagnostik zugeführt werden müssten.

Als weiteren Aspekt lässt die bisher übliche Bestimmung von diabetesspezifischen Antikörpern zum Zeitpunkt der Manifestation die mögliche zeitliche Variabilität eines positiven Antikörpernachweises außer Betracht.

Eine schwedische Studie (Elfving et al., 2008) hat das Auftreten von Antikörpern bei Neugeborenen von gesunden Müttern im Nabelschnurblut untersucht [67]. Von den Kindern und Jugendlichen, die im Verlauf einen Diabetes mellitus entwickelten, waren insgesamt 12 Kinder und Jugendliche ohne Antikörpernachweis bei ihrer Manifestation, jedoch wiesen 3 von diesen Studienteilnehmern (25%) zum Zeitpunkt ihrer Geburt positive Antikörperbefunde im Nabelschnurblut auf [67]. Insgesamt konnte diese Studie einen Zusammenhang zwischen positiven, übertragenen Antikörpern im Nabelschnurblut und fehlenden Autoantikörpern bei der Diabetesmanifestation nachweisen [67]. Diese Studienergebnisse stützen die Vermutung, dass der transplazentare Kontakt mit Antikörpern das Auftreten von Antikörpern zum Zeitpunkt der Manifestation beeinflussen könnte [67].

Darüber hinaus konnte in einer weiteren schwedischen Studie (Jensen et al., 2007) gezeigt werden, dass Autoantikörper auch erst Monate nach der Diabetesmanifestation auftreten bzw. nachweisbar sein können [68]. Die Studie mit jungen Erwachsenen (15-34 Jahre) ergab, dass 9% von den als „antikörpernegativ“ klassifizierten Studienteilnehmern (GAD, IA-2A und ICA negativ) innerhalb des ersten Jahres nach



## Diskussion

Diabetesmanifestation positive Antikörperbefunde entwickelten [68]. Unklar blieb jedoch, ob es sich tatsächlich um einen späteren Anstieg der Antikörper handelte oder ob bei diesen Studienteilnehmern falsch negative Laborergebnisse vorlagen [68].

Auch in einer belgischen Studie (Decochez et al., 2000) konnte gezeigt werden, dass von 14 antikörpernegativen Studienteilnehmern (Manifestationsalter bis 40 Jahre) insgesamt zwei Patienten (14%) innerhalb von 24 Monaten nach der Manifestation jeweils zwei positive Antikörper entwickelten [69].

Besonders häufig wurde ein Wandel von Kindern und Jugendlichen mit negativen Antikörperbefunden (GAD, IA-2A und IAA) in die antikörperpositive Gruppe bei einer Studie in Italien (Bizarri et al., 2010) beobachtet, hier entwickelten 10 von 16 Studienteilnehmern (62,5%) im Laufe der ersten 6 Monate GAD<sub>65</sub>- bzw. IA-2-Antikörper [28]. Ähnliche Zahlen konnten auch in der australischen Studie (Hameed et al., 2011) mit 470 Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus gezeigt werden, in der bei einer Nachtestung von 36 antikörpernegativen Studienteilnehmern bei 50% zu einem späteren Zeitpunkt Antikörper nachweisbar waren [65]. In dieser Studie waren bei einer Vergleichsgruppe mit initial antikörperpositivem Befund bei Manifestation nach durchschnittlich 3,9-jähriger Diabetesdauer zu 97% weiterhin Antikörper nachweisbar [65]. Daraus ergibt sich, dass selbst, wenn zum Zeitpunkt der Manifestation sämtliche Antikörper negativ bestimmt werden, das Vorliegen eines autoimmunvermittelten Diabetes mellitus Typ-1A anhand einer einzelnen Blutuntersuchung nicht ausgeschlossen werden kann [69].

Die oben genannten Studien zeigen, dass sich in einer Gruppe mit Diabetes mellitus Typ-1B bei einigen Probanden zu einem anderen Zeitpunkt als der Manifestation Hinweise auf eine autoimmunvermittelte Pathogenese finden lassen.

Neben den konkreten Antikörperbefunden ist es zudem möglich, eine genetische Diagnostik bezüglich verschiedener Risikogene durchzuführen und die betroffenen Kinder und Jugendlichen entsprechend der Klassifikation nach HLA-DR und HLA-DQ zuzuordnen [49]. In der finnischen Studie (Sabbah et al., 1999) zeigte sich, dass bei etwa 90% der an Diabetes mellitus Typ-1 erkrankten Patienten kaukasischer Abstammung Risikogene nachgewiesen werden können, die hingegen nur bei unter 40% der gesunden Bevölkerung auftreten [49]. Die HLA-Typisierung kann somit Hinweise geben, ob es sich beim Diabetes mellitus Typ-1B um einen autoimmunvermittelten klassischen Diabetes mellitus Typ-1A handeln könnte. Eine

Studie in Finnland (Sabbah et al., 1999) hat gezeigt, dass bei der Verteilung der verschiedenen HLA-DQB1-Risikogene keine Unterschiede zwischen Probanden mit Diabetes mellitus Typ-1A und Diabetes mellitus Typ-1B nachweisbar waren [49]. Es wird somit vermutet, dass es sich auch bei den als „antikörpernegativ“ bestimmten Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus Typ-1B um die – genetisch betrachtet – gleiche Diabetesform handelt [49].

