

Aus dem Institut für Klinische Chemie und
Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Familiäre Ursachen bei endokrinen Tumorsyndromen:
Ergebnisse aus Segregationsanalysen

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der
Medizin
der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Mursal Ghiasi
aus Kabul, Afghanistan

Mainz, 2020

Tag der Promotion:

06.07.2021

3. Widmung

Meinen Eltern.

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	1
1 Einleitung	5
2 Literaturdiskussion	7
2.1 Neuroendokrine Tumore	7
2.2 Paraganglien	8
2.2.1 Definition	8
2.2.2 Chromaffine und Nicht – Chromaffine Paraganglien	8
2.3 Paragangliome und Phäochromozytome	9
2.3.1 Paragangliome: Definition und Epidemiologie	9
2.3.2 Phäochromozytome: Definition und Epidemiologie	10
2.3.3 Klinik von Paragangliomen und Phäochromozytomen	10
2.3.4 Diagnostik und Therapie	11
2.4 Genetischer Hintergrund	15
2.4.1 Die Rolle von Hypoxia inducible factor (HIF)	16
2.4.2 Einteilung der Gene in Cluster nach genetischem Hintergrund	17
2.4.3 Somatische Mutationen	19
2.5 Insulinomatose	19
2.5.1 Histopathologie bei operierten Patienten	20
2.5.2 MAF – Gen	20
2.5.3 Diabetes mellitus Typ MODY	22
2.5.4 Differenzialdiagnose Insulinome	24
2.6 Hypoglykämie verursachende Pankreastumore	26
2.6.1 Die Rolle des Insulins	28
2.6.2 Kongenitaler Hyperinsulinismus	29
3 Material und Methoden	31
3.1 Kollektivbeschreibung	31
3.1.1 Patienten – Kollektiv Paragangliom und Phäochromozytom	31

3.1.2	Patienten – Kollektiv Insulinomatose	32
3.2	Probenmaterial	33
3.2.1	Fragebögen	33
3.2.2	Laboruntersuchungen	34
3.2.3	Genetische Untersuchung (Ablauf der Varianten Detektion)	34
3.3	Sequenzierung	36
3.3.1	Sanger Sequenzierung	37
3.3.2	Pyrosequenzierung	38
3.3.3	Next – Generation Sequenzierung	39
3.4	Loss of Heterozygosity (LOH)	40
3.5	Bioinformatische Datenbanken zur Bewertung der Varianten	41
4	Ergebnisse	43
4.1	Ergebnisse PGL und Phäo	43
4.1.1	Zusammenstellung der Ergebnisse	43
4.2	Bedeutende genetische Varianten anhand von Stammbäumen	44
4.3	Auswertung der Familienanalysen	78
4.3.1	Analyse besonderer Tumormerkmale – Lokalisation	81
4.3.2	Analyse besonderer Tumormerkmale – Hormonproduktion	83
4.3.3	Analyse besonderer Tumormerkmale – Malignität	83
4.3.4	Analyse besonderer Tumormerkmale – Anzahl der Tumore	85
4.3.5	Analyse besonderer Tumormerkmale – LOH im Gewebe	86
4.3.6	Analyse besonderer Tumormerkmale – Penetranz	87
4.3.7	Analyse besonderer Tumormerkmale – Alter bei Erstdiagnose	88
4.4	Zusammenfassung der Tumormerkmale	88
4.5	Ergebnisse Insulinomatose	90
4.5.1	Fallbeispiel der beiden Indexpatientinnen	90
4.5.2	Ergebnisse der genetischen Untersuchung	91
4.5.3	Ergebnisse der Familienuntersuchung	93

4.5.4	Bedeutung der Befunde für die Familie	94
4.5.5	Pathogenetische Bedeutung der Mutation.....	95
5	Diskussion	96
5.1	Diskussion PGL und Phäo	96
5.2	SDH in Bezug auf PGL und Phäo	98
5.2.1	SDHB in Bezug auf PGL und Phäo	99
5.2.2	SDHC in Bezug auf PGL und Phäo	99
5.2.3	SDHD in Bezug auf PGL und Phäo	100
5.2.4	TMEM127 in Bezug auf PGL und Phäo.....	100
5.2.5	VHL in Bezug auf PGL und Phäo	101
5.2.6	RET in Bezug auf PGL und Phäo	102
5.3	Zusammenfassung der Tumormerkmale im Vergleich zur Literatur.....	103
5.4	Diskussion Insulinomatose.....	104
5.4.1	Vergleichsstudie von Iacovazzo et al.....	104
5.4.2	Vergleich der Familien	107
5.4.3	Insulinomatose und Diabetes mellitus: verursacht durch dieselbe Mutation?.....	108
5.4.4	Insulinomatose überwiegend bei Frauen?	109
6	Zusammenfassung	110
6.1	Zusammenfassung PGL und Phäo	110
6.2	Zusammenfassung Insulinomatose.....	111
6.3	Allgemeine Zusammenfassung	113
7	Literaturverzeichnis.....	114
8	Anhang	127
8.1	Verwendete Fragebögen.....	127
8.2	Auswertung anhand von Tabellen.....	128
	Danksagung	132
	Lebenslauf.....	133

Abkürzungsverzeichnis

NET	Neuroendokrine Tumore
WHO	World Health Organization
PGL	Paragangliom
Phäo	Phäochromozytom
NGS	Next – Generation Sequenzierung
PROVEAN	Protein Variation Effect Analyzer
SIFT	Sorting Intolerant From Tolerant
PolyPhen2	Polymorphism Phenotyping v2
HGMD	Human Gene Mutation Database
LOVD	Leiden Open (source) Variation Database
OMIM	Online Mendelian Inheritance In Man
MEN1 / MEN2	Multiple endokrine Neoplasie 1 / 2
NF1	Neurofibromatose 1
VHL	von Hippel – Lindau
NSE	Neuronen – spezifische Enolase
CgA, CgB, CgC	Chromogranin A, B, C
CT	Computertomographie
MRT	Magnetresonanztomographie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
PCR	Polymerase – Kettenreaktion
¹⁸ F-DOPA-PET	¹⁸ F-Fluoro-L-Dihydroxyphenylalanin-PET
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
DOPA	DOPA – Decarboxylase
I – MIBG – Szintigrafie	Jod - Metaiodobenzyl- Guanidin- Szintigrafie
HE	Hämatoxylin – Eosin
VMAT1, 2	vesikular monoamine transporter- 1, 2
TH	Thyroid Hormon

SSTR2	Somatostatin – Rezeptor 2A
SDHA, B, C, D	Succinat – Dehydrogenase Untereinheiten
SDHAF2	SDH complex assembly factor 2
TCGA	The Cancer Genome Atlas
RET	rearranged – during – transfection
TMEM127	Transmembran – Protein 127
PHD1, 2	pseudohyphal determinant 1, 2
EGLN1, 2	egl – 9 family hypoxia – inducible factor 1 und 2
HIF2A	hypoxia – inducible factor 2A
FH	Fumarat Hydratase
MAX	Myc – associated factor
KIF1B	Kinesin Family Member 1B
CSDE1	Cold Shock Domain Containing E1
HRAS	Harvey – Rat – Sarcoma
HIF	Hypoxia inducible factor
HRE	hypoxia – responsive – element
VEGF	vaso – endothelial growth factor
BAP1	BRCA1 associated Protein-1
MAFA – Gen	musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene
MODY Typ	Maturity Onset Diabetes of the Young
Ki-67	Ki - Kiel
bZip	basic leucine zipper
AP-1	Activator protein 1
GSK3	glykogen synthase kinase 3
mRNA	messenger – Ribonukleinsäure
OMIM	Online Mendelian Inheritance In Man
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
MSH	Melanozyten – stimulierendes Hormon
IGF – 2	Insulin – like growth factor 2

GLUT1, 2	Glucosetransporter Typ 2
ATP/ ADP	Adenosintri- / diphosphat
ABCC8	ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8
KCNJ11	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Member11
SUR-1	Sulfonylharnstoff – Rezeptorgen 1
Bzw.	Beziehungsweise
PED 6	Pedigree Drawing software 6
NRW	Nordrhein – Westfalen
BMI	Body – Mass – Index
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
HbA1c	Glykiertes Hämoglobin 1c
oGTT	oraler Glukosetoleranz – Test
DNA	Desoxyribonukleinsäure
RNA	Ribonukleinsäure
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
dbSNP	Single Nucleotide Polymorphism Database
rs – Nummer	Reference Single Nucleotide Polymorphism cluster ID
MAF	Minor Allel Frequenz
Abb.	Abbildung
siRNA	Small interfering Ribonukleinsäure
miRNA	micro – RNA
ddNTP	Didesoxynukleotid
dNTP	Desoxynukleotid
C	Kohlenstoff
OH	Hydroxygruppe
H	Wasserstoff
SNP	Single – Nukleotid – Polymorphismus
PPi	Pyrophosphat
LOH	Loss of Heterozygosity

RB1 – Gen	Retinoblastoma – Gen
VUS	Variante unklarer Signifikanz
BM	Bekannte Mutation
MM	Mögliche Mutation
P	sehr wahrscheinlich benigne Variante
Ggf.	Gegebenenfalls
PGL 1-4	Paragangliom – Syndrom 1-4
MTC	medulläres Schilddrüsenkarzinom
pHPT	primären Hyperparathyreoidismus
ATA	American Thyroid Association
PROX1	Prospero homeobox protein 1
ExAC	Exome Aggregation Consortium
CUP	Cancer of unknown Primary
GIST	gastrointestinale Stromatumore
mTOR	mammalian target of rapamycin
PRLR	Prolactinrezeptor

1 Einleitung

Neuroendokrine Tumore (NET) sind seit vielen Jahren Gegenstand der Forschung. 1907 prägte der Pathologe Siegfried Oberndorfer (1876 – 1944) erstmals den Begriff „Karzinoide“. Damit wollte er zeigen, dass es Tumore im Gastrointestinaltrakt gibt, die weniger aggressiv sind als die bisher bekannten Karzinome. 1963 erfolgte die Unterteilung von Williams und Sandler nach embryologischen Gesichtspunkten je nach Lokalisation in Vorder-, Mittel- und Enddarm – Karzinoide (1, 2). Doch da diese Einteilung immer noch zu ungenau war, prägte die WHO (World Health Organization) im Jahr 2000 den neutralen und umfassenden Begriff des „neuroendokrinen Tumors“ und des „neuroendokrinen Karzinoms“. Hier wird nach unterschiedlichen Gesichtspunkten klassifiziert wie Malignität, Dignität, biologischen und morphologischen Kriterien (3).

Zu den seltenen neuroendokrinen Tumoren zählen das Paragangliom (PGL), das Phäochromozytom (Phäo) und die Insulinomatose. Diese können sowohl sporadisch als auch im Rahmen von familiären Tumorsyndromen vorkommen (4–6). Die Symptome präsentieren sich vielseitig, wobei zur klassischen Symptom – Triade des Paraganglioms und des Phäochromozytoms Kopfschmerzen, Schwitzen und Palpitationen gehören. Die Insulinomatose verursacht bei den Patienten im Verlauf Hypoglykämien, Gewichtszunahme und Konzentrationsprobleme (7).

Ziel dieser Arbeit ist es, anhand der Indexpatienten (Patient, der als erster in der Familie als Träger einer Keimbahnmutation in einem der mit dem jeweiligen Tumor assoziierten Gene auffiel), die krankheitsverursachende Mutation zu detektieren und folglich eine familiäre Untersuchung durchzuführen, um weitere Mutationsträger zu ermitteln. Im Rahmen der genetischen Untersuchung wurden nach dem Filtern der Next – Generation Sequenzierung (NGS) – Daten, die verbliebenen Varianten mittels genetischer Datenbanken (HGMD: Human Gene Mutation Database) und den herkömmlichen Vorhersage – Tools (SIFT: Sorting Intolerant From Tolerant amino acid substitutions, PROVEAN: Protein Variation Effect Analyzer, PolyPhen2: Polymorphism Phenotyping v2 und Mutation Taster) überprüft. Einzige Ausnahme stellten dabei große Deletionen (ganze oder mehrere Exons eines Gens betroffen) dar. Einige Varianten wurden zum Teil bereits in Datenbanken gelistet. Mittels genetisch – laborchemischer Untersuchungen und Segregationsanalysen werden die Varianten im Rahmen der vorliegenden Arbeit genauer betrachtet und die Indexpatienten mit Insulinomatose, Paragangliom, Phäochromozytom sowie Erkrankungen, die potenziell

mit solchen Tumoren einhergehen (MEN2-, VHL – Syndrom) hinsichtlich krankheitsverursachender Mutationen mit allen Tumormerkmalen betrachtet. Ziel ist es diese genetisch ermittelten Varianten in Bezug auf ihren potenziellen Beitrag zur Tumorentstehung einordnen zu können. Dabei stellt dies ein größer angelegtes kooperatives Projekt mit unterschiedlichen Institutionen der Universitätsmedizin Mainz dar, wobei der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit auf den Segregationsanalysen liegt.

2 Literaturdiskussion

2.1 Neuroendokrine Tumore

Neuroendokrine Tumore, auch „Karzinoid – Tumore“ genannt, sind eine heterogene Gruppe von seltenen Tumoren, die aus dem disseminierten neuroendokrinen System hervorgehen und im Laufe der Jahre eine steigende Inzidenz aufweisen (2, 9, 10). Sie können sich in allen endokrinen Drüsen des Körpers manifestieren, wie beispielsweise in der Nebenschilddrüse, in der Nebenniere wie auch im endokrinen Teil des Pankreas. Der größte Teil der NET befindet sich mit ungefähr 85% im Gastrointestinaltrakt – gefolgt vom Bronchialsystem mit 10% (2, 3, 9, 10, 11). Insgesamt machen die NET des Gastrointestinaltraktes 1% aller malignen Tumor aus (12). NET sind gut differenzierte, langsam wachsende Tumore und entstehen entweder sporadisch (größte Gruppe) oder im Rahmen eines familiären Syndroms, wie zum Beispiel bei der Multiplen endokrinen Neoplasie 1 (MEN1), bei der Neurofibromatose Typ 1 (NF1) und beim von Hippel – Lindau – Syndrom (VHL – Syndrom) (1, 13).

Neuroendokrine Zellen haben die Funktion Peptide und biogene Amine zu sezernieren (3). Man unterscheidet zwischen hormonell aktiven und inaktiven Tumoren. Bei den hormonell aktiven Tumoren kommt es durch die hepatische Metastasierung oder beispielsweise durch eine Lokalisation in der Lunge, bei dem der First – Pass – Effekt der Leber nicht mehr greift, zu Symptomen wie beispielsweise Flush (90%), Diarrhoe (70 – 85%), Schwitzen, Herzrasen und vieles mehr. Diese bezeichnet man als „Karzinoid – Syndrom“ (11). Abhängig von ihrer Größe, Lokalisation und Tumorbilogie können NET zu jedem Zeitpunkt metastasieren. Häufig befinden sich bei NET des Gastrointestinaltraktes bei Diagnosestellung bereits Lebermetastasen (12). NET tragen auf ihrer Zellmembran spezifische Rezeptoren wie Somatostatinrezeptoren, die gut zur Lokalisationsfindung des Tumors und zur Therapie geeignet sind (3, 9). Zudem exprimieren Gastroenteropankreatische Tumore Zellmarker wie die Neuronen – spezifische Enolase (NSE), Chromogranine A, B, C (CgA, CgB, CgC) und das Synaptophysin (3). Sie dienen der Diagnosefindung und zur Klassifizierung. Hierbei spielt Chromogranin A eine zentrale Rolle. CgA ist ein verlässlicher Verlaufsparemeter und wird in allen NET (außer in Prolaktinomen) exprimiert und ist bei >80% der Neuroendokrinen Tumore positiv. Bei gemessenen Werten von >75 nmol/l ist eine schlechte Prognose für den Patienten zu erwarten (11). Es konnte eine steigende Anzahl an Diagnosestellungen durch verbesserte Vorgehensweisen detektiert werden. Zu ihnen zählen sowohl die Bildgebung (Sonographie, Computertomographie: CT,

Magnetresonanztomographie: MRT), die nuklearmedizinischen Verfahren (oft durch Somatostatine) als auch die histologischen und immunhistochemischen Verfahren (11, 12).

Therapeutisch ist eine Heilung nur durch chirurgische Resektion des Tumors zu erreichen. Patienten, die inoperabel sind oder Metastasen aufweisen, haben mehrere Optionen zur Therapie. Dazu zählen beispielsweise Chemotherapie, Peptid – Rezeptor Radionukleotid Radiotherapie und der Einsatz von Inhibitoren der Angiogenese, Interferon – Alpha oder langwirksame Somatostatin Analoga (11). Die Prognose des Patienten mit einem NET ist abhängig vom Stadium der Erkrankung. Dabei zeigen Patienten mit Metastasen aber ohne Karzinoid – Syndrom eine höhere Lebenserwartung als Patient mit dem Syndrom. Bei einem NET des Kolons liegt die 5 – Jahres – Überlebensrate bei 61,8%. NET besonders des Kolons und des Rektums weisen eine hohe Rezidivrate auf (1, 12). Daher sind Nachsorgeuntersuchungen bei allen Patienten mit NET (bei hormonell aktiven und nicht aktiven Tumoren) in speziellen NET – Zentren empfohlen, die sowohl Hormonspiegel bestimmen als auch Bildgebungen veranlassen bei Anstieg der Hormonspiegel (11, 12).

2.2 Paraganglien

2.2.1 Definition

Paraganglien sind Teil des peripheren Nervensystems mit endokriner Funktion. Histologisch bestehen sie aus unterschiedlich großen Parenchymzellen, die zahlreiche Gefäße im Interstitium enthalten und von einer Bindegewebskapsel umgeben sind. Embryologisch entstammen sie aus der Neuralleiste und sind ektodermalen Ursprungs. Paraganglien werden durch ihre knotenartige Struktur als Glomus bezeichnet. Sie können auf jeder Höhe zwischen Schädelbasis und Beckenboden auftreten. Je nach Anfärbbarkeit der Zellen im Labor und Herkunft der Zellen, wird zwischen den chromaffinen und den nicht – chromaffinen Paraganglien unterschieden (14, 15).

2.2.2 Chromaffine und Nicht – Chromaffine Paraganglien

Chromaffine Paraganglien gehen aus dem Sympathikus hervor und sind charakterisiert durch ihre Katecholamin – Bildung und Sekretion (Adrenalin und Noradrenalin). Der Hauptvertreter im menschlichen Körper ist das Nebennierenmark.

Grundsätzlich sind sie über dem gesamten Organismus verteilt, beginnend von kranial mit dem Ganglion cervicale superius bis hin zum Truncus sympathikus und der Blase (15, 16).

Die nicht – chromaffinen Paraganglien sind parasymphatische Nervenzellansammlungen. Ihre genaue Funktion ist zum Teil nicht vollständig geklärt. Sie sezernieren Noradrenalin und kommen an mehreren Regionen des Kopf – Hals – Bereiches vor. Hauptlokalisationen sind die Schädelbasis (als P. tympanicum und P. jugulare), die Carotisgabel (als P. caroticum), der Larynx und einige Gefäße (Arteria subclavia). Physiologisch fungieren Glomus caroticum und Glomus aorticum (im Aortenbogen) als Chemosensoren, die auf O₂ und CO₂ Veränderungen reagieren. Afferente Fasern des Nervus Vagus und Glossopharyngeus beeinflussen daraufhin das Atemzentrum in der Medulla oblongata, wo dann Atemfrequenz und Atemvolumen angepasst werden (17–20).

Ihre Tumore werden als Paragangliome (aus extra – adrenalen sympathischen und parasymphatischen Paraganglien) und Phäochromozytome (Katecholamin produzierende Tumore aus dem Nebennierenmark) bezeichnet. Die Inzidenz liegt bei 1 von 2500 – 6500 (0,0004 – 0,00015). Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 43 Jahren. Etwa 10 – 20% werden im Kindesalter im Rahmen von genetischen Erkrankungen diagnostiziert mit einer 5 – Jahres – Überlebensrate von etwa 50% (7, 11). Die Tumore sind in der Regel benigne, wobei etwa 10 – 35% maligner Genese sein können. Phäochromozytome sind häufiger anzutreffen als Paragangliome (7, 21, 22). Die meisten Tumore haben eine 10 – Jahres – Überlebensrate von 96% und nehmen einen milden Verlauf (23).

2.3 Paragangliome und Phäochromozytome

2.3.1 Paragangliome: Definition und Epidemiologie

Das Paragangliom ist ein seltener neuroendokriner Tumor des autonomen Nervensystems und entsteht in den Zellen der Neuralleiste. Paragangliome (PGLs) gehen von Paraganglien aus und können sowohl sympathischen als auch parasymphatischen Ursprungs sein. Sympathische oder chromaffine Paragangliome bezeichnet man als Phäochromozytome. In Abschnitt 2.4 werden sie näher betrachtet (7, 19).

Paragangiome sind stark durchblutete, meist benigne Tumore, die langsam wachsen. Sie können sowohl sporadisch als auch hereditär auftreten. In mehr als 40% der Fälle sind sie im Rahmen von familiären Tumorsyndromen anzutreffen. Frauen und Männer sind gleichermaßen betroffen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt zwischen dem 30. und 60. Lebensjahr (19, 24).

Überall wo Paraganglien anatomisch vorhanden sind, können Paragangiome entstehen. Jedoch kommen sie hauptsächlich im Bereich von Kopf, Nacken und Retroperitoneum vor. Im Kopf – Nacken Bereich kommen sie mit etwa 80% (als größte Gruppe) am häufigsten vor und sind parasymphischen Ursprungs. Sie machen 0,5% aller Tumore des Kopf – Nacken – Bereichs aus. Abhängig vom Ursprungsort erfolgt ihre genaue Bezeichnung. Paragangiome im Thorax, Abdomen und Becken machen etwa 17% aus. Sie sind lokal invasiv und metastasieren selten (19, 24, 25, 25–27).

2.3.2 Phäochromozytome: Definition und Epidemiologie

Phäochromozytome (griech.: phaios, dunkel und chroma, Farbe) sind seltene chromaffine Paragangiome mit endokriner Funktion (6). Frauen und Männer sind gleich häufig betroffen, wobei das Alter bei Diagnosestellung bei 40 – 50 Jahren liegt. Etwa 35% der Tumore sind familiären Ursprungs und präsentieren sich multizentrisch und bilateral. Größtenteils kommen sie jedoch sporadisch, unizentrisch und unilateral vor. Sie produzieren, metabolisieren, speichern und sezernieren die Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin (28). Sie kommen sowohl intra – als auch extra – adrenal vor, wobei 80 – 85% der Phäochromozytome intra – adrenal im Nebennierenmark lokalisiert sind. Die extra – adrenalen Tumore (15 – 20%) kommen größtenteils im Abdomen vor. Hauptlokalisation ist die Umgebung der unteren Mesenterialarterie (Zuckerhandl – Organ) oder die Aortenbifurkation. Seltene Lokalisationen sind die Niere, die Blase, die Urethra, die Prostata, der Genitaltrakt und die Leber. In 10% der Fälle metastasiert ein Nebennieren – Phäochromozytom. Bei familiären Phäochromozytomen liegt der Anteil bei 5%. Bei den abdominellen extra – adrenalen Phäochromozytomen liegt der Anteil bei bis zu 50% (7, 27, 29, 30).

2.3.3 Klinik von Paragangliomen und Phäochromozytomen

Zur klassischen Triade von PGLs und Phäochromozytomen gehören Kopfschmerzen, Schwitzen und Palpitationen. Jedoch führen nicht alle Tumore in dem Bereich zu den

genannten Symptomen und sind abhängig von der Lokalisation und Größe des Tumors.

Da PGLs langsam wachsende Tumore sind, können sie oftmals lange asymptomatisch sein und keine spezifischen Erkrankungsmuster aufweisen. Die Diagnosestellung gestaltet sich daher auch schwierig. PGLs im Bereich der Arteria carotis können durch ihre Hyperplasie zu Raumforderungen und somit zu Schädigung und Verdrängung der umliegenden Strukturen führen. Auch kommt es zu Minderversorgung von Gesichtsnerven und Lähmungserscheinungen. Durch die Raumforderungen der Tumore und Infiltration in benachbarte Strukturen kommt es häufig zu Rezidiven (19, 25, 31).

Phäochromozytome führen bei den Patienten zu unterschiedlich stark ausgeprägten Symptomen. Besonders häufig kommt es zu sekundären Hypertonien, die auf die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin zurückzuführen sind. Patienten mit einem Bluthochdruck haben in 0,05 – 0,1% der Fälle ein Phäochromozytom. Dabei tritt der Bluthochdruck entweder paroxysmal mit Blutdruckkrisen oder persistierend auf. Klassisch für ein Phäochromozytom ist die Trias aus Zephalgie (60 – 90%), Sudore (55 – 75%) und Tachykardie (50 – 70%). Weitere mögliche Symptome sind Tremor, innere Unruhe, Abdominal- oder Flankenschmerzen, Blässe, Hyperglykämie, Glukosurie, Leukozytose und Gewichtsverlust (Hypermetabolismus). Zu massive Katecholamin – Freisetzung kann zu lebensbedrohlichen Situationen mit maligner Hypertonie, Myokard- und Hirninfarkt bis hin zum Tod führen (7, 27, 32).

2.3.4 Diagnostik und Therapie

Die Diagnostik von Paragangliomen und Phäochromozytomen gestaltet sich vielseitig, wobei das genaue Vorgehen von der jeweiligen klinischen Institution abhängig ist und einem ständigen Wandel unterliegt. Der Startpunkt für das weitere diagnostische Vorgehen ist abhängig von der Art und Weise, wie der Tumor primär entdeckt wurde. So können entweder die klinischen Symptome des Patienten oder ein Zufallsbefund in der Bildgebung / Operation den Startpunkt für das weitere Vorgehen liefern.

Grundsätzlich ist die Anamnese des Patienten in Bezug auf seine Symptome von besonderer Bedeutung. Jedoch sind die Symptome und Anzeichen, die auf einen Tumor schließen lassen, oft nicht spezifisch und unterscheiden sich von Patient zu Patient. So werden zum Beispiel etwa 4 – 10% der Nebennieren – Phäochromozytome

im Rahmen von bildgebenden Untersuchungen als Nebenbefunde und etwa 5% intraoperativ diagnostiziert (7, 27).

Zudem spielen sowohl biochemische, bildgebende, molekularbiologische als auch histologische Verfahren mit Tumorbiopsie eine wichtige Rolle. Im Labor können die Katecholamin – Metabolite Metanephrin und Normetanephrin im Plasma ermittelt werden. Die Hormone Adrenalin und Noradrenalin werden nicht bevorzugt bestimmt, da sie nicht sensitiv und spezifisch genug sind (7).

Etwa 40% der Tumore treten im Rahmen eines hereditären Tumorsyndroms auf. Daher sind molekulargenetische Untersuchungen auf Keimbahnmutationen in prädisponierenden Genen ein weiteres wichtiges Element der Diagnostik (33). Dafür wird die Patienten – DNA (Desoxyribonukleinsäure) isoliert, mittels PCR (Polymerase – Kettenreaktion) amplifiziert und nach der Sanger Didesoxymethode sequenziert. Wird nun bei einem kranken Patienten eine krankheitsverursachende Mutation detektiert, werden weitere Familienangehörige einbestellt und untersucht, um mögliche Träger zu identifizieren und eine Beratung zu ermöglichen. Bei Angehörigen, die zwar Mutationsträger aber bislang gesund sind, reicht zunächst eine engmaschige Kontrolle bis schließlich die Therapie eingeleitet werden muss.