Auf Grund des im Verlauf signifikant niedrigeren Insulinbedarfes und des niedrigeren HbA1c-Wertes in der vorliegenden Studie, wäre es somit denkbar, dass es sich um eine weniger aggressive Form des Diabetes mellitus Typ-1A handelt, in der die Antikörper bereits wieder unter die Nachweisgrenze gefallen sind bzw. erst zu einem späteren Zeitpunkt nachweisbar werden.

#### **4.4 Limitationen dieser Studie und Vorschläge für ein prospektives Studiendesign**

Insgesamt waren in unserer Studie 296 Patienten (32,7%) ohne Antikörperbefund. Diese Studienteilnehmer blieben bei der Zuordnung zu den verschiedenen Diabetesformen unberücksichtigt. Die Gründe lagen vor allem in der retrospektiven Analyse klinischer und laborchemischer Daten – im Einzelnen begründet durch fehlende bzw. unvollständige Antikörperbefunde in auswärtigen Manifestationsepikrisen aber auch Charité-intern in der unvollständigen Bestimmung der 3 Antikörper (GAD<sub>65</sub> und IA2 und IAA). Für die Zuordnung in die antikörpernegative Gruppe mussten entsprechend den Einschlusskriterien die Antikörper GAD<sub>65</sub> und IA-2A und IAA negativ sein, wurden bei einzelnen Studienteilnehmern nur 2 Antikörper bestimmt (beispielsweise die Antikörper GAD<sub>65</sub> und IA2) und waren diese negativ, mussten die Studienteilnehmer von der weiteren Untersuchung ausgeschlossen werden, da die Insulinautoantikörper nicht bestimmt wurden und die Möglichkeit bestand, dass diese positiv hätten sein können, gleiches gilt für die alleinige negative Messung der Inselzellantikörper. Im Hinblick auf die Diagnosesicherung wäre sicherlich die vollständige Antikörperdiagnostik, insbesondere bei V.a. antikörpernegativen Diabetes mellitus wünschenswert – so könnten im prospektiven Studiendesign fehlende Antikörper nachgemeldet werden oder auch im Rahmen von wiederholten Bestimmungen der Antikörper im weiteren Verlauf der Erkrankung eine Verifizierung der Diagnose „Antikörpernegativ“ erfolgen (vergleiche auch 4.3). Dieses Vorgehen ist

## Diskussion

insbesondere unter den Gesichtspunkten der Qualitätssicherung und Kosteneffizienz zu sehen, da bei Kindern und Jugendlichen mit antikörpernegativem Diabetes mellitus eine weitere Subklassifikation im Hinblick auf das Vorliegen anderer Diabetesformen (z.B. monogenetischer Diabetes mellitus) erfolgen sollte, was möglicherweise auch Optionen der Therapieumstellung nach sich ziehen könnte. Die Subklassifikation erfolgte in unserer Studie u.a. durch molekulargenetische Diagnostik (HNF1A-, HNF1B-, HNF4A- und GCK-MODY). Diese wurde nicht bei allen Studienteilnehmern mit Diabetes mellitus Typ-1B durchgeführt, da sich einige Probanden zum Zeitpunkt der Datenanalyse nicht mehr in unserer Behandlung befanden oder die molekulargenetische Diagnostik ablehnten. Durch ständigen wissenschaftlichen Fortschritt sind inzwischen weitere monogenetische Diabetesformen bekannt (siehe 4.1 und Tabelle 9), die im Rahmen der vorliegenden Studie noch nicht mit untersucht wurden – auch hier stellt ein prospektives Studiendesign weitere Möglichkeiten der Subklassifikation dar.

In der vorliegenden Studie wurden die Studienteilnehmer mit einem Diabetes mellitus Typ-1B anhand einer zielgerichteten Charakterisierung (siehe Tabelle 8, S. 38) den verschiedenen anderen Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-1A, Diabetes mellitus Typ-2 und MODY-Diabetes) zugeordnet. Diese schrittweise Kategorisierung hatte gezeigt, dass Kinder und Jugendliche mit Diabetes mellitus Typ-1B starke klinische Überlappungen mit verschiedenen Diabetestypen zeigen, je nachdem ob z.B. Adipositas und Insulinresistenz (Diabetes mellitus Typ-2), Insulinmangel (Diabetes mellitus Typ-1) oder dominante Vererbung (MODY) im Vordergrund standen. In der täglichen Praxis basiert jedoch die klinische Diagnose bei Manifestation und somit auch die primäre Diabetestherapie häufig lediglich auf diesen klinischen Kriterien und führt zu einer relativ hohen Rate an nicht diagnostizierten seltenen Diabetesformen. Diese Zuordnung ist im Sinne einer klinischen Kategorisierung, nicht jedoch im Rahmen einer medizinischen Diagnose zu sehen. Im prospektiven Studiendesign sollten diese klinischen Hinweise als Anhalt für eine möglichst kosteneffiziente weitere laborchemische und molekulargenetische Diagnostik dienen.

Weiterhin war die Datensammlung der vorliegenden Studie zum Teil nicht mit systematischer Recherche in einem Klinik-Informationssystem (KIS) zu vergleichen. Klinische Angaben, z.B. bezüglich des Manifestations-pH-Wertes

(Ketoazidosehäufigkeit) waren unvollständig und konnten nur unzureichend miteinander verglichen werden.

Ein prospektives Studiendesign unter Berücksichtigung der HLA-Typisierung, aller verfügbaren Betazellantikörper (GAD<sub>65</sub>, IA-2A, IAA, ZnT8 und ggf. ICA) sowie einer einheitlichen molekulargenetischen Diagnostik mit neuesten Methoden (Panelsequenzierung, Targeted Enrichment von Diabetesgenen, Exom bzw. Genomweite Sequenzierung), könnte die pathogenetische Trennschärfe weiter erhöhen. Ein multizentrisches Design mit einheitlicher Phänotypisierung bei Manifestation und im Verlauf könnte die Fallzahl der relativ seltenen Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1B präzisieren und somit helfen, geringere, aber relevante klinische Unterschiede zu identifizieren. Auch sollten primär nur persistierend antikörpernegative Patienten eingeschlossen werden, was eine wiederholte Messung der Autoantikörper (GAD<sub>65</sub>, IA-2A, ZnT8 und ggf. ICA) in festgelegten Intervallen bei fehlendem initialen Antikörpernachweis voraussetzt. Die molekulargenetische Testung sollte in diesem Kollektiv dann möglichst lückenlos erfolgen.

Eine weitere Methode zur Subklassifizierung der einzelnen Diabetesformen, insbesondere zur Identifikation des absoluten Insulinmangels, wie er in der Regel beim Diabetes mellitus Typ-1 vorliegt, stellt die Bestimmung der verbleibenden Insulinausschüttung dar. Derzeit sind auch die Methoden zur Bestimmung von (i) Betazellmasse und der (ii) residualen Betazellfunktion begrenzt. Es gibt kein bildgebendes Verfahren zur Abschätzung der vorhandenen Inseln und Betazellen im Pankreas. Im Review von Jones und Hattersley (2013) wurde jedoch gezeigt, dass die Bestimmung des C-Peptid eine kostengünstige Methode zur Bestimmung der endogenen Insulinproduktion, mit relativ guter Aussagekraft insbesondere in der Verlaufsdagnostik 3-5 Jahre nach Manifestation, darstellt [33]. Zu diesem Zeitpunkt ist in der Regel die Remissionsphase des Diabetes mellitus Typ-1 beendet und durch den absoluten Insulinmangel lassen sich hier signifikante Unterschiede im Vergleich zum Diabetes mellitus Typ-2 oder MODY-Diabetes zeigen [33]. Zur Bestimmung des C-Peptid sind zufällig bestimmte Werte möglich, sollten sich diese jedoch im Grenzbereich befinden, ist die Aussagekraft von Nüchtern- oder Stimulationstestungen überlegen (z.B. Mixed-Meal-Tolerance Tests – bisher kein Routineverfahren bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes mellitus) [33]. Die C-Peptidbestimmungen müssten in einem prospektiven Studiendesign dann sequenziell im weiteren Verlauf der

Diabeteserkrankung, insbesondere bei insulinbehandelten Kindern und Jugendlichen mit unklarer Genese erfolgen. Die Aussagekraft der C-Peptidbestimmung bei Manifestation ist auf Grund von Überlappungen der C-Peptidspiegel bei noch nicht voll ausgeprägtem Insulinmangel des Diabetes mellitus Typ-1A eingeschränkt, im Rahmen der vorliegenden oder weiterer Studien sollte der Augenmerk daher insbesondere in Verlaufskontrollen der C-Peptidbestimmung liegen [33]. Ist nach Jahren der Diabetesdauer weiterhin eine Insulinausschüttung durch Nachweis von C-Peptidspiegeln nachweisbar, ist die Diagnose eines Diabetes mellitus Typ-1A unwahrscheinlich – Diagnose und Therapieform müssten in diesen Fällen kritisch hinterfragt werden [33].

Die Anwendung des oben genannten Studiendesigns, könnte die Anzahl der Kinder und Jugendlichen mit einem „idiopathischen“ Diabetes mellitus Typ-1B deutlich reduzieren und zugleich die Vergleichskriterien optimieren.

### **4.5 Schlussfolgerung**

Zusammenfassend konnten wir in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass sich bereits bei Anwendung einer genauen, klinischen Phänotypisierung und möglichst lückenloser molekulargenetischer Diagnostik ein Diabetes mellitus Typ-1A und Diabetes mellitus Typ-1B vor allem im klinischen Verlauf nach der Manifestation deutlich unterscheiden. Wir sehen dennoch die Entität eines „idiopathischen“ Diabetes mellitus Typ-1B nicht als eine eigenständige Diabetesform, sondern als eine heterogene „Sammelgruppe“ von Kindern und Jugendlichen mit pathogenetisch gesehen verschiedenen Ursachen, bei denen eine Zuordnung zu den klassischen Diabetesformen (Diabetes mellitus Typ-1A, Diabetes mellitus Typ-2, monogener Diabetes mellitus/ MODY) zunächst nicht gelingt. Dieses Ergebnis ist für die Kinder und Jugendlichen mit einer Diabeteserkrankung ohne Antikörpernachweis wichtig, da sich die verschiedenen Diabetesformen bezüglich Prognose, Therapie und Vererbungsrisiko voneinander unterscheiden. Die wichtigste Botschaft für klinische Diabetologen ist somit, dass Patienten mit Diabetes mellitus Typ-1B weiterhin wachsam begleitet werden müssen und die primär gestellte Diagnose und initial veranlasste Therapie regelmäßig kritisch zu hinterfragen sind.