Bildgebung

Zu den bildgebenden diagnostischen Verfahren mit hoher Sensitivität von etwa 95% zählen die CT – und MRT – Untersuchung des Abdomens. Jedoch sind sie nicht spezifisch genug, um zwischen PGL und Phäo zu unterscheiden. Aus diesem Grund hat sich im Laufe der Zeit die ¹⁸F-DOPA-PET (¹⁸F-Fluoro-L-Dihydroxyphenylalanin-Positronen-Emissions Tomographie) etabliert, um die genaue Lokalisation zu detektieren (34).

Grundsätzlich wird dieses Verfahren oft mit der CT als PET (Positronen-Emissions-Tomographie) / CT kombiniert, um eine gute räumliche Zuordnung zu erhalten. Das Prinzip hinter der DOPA (DOPA – Decarboxylase) – PET ist Schnittbilder durch den gesamten Körper zu erzeugen, indem das schwach radioaktive Fluor – Isotop (Halbwertszeit 110 Minuten) im Organismus sichtbar gemacht wird. Vorteile dieses Verfahrens sind nicht nur die genaue Lokisationsdiagnostik, sondern auch die schnelle Durchführbarkeit und bessere Verträglichkeit des ¹⁸F – DOPA für den

Patienten, da es keine Interaktionen mit anderen Medikamenten aufweist. Das Verfahren ^{18}F – DOPA – PET hat durch die beschriebenen Vorteile, die I – MIBG – Szintigrafie (Jod – Metaiodobenzyl – Guanidin) als bildgebende Verfahren der Wahl abgelöst (siehe Abbildung 1) (7, 34).

Ist ein Paragangliom oder Phäochromozytom durch die beschriebenen Verfahren identifiziert, erfolgt therapeutisch die chirurgische Entfernung des Tumors mit darauffolgender histologischer HE (Hämatoxylin – Eosin) – Färbung und Untersuchung. Immunhistochemisch erfolgt anschließend die Bestimmung von Markerproteinen, wie Chromogranin A, Synaptophysin, VMAT – 1 (vesikular monoamine transporter – 1), VMAT2 (vesikular monoamine transporter – 2) und TH (Thyroid Hormone). Dadurch kann die Diagnose bestätigt und die Dignität ermittelt werden (siehe Abbildung 1) (7, 22).

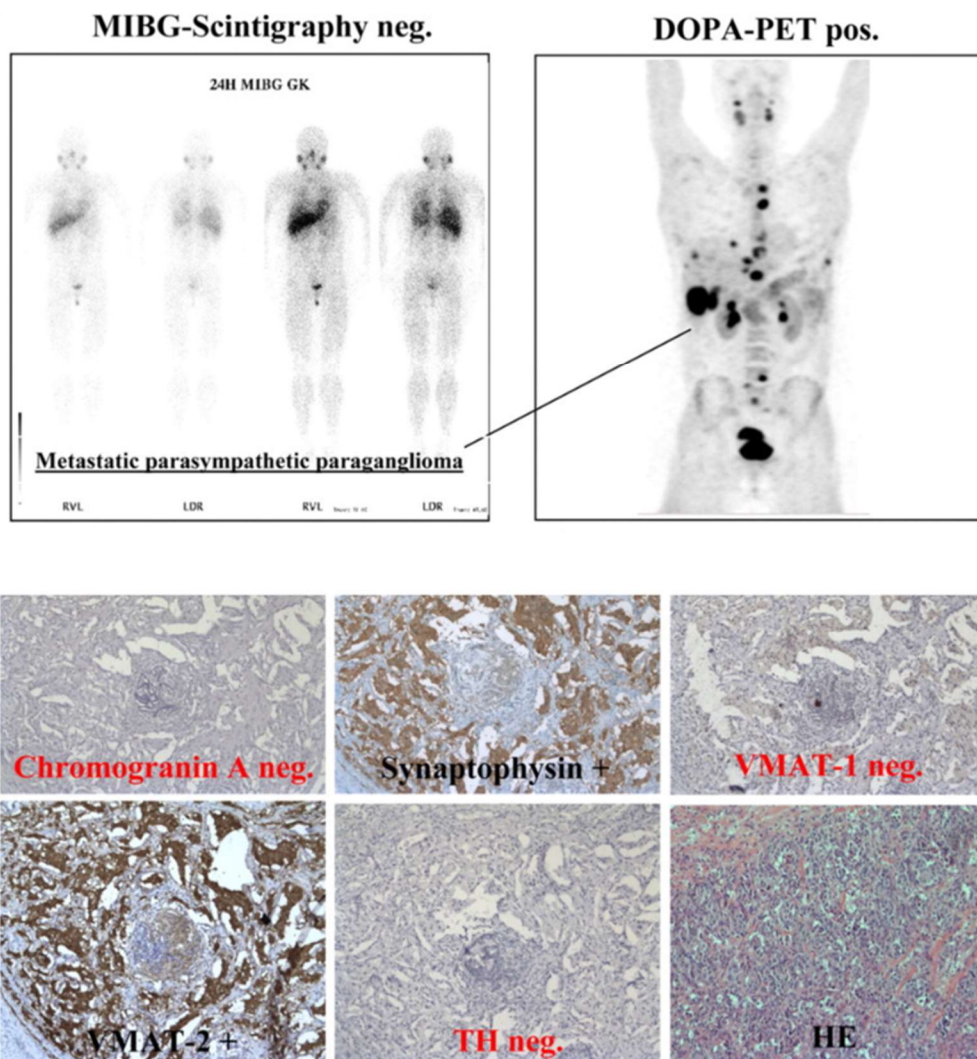


Abb. 1: Aufnahmen eines parasympathischen Paraganglioms (34)

Die obere Abbildung zeigt zwei bildgebende Verfahren zur Identifikation eines parasympathischen – Paraganglioms. Links ist die I – MIBG – Szintigrafie und rechts die ^{18}F – DOPA – PET Untersuchung zu sehen. Der Ursprung des Tumors liegt im Bereich des Halses. Die Metastasen zeigen sich in Knochen, Leber, Lungen und Lymphknoten. Es ist zu erkennen, dass keiner der Metastasen durch die I – MIBG Szintigrafie erkannt wurde. Die ^{18}F – DOPA – PET zeigt jedoch selbst kleinste Metastasen mit hoher räumlicher Auflösung (34).

Die untere Abbildung zeigt die Immunhistochemie des parasympathischen – Paraganglioms. Das PGL ist Chromogranin A negativ, Vesicular monoamine transporter 1 (VMAT – 1) negative und Thyroid Hormon (TH) negativ. Tumore, die VMAT – 1 negativ sind, können typischerweise nicht durch I – MIBG – Szintigrafie erkannt werden (34).

Therapie

Neben einer symptomatischen Behandlung des Patienten (antihypertensive Therapie bei Hypertoniker) ist die chirurgische Entfernung des Tumors Therapie der Wahl. Bei Patienten mit malignen, metastasierten Tumoren spielen sowohl die Chemotherapie als auch die Radiofrequenz Ablation und die ¹³¹Jod – MIBG Behandlung als palliatives Konzept eine bedeutende Rolle. Metaiodobenzylguanidine (MIBG) ist ein Substrat für transmembrane Noradrenalin – Transporter, die in den präsynaptischen, sympathischen Nervenenden gespeichert sind (somit auch im Tumor). Ihre Verknüpfung mit ¹³¹Jod führt zu einem Tumorzellschaden. Etwa 60% der metastasierten Tumore zeigen eine Aufnahme von ¹³¹Jod – MIBG und wiederum 30% zeigen ein Ansprechen auf die Therapie. Ungefähr 40% der Tumore bleiben somit in einem stabilen Zustand. Derzeit gibt es, durch die unzureichende Studienlage, keine genaue Empfehlung über die genaue Dosis und den Zeitplan der Therapie. Zudem sind Nachsorge Untersuchungen in einem festgelegten Intervall abhängig vom Stadium des Patienten einzuhalten (7, 22).

2.4 Genetischer Hintergrund

Gemäß „The Cancer Genome Atlas“ (TCGA) entstehen ungefähr 40% der Paragangliome und Phäochromozytome durch Keimbahn – Mutationen in einem der 16 mit der Entstehung von PGL und Phäo assoziierten Gene: RET (rearranged – during – transfection), NF1, VHL, SDHA, SDHB, SDHC, SDHD, und SDHAF2 (Succinate – Dehydrogenase Untereinheiten), TMEM127 (Transmembran – Protein 127), PHD1, PHD2 (pseudohyphal determinant 1, 2), HIF2A (hypoxia – inducible factor 2A), FH (Fumarat Hydratase), MAX (Myc – associated factor), und KIF1B (Kinesin Family Member 1B). Weitere 30% sind durch somatische Veränderungen in etwa sieben Genen bedingt: VHL, HIF2A, CSDE1 (Cold Shock Domain Containing E1), MAX, HRAS (Harvey – Rat – Sarcoma), NF1, RET und vermutlich KIF1B (35). Insgesamt kann man bislang unter somatischen Mutationen und Keimbahnmutationen unterscheiden. Somatische Mutationen entstehen entweder nach der Befruchtung in der Embryonal- / Fetalzeit oder nach der Geburt im Laufe des Lebens. Keimbahnmutationen liegen bereits in der befruchteten Eizelle vor und entstehen während der Meiose oder in der elterlichen Keimbahn (36).

Durch die Verfügbarkeit von NGS – Methoden konnten im Laufe der Jahre von anfänglich drei bekannten Genen (VHL, MEN2, NF1) immer mehr Gene detektiert werden, die mit der Entstehung von PGL und Phäo assoziiert sind. Derzeit sind 20 Gene für die beiden Erkrankungen beschrieben (37). Besonders Phäochromozytome treten mit etwa 35% familiär gehäuft auf und werden autosomal – dominant vererbt. Meist geht die Erkrankung mit einer inaktivierenden loss – of – function – Mutation in einem Tumor – Suppressor – Gen einher. Bei den Onkogenen RET, HRAS und HIF2 α handelt es sich jedoch um aktivierende gain – of – function – Mutationen (38). Besonders bei den drei erblich bedingten Syndromen, MEN2, NF1 und dem VHL – Syndrom sind Phäochromozytome häufig zu beobachten (5).

Grundsätzlich wird bei den Tumoren unterschieden, ob sie im Rahmen eines Syndroms (MEN2, NF1, VHL) oder als eigenständiges PGL / Phäo – Syndrom auftreten. Die genannten Syndrome folgen überwiegend einem autosomal – dominanten Vererbungsmuster. Bei Mutationen in einigen anderen Genen wird eine paternale Transmission der Variante beobachtet, wie bei den Genen SDHD, SDHAF2 (succinate dehydrogenase complex assembly factor 2) und MAX (6, 24, 39).

Mutationen in einer der SDH – Untereinheiten zeigen sich bei etwa 15% der Patienten mit einem erblich bedingten Tumor. Dabei werden SDHB – und SDHD – Mutationen am häufigsten nachgewiesen. Mutationen des VHL – Gens machen 22,5% der erblich bedingten Fälle aus. Mutationen des RET – Gens sind mit 12,5 % die dritthäufigste erbliche Mutation. Mutation des NF1 – Gens machen als vierte Gruppe 5% der erblich bedingten Paragangliome und Phäochromozytome aus (30).

2.4.1 Die Rolle von Hypoxia inducible factor (HIF)

Es ist von Bedeutung die Zusammenhänge und Auswirkungen von PGL und Phäo auslösenden Mutationen zu verstehen und die betroffenen Proteine mit den entsprechenden Signalwegen zu kennen. Einer dieser zentralen Bestandteile ist das Hypoxia inducible factor (HIF), welche eine Rolle bei der Entstehung eines pseudohypoxischen Phänotyps spielt (39).

Hypoxia inducible factor (HIF) ist ein Heterodimer aus Helix – loop – Helix und Per – Arnt – Sim (PAS) Strukturen. HIF besteht aus HIF – α und einer HIF – β Untereinheit (40). Sie gehört zur Gruppe der Transkriptionsfaktoren, die unter hypoxischen Bedingungen in der Zelle aktiv sind. Eine Dysregulation führt zur Tumorentstehung

und Progression. Unter normoxischen Bedingungen wird zwar HIF1 – α und HIF – 2 α gebildet, jedoch sehr schnell durch Hydroxylierung wieder degradiert und mit Hilfe von VHL – Gen kodierten Proteinen im Proteasomen abgebaut. Für die Degradation im Proteasom erforderliche Hydroxylierung läuft unter anderem unter Verbrauch von Sauerstoff ab (41).

Unter hypoxischen oder pseudohypoxischen Bedingungen wird HIF – α jedoch stabilisiert, da die Hydroxylierung von HIF – α sauerstoffabhängig ist. Somit bleibt die oben beschriebene Reaktion aus. Das stabilisierte HIF – α schließt sich mit HIF – β zum HIF – Heterodimer zusammen und bindet an das hypoxia – responsive – element (HRE) der nukleären DNA. Eine Aktivierung von HIF – 1 α und dessen Ziel Genen, führt zu einer höheren Transkriptionsrate der pseudohypoxischen Onkogene und dadurch zu Angiogenesen, VEGFs (vaso – endothelial growth factor) und dessen Rezeptoren im Tumorgewebe (5, 39).

Pseudohypoxie ist ein Zustand, bei dem genug Sauerstoff in den Zellen vorhanden ist, dieser jedoch durch Störung in einigen Stoffwechselwegen nicht adäquat genutzt werden kann. Die Tumorentwicklung und Resistenz gegen Behandlungsversuche sind Eigenschaften, die mit Pseudohypoxie in Verbindung stehen. HIF – 1 α und HIF – 2 α sind in vielen Krebsarten überexprimiert, dennoch ist ihre Auswirkung auf Aggressivität oder Entwicklung des Tumors unbekannt (42).

2.4.2 Einteilung der Gene in Cluster nach genetischem Hintergrund

Es wird bei der Entstehung von Paragangliomen und Phäochromozytomen zwischen zwei großen Gruppen / Clustern von Genen unterschieden. Cluster 1 beinhaltet den hypoxischen / pseudohypoxischen Signalweg mit Mutationen, welche beispielsweise die SDH – Untereinheiten, FH – und VHL – Gene betreffen. Cluster 2 besteht aus dem Kinase – gekoppelten – Rezeptor Signaltransduktions- / Proteintranslationsweg. Mutationen befinden sich hier zum Beispiel in folgenden Genen: RET, NF1, TMEM127, MAX, KIF1B β , HRAS. Hierbei liegt die Störung bei den Kinaserezeptoren (43, 44).

Cluster 1

Zum Hypoxie regulierten Signalweg (Gruppe 1) gehören unter anderem folgende Gene: SDH mit den Untereinheiten (A, B, C, D), VHL, FH, EGLN1 und 2 (egl – 9 family

hypoxia – inducible factor 1 und 2; Synonyme: PHD1 und 2), HIF2A und KIF1B (40, 41).

Wie bereits beschrieben dient das VHL unter physiologischen Bedingungen der Erkennung von HIF. Kommt es nun zu Mutationen im VHL – Gen, wird das Protein inaktiviert und führt zu einem unzureichenden Abbau von HIF – α . Die Expression von HIF – α Genen führt unter anderem zu verstärkten Angiogenesen durch VEGF. Ein Defekt im VHL – Gen wird so mit der Tumorgenese in Verbindung gebracht. 2009 hat die Forschungsgruppe von Manelli et al. mit ihrer Veröffentlichung gezeigt, dass etwa 17% von insgesamt 32% aller Paragangliome und Phäochromozytome auf Mutationen im VHL und RET basieren. Die übrigen 15% beruhen auf SDH – assoziierten Genmutationen (45).

Rolle des SDH

SDH (Succinat – Dehydrogenase) ist ein Enzym, das aus vier Untereinheiten besteht: SDHA, SDHB, SDHC, SDHD. Die Mutation in einem der vier Untereinheiten stellt die häufigste Ursache für hereditäre Paragangliome dar. Zudem ist SDH als membranständiges Protein Teil des Citratzyklus und Komplex II der Atmungskette in der inneren Mitochondrienmembran. Das Enzym ist in die Elektronentransportkette eingebunden und katalysiert die Oxidation von Succinat zu Fumarat in der Atmungskette. Somit spielt SDH eine zentrale Rolle bei biochemischen Stoffwechselfvorgängen. Eine Mutation von SDH führt zu einem pseudohypoxischen Zustand in der Zelle. Die Regulation durch das Enzym bleibt aus und es folgt das bereits oben beschriebene Resultat mit Steigerung der Expression von Onkogenen sowie eine Steigerung der Angiogenese im Tumor (5–7, 39, 46).

Cluster 2

Zum Kinase – gekoppelten Signalweg (Gruppe 2) gehören: TMEM127, MAX, BAP1 (BRCA1 associated protein – 1), NF1, RET – Protoonkogen, welches für MEN2 verantwortlich ist, und weitere Kinase abhängigen Signalwege. Auch hier spielt HIF eine bedeutende Rolle. Bei MEN2 und NF1 werden beispielsweise unterschiedliche Signalwege aktiviert, die wiederum HIF verstärkt bilden und in vielen Krebsarten zu einer Expression von HIF – α führen. Kinase – gekoppelte Signalwege sind unter

anderem zuständig für die Initiation von Proteinbiosynthesen und neuronalen / neuroendokrinen Differenzierungen. Somit führt auch die zweite Gruppe zu Paragangliomen und Phäochromozytomen (5, 33, 39).

2.4.3 Somatische Mutationen

Somatische Mutationen können in Cluster 1 und Cluster 2 – Genen vorkommen, die bereits zuvor beschrieben wurden und in der Keimbahn durch Mutationen betroffen sein können. Zusätzlich können jedoch auch andere bisher nicht beschriebene Mutationen in verschiedenen Genen zu Tumoren führen. Besonders sporadisch auftretende Tumore sind überwiegend durch somatische Mutationen bedingt. NF1, RET und VHL sind die am häufigsten aufgeführten Gene mit somatischer Mutation. Dabei sind sporadische Mutationen in NF1 mit etwa 21 – 24% der somatischen Paragangliome und Phäochromozytome der häufigste Auslöser. Weitere sporadische Mutationen in Genen, wie SDHB, SDHD und MAX sind zwar auch beschrieben, jedoch sind diese aber selten (47).

2.5 Insulinomatose

Insulinomatosen sind multizentrisch vorkommende, Insulin – produzierende, seltene neuroendokrine Tumore des Pankreas. Sie kommen nicht im Rahmen eines MEN1 Syndroms vor und sind eher sporadisch oder familiär bedingt. Dabei handelt es sich um meist sehr kleine (<5mm) benigne Tumore, die sich durch neoplastische oder hypertrophierte Zellen im Pankreas präsentieren. Die Diagnostik und die Therapie von Insulinomatosen gestaltet sich zum Teil durch ihre Tumorgöße schwierig. Eine Metastasierung in anderen Geweben zeigt sich kaum. Rezidive sind keine Seltenheit (4).

Eine aktuelle Studie der Londoner Forschungsgruppe Iacovazzo et al. vom Januar 2018 präsentierte zwei Familien mit dem heterozygoten Austausch c.191C>T, p.Ser64Phe im MAFA – Gen (musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene). Es wurde bei den Familien ein autosomal – dominanter Erbgang festgestellt. Diese missense – Mutation ist in einem hoch konservierten Bereich des MafA Proteins gelegen, der als D/E/S/T/P – reiche Domäne bezeichnet wird und die Stabilität der DNA – Bindung im Rahmen des Transaktivierungsprozesses beeinflusst. Die Mutationsträger erkrankten, mit einer Penetranz von 90%, entweder an einer Insulinomatose oder an einem

Diabetes vom MODY Typ (Maturity Onset Diabetes of the Young). In einer der beiden Familien traten zudem kongenitale Augenerkrankungen (Katarakt, Glaucom) auf. Dabei waren Frauen häufiger an Insulinomatose erkrankt als Männer, wobei das mittlere Erkrankungsalter bei $39,4 \pm 13,1$ Jahren lag. Die männlichen Patienten erkrankten häufiger an Diabetes mellitus vom MODY Typ. Iacovazzo et al. haben gezeigt, dass c.191C>T, p.Ser64Phe in der Lage ist, durch verminderte Phosphorylierung eines benachbarten Aminosäurerestes (Ser65) eine verminderte Degradation des Proteins durch das Proteasom zu verursachen. Es wurde außerdem gezeigt, dass Thr57 phosphoryliert wird und eine fehlende Phosphorylierung an dieser Stelle ebenfalls zu einer eingeschränkten Degradation des Proteins führt (4).

2.5.1 Histopathologie bei operierten Patienten

In der Studie von Iacovazzo et al. (2018) zeigten sich in der histologischen Untersuchung der Insulinomatose – Proben kleine (Mikroadenome, <5 mm) und größere (Makrotumore, > 5 mm) multifokale, gut differenzierte neuroendokrine Tumore (Ki-67 <2%) mit einer trabekulären Gewebearchitektur. Die Anzahl der Läsionen war variabel und abhängig von der Art der Operation und der Probenentnahme. Bei einem Patienten wurden über 100 Läsionen identifiziert. Es wurden keine Inseln mit Betazell – Hyperplasien beobachtet, die sich in Mikroadenome verwandeln. Zudem war keiner der Tumore größer als 2 cm. Alle Tumore exprimierten Insulin, während die Immunfärbung der anderen Pankreashormone negativ war. Die MafA – Immunfärbung zeigte in einem Fall eine diffuse Positivität, die im Vergleich zu den benachbarten normalen Inseln weniger intensiv war (4).

2.5.2 MAF – Gen

MAFA gehört zur Familie der Maf – Transkriptionsfaktoren und ist ein Proto – Onkogen. Maf – Proteine gehören neben Fos, Jun, CREB und ATF zu der AP – 1 (Activator protein – 1) Superfamilie der basic leucine zipper (bZip), die einer der größten eukaryontischen Transkriptionsfaktoren darstellen (48, 49). Die AP – 1 Superfamilie hat die Fähigkeit TRE (12-O-tetradecanoyl phorbol 13 – acetate-responsive element) oder CRE (cAMP – responsive element) DNA Sequenzen an ihrer bZip Domäne (aus 12 – 14 Aminosäuren bestehend) zu binden. Zudem kann MafA entweder als Homo- oder als Heterodimer an die DNA binden (49).

Maf – Proteine ähneln den viralen Maf – Onkoproteinen (v – Maf), die 1989 erstmals als musculoaponeurotische fibrosarcoma Hühner Retroviren beschrieben wurden (50). Neben MafA zählen MafB, c – Maf und Nrl zu der Gruppe der großen Maf – Proteine. MafB und c – Maf spielen in der Regulation von Glukagon in der Alphazelle des Pankreas eine Rolle (4, 49).

MafA spielt eine Schlüsselrolle bei der Insulinsekretion und beeinflusst eine Reihe von zellulären Prozessen maßgeblich:

- (1) die Differenzierung von Vorläuferzellen zur Insulin – produzierenden Betazelle
- (2) die Insulinbiosynthese und die Insulin – Sekretion
- (3) den Glucose Sensor Mechanismus
- (4) den Glucose Metabolismus
- (5) die Regulation der Transkription weiterer, in der Betazelle wichtiger Transkriptionsfaktoren
- (6) Transformationspotential, sowie die Fähigkeit, den Zellzyklus und Zellwachstum zu beeinflussen

Eine alleinige Überexpression von MafA genügt, um die Insulin mRNA (messenger – Ribonukleinsäure) effektiv zu steigern (50). Die Stabilität des MafA – Proteins in der Betazelle wird von Glukose reguliert. So wird beschrieben, dass unter niedrigen Glukosekonzentrationen in der Betazelle, die Anzahl an MafA – Proteinen sinkt. Durch die GSK3 (glykogen synthase kinase 3) kommt es nämlich zu Phosphorylierungen von den Aminosäuren Ser⁶¹, Ser⁴⁹, Thr⁵⁷ und Thr⁵³ des MafA – Proteins und somit zu dessen Destabilisierung und Abbau (4, 48).

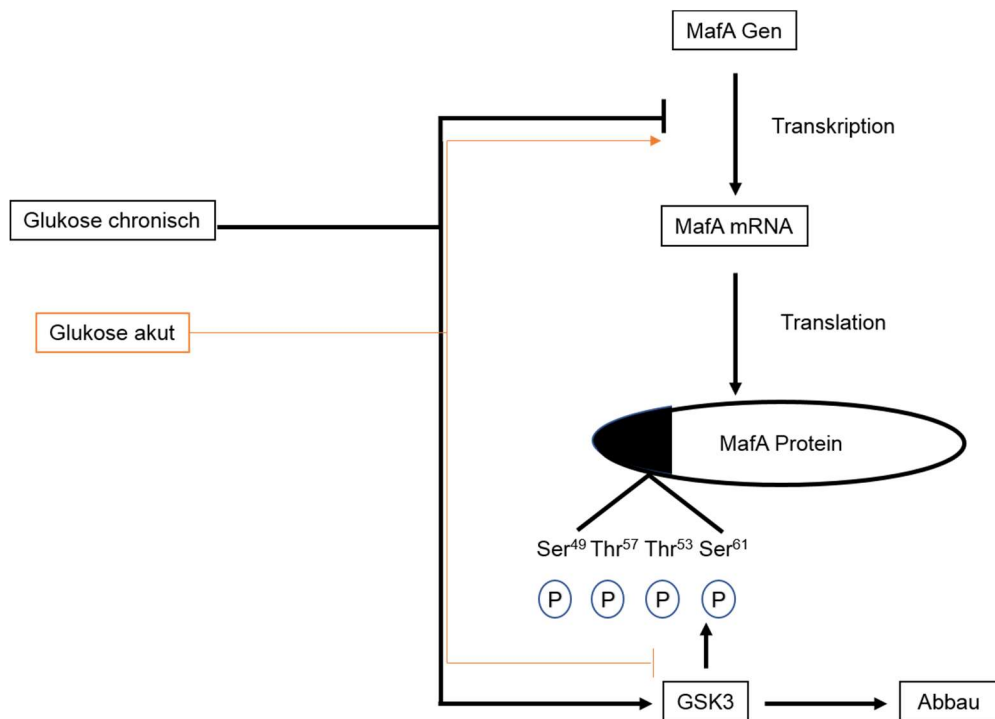


Abb.2: Regulation von MafA durch die GSK3 modifiziert nach (50)

Große Maf – Proteine sind Onkogene und können ursprüngliche Zellen transformieren. Somatische Mutationen in großen Maf – Proteinen (auch MafA) werden bei bestimmten Tumorentitäten gehäuft gefunden. So wurde gezeigt, dass in 50% der multiplen Myelome und in 60% der angioimmunoblastischen T – Zell Lymphomen Maf – Gene überexprimiert sind. Maf – Gen Veränderungen tragen somit zur Tumorgenese bei (49). MafA hat in dem Zusammenhang das Potential Neuroretinale Zellen von Vögeln zu transformieren und zu proliferieren. Zudem wurde gezeigt, dass missense – Mutationen im MAFA – Gen entweder Diabetes mellitus vom MODY Typ oder familiäre Insulinomatose verursachen können (4).