## 5 Anhang

**Tabelle 9: Übersicht derzeit bekannter Gene, deren Mutationen Diabetes beim Menschen verursachen, aus Schwitzgebel et al., 2013, Many faces of monogenic diabetes (review article) [13]**

Gen	Protein	Mutation	Phenotype
<i>Nucleus</i>			
PDX1/IPF1	Pancreas/duodenum homeobox Protein 1	Hom, CHet Het	Pancreas agenesis Adult onset
PTF1A	Pancreas transcription factor 1A	Hom	Pancreas and cerebellar agenesis
PTF1A Enhancer	Non-coding region	Hom, CHet	Pancreatic agenesis
GLIS3	Zinc finger protein GLIS3	Hom	PNDM and hypothyroidism
NGN3	Neurogenin 3	Hom, CHet	PNDM or later onset diabetes, congenital diarrhea
RFX6	DNA binding protein RFX6	Hom	PNDM, variable pancreas hypoplasia, intestinal atresia, gall bladder hypoplasia
GATA6	Transcription factor GATA6	Het	PNDM and adult onset diabetes, variable exocrine pancreatic insufficiency
GATA4	Transcription factor GATA4	Het	Possible pancreatic agenesis and cardiac defects
NEUROD1	Neurogenic differentiation factor 1	Hom	PNDM, cerebellar hypoplasia, sensorineural deafness, retinal dystrophy
PAX6	Paired box protein Pax6	Het CHet Het	Adult onset diabetes PNDM with brain anomaly Diabetes and aniridia
PAX4	Paired box protein Pax4	Het	Adult onset diabetes
HNF1B	Hepatocyte nuclear factor 1beta	Het	PNDM with pancreas hypoplasia, RCAD syndrome
MNX1	Motor neuron and pancreas homeobox protein 1	Hom Het	PNDM Sacral dysgenesis without diabetes
KLF11	Kruppel-like factor 11	Het	Adult onset diabetes
HNF1A	Hepatocyte nuclear factor 1alpha	Het	Macrosomia and hypoglycaemia at birth, adolescent onset diabetes
HNF4A	Hepatocyte nuclear factor 4alpha	Het	Macrosomia and hypoglycaemia at birth, adolescent onset diabetes
<i>Cell membrane and cytoplasm</i>			
SLC2A2	Glucose transporter 2	Hom	Franconi Bickel syndrome PNDM, TNDM
GCK	Glucokinase	Het Hom	Mild non-Progressive hyperglycemia PNDM
SLC19A2	Thiamine transporter 1	Hom	PNDM or early onset, megaloblastic anemia, sensorineural deafness
<i>Lysome</i>			
SLC29A3		Hom, CHet	Diabetes, pigmented hypertrichosis
<i>Endoplasmatic reticulum</i>			
WFS1	Wolframin	CHet	Diabetes mellitus and insipidus, optic atrophy, deafness (Wolfram syndrome 1)
CISD2	CDGSH iron-sulfur domain-containing protein 2	Hom	Wolfram syndrome 2 without diabetes insipidus

**Fortsetzung Tabelle 9: Übersicht derzeit bekannter Gene, deren Mutationen Diabetes beim Menschen verursachen, aus Schwitzgebel et al., 2013, *Many faces of monogenic diabetes (review article)* [12]**

Gen	Protein	Mutation	Phenotype
EIF2AK3	Eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 3	Hom	PNDM, skeletal defect, growth retardation (Wollcot-Rallison syndrome)
IER3IP1	Immediate early response 3 interacting protein 1	Hom	Microcephaly, epilepsy, PNDM (MEDS syndrome)
<i>Insulin synthesis and secretion</i>			
INS	Insulin	Hom, Het	PNDM, TNDM, adult onset Adult onset
BLK	Tyrosine-protein kinase Blk	Het	Adult onset diabetes
KCNJ11	KIR6.2	Het	PNDM, TNDM, adult onset
ABCC8	SUR1	Het	PNDM, TNDM, adult onset
<i>Exocrine pancreas</i>			
CEL	Bile salt-activated lipase	Het	Adult onset progressive diabetes, exocrine insufficiency
<i>Autoimmune diabetes</i>			
AIRE	Autoimmune regulator	Hom, Het	Systemic autoimmune disease
FOXP3	FOXP3 protein	X-linked	PNDM, diarrhea, eczema, thyroid autoimmunity
SIRT1	NAD-dependent protein deacetylase sirtuin-1	Het	Adult onset autoimmune diabetes, insulin resistance

CHet, compound heterozygous; Het, heterozygous; Hom, homozygous; MEDS, microcephaly, epilepsy and permanent neonatal diabetes syndrome; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; PNDM, permanent neonatal diabetes mellitus; RACD, renal cysts associated with diabetes; TNDM, transient neonatal diabetes mellitus

## 6 Literaturverzeichnis

1. American Diabetes Association, *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. Diabetes Care, 2011. **34 Suppl 1**: p. 62-9.
2. Ehehalt S, Blumenstock G, Willasch AM, Hub R, Ranke MB, Neu A. *Continuous rise in incidence of childhood Type 1 diabetes in Germany*. Diabet Med, 2008. **25(6)**: p. 755-7.
3. Bendas A, Rothe U, Kiess W, Kapellen TM, Stange T, Manuwald U, Salzsieder E, Roll RW, Schoffer O, Stahl-Pehe A, Giani G, Ehehalt S, Neu A, Rosenbauer J. *Trends in Incidence Rates during 1999-2008 and Prevalence in 2008 of Childhood Type 1 Diabetes Mellitus in Germany-Model-Based National Estimates*. PLoS One, 2015. **10(7)**: p. e0132716.
4. Haak T, Kellerer M (Hrsg). *Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter*. In: *Evidenzbasierte Leitlinien der AGPD (Arbeitsgemeinschaft für pädiatrische Diabetologie)/ DDG*. p. 12,15,59.
5. Craig ME, Hattersley A, Donaghue KC. *ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents*. Pediatr Diabetes, 2014. **15 Suppl 20**: p. 4-17.
6. Galler A, Stange T, Müller G, Näke A, Vogel C, Kapellen C, Bartelt H, Kunath H, Koch R, Kiess W, Rothe U. *Incidence of childhood diabetes in children aged less than 15 years and its clinical and metabolic characteristics at the time of diagnosis: data from the Childhood Diabetes Registry of Saxony, Germany*. Horm Res Paediatr, 2010. **74(4)**: p. 285-91.
7. Neu A, Willasch A, Ehehalt S, Hub R, Ranke MB. *Ketoacidosis at onset of type 1 diabetes mellitus in children-frequency and clinical presentation*. Pediatr Diabetes, 2003. **4(2)**: p. 77-81.
8. Badenhop K, Usadel K-H. *Klassifikation und Genetik*. In: Mehnert H, Standl W, Usadel K-H, Häring H-U (Hrsg). *Diabetologie in Klinik und Praxis*. 2003. Stuttgart/ New York p. 48.
9. Kellerer M, Häring H-U. *Epidemiologie, Klinik, Ätiologie und Pathogenese des Typ-2-Diabetes*. In: Mehnert H, Standl W, Usadel K-H, Häring H-U (Hrsg). *Diabetologie in Klinik und Praxis*. 2003. Stuttgart/ New York p. 68.



10. Neu A, Feldhahn L, Eehalt S, Hub R, Ranke MB. *Type 2 diabetes mellitus in children and adolescents is still a rare disease in Germany: a population-based assessment of the prevalence of type 2 diabetes and MODY in patients aged 0-20 years.* *Pediatr Diabetes*, 2009. **10**(7): p. 468-73.
11. Herwig J, Böhles H-J. *Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter.* In: Mehnert H, Standl W, Usadel K-H, Häring H-U (Hrsg). *Diabetologie in Klinik und Praxis.* 2003. Stuttgart/ New York p. 312.
12. Rubio-Cabezas O, Hattersley AT, Njølstad PR, Mlynarski W, Ellard S, White N, Chi DV, Craig ME. *ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents.* *Pediatr Diabetes*, 2014. **15 Suppl 20**: p. 47-64.
13. Schwitzgebel VM, *Many faces of monogenic diabetes.* *J Diabetes Investig*, 2014. **5**(2): p. 121-33.
14. Murphy R, Ellard S, Hattersley AT. *Clinical implications of a molecular genetic classification of monogenic beta-cell diabetes.* *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*, 2008. **4**(4): p. 200-13.
15. Schober E, Rami B, Grabert M, Thon A, Kapellen Th, Reinehr Th, Holl RW. *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.* *Diabet Med*, 2009. **26**(5): p. 466-73.
16. Barbarini DS, Haslinger V, Schmidt K, Patch A-M, Müller G, Simma B. *Neonatal diabetes mellitus due to pancreas agenesis: a new case report and review of the literature.* *Pediatr Diabetes*, 2009. **10**(7): p. 487-91.
17. Greeley SAW, Tucker SE, Naylor RN, Bell GI, Philipson LH. *Neonatal diabetes mellitus: a model for personalized medicine.* *Trends Endocrinol Metab*, 2010. **21**(8): p. 464-72.
18. Bonnefond A, Durand E, Sand O, De Graeve F, Gallina S, Busiah K, Lobbens S, Simon A, Bellanné-Chantelot C, Létourneau L, Scharfmann R, Delplanque J, Sladek R, Polak M, Vaxillaire M, Froguel P. *Molecular diagnosis of neonatal diabetes mellitus using next-generation sequencing of the whole exome.* *PLoS One*, 2010. **5**(10): p. e13630.
19. Rubio-Cabezas O, Jensen JN, Hodgson MI, Codner E, Ellard S, Serup P, Hattersley AT. *Permanent Neonatal Diabetes and Enteric Anendocrinosis*