2.5.3 Diabetes mellitus Typ MODY

Der Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY) ist die häufigste monogene, autosomal – dominant vererbte Form des Diabetes mellitus. Er betrifft häufig Menschen vor dem 25. Lebensjahr. Etwa 1 – 2% aller Diabetesfälle in Europa beruhen auf MODY. Ursächlich ist eine Mutation auf Ebene der Keimbahn im Glukosestoffwechsel der Betazelle des Pankreas. Bei zunächst normalen Insulinspiegeln kommt es im Verlauf der Erkrankung, besonders nach Glukosereiz auf die Betazelle, zu Insulinsekretionsstörungen. Es konnte weder eine Neigung zu

Ketoazidosen gezeigt werden, noch konnten Diabetes typische Antikörper nachgewiesen werden. Der MODY tritt eher bei jungen Patienten auf und weist keine bzw. nur eine geringe periphere Insulinresistenz auf.

Es sind laut der OMIM (Online Mendelian Inheritance In Man) Datenbank 14 verschiedene Formen von MODY mit den verursachenden Genen identifiziert worden, die auf unterschiedlichen Chromosomen liegen. Dazu zählt beispielsweise bei MODY Typ 2 das Glukokinase – Gen, das zur Phosphorylierung der Glukosemoleküle beiträgt. Bei den anderen Formen sind vorwiegend Transkriptionsfaktoren, wie BETA2, HNF – 1 α , HNF – 1 β und MafA an der Entstehung von MODY Diabetes beteiligt (4, 52–56).

MODY type	OMIM disease	mode of inheritance	gene name	approved gene symbol	OMIM gene	chr.
MODY1	125850	AD	hepatocyte nuclear factor-4-alpha gene	HNF4A	600281	20
MODY2	125851	AD	glucokinase gene	GCK	138079	7
MODY3	600496	AD	hepatocyte nuclear factor-1alpha gene	HNF1A	142410	12
MODY4	606392	AD	pancreas/duodenum homeobox protein-1 gene	PDX1	600733	13
MODY5	137920	AD	hepatic transcription factor-2	TCF2	189907	17
MODY6	606394	AD	NEUROD1 gene	NEUROD1	601724	2
MODY7	610508	AD	KLF11 gene	KLF11	603301	2
MODY8	609812	AD	CEL gene	CEL	114840	9
MODY9	612225	AD	PAX4 gene	PAX4	167413	7
MODY10	613370	AD	insulin gene	INS	176730	11
MODY11	613375	AD	BLK gene	BLK	191305	8
MODY13	616329	AD	KCNJ11 gene	KCNJ11	600937	11
MODY14	616511	AD	APPL1 gene	APPL1	604299	3

Abb. 3: MODY verursachende Gene gemäß OMIM Datenbank

Klinisch präsentiert sich die Erkrankung eher schleichend, wobei die Patienten zunächst keinerlei Symptome zeigen und eher normalgewichtig sind. Der MODY ist vergleichbar mit dem Typ 2 Diabetes und wird somit auch häufig fehldiagnostiziert. Herausforderungen in der Diagnosestellung eines MODY sind vielfältig. Zum einen ähneln sie Typ 1 und Typ 2 Diabetes Formen, was zu Fehldiagnosen führt, und zum anderen konnten bei Patienten mit eindeutigen Symptomen eines MODY Diabetes keine der bekannten genetischen Mutationen nachgewiesen werden. Diese bezeichnet man als MODY X. Es kann also insgesamt angenommen werden, dass mehr Patienten an einem MODY Diabetes erkrankt sind, als bislang angenommen.

Therapeutisch werden neben einer Diät, die Einnahme von oralen Antidiabetika empfohlen. Letztlich ist die Insulintherapie nicht zu vermeiden (52, 55–57).

2.5.4 Differenzialdiagnose Insulinome

Definition und Epidemiologie

Insulinome sind neuroendokrine Tumore, die sich zu mehr als 97% im Pankreas befinden (58). Mit einer Inzidenz von etwa 1:500.000 pro Jahr gehören sie (wie auch Gastrinome) zu den häufigen NET (11). Frauen sind häufiger betroffen als Männer (4). Mit einer Größe von meist weniger als 2cm, sind sie verhältnismäßig kleine Tumore. Selten werden jedoch auch Patienten mit Insulinomen von größer als 5 cm detektiert. Eine Vielzahl (etwa 90%) der Tumore sind benigne (59). Lediglich weniger als 10% der Insulinome sind maligne (11, 58).

Pathogenese

Insulinome entstehen entweder sporadisch oder im Rahmen von familiären Syndromen wie MEN1 (60). Patienten mit einem MEN1 – Syndrom haben zu etwa 30 – 80% einen enteropankreatischen Tumor. Dabei zeigen sie die gleichen Symptome wie alle anderen Patienten mit Insulinomen (11, 61). Entartete Betazellen des Pankreas produzieren hohe Spiegel an Insulin. Insulin ist ein Polypeptid Hormon, das bei der Blutzuckerregulation neben Glukagon eine zentrale Rolle spielt. Insulin wird in den Langerhanszellen produziert und gelangt in den Blutkreislauf (50, 62).

Klinik

Durch die unkontrolliert hohen Insulinspiegel kommt es zu vielerlei Beschwerden. Die Whipple – Trias beschreibt die Symptomatik des Patienten. Dazu zählen Blutzuckerwerte unter 45 mg/dl, neurologische Symptome und eine Besserung dieser Symptome bei intravenöser / oraler Glukose Gabe. Hierzu gehören auch Beschwerden wie Schwindel, Sehstörung und Kopfschmerzen. Gegenregulatorisch wird mit dem Sympathikus das adrenerge System aktiviert und es entstehen Symptome wie Herzrasen und Schwitzen. Einige Patienten beschreiben zudem eine Gewichtszunahme durch die rezidivierenden spontanen Unterzuckerungen (11, 63).

Maligne Insulinome produzieren außer Insulin weitere Hormone, wie beispielsweise das Adrenocorticotropes Hormon (ACTH), Calcitonin oder Melanozyten – stimulierendes Hormon (MSH). Dies erklärt das klinisch bunte Bild der Patienten. Bei Insulinomen von mehr als 5 cm zeigen die Patienten zusätzlich zu den klinischen Symptomen auch mechanische lokale Komplikationen. Metastasierte Insulinome gehen mit einer niedrigen Lebenserwartung einher (11).

Diagnostik

Die Anamnese spielt eine zentrale Rolle bei der Diagnosestellung. Anhand der typischen Symptome und Beschwerden werden weitere diagnostische Schritte eingeleitet. Dabei kann unter stationären Bedingungen mit Hilfe des Hungerversuches über 48 bis 72 Stunden ein Blutzuckertagesprofil erstellt werden und das Insulin, Proinsulin und C – Peptid kontrolliert werden. Es kommt bei Patienten mit Insulinomen zu einer steigenden Insulinkonzentration und zum starken Abfallen des Blutzuckers unter 45mg/dl. Die Sensitivität des Hungerversuches liegt bei mehr als 90% (11, 59).

Immunhistochemisch spielen neuroendokrine Marker wie Chromogranine eine wichtige Rolle. Zur Lokalisationsdiagnostik werden bildgebende Untersuchungen eingeleitet. Sonographie, Computertomographie, Magnetresonanztomographie und nuklearmedizinischen Verfahren dienen der Lokalisationsfindung. Insulinome befinden sich zwar im Pankreas, sind jedoch meist kleiner als 2 cm. Daher ist eine genaue Lokalisation nicht immer eindeutig zu nennen. Die Sensitivität bei CT und MRT liegt bei etwa 40%. Eine PET Untersuchung mit Fluor-18-L-Dihydroxyphenylalanin zeigt eine höhere Sensitivität. Andere Möglichkeiten Insulinome zu lokalisieren sind eine Somatostatin – Rezeptor Szintigraphie Untersuchung. Dies kann auch therapeutisch genutzt werden (59, 64). Des Weiteren besteht die Möglichkeit sowohl eine intraoperative Endosonographie als auch eine palpatorische Diagnostik durch einen erfahrenen Chirurgen durchzuführen. Dies kann besonders bei zu kleinen Insulinomen, die durch Bildgebung nicht detektiert werden konnten, von Bedeutung sein. Beide Verfahren zeigen eine Sensitivität von mehr als 80%. Eine intraarterielle Calcium – Stimulation in die obere Mesenterial Arterie kann zusätzlich zur Lokalisationsfindung bei sehr kleinen Insulinomen (0,3 cm) angewendet werden. Durch die hohe Calciumkonzentration steigt die Freisetzung von Insulin aus den Zellen der Insulinome, weil sie spezielle Calciumrezeptoren tragen (59).

Therapie

Als einziger kurativer Therapieansatz gilt die chirurgische Resektion des Tumors. In etwa mehr als 90% der Fälle gelingt bei den operierten Patienten eine Heilung. Dazu zählen Pankreaseingriffe, die von einem erfahrenen Chirurgen durchgeführt werden. Mögliche Ansätze sind eine Enukleation des Tumors, eine Pankreasteilresektion bis hin zu einer ausgedehnten langandauernden Whipple – Operation. Des Weiteren kann bei palliativen Patienten mit malignen oder metastasierten Insulinomen eine Operation im Sinne einer besseren Lebensqualität und eines „Debulkings“ erwogen werden. Letzteres beschreibt eine Tumormassenreduktion. Maligne Tumore, die nicht metastasiert sind, können R0 reseziert werden und verlängern das Überleben. In sehr seltenen Fällen ist eine Operation des Tumors nicht indiziert (11).

Eine medikamentöse Therapie mit beispielsweise Somatostatinen oder Diazoxid ist nur in Ausnahmefällen bei bestimmten Patientengruppen indiziert. Lokale mögliche Therapieansätze sind die transarterielle Chemoembolisation / Chemoperfusion oder eine lokale Radiotherapie. Die Lebenserwartung ist bei gut differenzierten Insulinomen höher als bei anderen Formen des Tumors, dennoch kann mittels multimodaler Therapie eine Verlängerung der 5 – Jahres – Überlebensdauer erreicht werden. Die mittlere Überlebenszeit bei malignen metastasierten Insulinomen liegt laut einer Studie der Universität Düsseldorf bei 2,6 Jahren. Bei Lebermetastasen sinkt die Lebenserwartung. Trotz Therapie überleben lediglich etwa 25 – 35% nach 5 Jahren. Die Langzeitprognose bei Patienten mit Insulinomen im Rahmen des MEN1 – Syndroms ist unklar (11, 61, 66).

2.6 Hypoglykämie verursachende Pankreastumore

Mit Hilfe der „Whipple Trias“ nach A. Whipple (1863 – 1961) kann man die Diagnose einer Hypoglykämie stellen. Sie beinhaltet drei Merkmale: eine Blutzuckerkonzentration unter 2,5 mmol/l (<45 mg/dl), typische Symptome einer Hypoglykämie und eine schnelle Besserung der Symptome nach Glukosegabe (11).

Dabei ist die Anamnese des Patienten von besonderer Bedeutung, da somit Differentialdiagnosen ausgeschlossen werden können, wie beispielsweise eine Hypoglykämie unter Fastenbedingungen oder durch exogene Faktoren (Alkoholkonsum oder Medikamente). Die Patienten können bei leichten Formen einer

Unterzuckerung autonome, durch das sympathische Nervensystem bestimmte Symptome zeigen. Dazu zählen unter anderem Schwitzen, Tachykardien, Heißhunger oder auch Zittern und Angst. Kommt es jedoch zu weiteren Blutzuckerabfällen, zeigen sich dann auch neuroglykopenische Symptome, die durch eine Minderversorgung des Gehirns mit Glukose als Nährstoff bedingt sind. Die Patienten haben dann hinzukommend Symptome wie Sehstörungen, Schwindel, Verhaltensänderungen oder auch Krämpfe. Es kann sogar bis hin zum Koma und Tod des Patienten führen (63, 68).

Ein Hungerversuch unter stationären Bedingungen über bis zu 72 Stunden hilft, die Diagnose zu sichern. Auch die laborchemische Bestimmung von Insulin, Proinsulin und C – Peptid ist zur Ermittlung der Ursache einer Hypoglykämie von Bedeutung. Zu möglichen Ursachen zählen bei Nichtdiabetikern MEN1 – / NF1 – assoziierte Insulinome des Pankreas, eine Nesidioblastose im Rahmen einer Mutation des Sulfonylharnstoffrezeptors, eine Sekretion von IGF – 2 (Insulin – like growth factor 2) ähnlichen Peptiden paraneoplastisch, eine faktitielle Hypoglykämie durch Insulin / Antidiabetika und Hypoglykämien durch Störung einer humoralen Gegenregulation (11).

Neuroendokrine Tumore des Pankreas sind zumeist benigne und zählen eher zu den seltenen Tumoren. Sie machen ungefähr 12% aller neuroendokrinen Tumore im Gastrointestinaltrakt aus (11). Sie werden in funktionell aktive (hormonproduzierende Tumoren) und in nicht aktive (nicht hormonproduzierende Tumoren) unterteilt. Insulinome, Gastrinome, Glukagonome und VIPome gehören zu den aktiven Tumoren. Insulinome und Gastrinome haben eine jährliche Inzidenz von etwa 1:500.000 und zählen zu den häufigen Tumoren (11). Zudem sind Nachweise neuroendokriner Marker (Synaptophysin und Chromogranin A), Proliferationsmarker (Ki-67 / MIBI) und von Hormonen (Insulin), Zytokeratinen (CK8 und 18) und Somatostatinrezeptoren möglich. Die hormonaktiven NET im Pankreas machen weniger als die Hälfte aus. Insulinome stellen unter den aktiven Pankreastumoren die größte Gruppe mit 40 – 70% dar (69).

2.6.1 Die Rolle des Insulins

Insulinsynthese

Sowohl die Insulinsynthese (Transkription und Translation) als auch die Insulinfreisetzung in den Betazellen des Pankreas sind glukoseabhängig. Es wird so eine Euglykämie gewährleistet. Die Insulinsynthese unterliegt einer komplexen Regulation, die durch das Zusammenwirken der Transkriptionsfaktoren MafA, BETA2 / NEUROD1 und PDX1 reguliert wird. Kommt es zu erhöhten Blutzuckerkonzentrationen, werden die drei Transkriptionsfaktoren durch ihre Bindung an cis – Elemente des Insulingenpromotors, wie beispielsweise A, C und E aktiviert und die Insulinexpression somit erhöht (es wurde eine Region mit 350 Basenpaaren im Insulinpromotor mit sowohl cis – als auch trans – acting Faktoren identifiziert), wobei MafA am C1 / RIPE3b Element bindet. Werden diese drei Transkriptionsfaktoren zeitgleich in anderen Zellen exprimiert, so kommt es zur Bildung von wichtigen insulinproduzierenden Genen (GLUT2: Glucosetransporter Typ 2, SUR1: Sulfonylharnstoff Rezeptor1, GCK: Glukokinase) (48, 50).

Insulinfreisetzung

Unter physiologischen Bedingungen wird in den Betazellen des Pankreas Insulin abhängig von der extrazellulären Blutzuckerkonzentration freigesetzt. Somit wird eine konstante Blutzuckerkonzentration auch unter Fastenbedingungen bei 3,5 – 5,5 mmol/L gewährleistet. (70) Dabei gelangt Glukose über die Transporter GLUT1 und GLUT2 in die Betazelle und wird über die Glykolyse in Pyruvat umgewandelt. Pyruvat wird dann im Mitochondrium für den Citratzyklus und die Atmungskette benötigt, um die Rate an ATP / ADP (Adenosintri- / diphosphat) in der Zelle zu steigern. In der Betazelle bewirkt ein hohes ATP / ADP die Inaktivierung des ATP – abhängigen Kaliumkanals. Folge ist eine Depolarisation der Zelle durch zu viel Kalium intrazellulär. Zusätzlich werden spannungsabhängige Calciumkanäle aktiviert und die steigende Calciumkonzentration führt dann zur Freisetzung von Insulin in den Blutkreislauf (71).

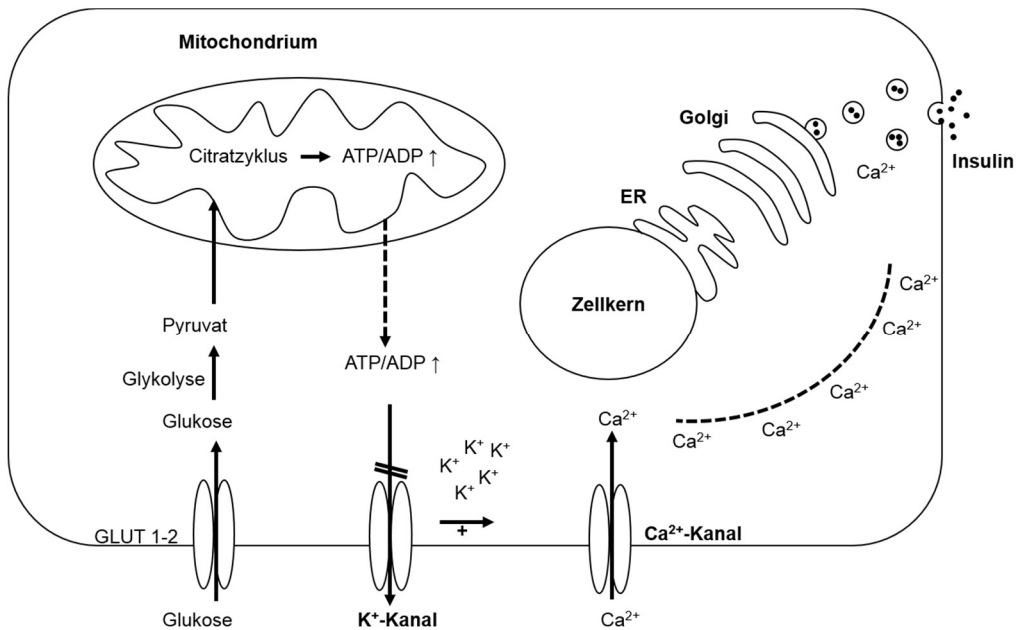


Abb. 4: Schematische Darstellung der physiologischen Insulinfreisetzung aus der pankreatischen Betazelle modifiziert nach (71)

GLUT 1 / 2: Glukose Transporter 1 / 2, ER: Endoplasmatische Retikulum, Golgi: Golgi – Apparat, K^+ - Kanal: ATP abhängiger Kaliumkanal, Ca^{2+} - Kanal: Calciumkanal, ATP / ADP: Adenosintriphosphat / Adenosindiphosphat

Insulinverwertung der Zellen

Insulin bewirkt nun in peripheren Geweben eine Aufnahme von Glukose über unterschiedliche GLUT – Transporter, wie beispielsweise in Leberzellen, Muskelzellen und Fettgewebe. Somit sinkt insulinabhängig die Blutzuckerkonzentration. Gleichzeitig ist Glukose ein wichtiger Energielieferant für die Versorgung der Zellen. Zudem ist Glukose lebensnotwendig für zerebrale Funktionen, daher nehmen Nervenzellen insulinunabhängig Glukose auf. Insulin ist an der Genese vieler Erkrankungen beteiligt, wie zum Beispiel: Diabetes mellitus, Insulinom, Hyperinsulinismus, Insulinresistenz und viele weitere (11, 72).

2.6.2 Kongenitaler Hyperinsulinismus

Beim kongenitalen Hyperinsulinismus (früher auch „Nesidioblastose“ genannt) führt eine unkontrollierte Sekretion von Insulin aus den Betazellen des Pankreas zu Hypoglykämien. Die Inzidenz beträgt 1:40 – 70.000. Die Patienten weisen bereits in den ersten Lebenswochen persistierende Hypoglykämien auf. Dabei sind Auftreten

und Verlauf der Erkrankung von Patient zu Patient variabel. Klinisch manifestiert sich die Erkrankung durch Lethargie, Unruhe bis hin zur Bewusstlosigkeit (73).

Man unterscheidet in der Pathogenese zwischen „channelopathies“ und „metabolopathies“. Relevante Gene bei den channelopathies sind ABCC8 (ATP Binding Cassette Subfamily C Member 8, am häufigsten mit 40% der erkrankten Individuen) und KCNJ11 (Potassium Voltage – Gated Channel Subfamily J Member 11), mit den zugehörigen Proteinen SUR1 (Sulfonylharnstoff – Rezeptorgen 1) und Kir6.2. Diese autosomal – rezessiv vererbten Mutationen beeinflussen den ATP – abhängigen Kaliumkanal der Betazelle und führen durch eine Veränderung des Ruhemembranpotentials zur Depolarisation und folglich zu einer glukoseunabhängigen Insulinfreisetzung (11, 71, 74, 75).

Zu den metabolopathies zählen Defekte auf zellulärer Ebene, diese spielen unter anderem beim Fettsäurestoffwechsel, Aminosäurestoffwechsel und Energiestoffwechsel eine wichtige Rolle. Die autosomal – dominant vererbten Mutationen, wie die Mutationen im Glukokinase – Gen oder im Glutamatdehydrogenase – Gen, gehören beispielsweise zu den metabolopathies. Das Enzym Glukokinase (geschwindigkeitsbestimmendes Enzym im Glukosemetabolismus und hohe Affinität zu Glukose) führt zu hohen Glukose – Umsatzraten und folglich über hohe ATP – Spiegel zu einer gesteigerten Insulinfreisetzung trotz niedriger Glukosespiegel (70, 71, 74).

Histologisch unterscheidet man zudem zwischen fokalen und diffusen Formen des Hyperinsulinismus. Bei der fokalen Form sind vereinzelte oder gruppierte adenomartige Regionen zu beobachten. Sie sind bedingt durch Verluste in maternalen Allelen auf Chromosom 11p15 und paternal vererbten Mutationen im SUR1 – Gen. Bei der diffusen Form finden sich zytoplasmareiche, hypertrophierte Betazellen mit vergrößertem Zellkern. Es können zudem auch im Rahmen von syndromalen Erkrankungen hyperinsulinämische Hypoglykämien entstehen, wie beim Beckwith – Wiedemann Syndrom oder Patau Syndrom (11, 74).

3 Material und Methoden

3.1 Kollektivbeschreibung

3.1.1 Patienten – Kollektiv Paragangliom und Phäochromozytom

In der vorliegenden Arbeit wurden 44 Indexpatienten mit ihren Familienangehörigen auf krankheitsverursachende Mutationen in den 16 mit der Entstehung von PGL und Phäo assoziierten Genen hin untersucht. Dabei sind die Patienten seit 2004 wegen ihres Tumors entweder in stationärer oder in ambulanter Behandlung in der Universitätsmedizin Mainz. Die Patienten wurden körperlich und laborchemisch untersucht, gefolgt von einer Bildgebung zur Lokalisationsfindung des Tumors und der biochemischen Eigenschaft des Tumors, Katecholamine zu sezernieren. Anschließend folgte entweder in der Universitätsmedizin Mainz oder in einer externen Klinik die Resektion des Tumors und eine histologische / immunhistochemische Untersuchung des Tumorpräparats. Somit konnte die Diagnose bestätigt werden.

Zudem wurden alle Patienten auf die 16 krankheitsverursachenden Gene, die mit Keimbahnmutationen assoziiert sind hinsichtlich PGL und Phäo genetisch analysiert. Im Anschluss wurden nur die Familienangehörigen der Indexpatienten einer genetischen Analyse hinzugezogen, bei denen der Indexpatient durch die genetische Analyse eine bekannte / beschriebene Mutation in einem der 16 Gene trägt bzw. eine Variante, die mit hoher Wahrscheinlichkeit als ursächlich für ein PGL oder Phäo erachtet wurden.

Abschließend wurden dann die Patientenakten bezüglich der Familienanamnesen durchgesehen und die Stammbäume mithilfe des Papers von Bennett et al. und des PED 6 („Pedigree Drawing software“) Programms von jeder Familie erstellt (76). Die Ergebnisse der Genotypisierung der Familienangehörigen wurden daraufhin zusammengetragen, die zuvor bezüglich der Segregation der vermutlich ursächlichen Mutation geprüft wurden. Die Stammbäume geben Aufschluss auf die Form der Vererbung und die Penetranz einer Mutation / Variante.

3.1.2 Patienten – Kollektiv Insulinomatose

Das Patientenkollektiv der Insulinomatose beinhaltet insgesamt 19 Patienten. Dabei waren zwei Schwestern Indexpatientinnen, mit der Erstdiagnose 2008 und 2015. Diese wurden in der Universitätsmedizin Mainz operiert und waren in stationärer Behandlung. Im Vorfeld der Operation wurden die Tumore bereits mittels Bildgebung und labordiagnostisch charakterisiert. Postoperativ wurden sie histologisch genauer untersucht, um die Diagnose zu bestätigen. Nach der genetischen Analyse der Indexpatientinnen wurden, die Familienangehörigen hinzugezogen, um Erkenntnisse über die Penetranz, den Erbgang und den resultierenden Phänotyp zu gewinnen. Zudem sollten die Angehörigen adäquat beraten und gegebenenfalls weiterführend untersucht werden.

Die Indexpatienten und die Familienangehörigen wurden telefonisch kontaktiert nachdem die stationären Akten der beiden Schwestern genau bearbeitet wurden. Auf Zustimmung von ihnen wurden alle Patienten zum Teil in Nordrhein – Westfalen (NRW) und Frankfurt am Main besucht und zum anderen Teil per Post kontaktiert. Mittels vorgefertigter Fragebögen (siehe Anhang), venösen Blutentnahmen vor Ort und Wangenschleimhautabstriche für genetische Untersuchungen wurden alle Proben für die Analyse entnommen und die Patienten untersucht. Bei allen Patienten, die unter 10 Jahre alt oder zu alt für eine Blutentnahme waren und bei Patienten, die zu weit weg wohnten, wurden lediglich die Wangenschleimhautabstriche und die Fragebögen analysiert und ausgewertet, die sie am Untersuchungstag der Eltern / Angehörigen mitgebracht oder per Post an die Universitätsklinik Mainz zurückgesendet wurden. Die entnommenen Proben wurden im Labor der Universitätsmedizin Mainz am selben Tag analysiert. Im Anschluss wurde ein Stammbaum der Familie erstellt, wobei alle Phänotypen und Genotypen gekennzeichnet sind.

3.2 Probenmaterial

3.2.1 Fragebögen

Im Rahmen der Insulinomatose Studie wurden Fragebögen an jeden Familienangehörigen entweder versendet oder vor Ort besprochen. Zur Erstellung des Fragebogens diente unter anderem das Paper von Iacovazzo et al. (2018) als grobe Orientierung. Die Fragebögen umfassten 23 Familienangehörige, darunter waren folgende Personen: zwei Indexpatientinnen (Schwester), zehn Erwachsene Patienten und sieben Kinder. Dabei haben die Eltern den Fragebogen für ihre Kinder beantwortet. Zudem haben die Angehörigen einen Fragebogen für ihre bereits vier verstorbenen Familienangehörigen (darunter Vater, Oma und zwei Cousins der Indexpatientinnen) weitgehend versucht zu beantworten.