- Associated With Biallelic Mutations in NEUROG3*. Diabetes, 2011. **60**(4): p. 1349-53.
20. Gerbitz KD, van den Ouweland JMW, Maassen JA, Jaksch M. *Mitochondrial diabetes mellitus: a review*. Biochim Biophys Acta, 1995. **1271**(1): p. 253-60.
  21. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyöty H, Vaarala O, Åkerblom HK. *Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes*. Diabetes, 2005. **54 Suppl 2**: p. 125-36.
  22. Achenbach P, Bonifacio E, Koczwara K, Ziegler A-G. *Natural history of type 1 diabetes*. Diabetes, 2005. **54 Suppl 2**: p. 25-31.
  23. Spinass GA, Lehmann R. *Der Diabetes mellitus: Diagnose, Klassifikation und Pathogenese*. Schweiz Med Forum 2001. **20**: p. 519-525.
  24. Atkinson MA, Eisenbarth GS, *Type 1 diabetes: new perspectives on disease pathogenesis and treatment*. Lancet, 2001. **358**(9277): p. 221-9.
  25. Pihoker C, Gilliam LK, Hampe CS, Lernmark Å. *Autoantibodies in diabetes*. Diabetes, 2005. **54 Suppl 2**: p. 52-61.
  26. Mortensen HB, Swift PGW, Holl RW, Hougaard P, Hansen L, Bjoerndalen H, de Beaufort CE, Knip M. *Multinational study in children and adolescents with newly diagnosed type 1 diabetes: association of age, ketoacidosis, HLA status, and autoantibodies on residual beta-cell function and glycemic control 12 months after diagnosis*. Pediatr Diabetes, 2010. **11**(4): p. 218-26.
  27. Rink L, Kruse A, Haase H. *Immunologie für Einsteiger*. 2012, Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag. p. 181.
  28. Bizzarri C, Danila B, Paolo C, Patera IP, Schiaffini R, Migliaccio A, Ravà L, Cappa M. *Clinical presentation and autoimmune characteristics of very young children at the onset of type 1 diabetes mellitus*. J Pediatr Endocrinol Metab, 2010. **23**(11): p. 1151-7.
  29. Giannopoulou EZ, Winkler C, Chmiel R, Matzke C, Scholz M, Beyerlein A, Achenbach P, Bonifacio E, Ziegler A-G. *Islet autoantibody phenotypes and incidence in children at increased risk for type 1 diabetes*. Diabetologia, 2015. **58**(10): p. 2317-23.
  30. Wang J, Miao D, Babu S, Yu J, Barker J, Klingensmith G, Rewers M, Eisenbarth GS, Yu L. *Prevalence of autoantibody-negative diabetes is not rare at all ages and increases with older age and obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(1): p. 88-92.

31. Knip M, Kukko M, Kulmala P, Veijola R, Simell O, Åckerblom HK, Ilonen J. *Humoral beta-cell autoimmunity in relation to HLA-defined disease susceptibility in preclinical and clinical type 1 diabetes*. Am J Med Genet, 2002. **115**(1): p. 48-54.
32. Herold G (Hrsg), e.a., In: *Innere Medizin*. 2010. Köln. p. 686.
33. Jones AG, Hattersley AT. *The clinical utility of C-peptide measurement in the care of patients with diabetes*. Diabet Med, 2013. **30**(7): p. 803-17.
34. Bottazzo GF, Florin-Christensen A, Doniach D. *Islet-cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies*. Lancet, 1974. **2**(7892): p. 1279-83.
35. Isermann B, Ritzel R, Zorn M, Schilling T, Nawroth PP. *Autoantibodies in diabetes mellitus: current utility and perspectives*. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 2007. **115**(8): p. 483-90.
36. Ziegler A-G, Hummel M, Scherbaum WA. *Epidemiologie, Ätiologie und Pathogenese des Typ-1-Diabetes*. In: Mehnert H, Standl W, Usadel K-H, Häring H-U (Hrsg). *Diabetologie in Klinik und Praxis*. 2003. Stuttgart/ New York p. 60-61.
37. Franke B, Galloway TS, Wilkin TJ. *Developments in the prediction of type 1 diabetes mellitus, with special reference to insulin autoantibodies*. Diabetes Metab Res Rev, 2005. **21**(5): p. 395-415.
38. Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, Moua O, Sarkar SA, Gottlieb P, Rewers M, Eisenbarth GS, Jensen J, Davidson HW, Hutton JC. *The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(43): p. 17040-5.
39. Grabert M, Schweiggert F, Holl RW. *A framework for diabetes documentation and quality management in Germany: 10 years of experience with DPV*. Comput Methods Programs Biomed, 2002. **69**(2): p. 115-21.
40. Aguilar-Bryan L, Bryan J. *Neonatal diabetes mellitus*. Endocr Rev, 2008. **29**(3): p. 265-91.
41. Kromeyer-Hauschild K, Wabitsch M, Kunze D, Geller F, Geiß HC, Hesse V, von Hippel A, Jaeger U, Johnsen D, Korte W, Menner K, Müller G, Müller JM, Niemann-Pilatus A, Remer T, Schaefer F, Wittchen H-U, Zabransky S, Zellner K, Ziegler A, Hebebrand J. *Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben*. Monatsschrift Kinderheilkunde 2001. **149**: p. 807-818.