Die Fragebögen gliederten sich in folgende zwei Abschnitte: „Allgemeines“ und „Spezifische Fragen zum Thema Insulinomatose“. Im ersten Teil haben die Patienten Angaben zur eigenen Person gemacht (auch Angaben zu Kinder oder verstorbenen Familienangehörigen waren erlaubt). Dabei spielte die Herkunft, das Gewicht, der Body – Mass – Index (BMI), und die ausführliche Eigenanamnese mit dem zugehörigen Stammbaum eine bedeutende Rolle. Im zweiten Teil wurden Fragen zur Erkrankung Insulinomatose und Diabetes mellitus gestellt. Zudem wurde erfragt, ob angeborene Augenerkrankungen, wie beispielsweise Katarakt oder Glaukom, bisher bekannt sind. Die ausgefüllten Fragebögen wurden dann im nächsten Schritt ausgewertet, tabellarisch zusammengefasst (siehe Anhang) und der Familienstammbaum, in der Zusammenschau der Ergebnisse, aller erhobenen Laborwerte und der Geno- und Phänotypisierung, erstellt.

Ziel war es anhand der Fragebögen, der Laborwerte und der genetischen Familienanalyse eine Bewertung der MafA – Variante in der Familie vorzunehmen. Bislang sind noch keine Patienten mit einer Variante an einer der GSK3 – Phosphorylierungsstellen in MafA beschrieben. Die vorliegende Familie ist die erste Familie mit einer solchen beschriebenen Variante im MAFA – Gen.

3.2.2 Laboruntersuchungen

Im zweiten Teil der Familienuntersuchung zur MAFA – Mutation wurden EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure), Serum, Heparin – Plasma, Fluorid – Glukose und Citrat – Blut entnommen. Es wurde ein großes Blutbild mit Blutzucker, HbA1c (Glykiertes Hämoglobin), Fluorid – Glukose basal, Insulin, C – Peptid und Proinsulin bestimmt. Ein oGTT (oraler Glukosetoleranz – Test: Zuckerbelastungstest) wurde nicht vor Ort durchgeführt und im Verlauf nach den Blutergebnissen wegen der Gefahr von Hypoglykämien nur unter stationärer Aufsicht empfohlen. Für die MAFA – Genotypisierung wurde aus EDTA – Blut die DNA isoliert oder Wangenschleimhautabstriche (falls kein EDTA verfügbar) untersucht. Zudem wurden Pax – Gene (Paired – box – Gene) Monovetten prophylaktisch abgenommen, wobei diese für Untersuchungen auf RNA – Ebene (Ribonukleinsäure) gedacht sind und bislang nicht benötigt wurden.

3.2.3 Genetische Untersuchung (Ablauf der Varianten Detektion)

Zur Detektion der MAFA – Mutation wurden mehrere Verfahren angewendet. Bei den beiden Insulinomatose Patientinnen wurde zunächst das MEN1 – Gen herkömmlich Sanger sequenziert. Da jedoch keine Mutation in MEN1 gefunden wurde, hat man sich für das Exom entschieden, da sonst zu viele potenzielle Kandidaten – Gene in Frage gekommen wären für eine herkömmliche Sanger Sequenzierung. Den beiden DNA – Proben der Indexpatientinnen wurden Proben von 10 Patienten mit Verdacht auf erbliche Gerinnungsstörung als Kontrolle gegenübergestellt. Anhand dieser DNA – Proben erfolgte eine komplette Exom – Sequenzierung mit dem NimbleGen MedExome von Roche Diagnostics (Deutschland, Mannheim). Besonderer Schwerpunkt wurde dabei auf klinisch relevante Gene und Regionen gelegt. Die gepoolte, zu sequenzierende Library aller zwölf Patienten, wurde 300 Zyklen im paired – end Modus auf einem NextSeq 500 der Firma Illumina sequenziert. Die aus der Sequenzierung hervorgehenden Sequenzdaten wurden anschließend den jeweiligen Patienten zugeordnet, konvertiert und mittels NextGENe (2.4.1.1, Softgenetics / Bioké) an das menschliche Genom (GRCh37 / hg19) alignet. Die aus dem Variant Calling (ebenfalls NextGENe) hervorgegangene Abweichungen von der Referenzsequenz wurden durch eine Pipeline gefiltert, die auf einem Kandidatengenansatz beruhte und auf Krankheiten mit einer seltenen autosomal – dominanten Erbgang abzielte. Alle in den 10 Kontrollen vorhandenen Varianten wurden als ursächlich für eine

Insulinomatose in den Indexpatientinnen verworfen. Alle Varianten mit einer geringfügigen Allelhäufigkeit („minor allele frequency“) unter 0,01 (kleiner 1%) in dbSNP (Single Nucleotide Polymorphism Database) wurden als cut off gewählt. Zudem wurden Missense-, Nonsense-, Frameshift- und Splice-Site-Varianten für die weitere Analyse nicht verworfen. Die Varianten wurden durch zwei Filterlisten (Genlisten) reduziert. Eine zielt auf Gene ab, von denen bekannt ist, dass sie endokrine Tumore verursachen und die andere auf Gene, die an der Nährstoffmessung, der Insulinsekretion, dem Wachstum und der Differenzierung von Pankreas- β -Zellen beteiligt sind oder bekannte Ursachen für MODY-Diabetes und syndromalen und nicht-syndromalen angeborenen Hyperinsulinismus sind (siehe Tabelle 1 und 2). Zudem wurden nur Varianten beibehalten, die bei beiden Schwestern detektiert wurden. Somit konnte anhand der oben beschriebenen Vorgehensweise die Indexmutation ermittelt werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die oben beschriebene Diagnostik am Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz durch die medizinisch-technischen Assistentinnen durchgeführt.

Tabelle 1: Filterliste für endokrine Tumorsyndrome (38 Gene)

AIP	CDKN1B	GCM2	MAX	SDHAF2	TSC1
AP2S1	CDKN2B	GNA11	MDH2	SDHB	TSC2
BAP1	CDKN2C	H3F3A	MEN1	SDHC	VHL
BRAF	EGLN1	HRAS	NF1	SDHD	
CASR	EGLN2	IDH1	PTH	SLC25A11	
CDC73	EPAS1	KIF1B	RET	TMEM127	
CDKN1A	FH	KRAS	SDHA	TP53	

Die Mutationen in Tabelle 1 sind mit der Entstehung endokriner Tumorsyndrome assoziiert. Bei den Indexpatientinnen konnten jedoch keine potenziell krankheitsverursachenden Varianten in einem der oben genannten Gene detektiert werden. Als nächstes erfolgte der zweite Durchlauf mit der Filterliste für 121 Gene, wobei Mutationen in den Genen einen Hyperinsulinismus verursachen können.

Tabelle 2: Filterliste mit 121 Gene, deren Genmutationen einen Hyperinsulinismus verursachen können.

ABC C8	BCL1 1A	CEL	G6 PC2	GLU D1	HMGA2	ITGB 6	MAF, A,B	NEURO D1,G3	PCS K1	PRC1	THAD A	ZBE D3
ADA MT S9	BCL2	CENTD 2	GC G	GS K3B	HNF1A, 1B,4A	JAZF 1	MAPK 1,3,8	NKX2-2, 6-1	PDLI M5	PRKAA2	TLE4	ZFA ND6
ADC Y5	BLK	CREB1	GC K	GST M1	IGF2	JUN	MCAT	NOTCH 2	PDX 1	PROX1	TME M195	
ADK	CACN A1D	DGKB	GC KR	H19	IGF2BP 2	KCN J11, Q1	MEN1	OASL	PGM 1	PTF1A	TP53I NP1	
AKT 1,2,3	CAM K1D	DUSP9	GIP	HA DH	INS	KDM 6A	MNX1	ONECU T1	PIK3 CA, R1, R2	RBMS1	TSPA N8	
ALG 3,6	CDC1 23	ESRRG	GIP R	HH EX	INSR	KLF1 1,14	MPI	P2X7	PM M2	SIRT1	UCP2	
APP L1	CDKA L1	FOXA1, A2,O1	GLI S3	HK1	IRS1, S2	KMT 2D	MTNR 1B	PAX4,6	POC 1A	SLC16A1,2 A2,30A8	VDR	
ARX	CDKN 1C, 2A, 2B	FTO	GL P1R	HK DC1	ISL1	LGR 5	NCOA 6	PCBD1	PPA RG	TCF7L2	WFS 1	

In den folgenden Kapiteln werden grundsätzlich die Methoden beschrieben, die in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden.

3.3 Sequenzierung

Bei einer Sequenzierung wird die Nukleotid Basenabfolge der DNA bestimmt. Dabei gibt es unterschiedliche Verfahren, die zur Sequenzierung der DNA eingesetzt werden können. Zum einen gibt es das chemische Verfahren nach Maxam und Gilbert vom Jahre 1980 und zum anderen die enzymatische Methode von Frederick Sanger und Alan Coulson aus dem Jahre 1977. Letzteres konnte sich durchsetzen und gilt heute noch als Gold – Standard unter den Sequenzierungen. Im Laufe der Jahre haben sich weitere Methoden etabliert, die unter dem Begriff Next – Generation Sequenzierung (NGS) zusammengefasst werden (77).

3.3.1 Sanger Sequenzierung

Das Prinzip der Sanger Sequenzierung beruht auf einer enzymatischen Methode. Sie wird auch als Kettenabbruchverfahren oder Didesoxynukleotidverfahren bezeichnet. Vor der Sequenzierung muss zunächst der Bereich der DNA, der sequenziert werden soll, mittels Polymerase – Kettenreaktion (PCR) vervielfältigt werden. Dabei dient die zu analysierende DNA als Matrize für die in vitro Synthese neuer DNA – Fragmente mithilfe einer DNA Polymerase. Zunächst wird die doppelsträngige DNA in ihre zwei Einzelstränge denaturiert. An dem 3'Ende des Einzelstrangs lagert sich nun der sogenannte Sequenzierprimer (ein Oligonukleotid) an. Durch den Sequenzierprimer erfolgt die Synthese des zur Matrize komplementären Stranges in 5' zu 3' Richtung. Dabei endet jeder Strang nach dem Zufallsprinzip an einem anderen Nukleotid, weil das Reaktionsgemisch sowohl normale als auch Didesoxynukleotide (ddNTPs) beinhaltet. Der Einbau eines ddNTPs führt zum Kettenabbruch. Dieses Prinzip wird auch als Sequenzierreaktion bezeichnet. Daraus hervorgehende DNA – Fragmente können durch Elektrophorese aufgetrennt und die jeweils endständige Base detektiert werden.

Dabei sind die Didesoxynukleotide (ddNTPs) den Desoxynukleotiden (dNTPs) ähnlich. Sie unterscheiden sich an der C3 – Gruppe (Kohlenstoff – Gruppe). Didesoxynukleotide tragen an Stelle der 3'OH – Gruppe (Hydroxygruppe) eine 3'H – Gruppe (Wasserstoff). Somit können keine Phosphodiesterbindungen an die wachsende DNA – Kette angeknüpft werden und somit bricht die Synthese der DNA – Kette ab. Folglich der Name Kettenabbruchsequenzierung. Diese erfolgt zudem bei jedem DNA – Strang zufällig (77).

Die Sanger Sequenzierung erfolgte im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz durch die medizinisch – technischen Assistentinnen.

3.3.2 Pyrosequenzierung

Die Pyrosequenzierung eignet sich besonders gut zur Analyse kurzer Sequenzierungsbereiche und unterscheidet sich prinzipiell von der Sanger Sequenzierung, obwohl beides enzymatische Methoden sind. Die Sanger Sequenzierung generiert das Messsignal über elektrophoretische Auftrennung der synthetisierten Fragmente. Bei der Pyrosequenzierung wird dies jedoch über ein Lichtsignal während der DNA Synthese hergestellt. Zudem stellt die Pyrosequenzierung eine „real – time – Sequenzierung“ dar, da sowohl das Wachstum des DNA Stranges als auch der damit verbundene Einbau von Nukleotiden in Echtzeit aufgezeichnet werden.

Es werden zunächst kurze, 50 bis maximal 150 Basenpaare lange PCR – Produkte erzeugt, die dann durch die Pyrosequenzierung auf die Basenabfolge untersucht werden. Somit eignet sie sich gut zur Analyse von Single – Nukleotid – Polymorphismus „SNPs“. Insgesamt spielen vier Enzyme eine zentrale Rolle bei der Pyrosequenzierung, wobei die Luciferase eine bedeutende Stellung einnimmt. Zunächst werden die Fragmente denaturiert, die durch PCR generiert wurden. Danach werden die Einzelstränge selektiert und die DNA – Polymerase synthetisiert einen zum Einzelstrang – Template komplementären DNA – Strang. Anschließend werden dNTPs nacheinander in einer vorab definierten Reihenfolge („dispensation order“) dazugegeben. Dabei wird das korrekte dNTP in den wachsenden DNA – Strang eingebaut. Durch den Einbau kommt es zur Freisetzung von Pyrophosphat (PPi) und aus Desoxyribonukleosidtriphosphat wird Desoxyribonukleosid – monophosphat in der DNA – Sequenz, da an der Phosphodiesterbindung nur noch eine Phosphatgruppe beteiligt ist. Nicht eingebaute dNTPs werden durch die Apyrase als Enzymmix abgebaut. Das freigesetzte PPi steht nun der ATP – Sulfurylase zur ATP Synthese zur Verfügung, das wiederum im Anschluss benötigt wird, um Luciferin unter Lichtfreisetzung zu Oxiluciferin umzuwandeln. Der Einbau einer korrekten Base wird durch Lichtreaktion angezeigt, die von einem Photosensor, einer charge – coupled device (CCD) – Kamera, aufgezeichnet wird. Dabei ist die Intensität des Lichtsignals proportional zu der Anzahl der dNTPs, die zuvor eingebaut wurden. Folglich können sowohl heterozygote und homozygote Austausch unterschieden werden, als auch loss of heterozygosity durch Allelquantifizierung erkannt werden (79, 80).

Die Pyrosequenzierung erfolgte im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz.

3.3.3 Next – Generation Sequenzierung

Next – Generation Sequenzierung (NGS) beschreibt ein neues Verfahren der Hochdurchsatz – Sequenzierung und grenzt sich somit von der klassischen Sanger – Sequenzierung ab. Das NGS wird nicht nur wie zuvor zu Forschungszwecken genutzt, sondern auch im diagnostischen Bereich verwendet, um beispielsweise monogene Krankheitsbilder zu analysieren. Es können in einem einzigen Sequenzierlauf Millionen von DNA – Fragmenten parallel sequenziert und anschließend bioinformatisch ausgewertet werden, um die DNA Abschnitte zu erhalten (81). Im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz wird unter anderem der MiSeq von Illumina als NGS – Plattform genutzt und im Folgenden beschrieben.

Zunächst werden die isolierten DNA Proben fragmentiert, welches auch als „DNA Shearing“ bezeichnet wird. Dabei betragen die Fragmentlängen etwa 150 bis 200 Basenpaare. Anschließend werden an die 5´ - und 3´- Enden der Fragmente sogenannte Adaptersequenzen „Adapter Ligation“ angefügt. Die eigentliche Sequenzierreaktion im MiSeq läuft auf einem Glasobjektträger „Flow Cell“, worüber die fragmentierte Template – DNA über Adapter kovalent gebunden wird. Im nächsten Schritt werden aus identischen Molekülen Gruppen gebildet, die vom gebundenen Startmolekül ausgehen (sogenannte „Cluster“). Dies bezeichnet man als „Bridge – Amplification“. Die Sequenzierung erfolgt nun mit fluoreszenzmarkierten Nukleotiden und in jedem Zyklus wird ein Nukleotid komplementär zur Template – DNA eingebaut. Für jede dNTP Art ist so ein spezifischer Farbkanal vorhanden. Im Anschluss wird durch die Abspaltung der Fluoreszenzgruppe ein Lichtsignal detektiert und die zuvor am dNTP befindliche Terminatorgruppe entfernt. Somit kann im nächsten Zyklus ein weiteres Nukleotid eingebaut werden. Da die Sequenzierung während der Synthese des Stranges erfolgt, nennt Illumina dieses Verfahren auch „Sequencing by Synthesis“ (82, 83). Zudem verfügt der MiSeq von Illumina über eine „Paired – End – Sequenzierung“, welche die bioinformatische Auswertung und die Genauigkeit der Analysen verbessern. Die ausgewählten DNA – Fragmente können mit einer Leseweite von 25 bis 250 Basenpaaren von jeder Seite sequenziert werden und

je nach Größe entweder überlappen oder durch nicht – sequenzierte DNA – Teile getrennt sein (84, 85). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden mit dem MiSeq und dem NextSeq immer 2x150 Basen weit sequenziert.

Das NGS erfolgte im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz durch die medizinisch – technischen Assistentinnen.

3.4 Loss of Heterozygosity (LOH)

Loss of Heterozygosity (LOH) beschreibt einen teilweisen oder kompletten Verlust des wildtypischen Allels eines Gens in der Zelle, wobei das andere Allel zum Beispiel durch eine erste Mutation auf Keimbahnebene bereits inaktiviert ist. Die betroffene Zelle geht dann in den Homozygoten Zustand über. Damit wird der „second hit“ der „Two – Hit – Hypothese“ von Alfred G. Knudson beschrieben. Die Hypothese besagt, dass bestimmte Tumorarten durch zwei zeitlich getrennte Mutationen entstehen. Dabei wird ein mutiertes Allel über die Keimbahn vererbt (first hit), wobei das zweite Allel durch somatische Mutation entsteht (second hit). Als Beispiel dient die Beobachtung an Retinoblastom Patienten. Hierbei wird ein defektes Chromosom im Retinoblastoma (RB1) – Gen weitervererbt und das andere mutiert durch exogene Faktoren (Strahlung) ebenfalls. Somit führt es dann zur Tumorenstehung in der Netzhaut des Auges (86). Im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz wurden die LOH – Analysen anhand von Patienten Tumor – DNA aus 16 verschiedenen Proben durch Pyrosequenzierung durchgeführt. Dabei wurden im Vorfeld durch NGS und Sanger Sequenzierung heterozygote Keimbahnmutationen in den assoziierten Genen nachgewiesen. Durch Pyrosequenzierung konnte dann das Verhältnis der Allele quantifiziert und so Rückschlüsse auf das Vorliegen eines LOH geschlossen werden. Folglich zeigte sich, ob die Variante auf Ebene der Keimbahn ursächlich für die Entstehung des Tumors bei dem jeweiligen Patienten ist. Die Mikrodissektion aus Tumorgewebe und die DNA – Isolierung erfolgten durch das Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Mainz. Die LOH – Analysen wurden im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz durchgeführt.

3.5 Bioinformatische Datenbanken zur Bewertung der Varianten

Durch die zuvor beschriebenen DNA – Sequenzierungen können genetische Erkrankungen im Laufe der Jahre besser erforscht werden (83). Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten genetischen Varianten wurden zunächst als „Variante unklarer Signifikanz“ (VUS) kategorisiert. Um die Varianten weiter zu beurteilen, wurden im Verlauf sogenannte medizinische / biologische Vorhersage – Tools, genetische Datenbanken und Computerprogramme verwendet, mit denen Stammbäume erstellt wurden.

In der vorliegenden Doktorarbeit wurden alle mittels NGS detektierten genetischen Varianten, die nach dem Filtern noch übriggeblieben, seltener als 1% waren und im Kontroll – Kollektiv (Wildtyp – Kollektiv) weniger als dreimal gefunden wurden, genauer betrachtet. Im Folgenden wird auf die Datenbanken und Vorhersage – Tools, die im Rahmen der Arbeit verwendet wurden, eingegangen.

Allen ermittelten Varianten wurde bereits nach Möglichkeit eine rs – Nummer (Reference Single Nucleotide Polymorphism (SNP) cluster ID, welche eine randomisierte Nummer darstellt und Teil des SNP ist) schon beim alignment in NextGENe automatisch gezogen (87). Danach wurde die Minor Allel Frequenz (MAF) mit größer oder kleiner als 1% in der Pipeline von abgefragt. Die Varianten, die danach noch keine rs – Nummer hatten, wurden dann manuell in dbSNP (database Single Nucleotide Polymorphism) nachgeschaut und eingetragen.

Im nächsten Schritt wurden unterschiedliche Vorhersage – Tools für alle Varianten genutzt, um beurteilen zu können, ob die Varianten einen funktionellen Einfluss auf das resultierende Protein haben werden und wie genau diese Auswirkung für das Protein ist („neutral, deleterious, damaging, disease causing, polymorphism“). Zu den verwendeten Vorhersage – Tools zählen: Provean (Protein Variation Effect Analyzer), SIFT (Sorting Intolerant From Tolerant), PolyPhen2 (Polymorphism Phenotyping v2), Mutation Taster, Splice – Prediction. In den Datenbanken HGMD (The Human Gene Mutation Database), LOVD (Leiden Open (source) Variation Database), OMIM (Online Mendelian Inheritance In Man) und ClinVar wurden die Varianten auf eventuell bereits bekannte krankheitsverursachende Bedeutung abgeglichen.

Letztlich wurden alle detektierten Varianten der insgesamt 44 Indexpatienten mit Paragangliom oder Phäochromozytom, sowie Erkrankungen, die potenziell mit solchen Tumoren einhergehen (MEN2 –, VHL – Syndrom) tabellarisch aufgeführt und

somit übersichtlich in Bezug auf ihre Eigenschaften dargestellt (siehe 4.1 Ergebnisse PGL und Phäo).

Zudem wurde sowohl ein Familien – Stammbaum für die beiden Indexpatientinnen mit Insulinomatose und ihre Angehörigen angefertigt als auch für die 44 Indexpatienten mit Paragangliom / Phäochromozytom, sowie Erkrankungen, die potenziell mit solchen Tumoren einhergehen (MEN2 –, VHL – Syndrom) angefertigt. Ziel ist es anhand der Stammbäume die oft mehrmals vorkommenden Varianten in einer Familie im Hinblick auf ihren Beitrag zur Tumorentstehung besser beurteilen und bewerten zu können.

4 Ergebnisse

4.1 Ergebnisse PGL und Phäo

4.1.1 Zusammenstellung der Ergebnisse

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 44 Indexpatienten mit Paragangliom oder Phäochromozytom, sowie Erkrankungen, die potenziell mit solchen Tumoren einhergehen (MEN2 –, VHL – Syndrom), und ihre Familienmitglieder hinsichtlich krankheitsverursachender Mutationen in insgesamt 16 mit der Entstehung von PGL und Phäo assoziierten Genen analysiert. Mit Hilfe von genetischen Datenbanken, Vorhersage – Tools, Publikationen und der klinischen Präsentation der Patienten konnte zunächst eine Bewertung der jeweiligen ermittelten Variante vorgenommen werden. Dabei wurde zwischen „Bekannte Mutation“ (BM), „Mögliche Mutation“ (MM), „Variante Unklarer Signifikanz“ (VUS) und „Sehr wahrscheinlich benigne Variante“ (P) unterschieden (modifiziert nach Richard et al., 2015) (88). Die ursprüngliche Bewertung, wurde dem Befund entnommen, der direkt nach Untersuchung der DNA – Probe des Patienten erstellt worden war.

Schließlich wurde in der vorliegenden Arbeit die Bewertung unter Verwendung neuer Informationen zu Patient, Familie des Patienten und Tumor (Hormonproduktion, Malignität, Anzahl der Tumore, ggf. LOH) des Patienten systematisch vorgenommen. Hierfür wurde an der Universitätsmedizin Mainz mit der Abteilung für Endokrinologie der 1. Medizinische Klinik, sowie dem Institut für Pathologie eng zusammengearbeitet. Im Rahmen der Stammbaum – Analyse sollte die Frage nach Cosegregation, Penetranz und Vererbungsmuster, wenn möglich, beantwortet werden. Die Ergebnisse der LOH – Analysen aus 16 Proben wurden als experimentelle Bestätigung für die Bewertung der Variante genutzt. In der vorliegenden Arbeit werden die Stammbäume exemplarisch dargestellt und näher erläutert. Dabei orientiert sich die Nummerierung der Familien an einer ursprünglich erstellten Tabelle im Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz, die in der vorliegenden Arbeit nicht weiter beschrieben wird.