42. Wabitsch M, Kunze D, (federführend für die AGA). *Leitlinien für Diagnostik, Therapie und Prävention der Arbeitsgemeinschaft Adipositas im Kindes- und Jugendalter (AGA) 2012*. Accessed November 30, 2012, at [http://www.aga.adipositas-gesellschaft.de/fileadmin/PDF/Leitlinien/AGA\\_S2\\_Leitlinie.pdf](http://www.aga.adipositas-gesellschaft.de/fileadmin/PDF/Leitlinien/AGA_S2_Leitlinie.pdf)
43. Cole TJ, Green PJ. *Smoothing reference centile curves: the LMS method and penalized likelihood*. Stat Med, 1992. **11**(10): p. 1305-19.
44. Fröhlich-Reiterer EE, Rosenbauer J, Bechthold-Dalla Pozza S, Hofer SE, Schober E, Holl RW. *Predictors of increasing BMI during the course of diabetes in children and adolescents with type 1 diabetes: data from the German/Austrian DPV multicentre survey*. Arch Dis Child, 2014. **99**(8): p. 738-43.
45. Wolfsdorf JI, Allgrove J, Craig ME, Edge J, Glaser N, Jain V, Lee WWR, Mungai LNW, Rosenbloom AL, Sperling MA, Hanas R. *ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state*. Pediatr Diabetes, 2014. **15 Suppl 20**: p. 154-79.
45. Wolfsdorf, J.I., et al., *ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Diabetic ketoacidosis and hyperglycemic hyperosmolar state*. Pediatr Diabetes, 2014. **15 Suppl 20**: p. 154-79.
46. Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M. *MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age*. Nat Meth, 2014. **11**(4): p. 361-362.
47. Becker M, Galler A, Raile K. *Meglitinide analogues in adolescent patients with HNF1A-MODY (MODY 3)*. Pediatrics, 2014. **133**(3): p. e775-9.
48. Raile K, Klopocki E, Holder M, Wessel T, Galler A, Deiss D, Müller D, Riebel T, Horn D, Maringa M, Weber J, Ullmann R, Grüters A. *Expanded clinical spectrum in hepatocyte nuclear factor 1b-maturity-onset diabetes of the young*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(7): p. 2658-64.
49. Sabbah E, Savola K, Kulmala P, Reijonen H, Veijola R, Vähäsalo P, Karjalainen J, Ilonen J, Åkerblom HK, Knips M. *Disease-associated autoantibodies and HLA-DQB1 genotypes in children with newly diagnosed insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM)*. The Childhood Diabetes in Finland Study Group. Clin Exp Immunol, 1999. **116**(1): p. 78-83.
50. Fakhfakh R, Haddouk S, Hadj Hamida YB, Kamoun T, Ayed MB, Hachicha M, Masmoudi H. *Pancreatic autoantibodies in Tunisian children with newly diagnosed type 1 diabetes*. Pathol Biol (Paris), 2008. **56**(3): p. 130-2.

51. Porksen S, Laborie LB, Nielsen L, Andersen MLM, Sandal T, de Wet H, Schwarcz E, Åman J, Swift P, Kocova M, Schönle EJ, de Beaufort C, Hougaard P, Ashcroft F, Molven A, Knip M, Mortensen HB, Hansen L, Njølstad PR. *Disease progression and search for monogenic diabetes among children with new onset type 1 diabetes negative for ICA, GAD- and IA-2 Antibodies.* BMC Endocr Disord, 2010. **10**: p. 16..
52. Balasubramanian K, Dabadghao P, Bhatia V, Colman PG, Gellert SA, Bharadwaj U, Agrawal S, Shah N, Bhatia E. *High frequency of type 1B (idiopathic) diabetes in North Indian children with recent-onset diabetes.* Diabetes Care, 2003. **26**(9): p. 2697.
53. Raile K, Schober E, Kondard K, Thon A, Grulich-Henn J, Meissner T, Wölfle J, Scheuing N, Holl RW. *Treatment of young patients with HNF1A mutations (HNF1A-MODY).* Diabet Med, 2015. **32**(4): p. 526-30.
54. McDonald TJ, Colclough K, Brown R, Shields B, Shepherd M, Bingley P, Williams A, Hattersley AT, Ellard S. *Islet autoantibodies can discriminate maturity-onset diabetes of the young (MODY) from Type 1 diabetes.* Diabet Med, 2011. **28**(9): p. 1028-33.
55. Stone MA, Camosso-Stefinovic J, Wilkinson J, de Lusignan S, Hattersley AT, Khunti K. *Incorrect and incomplete coding and classification of diabetes: a systematic review.* Diabet Med, 2010. **27**(5): p. 491-7.
56. Sabbah E, Savola K, Kulmala P, Veijola R, Vähäsalo P, Karjalainen J, Åkerblom HK, Knip M. *Diabetes-associated autoantibodies in relation to clinical characteristics and natural course in children with newly diagnosed type 1 diabetes. The Childhood Diabetes In Finland Study Group.* J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(5): p. 1534-9.
57. Bowman P, Flanagan SE, Edghill EL, Damhuis A, Shepherd MH, Paisey R, Hattersley AT, Ellard S. *Heterozygous ABCC8 mutations are a cause of MODY.* Diabetologia, 2012. **55**(1): p. 123-7.
58. Bonnefond A, Philippe J, Durand E, Dechaume A, Huyvaert M, Montagne L, Marre M, Balkau B, Fajardy I, Vambergue A, Vatin V, Delplanque J, le Guilcher D, de Graeve F, Lecoeur C, Sand O, Vaxillaire M, Froguel P. *Whole-exome sequencing and high throughput genotyping identified KCNJ11 as the thirteenth MODY gene.* PLoS One, 2012. **7**(6): p. e37423.