4.2 Bedeutende genetische Varianten anhand von Stammbäumen

Familie 42: SDHB:c.136C>G

Familie 42
Mutation: SDHB:c.136C>G,p.Arg46Gly

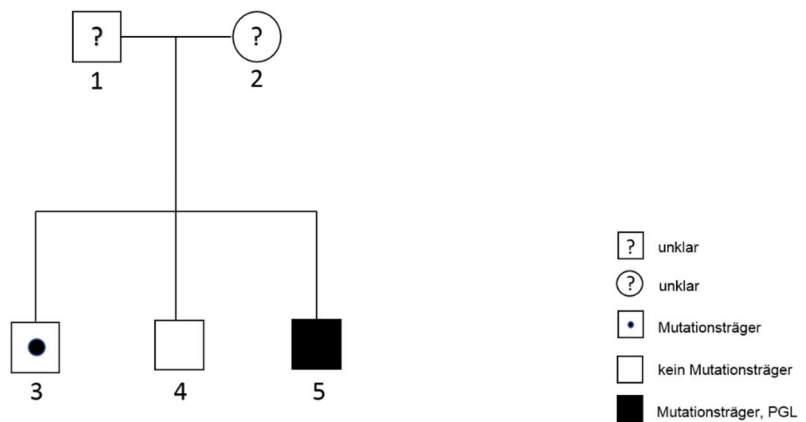


Abbildung 5: Stammbaum Familie 42 mit der Mutation SDHB:c.136C>G,p.Arg46Gly

In der Familie 42 (Abbildung 5) ist Patient 5 der Indexpatient. Er ist 1995 als jüngster Sohn der Familie geboren und leidet an einem malignen Paragangliom im Glomus aorticum. Der Stammbaum spricht nicht gegen die hier ursprünglich definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 6: SDHC:419G>A

Familie 6
 Mutation: SDHC:c.419G>A,p.Gly140Glu
 RET:c.2136+15G>A
 KIF1B:c.3121+9A>G

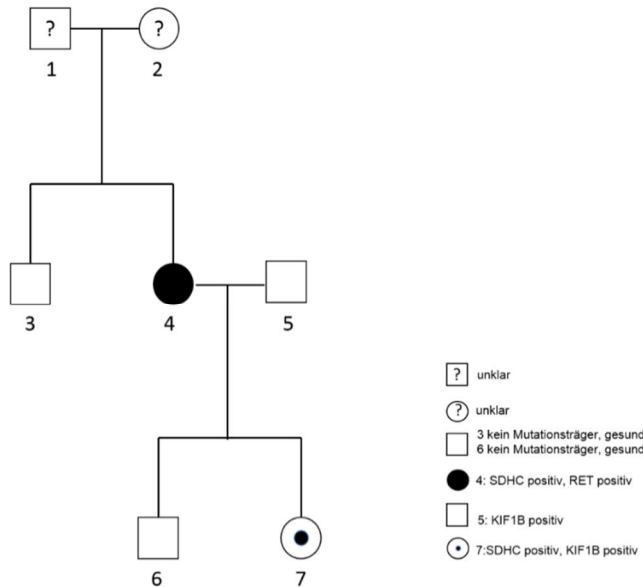


Abbildung 6: Stammbaum Familie 6 mit der krankheitsverursachenden Mutation SDHC: c.419G>A,p.Gly140Glu

In der Familie 6 (Abbildung 6) ist Patient 4 die Indexpatientin. Sie ist 1966 geboren und wurde 2007 erstmals im Alter von 42 Jahren mit einem Glomus vagale Tumor links diagnostiziert. Der Stammbaum spricht nicht gegen die hier ursprünglich definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 10: SDHD:c.317G>T

Familie 10
 Mutation: SDHD:c.317G>T,p.Gly106Val

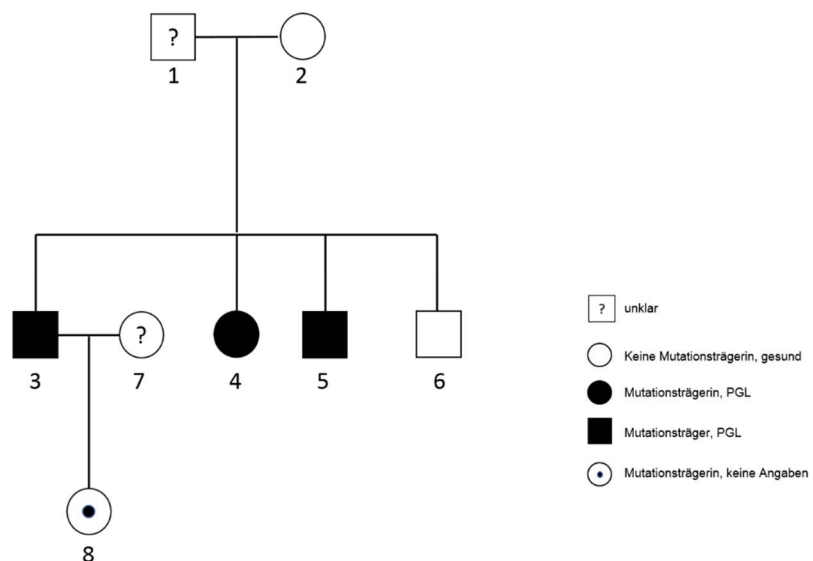


Abbildung 7: Stammbaum der Familie 10 mit der Mutation SDHD:c.317G>T,p.Gly106Val

In der Familie 10 (Abbildung 7) ist Patient 4 die Indexpatientin und 1960 geboren. Bei ihr wurde 1991 im Alter von 32 Jahren erstmals ein Glomus jugulare Tumor links diagnostiziert. Im Laufe der Jahre entwickelte sie zudem einen Glomus vagale Tumor links, einen Glomustumor in der rechten Carotisbifurkation und mediastinale Paragangliome. Die Patienten 3, 5 und 8 weisen dieselbe Mutation im SDHD auf, wobei Patient 3 und 5 erkrankt sind. Der Stammbaum spricht nicht gegen die hier ursprünglich definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 11: TMEM127:c.323A>C

Familie 11
Mutation: TMEM127:c.323A>C,p.Leu108Arg

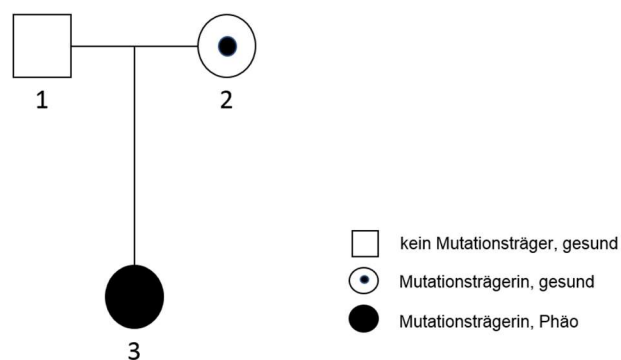


Abbildung 8: Stammbaum Familie 11 mit der Mutation: TMEM127:c.323A>C,p.Leu108Arg

Die Familie 11 (Abbildung 8) besteht aus den Eltern und der Indexpatientin (Patient 3), die an einem Phäochromozytom erkrankt ist. Die Indexpatientin ist 1985 geboren. Der Tumor wurde 2010 im Alter von 26 Jahren operiert.

Der Stammbaum widerspricht nicht der ursprünglich definierten krankheitsverursachenden Mutation.

Familie 40: TMEM127:c.3G>A

Familie 40

Mutation: TMEM127: c.3G>A, p.Met11Ile

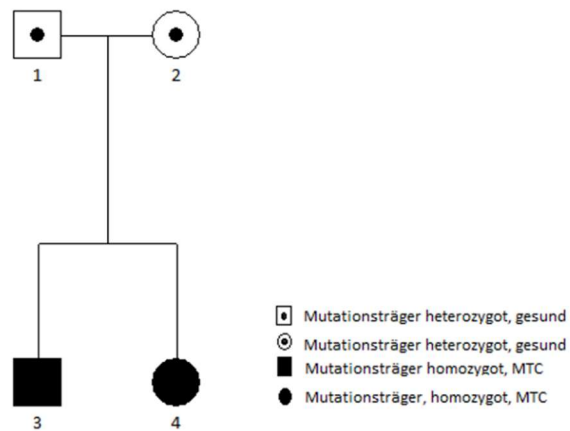


Abbildung 9: Stammbaum Familie 40 mit der Mutation: TMEM127:c.3G>A,p.Met11Ile

Bei der Familie 40 (Abbildung 9) handelt es sich um eine Familie türkischer Abstammung, die aus vier Mitgliedern besteht. Patient 3 ist der Indexpatient und wurde 2016 im Alter von 29 Jahren mit einem medullären Schilddrüsenkarzinom (MTC) diagnostiziert. Der Stammbaum spricht nicht für die ursprünglich definierte krankheitsverursachende Mutation. Der Indexpatient (Patient 3) und seine Schwester (Patient 4) sind homozygote Variantenträger.

Familie 34: VHL:c.500G>A

Familie 34
Mutation: VHL:c.500G>A,p.Arg167Gln
SDHA: c.163T>C, p.Thy55His

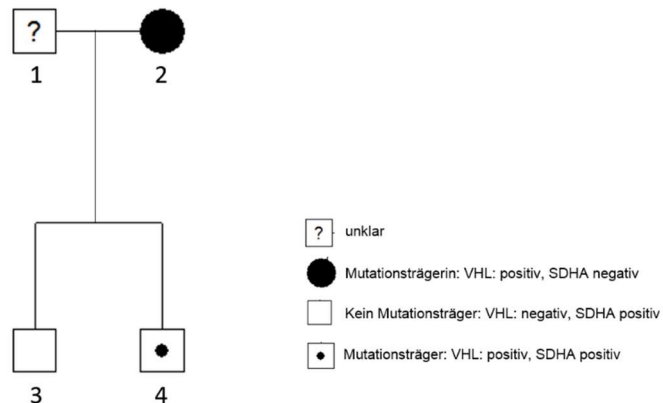


Abbildung 10: Stammbaum Familie 34 mit der Mutation VHL:c.500G>A,p.Arg167Gln

Die Familie 34 (Abbildung 10) besteht aus vier Mitgliedern – darunter ist Patient 2 die Indexpatientin. Sie ist 1962 geboren und bei ihr wurde 1981 im Alter von 20 Jahren in Kasachstan erstmals ein Phäochromozytom diagnostiziert. 2014 stellte sie sich in der Universitätsmedizin Mainz wegen eines fortgeschrittenen malignen Nebennierentumors beidseits mit Lebermetastasen vor. Es wurde der Verdacht auf ein beidseitig auftretendes Rezidiv des bereits in einer externen Klinik operierten Phäochromozytoms gestellt. Es sprechen sowohl das typische Auftreten der Variante in Exon 3, der höchstwahrscheinlich anhand des Stammbaums nicht widersprechende autosomal – dominante Erbgang und die typische Lokalisation des Tumors in der Nebenniere mit Katecholaminproduktion (Noradrenalin) für die pathogenetische Bedeutung von VHL: c.500G>A, p.Arg167Gln.

Familie 9: VHL:c.238A>C

Familie 9
 Mutation: VHL:c.238A>C,p.Ser80Arg
 SDHB:c.286+18C>T
 KIF1B:c.3638G>A,p.Ser1213Asn

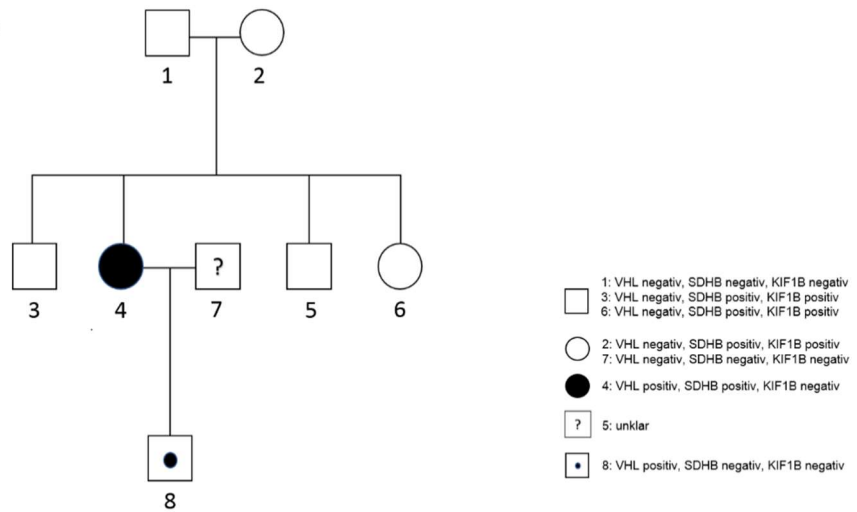


Abbildung 11: Stammbaum Familie 9 mit der krankheitsverursachenden Mutation VHL: c.238A>C,p.Ser80Arg

Die Familie 9 (Abbildung 11) besteht aus der Indexpatientin (Patient 4), die beidseits an Klarzellnierenkarzinom und einem Hämangioblastom des Cerebellums erkrankt ist. Sie ist 1984 geboren und wurde 2011 im Alter von 28 Jahren erstmals genotypisiert. Der Stammbaum spricht nicht gegen die hier beschriebene ursprüngliche krankheitsverursachende Mutation.

Familie 17: RET:c.2370G>T

Familie 17
Mutation: RET:c.2370G>T,p.Leu790Phe

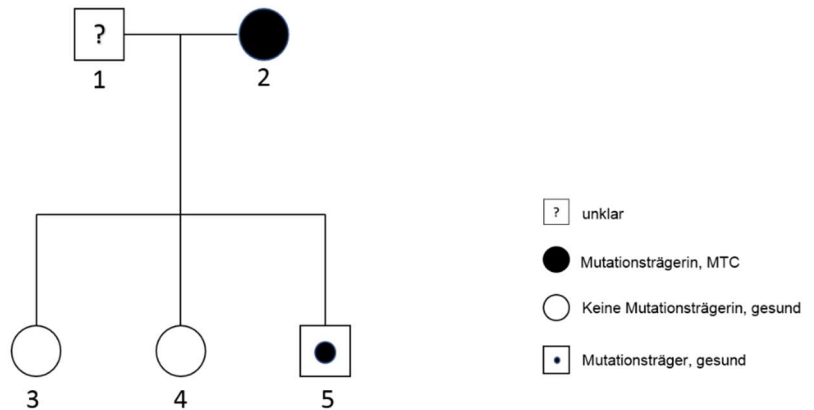


Abbildung 12: Stammbaum Familie 17 mit der Mutation RET:c.2370G>T,p.Leu790Phe

In der Familie 17 (Abbildung 12) ist die Mutter (Patient 2) die Indexpatientin, die an einem medullären Schilddrüsenkarzinom (MTC) erkrankt ist. Sie ist 1950 geboren und wurde 2014 im Alter von 65 Jahren erstmals mit einem MTC diagnostiziert. Der Stammbaum spricht nicht gegen die hier beschriebene ursprüngliche krankheitsverursachende Mutation.

Familie 38: RET:c.2370G>T

Familie 38
Mutation: RET:c.2370G>T,p.Leu790Phe

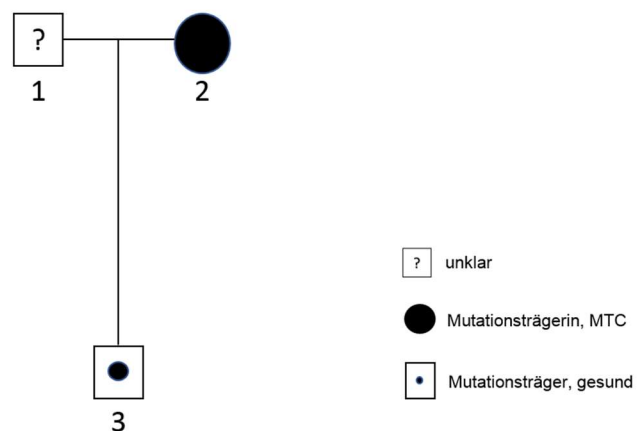


Abbildung 13: Stammbaum der Familie 38 mit der Mutation RET:c.2370G>T,p.Leu790Phe

In der Familie 38 (Abbildung 13) ist die Mutter (Patient 2) die Indexpatientin, die an einem medullären Schilddrüsenkarzinom erkrankt ist. Sie ist 1977 geboren und wurde 2015 im Alter von 39 Jahren mit dem Karzinom diagnostiziert. Der Stammbaum spricht nicht gegen die hier beschriebene ursprüngliche krankheitsverursachende Mutation.

Familie 1: SDHD:c.14G>A

Familie 1
Erkrankung: multifokales PGL
 Mutation: MAX:c.275T>C, p.Asn92Ser, het.
 SDHD:c.14G>A, p.Trp5*, het.
 FH:c.1433_1434insTTT, p.K477_N478insK, het.
 KIF1B:c.3660-15G>A, het.

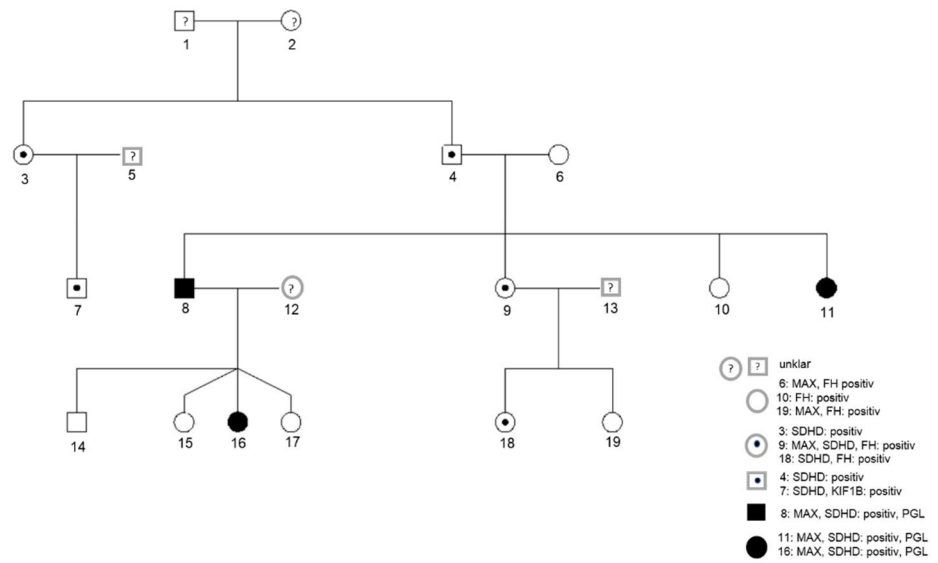


Abbildung 14: Stammbaum der Familie 1 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.14G>A, p.Trp5*, het.

In der Familie 1 (Abbildung 14) spricht der Stammbaum nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 2: SDHC:c.25G>A

Familie 2

Erkrankung: PGL (Glomus jugulare links)

Mutation: SDHC:c.25G>A,p.Val9Ile,het.

SDHA:c.889C>T,p.Pro297Ser,het.

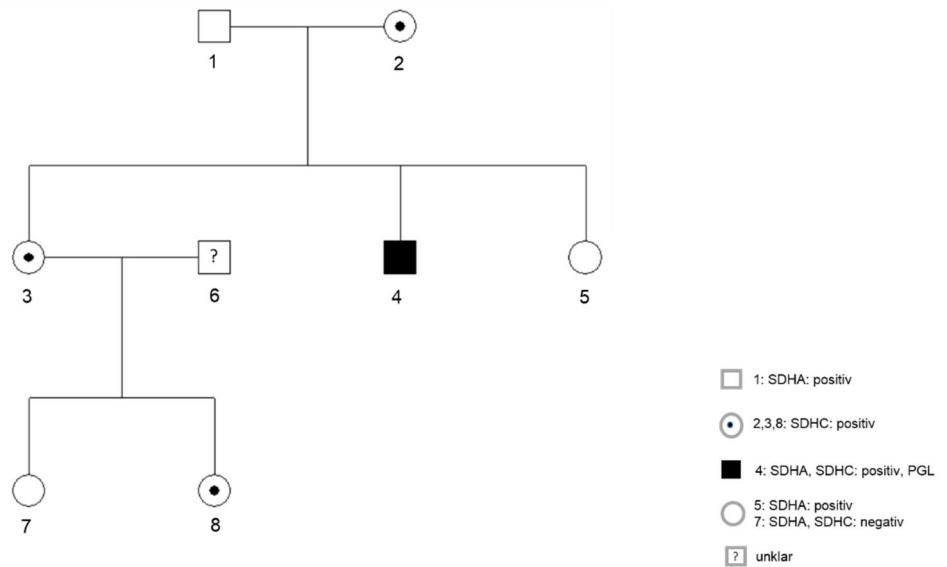


Abbildung 15: Stammbaum der Familie 2 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHC:c.25G>A,p.Val9Ile,het.

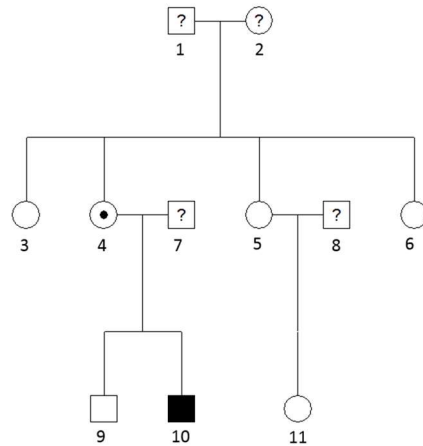
In der Familie 2 (Abbildung 15) ist Patient 4 der Indexpatient und an einem Glomus jugulare Tumor links erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 3: SDHB:c.268G>A

Familie 3

Erkrankung: malignes Phäo

Mutation: SDHB:c.268G>A,p.Arg90*,het.
 RET:c.2556C>G,p.Ile852Met,het.
 EGLN1:c.471C>G,p.Gln157His,hom.
 RET:c.166C>A,p.Leu56Met,het.
 NF1:c.7595C>T,p.Ala2532Val,het.



- ? ? unklar
- 3: RET (Leu56Met): positiv
- 5:SDHB, RET (Leu56Met): positiv
- 6,11: alle negativ
- 4: SDHB, RET (Ile852Met): NF1 positiv
- 9: RET (Ile852Met): positiv
- 10: SDHB, RET (Ile852Met),EGLN1: positiv, Phäo

Abbildung 16: Stammbaum der Familie 3 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB:c.268G>A,p.Arg90*,het.

In der Familie 3 (Abbildung 16) ist Patient 10 der Indexpatient und an einem malignem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 4: SDHB:c.689C>A

Familie 4

Erkrankung: malignes PGL

Mutation: VHL:c.241C>T,p.Pro81Ser,het.

SDHB:c.689C>A,p.Arg230Leu,het.

NF1:c.4187G>A,p.Arg1396His,het.

MAX: c.483+7G>A,het.

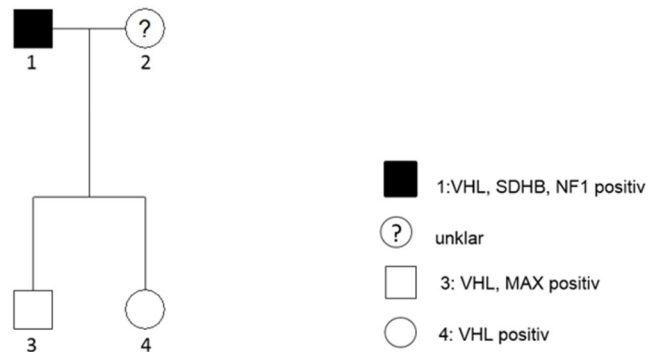


Abbildung 17: Stammbaum der Familie 4 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB:c.689C>A,p.Arg230Leu,het.

In der Familie 4 (Abbildung 17) ist Patient 1 der Indexpatient und an einem malignem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 5: RET:c.2370G>C

Familie 5

Erkrankung: medulläres Schilddrüsenkarzinom

Mutation: NF1:c.8041A>G,p.Ile268Val,het.

RET:c.2370G>C,p.Leu790Phe,het.

TMEM127:c.23C>T,p.Gly8Glu,het.

SDHB:c.487A>G,p.Ser163Pro,het.

EGLN2:c.1-175A>G,het.

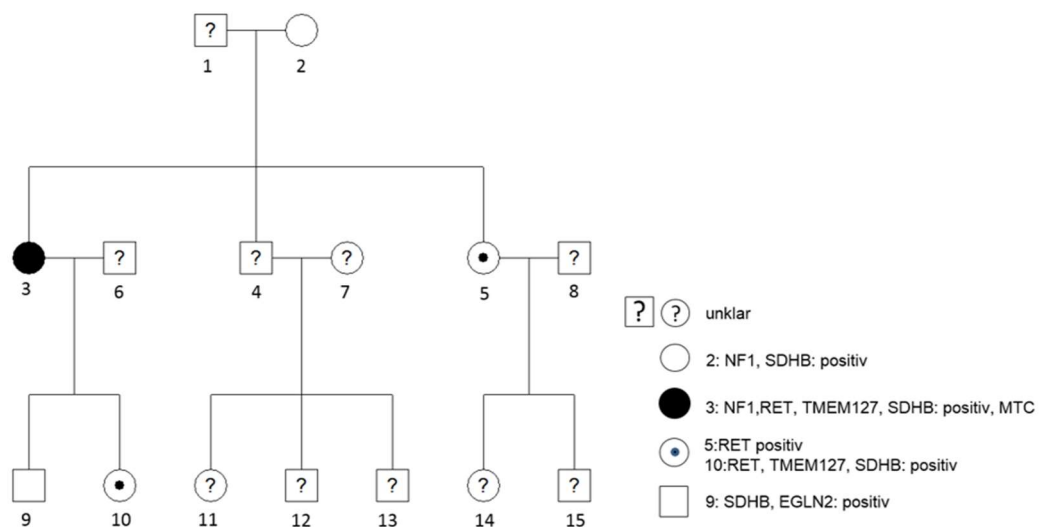


Abbildung 18: Stammbaum der Familie 5 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation RET:c.2370G>C,p.Leu790Phe,het.

In der Familie 5 (Abbildung 18) ist Patient 3 der Indexpatient und an einem medullärem Schilddrüsenkarzinom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 7: SDHB:c.260A>G

Familie 7

Erkrankung: Glomus jugulare

Mutation: SDHB:c.260A>G,p.Leu87Ser,het.

EGLN2:c.1169-20C>T,het.

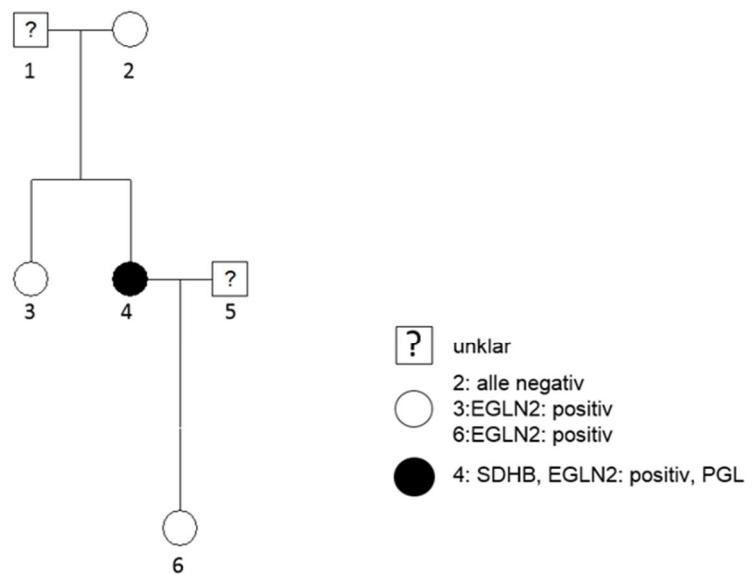


Abbildung 19: Stammbaum der Familie 7 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB:c.260A>G,p.Leu87Ser,het.

In der Familie 7 (Abbildung 19) ist Patient 4 der Indexpatient und an einem Glomus jugulare Tumor erkrankt ist. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 8: RET:c.1900T>C

Familie 8

Erkrankung: Phäo

Mutation: RET:c.1900,p.Cys634Arg,het.
TMEM127:c.409+7G>A,het.

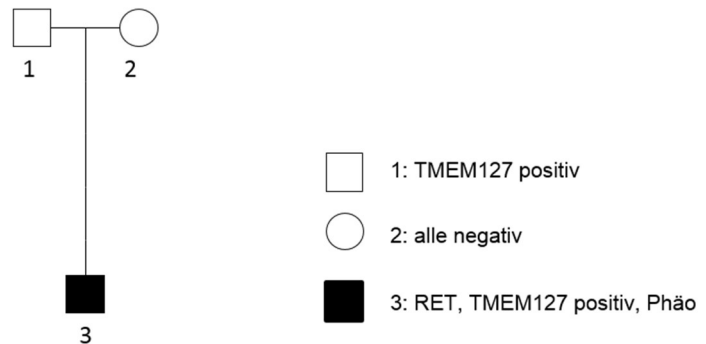


Abbildung 20: Stammbaum der Familie 8 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation RET:c.1900T>C,p.Cys634Arg,het.

In der Familie 8 (Abbildung 20) ist Patient 3 der Indexpatient und an einem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 13: SDHB:c.575C>T

Familie 13

Erkrankung: **Glomus tympanicum links**

Mutation: SDHB:c.575C>T,p.Cys192Tyr,het.

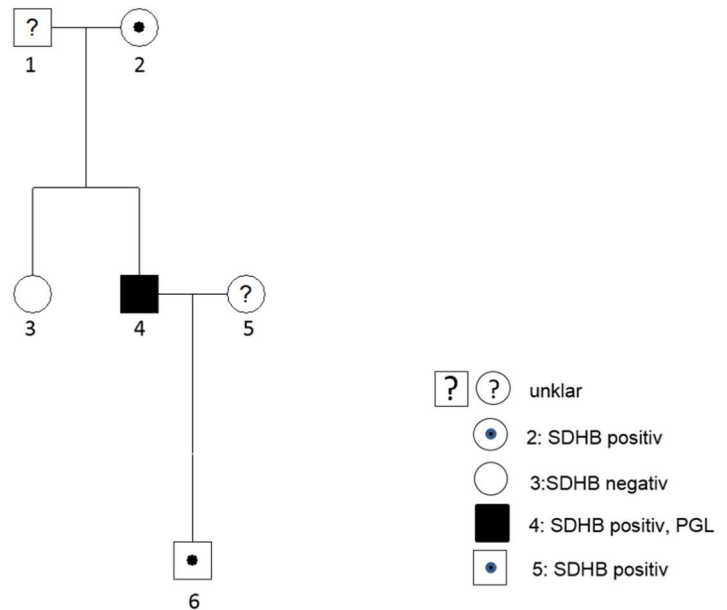


Abbildung 21: Stammbaum der Familie 13 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB:c.575C>T,p.Cys192Tyr,het.