59. Johansson BB, Torsvik J, Bjørkhaug L, Vesterhus M, Ragvin A, Tjora E, Fjeld K, Hoem D, Johansson S, Ræder H, Lindquist S, Hernell O, Cnop M, Saraste J, Flatmark T, Molven A, Njølstad PR. *Diabetes and pancreatic exocrine dysfunction due to mutations in the carboxyl ester lipase gene-maturity onset diabetes of the young (CEL-MODY): a protein misfolding disease*. J Biol Chem, 2011. **286**(40): p. 34593-605.
60. Yorifuji T, Kawakita R, Hosokawa Y, Fujimaru R, Yamaguchi E, Tamagawa N. *Dominantly inherited diabetes mellitus caused by GATA6 haploinsufficiency: variable intrafamilial presentation*. J Med Genet, 2012. **49**(10): p. 642-3.
61. Gong M, Simaite D, Kühnen P, Heldmann M, Spagnoli F, Blankenstein O, Hübner N, Hussain K, Raile K. *Two novel GATA6 mutations cause childhood-onset diabetes mellitus, pancreas malformation and congenital heart disease*. Horm Res Paediatr, 2013. **79**(4): p. 250-6.
62. Bonfanti R, Colombo C, Nocerino V, Massa O, Lampasona V, Iafusco D, Viscardi M, Chiumello G, Meschi F, Barbetti F. *Insulin gene mutations as cause of diabetes in children negative for five type 1 diabetes autoantibodies*. Diabetes Care, 2009. **32**(1): p. 123-5.
63. Zhang D, Zhou Z, Li L, Weng J, Huang G, Jing P, Zhang C, Peng J, Xiu L. *Islet autoimmunity and genetic mutations in Chinese subjects initially thought to have Type 1B diabetes*. Diabet Med, 2006. **23**(1): p. 67-71.
64. Awa WL, Boehm BO, Rosinger S, Achenbach P, Ziegler AG, Krause S, Meissner T, Wiegand S, Reinehr T, Kapellen T, Karges B, Eiermann T, Schober E, Holl RW. *HLA-typing, clinical, and immunological characterization of youth with type 2 diabetes mellitus phenotype from the German/Austrian DPV database*. Pediatr Diabetes, 2013. **14**(8): p. 562-74.
65. Hameed S, Ellard S, Woodhaed HJ, Neville KA, Walker JL, Craig ME, Armstrong T, Yu L, Eisenbarth GS, Hattersley AT, Verge CF. *Persistently autoantibody negative (PAN) type 1 diabetes mellitus in children*. Pediatr Diabetes, 2011. **12**(3 Pt 1): p. 142-9.
66. Shimada A, Kodama K, Morimoto J, Oikawa Y, Irie J, Nakagawa Y, Matsubara K, Maruyama T, Saruta T. *Detection of GAD-reactive CD4+ cells in so-called "type 1B" diabetes*. Ann N Y Acad Sci, 2003. **1005**: p. 378-86.
67. Elfving M, Lindberg B, Lynch K, Månsson M, Sundkvist G, Lernmark Å, Ivarsson SA. *Number of islet autoantibodies present in newly diagnosed type 1 diabetes*

- children born to non-diabetic mothers is affected by islet autoantibodies present at birth.* *Pediatr Diabetes*, 2008. **9**(2): p. 127-34.
68. Jensen R, Gilliam L, Torn C, Landin-Olsson M, Palmer J, Åkesson K, Kockum I, Lernmark B, Karlsson AF, Lynch KF, Breslow N, Lernmark Å, Sundkvist G. *Islet cell autoantibody levels after the diagnosis of young adult diabetic patients.* *Diabet Med*, 2007. **24**(11): p. 1221-8.
69. Decochez K, Tits K, Coolens J-L, van Gaal L, Krzentowski G, Winnock F, Anckaert E, Weets I, Pipeleers DG, Gorus FK. *High frequency of persisting or increasing islet-specific autoantibody levels after diagnosis of type 1 diabetes presenting before 40 years of age. The Belgian Diabetes Registry.* *Diabetes Care*, 2000. **23**(6): p. 838-44.

### **Eidesstattliche Versicherung**

„Ich, Regina Heinle, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Antikörper-negativer Diabetes mellitus Typ-1 bei Kindern und Jugendlichen: Klinische, laborchemische und genetische Charakterisierung“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift



Lebenslauf

# Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## **Danksagung**

An dieser Stelle sei allen ganz herzlich gedankt, die mir das Vorhaben „Promotion“ ermöglicht und mich auf dem langen Weg zur Fertigstellung dieser Arbeit begleitet haben.

Hierzu zählt zuerst mein Doktorvater Priv. Doz. Dr. Klemens Raile, der mit mir die Idee für das Thema der Promotion entwickelt hat und mir immer wieder mit Rat und Tat sowie Fachwissen zur Verfügung stand.

Für die tolle Betreuung in der Anfangszeit und die vielen Hinweise und Tipps bei der Entstehung dieser Arbeit möchte ich Frau Dr. Angela Galler noch einmal für Ihre Geduld und die vielen Aufmunterungen danken!

Weiterhin gilt der Dank meinem lieben Mann, der mich trotz Höhen und Tiefen immer wieder zur Fortsetzung motiviert hat und dabei doch einige Einschränkungen hinnehmen musste, vor allem gilt der Dank seinem aufmerksamen Korrekturlesen mit hilfreichen Tipps.

Dafür, dass sie stets an mich geglaubt haben und mich „immer mal wieder“ an das verdrängte Thema „Doktorarbeit“ erinnert haben, möchte ich natürlich insbesondere meinen Eltern, Schwiegereltern und meiner Familie danken!

Herrn Dr. Markus Schmitt danke ich für die Einschätzung meiner Arbeit, die mich zur Abgabe motiviert hat.

Auch an alle anderen, die sich an dieser Stelle angesprochen fühlen, die sich (zu meinem Leidwesen) immer wieder mit Nachfragen über den Stand meiner Doktorarbeit erkundigt und gleichzeitig zur Fortsetzung motiviert haben (z.B. Michael und Hans und viele mehr) – ihr hattet ja Recht, ein Ende musste her!