In der Familie 13 (Abbildung 21) ist Patient 4 der Indexpatient und an einem Glomus tympanicum Tumor links erkrankt ist. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 14: MEN1:c.249_252delGTCT

Familie 14

Erkrankung: pHPT, multiple endokrine Tumore

Mutation: MEN1:c.249_252delGTCT,p.Ile85Serfs*33,het.

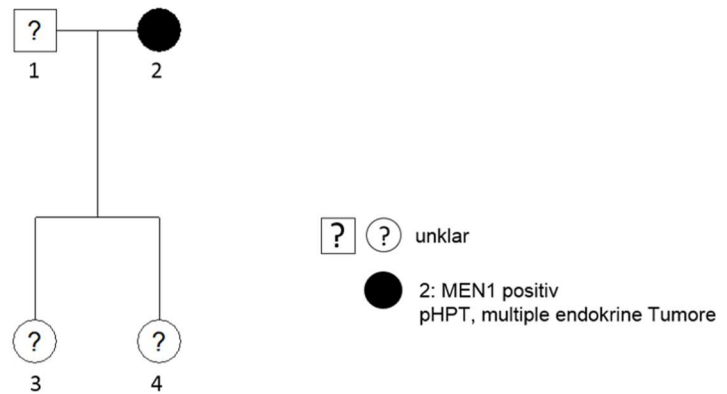


Abbildung 22: Stammbaum der Familie 14 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation MEN1:c.249_252delGTCT,p.Ile85Serfs*33,het.

In der Familie 14 (Abbildung 22) ist Patient 2 der Indexpatient und an einem primären Hyperparatyreoidismus erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 15: SDHD:c.1A>G

Familie 15
Erkrankung: multiple, maligne PGLs
Mutation: SDHD:c.1A>G,p.Met1Val,het.
SDHA:c.1551+16C>T,het.

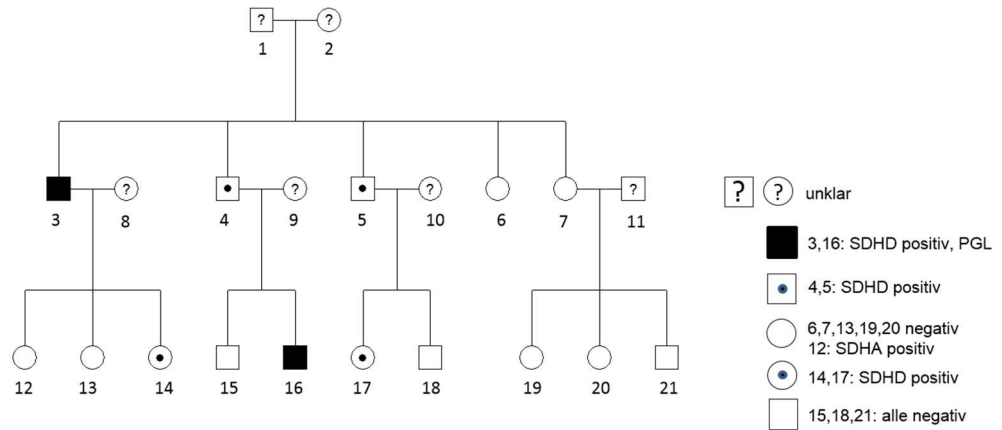


Abbildung 23: Stammbaum der Familie 15 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.1A>G,p.Met1Val,het.

In der Familie 15 (Abbildung 23) sind Patient 3 und 16 an multiple, maligne Paragangliome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 16: SDHB:c.260A>G

Familie 16
Erkrankung: Phäo
Mutation: SDHB:c.260A>G,p.Leu87Ser,het.

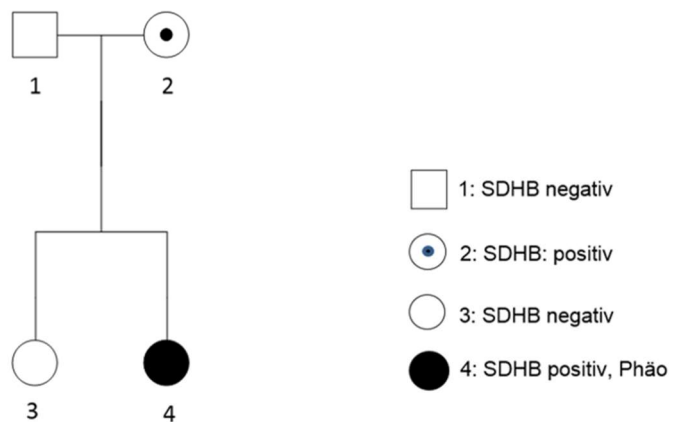


Abbildung 24: Stammbaum der Familie 16 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB:c.260A>G,p.Leu87Ser,het.

In der Familie 16 (Abbildung 24) ist Patient 4 an einem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 18: SDHD:c.408delT

Familie 18

Erkrankung: multiple, maligne Phäo

Mutation: SDHD:c.408delT,p.Phe136Leufs*32,het.

SDHB:c.487A>G,p.Ser163Pro,het.

RET:c.1-132G>T,het.

VHL:c.463+12T>C,het.

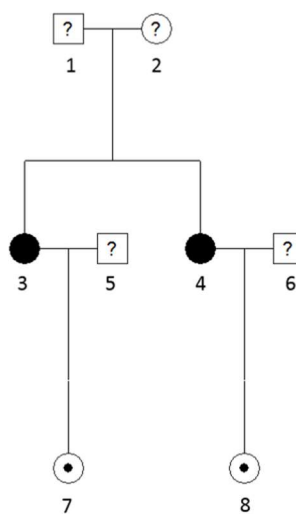


Abbildung 25: Stammbaum der Familie 18 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.408delT,p.Phe136Leufs*32,het.

In der Familie 18 (Abbildung 25) sind Patient 3 und 4 an multiple, maligne Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 19: SDHD:c.52+1G>T

Familie 19
Erkrankung: Phäo
Mutation: SDHD:c.52+1G>T,het.

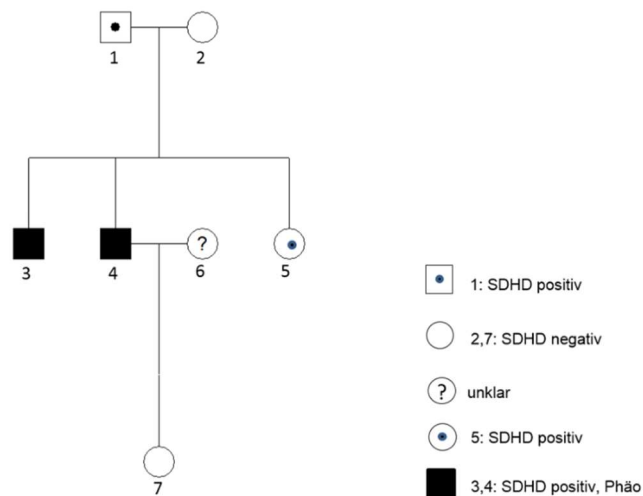


Abbildung 26: Stammbaum der Familie 19 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.52+1G>T,het.

In der Familie 19 (Abbildung 26) sind Patient 3 und 4 an multiple, maligne Phäochromozytome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 20: SDHB:große Deletion von Exon 2-8

Familie 20

Erkrankung: multiple PGLs

Mutation: KIF1B:c.5313+281_5313+284delTACA,het.

EPAS1:c.1104G>A,p.Met368Ile,het.

SDHB: große Deletion von Exon 2-8,het.

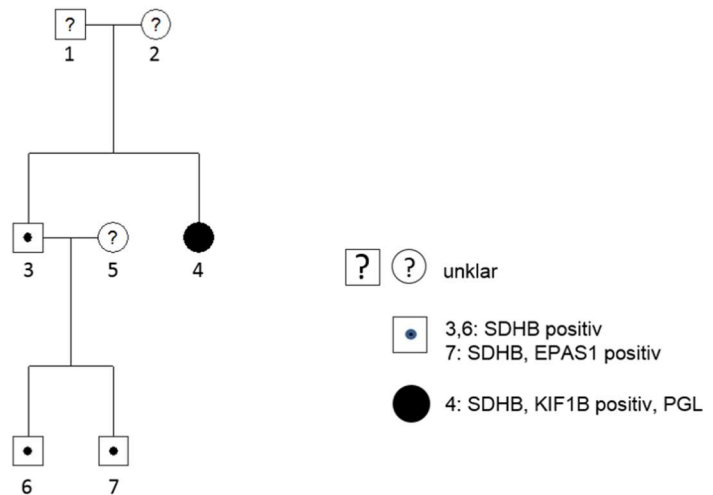


Abbildung 27: Stammbaum der Familie 20 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB: große Deletion von Exon 2-8,het.

In der Familie 20 (Abbildung 27) ist Patient 4 an multiple Paragangliome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 21: SDHD:c.370delG

Familie 21

Erkrankung: multiple PGLs

Mutation: SDHD:c.370delG,p.Ala124Profs*11,het.

VHL:c.642+1A>C,3'UTR,het.

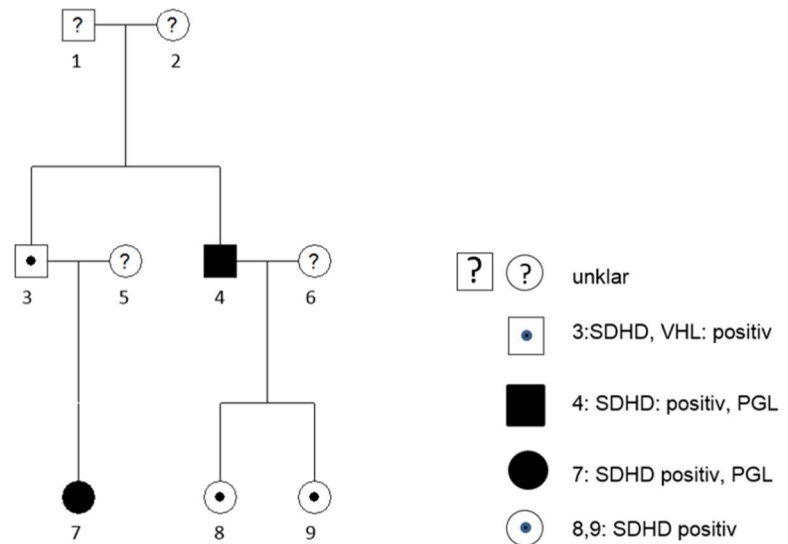


Abbildung 28: Stammbaum der Familie 21 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.370delG,p.Ala124Profs*11,het.

In der Familie 21 (Abbildung 28) sind Patient 4 und 7 an multiple Paragangliome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 22: SDHB: Deletion von Exon 2-8

Familie 22
Erkrankung: Phäo
Mutation: SDHB: Deletion von Exon 2-8,het.

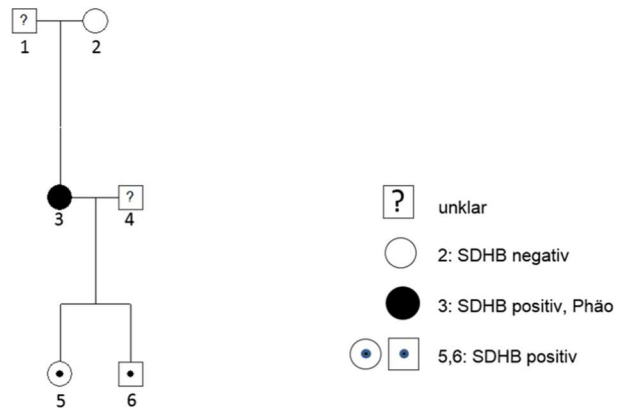


Abbildung 29: Stammbaum der Familie 22 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB: Deletion von Exon 2-8,het.

In der Familie 22 (Abbildung 29) ist Patient 3 an einem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 23: SDHD:c.91_92delAT

Familie: 23

Erkrankung: multiple PGLs

Mutation: SDHD:c.91_92delAT,p.Ile31Leu,het.

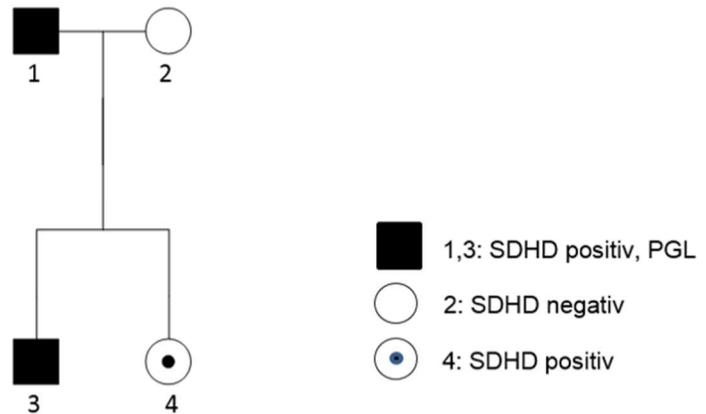


Abbildung 30: Stammbaum der Familie 23 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.91_92delAT,p.Ile31Leu,het.

In der Familie 23 (Abbildung 30) sind Patient 1 und 3 an multiple Paragangliome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 24: SDHD:c.14G>A

Familie 24

Erkrankung: PGL

Mutation: SDHD:c.14G>A,p.Trp5*,het.

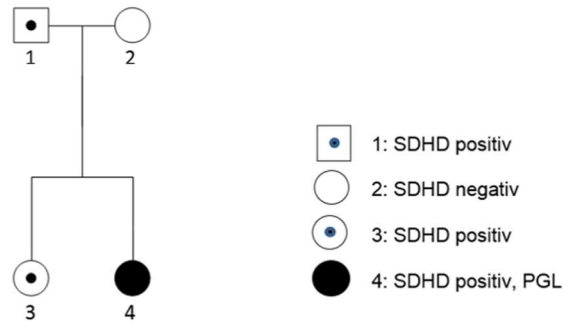


Abbildung 31: Stammbaum der Familie 24 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.14G>A,p.Trp5*,het.

In der Familie 24 (Abbildung 31) ist Patient 4 an einem Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 25: SDHD:c.14G>A

Familie 25

Erkrankung: PGL

Mutation: SDHD:c.14G>A,p.Trp*,het.

SDHA:c.1-81C>T,heterozyot

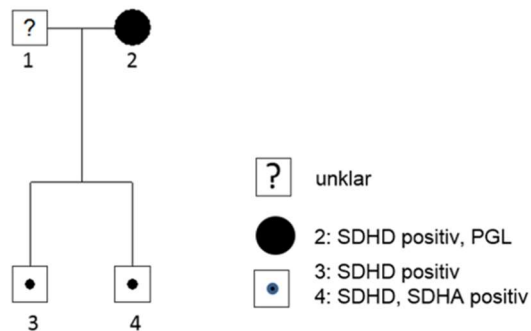


Abbildung 32: Stammbaum der Familie 25 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.14G>A,p.Trp*,het.

In der Familie 25 (Abbildung 32) ist Patient 2 an einem Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 26: SDHD:c.370delG

Familie 26
Erkrankung: PGL
Mutation: SDHD:c.370delG,p.Ala124Pro,het.

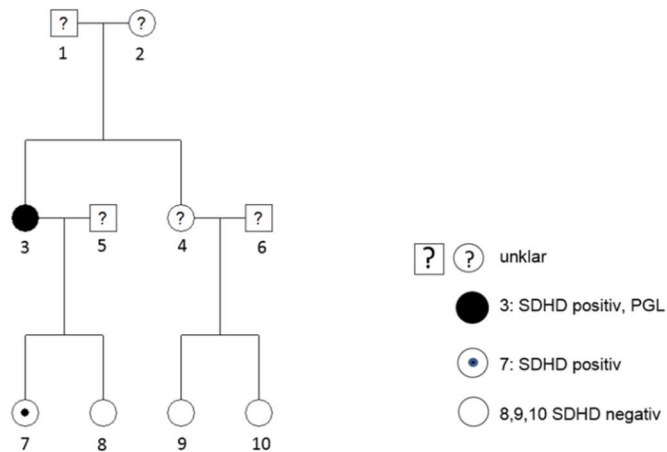


Abbildung 33: Stammbaum der Familie 26 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.370delG,p.Ala124Pro,het.

In der Familie 26 (Abbildung 33) ist Patient 3 an einem Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 27: SDHB:c.268G>A

Familie 27

Erkrankung: malignes PGL

Mutation: SDHB:c.268G>A,p.Arg90*,het.



Abbildung 34: Stammbaum der Familie 27 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHB:c.268G>A,p.Arg*,het.

In der Familie 27 (Abbildung 34) ist Patient 3 an einem malignen Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 28: VHL:c.292T>C

Familie 28

Erkrankung: Phäo bds.

Mutation: VHL:c.292T>C,p.Tyr98His,heter.

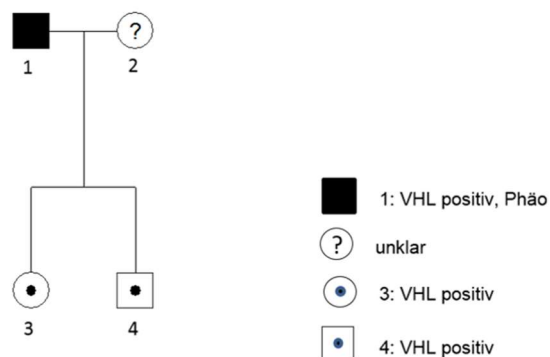


Abbildung 35: Stammbaum der Familie 28 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation VHL:c.292T>C,p.Tyr98His,heter.

In der Familie 28 (Abbildung 35) ist Patient 1 an beidseitigem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 29: SDHC:c.397C>T

Familie 29

Erkrankung: multiple PGLs

Mutation: SDHC:c.397C>T,p.Arg133*,het.
 EGLN1:c.763T>C,p.Lys255Glu,het.
 RET:c.2372A>T,p.Tyr791Phe,het.

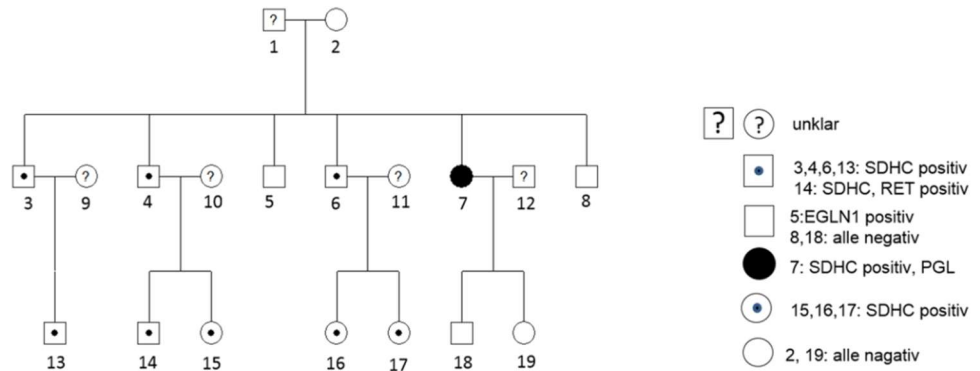


Abbildung 36: Stammbaum der Familie 29 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHC:c.397C>T,p.Arg133*,het.

In der Familie 29 (Abbildung 36) ist Patient 7 an multiple Paragangliome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 30: SDHB: Deletion von Exon 2-8

Familie 30

Erkrankung: maligne multiple PGLs

Mutation: SDHB: Deletion von Exon 2-8,het.

SDHC:c.510+84G>C,het.

EPAS1:c.1104G>A,p.Met368Ile,het.

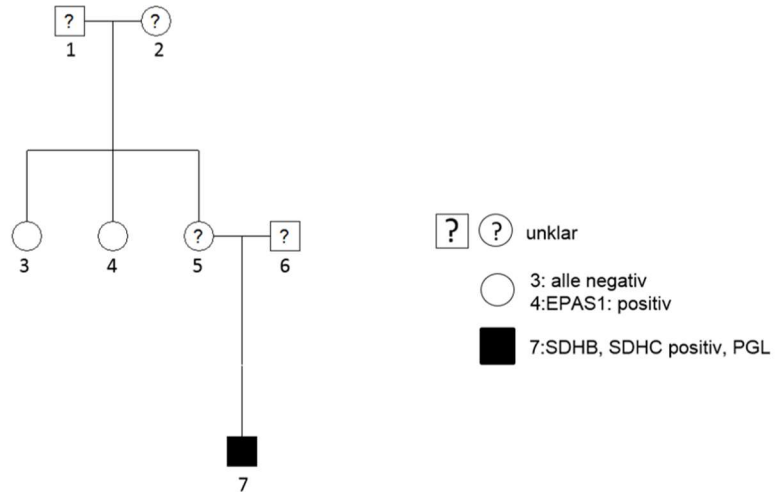


Abbildung 37: Stammbaum der Familie 30 mit den krankheitsverursachenden Mutationen SDHB: Deletion von Exon 2-8,het.

In der Familie 30 (Abbildung 37) ist Patient 7 an multiple, maligne Paragangliome erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 31: RET:c.1900T>C

Familie 31

Erkrankung: pHPT, MTC, Phäochromozytom bds.

Mutation: RET:c.1900T>C,p.Cys634Arg,het.

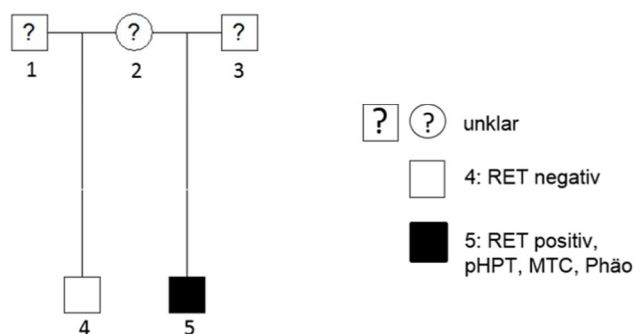


Abbildung 38: Stammbaum der Familie 31 mit der krankheitsverursachenden Mutation RET:c.1900T>C,p.Cys634Arg,het.

In der Familie 31 (Abbildung 38) ist Patient 5 an primären Hyperparathyreodismus, medullärem Schilddrüsenkarzinom und an beidseitigem Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 32: SDHD: Deletion von Exon 1-4

Familie 32

Erkrankung: PGL

Mutation: SDHD: Deletion von Exon 1-4, het.

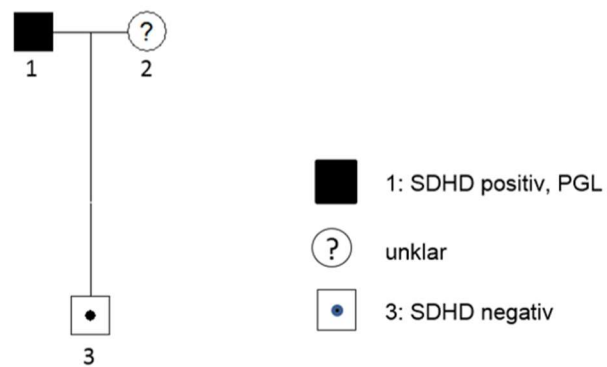


Abbildung 39: Stammbaum der Familie 32 mit der krankheitsverursachenden Mutation SDHD: Deletion von Exon 1-4,het.

In der Familie 32 (Abbildung 39) ist Patient 1 an einem Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 33:SDHD:c.33C>A

Familie 33

Erkrankung: PGL

Mutation: SDHD:c.33C>A,p.Cys11*,het.

KIF1B:c.3686C>G,p.Thr1229Arg,heter.

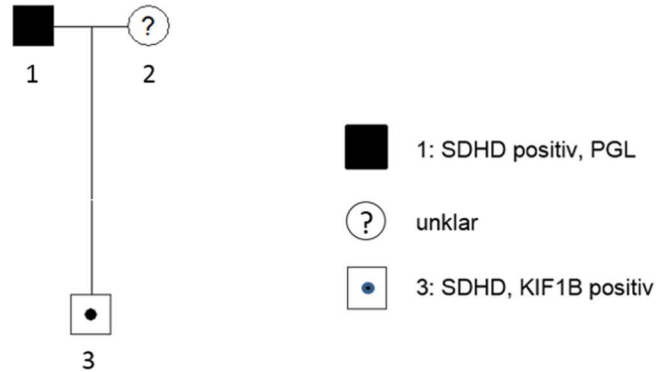


Abbildung 40: Stammbaum der Familie 33 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.33C>A,p.Cys11*,het.

In der Familie 33 (Abbildung 40) ist Patient 1 an einem Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 35: MEN1:c.1127T>C

Familie 35

Erkrankung: MEN1

Mutation: MEN1:c.1127T>C,p.Leu376Pro,heter.

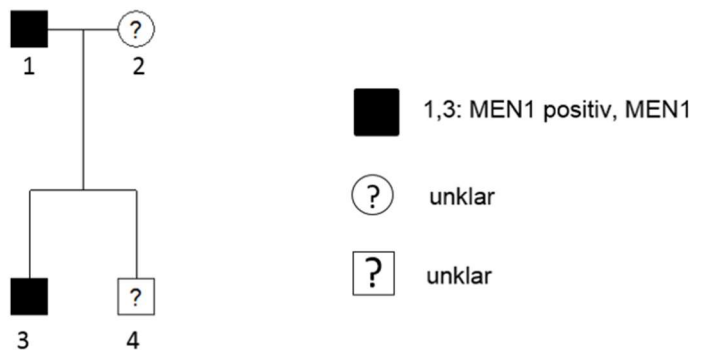


Abbildung 41: Stammbaum der Familie 35 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation MEN1:c.1127T>C,p.Leu376Pro,heter.

In der Familie 35 (Abbildung 41) sind Patient 1 und 3 am MEN1 erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 36: VHL:c.496G>T

Familie 36

Erkrankung: Phäo bds., Hämangiom der Retina

Mutation: VHL:c.496G>T,p.Val166Phe,het.

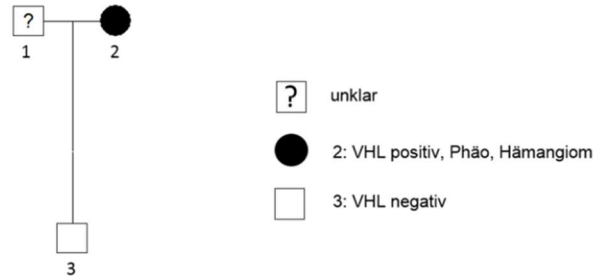


Abbildung 42: Stammbaum der Familie 36 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation VHL:c.496G>T,p.Val166Phe,het.

In der Familie 36 (Abbildung 42) ist Patient 2 an beidseitigem Phäochromozytom und an einem Hämangiom der Retina erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 37: VHL:c.1-73C>T

Familie 37
Erkrankung: Phäo
 Mutation: KIF1B:c.3121+9A>G,het.
 VHL:c.1-73C>T,het.



Abbildung 43: Stammbaum der Familie 37 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation VHL:c.1-73C>T,het

In der Familie 37 (Abbildung 43) ist Patient 3 an Phäochromozytom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 39: VHL:c.240T>G

Familie 39
Erkrankung: Nierenzellkarzinom, Hämangioblastom
 Mutation: VHL:c.240T>G,p.Ser80Arg,het.
 EGLN1:c.558C>G,p.Lys186Asn,het.

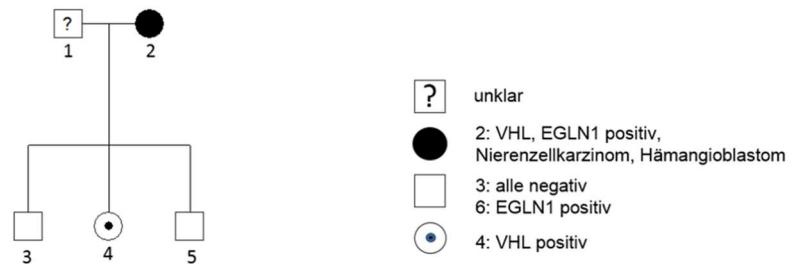


Abbildung 44: Stammbaum der Familie 39 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation VHL:c.240T>G,p.Ser80Arg,het.

In der Familie 39 (Abbildung 44) ist Patient 3 am Nierenzellkarzinom und Hämangioblastom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 41: SDHD:c.2T>C

Familie 41

Erkrankung: Glomus caroticum rechts

Mutation: SDHD:c.2T>C,p.Met1Thr,het.

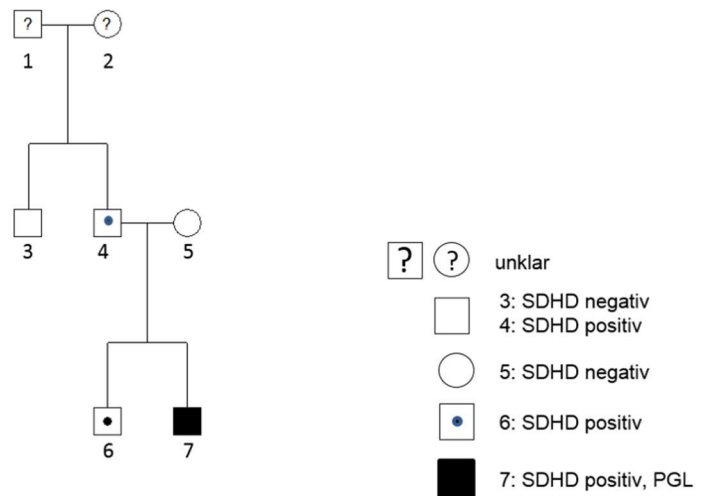


Abbildung 45: Stammbaum der Familie 41 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.2T>C,p.Met1Thr,het.

In der Familie 41 (Abbildung 45) ist Patient 7 an einem Glomus caroticum Tumor rechts erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 43: SDHD:c.14G>A

Familie 43

Erkrankung: PGL

Mutation: SDHD:c.14G>A,p.Trp5*,het.

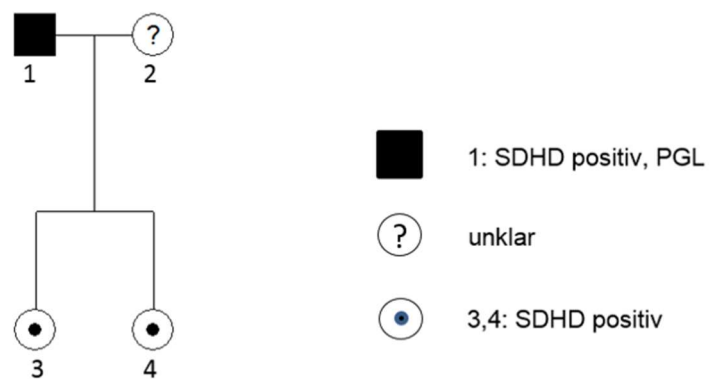


Abbildung 46: Stammbaum der Familie 43 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.14G>A,p.Trp5*,het

In der Familie 43 (Abbildung 46) ist Patient 1 an einem Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Familie 44: SDHC:c.397C>T

Familie 44
Erkrankung: malignes PGL
Mutation: SDHC:c.397C>T,p.Arg133*,het.

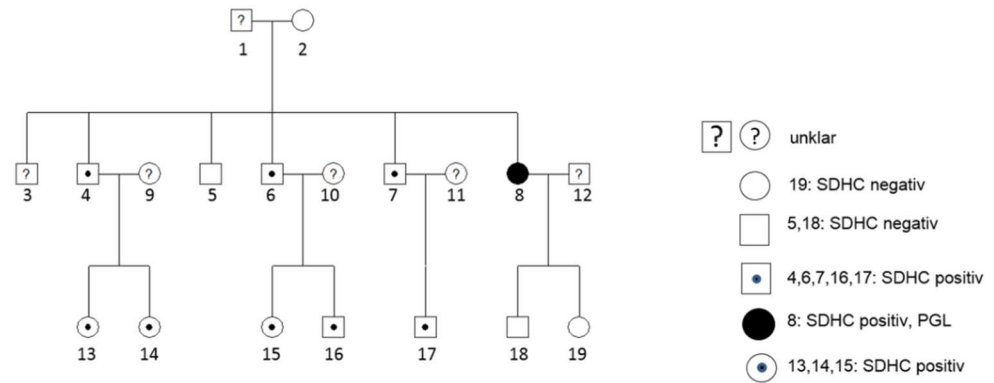


Abbildung 47: Stammbaum der Familie 44 mit der ursächlich eingeschätzten krankheitsverursachenden Mutation SDHD:c.14G>A,p.Trp5*,het

In der Familie 44 (Abbildung 47) ist Patient 8 an einem malignen Paragangliom erkrankt. Der Stammbaum spricht nicht gegen die definierte krankheitsverursachende Mutation.

Folglich haben die Segregationsanalysen für keinen einzigen Fall einen Ausschluss der Pathogenität der vermutlich ursächlichen Mutation erbracht.

4.3 Auswertung der Familienanalysen

Im Rahmen der Abschluss – Bewertung werden 42 der insgesamt 44 Indexpatienten (zwei MEN1 Patienten werden nicht betrachtet, da sie als negativ – Kontrollen für NGS dienen) im untersuchten Kollektiv hinsichtlich ihrer Tumorerkrankung, der vorliegenden Syndrome und der für den jeweiligen Tumor krankheitsverursachenden genetischen Varianten näher betrachtet und die Verteilung anhand von Tortendiagrammen und Boxplots dargestellt.

Unter den 42 Indexpatienten sind insgesamt 22 Frauen und 20 Männer. Im Schnitt sind die Patienten 38,5 Jahre alt, mit einer berechneten Standardabweichung von 13,3 Jahren. Der älteste Patient ist 65 Jahre und der jüngste Patient 11 Jahre alt.

Es sind 26 Patienten (61,9%) am Paragangliom, 7 Patienten (16,7%) am Phäochromozytom und 1 Patient (2,4%) am Phäochromozytom und Hämangiom erkrankt. Zudem sind als drittgrößte Gruppe insgesamt 4 Patienten (9,5%) am medullären Schilddrüsenkarzinom (MTC) erkrankt, gefolgt von 2 Patienten (4,8%) mit Hämangioblastom und Nierenzellkarzinom. Jeweils 1 Patient (2,4%) ist am MTC, Phäochromozytom und primären Hyperparathyreoidismus (pHPT) und 1 Patient (2,4%) am MTC und Phäochromozytom erkrankt.

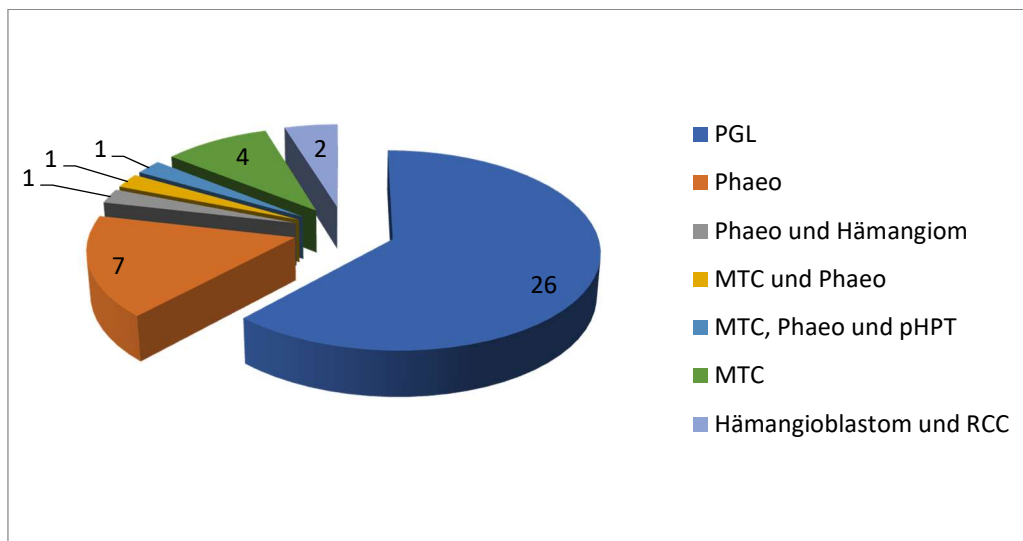


Abb. 48: Tumorerkrankungen im untersuchten Kollektiv von 42 Patienten (n=42)

Im Rahmen der weiteren Analyse, werden in dem untersuchten Kollektiv die Patienten mit hereditärem Paragangliom, Phäochromozytom oder einem Tumor – Syndrom (MEN2, VHL), das potenziell auch mit diesen Tumor – Entitäten einhergeht, eruiert.

Unter den 42 Patienten weisen 14 Patienten (33,3%) ein PGL1 – Syndrom (bedingt durch SDHD – Mutation), 5 Patienten (11,9%) ein PGL3 – Syndrom (bedingt durch SDHC – Mutation) und 10 Patienten (23,8%) ein PGL4 – Syndrom (bedingt durch SDHB – Mutation) auf. Lediglich 2 Patienten (4,8%) haben ein Phäo – Syndrom im Rahmen einer TMEM127 – Mutation. Zudem weisen 6 Patienten (14,3%) ein VHL – Syndrom und 5 Patienten (11,9%) ein MEN2A – Syndrom auf.

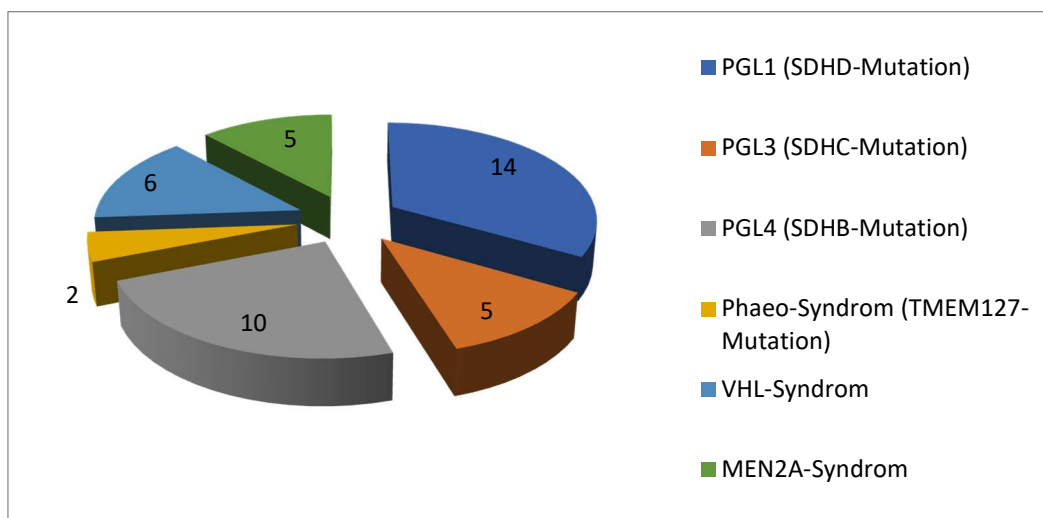


Abb. 49: Patienten mit hereditärem PGL, Phäo oder einem Tumor – Syndrom (MEN2, VHL), das potenziell auch mit diesen Tumor – Entitäten einhergeht (n=42)

Abschließend werden die krankheitsverursachenden genetischen Varianten für Paragangliom und Phäochromozytom hinsichtlich ihres Vorkommens im Kollektiv betrachtet.

Unter den 26 Patienten, die an einem Paragangliom erkrankt sind, weisen 8 Patienten eine Mutation im SDHB – Gen, 5 Patienten im SDHC – Gen und 13 Patienten im SDHD – Gen auf. Es wurden im untersuchten Kollektiv mit PGL keine Mutationen in den Genen RET, TMEM127 und VHL detektiert.

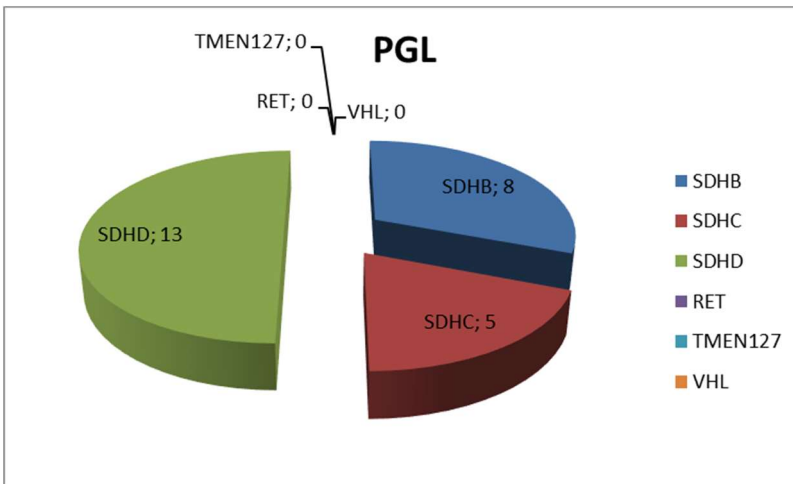


Abb. 50: Verteilung der Paragangliom verursachenden Gene im Kollektiv (n=26)

Unter den insgesamt 10 Patienten, die an einem Phäochromozytom erkrankt sind, haben 2 Patienten eine Mutation im SDHB – Gen und 1 Patient im SDHD – Gen. Darüber hinaus weisen 2 Patienten eine Mutation im RET – Gen auf und 1 Patient eine Mutation im TMEM127 – Gen. Weitere 4 Patienten mit Phäochromozytom weisen eine VHL – Mutation auf, wobei 1 Patient eine „Variante unklarer Signifikanz“ (VUS) trägt.

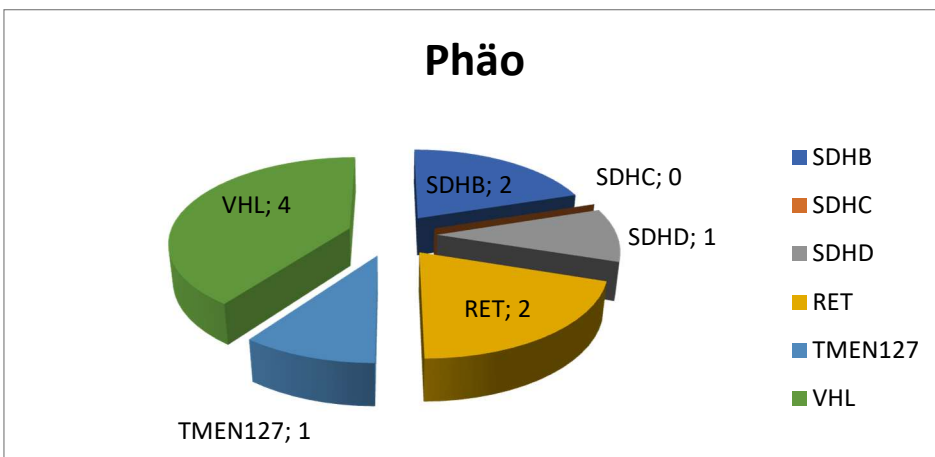


Abb. 51: Verteilung der Phäochromozytom verursachenden Gene im Kollektiv (n=10)

Zusammenfassend ist festzustellen, dass im untersuchten Kollektiv von 42 Indexpatienten das Paragangliom mit 26 erkrankten (61,9%) Patienten am häufigsten vorkommt, gefolgt vom Phäochromozytom mit 10 erkrankten Patienten (23,9%). Im PGL – Kollektiv stellen SDHD – Mutationen mit 13 erkrankten Patienten die häufigste Mutation dar. Folglich kommt am häufigsten mit 33,3% der Fälle ein PGL1 – Syndrom unter den Patienten vor, gefolgt von PGL4 – Syndrom (23,8%) bedingt durch SDHB – Mutationen. Phäochromozytome kommen am häufigsten durch VHL – Mutationen vor

(bei 4 von 10 Patienten im Kollektiv), gefolgt von Mutationen im RET und SDHB mit jeweils 2 Patienten.

4.3.1 Analyse besonderer Tumormerkmale – Lokalisation

Im untersuchten Kollektiv wurden die Bewertungen der Tumorerkrankungen Paragangliom und Phäochromozytom unter Verwendung von Informationen zu Patient, Familie des Patienten und Tumor (Lokalisation, Hormonproduktion, Malignität, Anzahl der Tumore, ggf. LOH) systematisch vorgenommen und im Folgenden tabellarisch und mit Hilfe von Boxplots dargestellt.

Paragangliom – Patienten:

Von insgesamt 26 Paragangliom – Patienten, weisen 12 Patienten (46,2%) den Tumor im Kopf- / Halsbereich, 2 Patienten (7,7%) im Kopf- / Halsbereich und Thorax und 1 Patient (3,8%) im Kopf- / Halsbereich, Thorax und Nebenniere auf. Weitere Lokalisationen sind jeweils bei 1 Patienten (3,8%) im Thorax und bei 1 Patienten (3,8%) im Thorax und Abdomen. Zudem weist 1 weiterer Patient (3,8%) ein extra – adrenales, hormonproduzierendes PGL auf und bei 8 Patienten mit PGL ist die genaue Tumorlokalisierung unbekannt (30,8%).

Tab. 3: Lokalisation der Paragangliome im Kollektiv

Lokalisation der PGLs								
	Zahl	Kopf/ Hals	Kopf/ Hals und Thorax	Kopf/Hals, Thorax (und NN)	Thorax	Thorax und Abdomen	Extraadrenal, Hormon- produzierend	dem Labor unbekannt
Alle PGLs (n)	26	12	2	1	1	1	1	8
Alle PGLs [%]	100,0	46,2	7,7	3,8	3,8	3,8	3,8	30,8

Darüber hinaus wird die Lokalisation des Paraganglioms entsprechend dem betroffenen Gen im SDHB, SDHC und SDHD betrachtet. Im beschriebenen Kollektiv wurden unter den 26 PGL – Patienten insgesamt 8 verschiedene SDHB – Mutationen, 5 verschiedene SDHC – Mutationen und 13 verschiedene SDHD – Mutationen detektiert.

Unter den 8 Patienten mit einer SDHB – Mutation haben 3 Patienten (37,5%) den Tumor im Kopf- / Halsbereich, 1 Patient (12,5%) eine Lokalisation des PGLs im Kopf- / Halsbereich und Thorax, 1 weiterer Patient (12,5%) ein extra – adrenales, hormonproduzierendes PGL und bei 3 Patienten (37,5%) mit SDHB – Mutation ist die genaue Lokalisation entsprechend dem betroffenen Gen unbekannt. Unter den 5 Patienten mit einer SDHC – Mutation weisen 2 Patienten (40%) den Tumor im Kopf- / Halsbereich und 1 Patient (20%) im Thorax auf. Bei weiteren 2 Patienten (40%) ist die Lokalisation entsprechend dem betroffenen Gen unbekannt. Unter den 13 Patienten mit SDHD – Mutation haben 7 Patienten (53,8%) den Tumor im Kopf- / Halsbereich, 1 Patient (7,7%) im Kopf- / Halsbereich und Thorax und 1 Patient (7,7%) im Kopf- / Halsbereich, Thorax und Nebenniere. Zudem hat 1 Patient (7,7%) das PGL im Thorax und Abdomen und bei 3 Patienten (23,1%) ist die Lokalisation entsprechend dem betroffenen Gen unbekannt.

Tab. 4: Lokalisation entsprechend dem betroffenen Gen SDHB, SDHC und SDHD

Lokalisation entsprechend dem Gen								
	Zahl	Kopf/ Hals	Kopf/ Hals und Thorax	Kopf/Hals, Thorax (und NN)	Thorax	Thorax und Abdomen	Extraadrenal, Hormon- produzierend	dem Labor unbekannt
SDHB (n)	8	3	1	0	0	0	1	3
SDHB [%]	100,0	37,5	12,5	0	0	0	12,5	37,5
SDHC (n)	5	2	0	0	1	0	0	2
SDHC [%]	100	40	0	0	20	0	0	40
SDHD (n)	13	7	1	1	0	1	0	3
SDHD [%]	100	53,8	7,7	7,7	0,0	7,7	0,0	23,1

Phäochromozytom – Patienten:

Bei allen 10 Patienten, die an einem Phäochromozytom erkrankt sind, liegt der Tumor im Nebennierenmark.

4.3.2 Analyse besonderer Tumormerkmale – Hormonproduktion

Paragangliom – Patienten:

Unter den insgesamt 26 Patienten, die an einem Paragangliom erkrankt sind, weist lediglich 1 Patient (3,8%) mit einer Mutation im SDHB – Gen (1 Patient von 8 Patienten mit SDHB – Mutation, 12,5%) eine bekannte Hormonproduktion auf. Bei 22 Patienten (84,6%) produziert das PGL kein Hormon. Unter ihnen sind 6 SDHB – (75%), 5 SDHC – (100%) und 11 SDHD – Mutationsträger (84,6%). Bei 3 Patienten (11,5%) ist eine Hormonproduktion unbekannt. Darunter weist 1 Patient (12,5%) eine SDHB – Mutation und 2 Patienten (15,4%) SDHD – Mutationen auf.

Tab. 5: Hormonproduktion der Paragangliome im Kollektiv

Hormonproduktion der PGLs				
	Zahl	ja	nein	Unbekannt
Alle PGLs (n)	26	1	22	3
Alle PGLs [%]	100,0	3,8	84,6	11,5
Hormonproduktion entsprechend dem betroffenen Gen				
SDHB (n)	8	1	6	1
SDHB [%]	100,0	12,5	75,0	12,5
SDHC (n)	5	0	5	0
SDHC [%]	100,0	0,0	100,0	0,0
SDHD (n)	13	0	11	2
SDHD [%]	100,0	0,0	84,6	15,4

Phäochromozytom – Patienten:

Bei allen 10 Patienten produziert das Phäochromozytom die Katecholamine Adrenalin, Noradrenalin und Metanephrine. Es gibt jedoch zu wenig Daten, um sinnvoll zwischen Adrenalin – und Noradrenalin – produzierenden Phäochromozytomen unterscheiden zu können.

4.3.3 Analyse besonderer Tumormerkmale – Malignität

Paragangliom – Patienten:

Von den 26 Paragangliom – Patienten haben 19 Patienten (73,1%) einen benignen und 7 Patienten (26,9%) einen malignen Tumor. Unter den 19 benignen Tumorerkrankungen weisen 4 Patienten eine Mutation im SDHB – Gen (50% aller

SDHB – Mutationen), 4 Patienten im SDHC – Gen (80% aller SDHC – Mutationen) und 11 Patienten im SDHD – Gen (84,6% aller SDHD – Mutationen) auf. Unter den 7 malignen PGLs tragen 4 Patienten eine SDHB – Mutation (50% aller SDHB – Mutationen), 1 Patient eine SDHC – Mutation (20% aller SDHC – Mutationen) und 2 Patienten eine SDHD – Mutation (15,4% aller SDHD – Mutationen).

Tab. 6: Malignität der Paragangliome im Kollektiv

Malignität der PGLs				
	Zahl	benigne	maligne	Unbekannt
Alle PGLs (n)	26	19	7	0
Alle PGLs [%]	100,0	73,1	26,9	0,0
Malignität entsprechend dem betroffenen Gen				
SDHB (n)	8	4	4	0
SDHB [%]	100,0	50,0	50,0	0,0
SDHC (n)	5	4	1	0
SDHC [%]	100,0	80,0	20,0	0,0
SDHD (n)	13	11	2	0
SDHD [%]	100,0	84,6	15,4	0,0

Phäochromozytom – Patienten:

Im untersuchten Kollektiv wurden insgesamt 10 Patienten mit Phäochromozytom detektiert. Darunter weisen 8 Patienten (80%) einen benignen Tumor und 2 Patienten (20%) einen malignen Tumor auf.

Tab. 7: Malignität der Phäochromozytome im Kollektiv

Malignität der Phaeos				
	Zahl	benigne	maligne	Unbekannt
Alle Phaeos (n)	10	8	2	0
Alle Phaeos [%]	100,0	80,0	20,0	0,0

4.3.4 Analyse besonderer Tumormerkmale – Anzahl der Tumore

Paragangliom – Patienten:

Von den 26 Patienten mit Paragangliom tragen 7 Patienten (26,9%) nur ein einziges Paragangliom. Darunter weisen 3 Patienten eine SDHB – Mutation (37,5% aller SDHB – Mutationen), 3 Patienten eine SDHC – Mutation (60% aller SDHC – Mutationen) und 1 Patient eine SDHD – Mutation (7,7% aller SDHD – Mutationen) auf. Bei 14 Patienten (53,8%) sind zwei oder multiple Paragangliome bekannt. 2 Patienten mit Mutationen im SDHB – Gen (25% aller SDHB – Mutationen), 1 Patient mit einer SDHC – Mutation (20% aller SDHC – Mutationen) und 11 Patienten mit SDHD – Mutationen (84,6% aller SDHD – Mutationen). Letztlich ist bei 5 Patienten (19,2%) die Tumoranzahl unbekannt, darunter bei 3 Patienten mit SDHB – Mutationen (37,5% aller SDHB – Mutationen), 1 Patient mit SDHC – Mutationen (20% aller SDHC – Mutationen) und 1 Patient mit SDHD – Mutationen (7,7% aller SDHD – Mutationen). Somit sind SDHD – bedingte Paragangliome häufiger multiple. Im Chi – Quadrat – Test ergibt dies $p < 0,05$ und ist somit signifikant.

Tab. 8: Anzahl der Paragangliome pro Patient im Kollektiv

Anzahl der PGLs pro Patient				
	Zahl	1 PGL	2 oder multiple PGLs	Unbekannt
Alle PGLs (n)	26	7	14	5
Alle PGLs [%]	100,0	26,9	53,8	19,2
Anzahl der PGLs pro Patient entsprechend dem betroffenen Gen				
SDHB (n)	8	3	2	3
SDHB [%]	100,0	37,5	25,0	37,5
SDHC (n)	5	3	1	1
SDHC [%]	100,0	60,0	20,0	20,0
SDHD (n)	13	1	11	1
SDHD [%]	100,0	7,7	84,6	7,7
Chi-Quadrat-Test mit $p < 0,05$ signifikant				

Phäochromozytom – Patienten:

Unter den 10 Phäochromozytom – Patienten im untersuchten Kollektiv weisen 5 Patienten (50%) ein Phäo und 5 Patienten (50%) bilaterales Phäo auf.

Tab. 9: Anzahl aller Phäochromozytome pro Patient im Kollektiv

Anzahl der Phaeos pro Patient				
	Zahl	1 Phaeo	bilaterales Phaeo	Unbekannt
Alle PGLs (n)	10	5	5	0
Alle PGLs [%]	100,0	50,0	50,0	0,0

4.3.5 Analyse besonderer Tumormerkmale – LOH im Gewebe

Paragangliom – Patienten:

Bei 7 Patienten (26,9%) mit PGL wurde ein LOH im Tumorgewebe gefunden. Dabei wurde 1 Patient mit einer SDHB – Mutation, 3 Patienten mit SDHC – Mutation und 3 Patienten mit SDHD – Mutation detektiert. Bei insgesamt 19 Patienten (73,1%) mit PGL wurde keine LOH – Analyse durchgeführt. Darunter tragen 7 Patienten SDHB – Mutationen, 2 Patienten SDHC – Mutationen und 10 Patienten SDHD – Mutationen.

Tab. 10: LOH im Paragangliom – Tumorgewebe

LOH im PGL- Gewebe				
	Zahl	ja	Nein	nicht analysiert
Alle PGLs (n)	26	7	0	19
Alle PGLs [%]	100,0	26,9	0,0	73,1
LOH im PGL-Gewebe dem betroffenen Gen				
SDHB (n)	8	1	0	7
SDHB [%]	100,0	12,5	0,0	87,5
SDHC (n)	5	3	0	2
SDHC [%]	100,0	60,0	0,0	40,0
SDHD (n)	13	3	0	10
SDHD [%]	100,0	23,1	0,0	76,9

Phäochromozytom – Patienten:

Im Rahmen der LOH – Analyse Im Tumorgewebe wurde unter den 10 Phäochromozytom Patienten bei 1 Patienten (10%) ein LOH gefunden. Bei 3 Patienten (30%) wurde kein LOH im Tumormaterial detektiert, wobei 2 Patienten eine RET – Mutation zeigten und kein LOH zu erwarten war und 1 Patient eine „Variante unklarer Signifikanz“ (VUS) im VHL – Gen aufweist. Weitere 6 Patienten (60%) wurden aufgrund fehlendem Tumormaterial nicht auf ein LOH analysiert.

Tab. 11: LOH im Phäochromozytom – Tumorgewebe

LOH im Phaeo-Gewebe				
	Zahl	Ja	nein	nicht analysiert
Alle PGLs (n)	10	1	3	6
Alle PGLs [%]	100,0	10,0	30,0	60,0

2 der 3 Patienten: RET – Mutation, kein LOH erwartet (Negativkontrollen)

1 der 3 Patienten: VUS in VHL

4.3.6 Analyse besonderer Tumormerkmale – Penetranz

Im Folgenden werden die Gene SDHB, SDHC und SDHD bezüglich ihrer Penetranz im untersuchten Kollektiv beschrieben und anhand von einem Boxplot dargestellt. Daraus ist abzuleiten, dass die Penetranz im SDHC – Gen tendenziell niedriger ist als im SDHB – und SDHD – Gen. Dabei hat SDHB die höchste Penetranz, gefolgt vom SDHD – Gen. Zudem ist ein signifikanter Unterschied zwischen SDHB und SDHC mit $p < 0,05$ im T – Test zu beobachten. Der Mittelwert liegt bei 0,6 und die Standardabweichung bei 0,3.

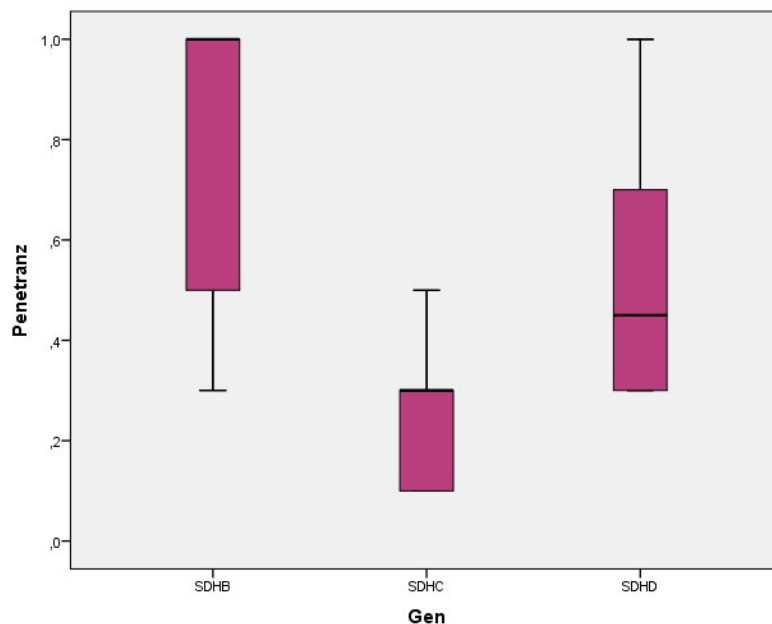


Abb. 52: Box – and – Whisker – Plot zur Penetranz von Mutationen in den Genen SDHB, SDHC und SDHD im untersuchten Kollektiv (n=42). SDHB – Mutation: 10 Indexpatienten, SDHC – Mutation: 5 Indexpatienten, SDHD – Mutation: 14 Indexpatienten.

4.3.7 Analyse besonderer Tumormerkmale – Alter bei Erstdiagnose

Anhand des dargestellten Boxplots ist zu erkennen, dass Patienten mit SDHD – Mutationen tendenziell früher erkranken, als Patienten mit SDHB – und SDHC – Mutationen. Dabei sind Patienten mit SDHC – Mutationen tendenziell am ältesten bei Erstdiagnose, gefolgt von SDHB – Mutationsträgern. Im T – Test ist keine Signifikanz zu beobachten. Der Mittelwert liegt bei 38,8 Jahren, wobei der älteste Patient 64 Jahre und der jüngste Patient 11 Jahre alt ist.

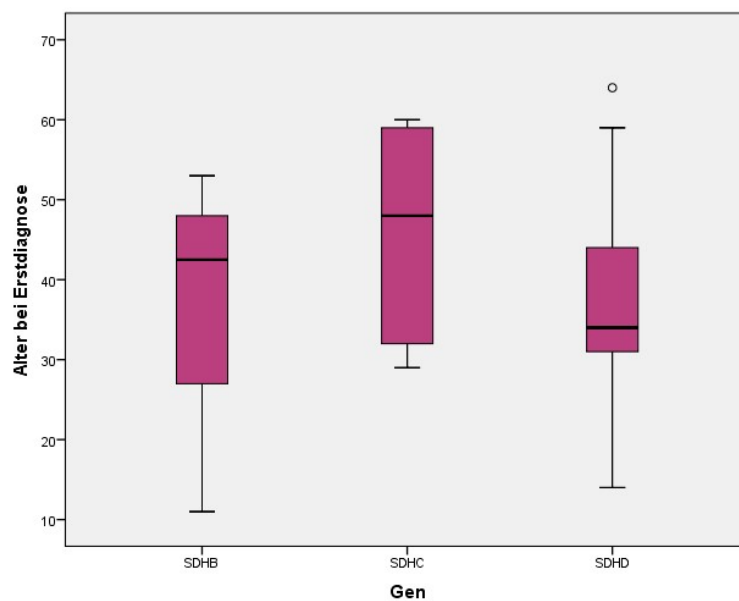


Abb. 53: Box – and – whisker – Plot zu Alter bei Erstdiagnose bei Patienten mit Mutationen in den Genen SDHB, SDHC und SDHD (n=42). SDHB – Mutation: 10 Indexpatienten, SDHC – Mutation: 5 Indexpatienten, SDHD – Mutation: 14 Indexpatienten.

4.4 Zusammenfassung der Tumormerkmale

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass die ermittelten Ergebnisse der Untersuchung im vorliegenden Kollektiv häufig Tendenzen bezüglich einzelner Tumormerkmale aufweisen. Durch die begrenzte Anzahl an Probanden ist die vorliegende Auswertung unter Vorbehalt zu werten. Anhand der Literatur konnten viele Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Insgesamt wurden 42 Indexpatienten genauer betrachtet. Es ist aufgefallen, dass das Paragangliom mit 26 erkrankten Patienten

(61,9%) am häufigsten vorkommt, gefolgt vom Phäochromozytom mit 10 erkrankten Patienten (16,7%).

Dabei sind bei 14 von 26 PGL – Patienten (33,3%) das PGL1 – Syndrom, bedingt durch SDHD – Mutationen, tendenziell am häufigsten zu beobachten. Passend dazu weisen 13 von 26 PGL – Patienten Mutationen im SDHD – Gen auf, wobei die meisten PGL – Tumore benigne sind (19 von 26 PGLs, darunter 11 SDHD – Mutationen). Unter den malignen PGLs sind bei mehr Patienten SDHB – Mutationen zu finden als SDHC – und SDHD – Mutationen. Zudem sind viele PGLs (insgesamt 15 von 26 PGLs) im Kopf- / Halsbereich lokalisiert und produzieren häufig keine Hormone (22 von 26 Patienten ohne Hormonproduktion). Die meisten PGLs im Kollektiv sind multipel (13 von 26 PGLs) und häufiger durch SDHD – Mutationen bedingt (11 SDHD – Mutationen). Das ergibt im Chi – Quadrat – Test ein $p < 0,05$ und ist somit signifikant. Darüber hinaus gibt es einen signifikanten Unterschied in der Penetranz zwischen SDHB und SDHC mit $p < 0,05$ im T – Test. Das Alter bei Erstdiagnose ist bei SDHD – Mutationsträgern tendenziell früher als bei SDHB – und SDHC – Mutationen. Ein LOH im Tumorgewebe wurde zudem öfters bei PGLs detektiert (7 von 26 PGLs).

Bei den 10 Patienten mit Phäochromozytom ist die Lokalisation stets im Nebennierenmark und eine Katecholaminproduktion ist typisches Merkmal. Bei 4 von 10 Phäochromozytom – Patienten konnte eine VHL – Mutation detektiert werden, wobei 80% aller Phäochromozytome benigne sind (8 von 10 Patienten). Auch ist aufgefallen, dass 5 von 10 Patienten (50%) ein bilaterales Phäo aufweisen.

4.5 Ergebnisse Insulinomatose

4.5.1 Fallbeispiel der beiden Indexpatientinnen

Die in der Doktorarbeit untersuchte Indexfamilie mit Insulinomatose und Diabetes ist kaukasischer Abstammung (Familie 1, Untersuchte Familienmitglieder 23, weiblich 11, männlich 12). In der Familie sind zwei Schwestern (IV 3 und 4) an einer Insulinomatose durch eine Mutation im MAFA – Gen: c.170C>G, p.Thr57Arg erkrankt. Die jüngere Schwester (1970 geboren) erkrankte früher (Erstdiagnose 2008) als die ältere Schwester (1961 geboren) Erstdiagnose 2015. Die jüngere Schwester (IV 4) hatte von 2005 – 2008 multiple Symptome, wie beispielsweise Heißhunger mit Gewichtszunahme von etwa 30 Kg (von 60 kg auf 90 Kg), Schwitzen, Konzentrationsschwäche und Tremor. Nachdem sie viele Ärzte konsultierte, wurde 2008 in einer Klinik in Köln die Diagnose „Insulinomatose“ des Pankreas gestellt. Daraufhin erfolgte eine Pankreas – Teilresektion links. 2009 entwickelte die Patientin erneut Symptome und wurde dann schließlich in der Universitätsmedizin Mainz behandelt. Sie wurde 2009 und 2010, nachdem sie erneut Rezidive entwickelt hat, am Pankreaskopf operiert, um die Insulinomatose – Herde zu entfernen. Schließlich wurde dann eine duodenerhaltende, subtotale Rest – Pankreatektomie mit simultaner Cholezystektomie durchgeführt. Postoperativ entwickelte sie folglich einen Diabetes Typ 1 und zeigt gelegentlich Fettstühle. Derzeit wird sie mit der Insulinpumpe versorgt. Zusätzlich erhält die Patientin alle 2 Wochen eine Vitaminspritze intramuskulär und geht alle 3 Monate zur Diabetologie Nachsorge. Insgesamt ist sie in ihrem Alltag nicht eingeschränkt, arbeitet und ist sportlich aktiv.

Die ältere Schwester entwickelte zwar früher Symptome (2006), jedoch waren diese nicht stark ausgeprägt und manifestierten sich erst im Jahr 2014 fulminant. Nach mehreren erfolglosen Arztkonsultationen stellte sie sich 2015 ebenfalls in nach Mainz vor. Dort wurde bei Verdacht auf Insulinomatose am Pankreaskopf operiert. Histologisch konnte eine benigne Insulinomatose bestätigt werden und es erfolgte eine duodenerhaltende Pankreaskopfresektion mit Roux – Y Pankreatikojejunostomie und innerer Schienung des Pankreasganges. Postoperativ entwickelten sich Komplikationen: Pankreatitis, Fistelbildung und Gallengangsstenose. Die Patientin ist seitdem in Frührente und geht zu diabetologischen Vorsorgekontrollen.

4.5.2 Ergebnisse der genetischen Untersuchung

Der Ablauf der genetischen Untersuchung wurde unter 3.2.3 im Kapitel Material und Methoden genau beschrieben. Im Folgenden werden die Ergebnisse der Filterliste mit den 121 Genen dargestellt, die zu einem Hyperinsulinismus führen.

Dabei sind bei beiden Schwestern die Varianten in den Genen PROX1 (Prospero homeobox protein 1): c.1180G>A, p.Ala394Thr, auf Chromosom 1 und MAFA: c.170C>G, p.Thy57Arg, auf Chromosom 8 (beide Varianten befinden sich in Exon 1) detektiert worden. Durch die Tatsache, dass die beiden Varianten auf verschiedene Chromosomen liegen, können Kopplungseffekte ausgeschlossen werden. Zunächst wurden die beiden Gene in den Datenbanken dbSNP, Exome Aggregation Consortium (ExAC) und 1000 Genomes aufgesucht. Es konnten jedoch keine Einträge ermittelt werden. Als nächstes wurde mittels Vorhersage – Tools PolyPhen2, SIFT, Provean und der Datenbank OMIM nach den Varianten geschaut. Das PROX1 – Gen wurde im Mutation Taster als disease causing, im PolyPhen2 als benign, im SIFT als tolerated und im Provean als neutral beschrieben, wobei in OMIM keine OMIM – Nummer vergeben war. Im Gegensatz dazu wurde die MAFA – Missense Variante im Mutation Taster als disease causing, im PolyPhen2 als probably damaging, im SIFT als damaging und im Provean als deleterious aufgelistet, wobei in OMIM die OMIM – Nummer 147630 für Insulinomatose und Diabetes mellitus vergeben wurde. Somit kann von einer pathologischen Bedeutung der Variante im MAFA – Gen ausgegangen werden und die bei den Indexpatientinnen detektierte Mutation: c.170C>G, p.Thy57Arg als krankheitsverursachend zusammengefasst werden (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Ergebnis der Filterliste für Hyperinsulinismus (121 Gene) aus dem Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Gene	Genotype	Mutation Call	Amino Acid Change	CDS (Exon)	Coverage	Chr	Chromosome Position	dbSNP	ExAC	1000 Genomes
PROX1	GA	c.1180G>A	p.Ala394Thr	1	101	chr1	214171058	no entry	no entry	no entry
MAFA	CG	c.170C>G	p.Thr57Arg	1	103	chr8	144512407	no entry	no entry	no entry

Gene	Mutation Taster	PolyPhen2	SIFT	PROVEAN	OMIM Gene	OMIM Disease	Inheritance
PROX1	disease causing	benign	tolerated	neutral	601546	no entry	n.a.
MAFA	disease causing	probably damaging	damaging	deleterious	610303	Insulinomatosis and diabetes mellitus 147630	AD

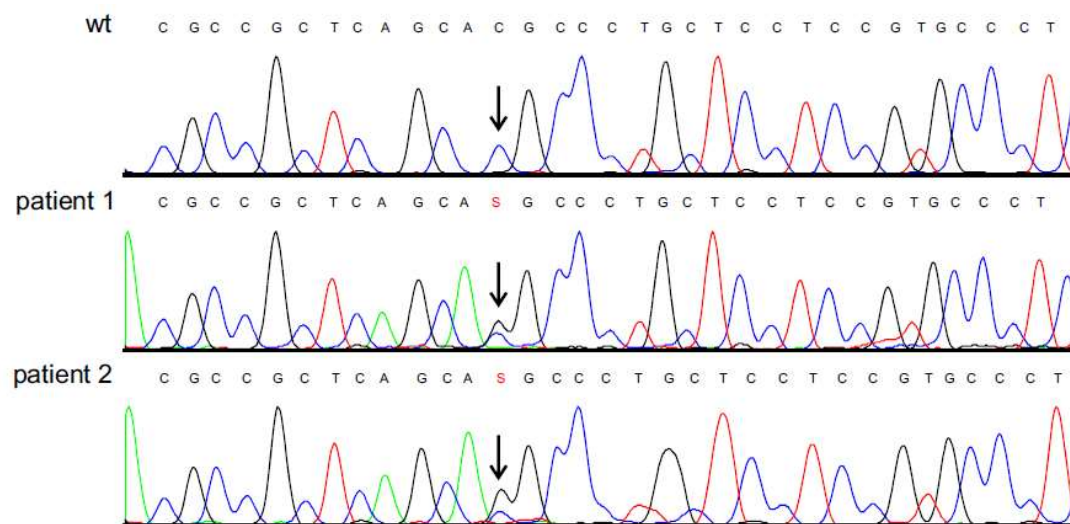


Abbildung 54: Homo sapiens MAF bZIP Transkriptionsfaktor A (MAFA) Bestätigung der Mutation bei den Patienten NM_201589.3 (MAFA): c.170C> G, p.Thr57Arg mittels Sanger – Sequenzierung

4.5.3 Ergebnisse der Familienuntersuchung

Nachdem die heterozygote Mutation im MAFA – Gen: c.170C>G, p.Thr57Arg bei den Indexpatientinnen (IV 3, 4) detektiert und bestätigt wurde, erfolgte eine Untersuchung der restlichen Familienangehörigen. Insgesamt wurden von 19 Familienmitgliedern venöse Blutproben vor Ort abgenommen und Wangenschleimhautabstriche entweder vor Ort oder über den Postweg eingeholt und im Verlauf untersucht.

Im Stammbaum der Familie (Abbildung 55) sind 23 Familienmitglieder (11 weibliche und 12 männliche) gekennzeichnet, da auch Verstorbene in der Krankengeschichte miteinbezogen wurden. Die Analysen zeigten bei insgesamt 12 Patienten (III 1, 2; IV 3, 4; V 1, 2, 3, 5; VI 1, 2, 3, 4), darunter sieben weibliche und fünf männliche Familienmitglieder, die gleiche heterozygote Mutation im MAFA – Gen: c.170C>G, p.Thr57Arg, wie die Indexpatientinnen. Angehörige V 4 und VI 5 (Vater und Sohn) waren wildtypisch homozygot gesund. Ein Diabetes war bei sechs Angehörigen (darunter auch verstorbene) zu beobachten. III 1, 3 und IV 2 hatten bereits einen bekannten Typ 2 Diabetes und wurden medikamentös behandelt. Bei den Angehörigen V 2, 3, 5 wurde erhöhte Stoffwechselfparameter und ein niedriges Kalium in der Blutuntersuchung festgestellt. Bei V 2 konnten erhöhte HbA1c Werte von 5,8% (Norm: 4.1 – 5-6 %) und Pro – Insulin Werte von 11,2 pmol/l (Norm: <9,4 pmol/l) bei einem BMI von 38 Kg/m² und eine Kalium von 3,37 mmol/l (Norm: 3,5 – 5,1 mmol/l) detektiert werden. V 3 zeigt ein HbA1c von 6,6% (Norm: 4.1 – 5-6 %), ein Insulin von 26,5 mU/i (Norm: 6 – 25 mU/i) und Fluorid – Glukose von 125 mg/dl (Norm: 70 – 100 mg/dl) bei einem BMI von 29 Kg/m² und einem Kalium von 2,91 mmol/l (Norm 3,5 – 5,1 mmol/l). V 5 zeigt ein erhöhtes Fluorid – Glukose von 129 mg/dl (Norm: 70 – 100 mg/dl) und ein Kalium von 3,43 mmol/l (Norm 3,5 – 5,1 mmol/l).

Zudem habe V 5 laut anamnestischen Angaben 2016 und 2017 Hypoglykämien mit Tremor, Konzentrationsschwäche und seitdem Gewichtszunahme gezeigt. II 1 sei laut Angaben der Familie durch einen sogenannten „Zuckerschock“ verstorben. Es ist nicht eindeutig geklärt, ob Hypo- oder Hyperglykämien dafür verantwortlich waren. Vier Angehörige hatten einen Tumor. III 1 hatte 1980 ein Bronchialkarzinom und seit einigen Monaten einen nicht näher bezeichneten Gehirntumor. III 3 war der Vater der Indexpatientinnen und verstarb im Alter von 75 Jahren an einem CUP (Cancer of unknown Primary) mit Bronchialmetastasen. IV 1 verstarb im Alter von 53 Jahren an einem Bronchialkarzinom. IV 2 war der Bruder von IV 1 und starb an ein Pankreaskopfkarcinom. III 2 ist an Demenz erkrankt. Bei den Befragungen ist zudem

aufgefallen, dass die Familie insgesamt einen hohen BMI mit $>25\text{kg/m}^2$ hat und zudem Allergien (Pollen, Asthma, Urtikaria) aufweist.

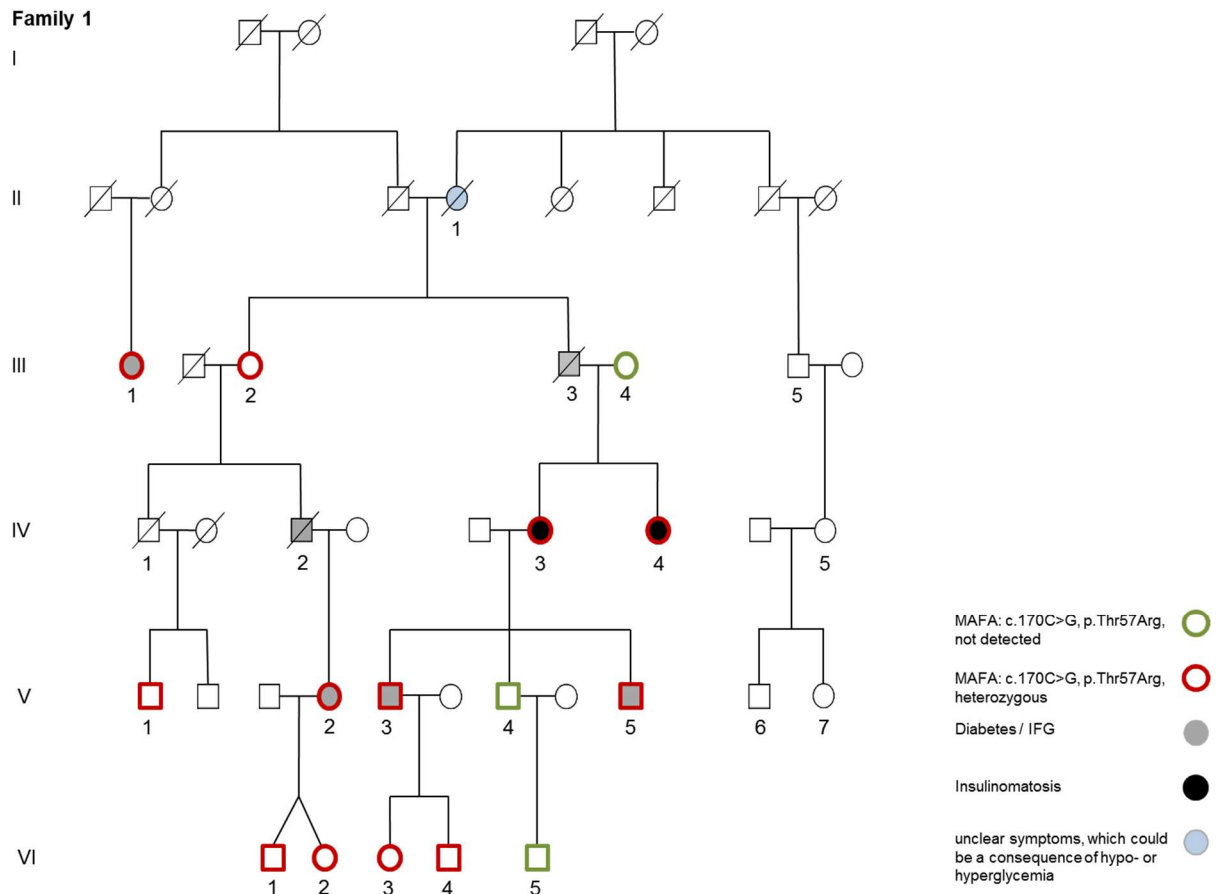


Abb. 55: Stammbaum der Familie mit Insulinomatose und Diabetes mellitus

4.5.4 Bedeutung der Befunde für die Familie

In der Familie weisen 12 heterozygote Träger eine Mutation im MAFA – Gen: c.170G>C, p.Thr57Arg auf (entweder durch Analyse ermittelt oder als Überträger aus dem Stammbaum geschlossen). Bei drei Angehörigen ist ein Diabetes bekannt gewesen. Zwei weitere Familienmitglieder sind aktuell mit einem dezent erhöhten HbA1c aufgefallen. Die beiden oben genannten Schwestern leiden unter einer Insulinomatose. Unter denjenigen Familienangehörigen, die c.170G>C, p.Thr57Arg nicht tragen, ist kein Fall von Diabetes oder Insulinomatose bekannt. Die Symptomatik kosegregiert somit mit c.170G>C, p.Thr57Arg.

Zudem konnten in der gesamten Familie keine kongenitalen Augenerkrankungen (Katarakt, Glaucom) beobachtet werden. Es kann in der untersuchten Familie insgesamt von einer Penetranz (Diabetes und Insulinomatose zusammengenommen) von 60% ausgegangen werden.

4.5.5 Pathogenetische Bedeutung der Mutation

Wie bereits unter Kapitel 2.7.1 beschrieben spielt MafA, als Transkriptionsfaktor aus der Familie der großen Maf – Proteine, eine zentrale Rolle in der Pathogenese von Diabetes und Insulinomatose. MafA wird in der Betazelle des Pankreas exprimiert und beeinflusst dort viele zelluläre Prozesse, Zellzyklus und Zellwachstum. Bei einigen Tumorentitäten werden somatische Mutationen in großen Maf – Proteinen (auch MafA) gehäuft gefunden (49, 50).

In der untersuchten Familie wurde die Mutation c.170G>C, p.Thr57Arg detektiert. Diese Mutation ist, wie die von Iacovazzo et al. aus dem Jahr 2018 beschriebene Mutation c.191C>T, p.Ser64Phe, in einem hoch konservierten Bereich des MafA – Proteins gelegen, der als D/E/S/T/P – reiche Domäne bezeichnet wird. Sie beeinflusst die Stabilität der DNA – Bindung im Rahmen des Transaktivierungsprozesses. Von c.191C>T, p.Ser64Phe wurde bereits gezeigt, dass sie in der Lage ist, durch verminderte Phosphorylierung eines benachbarten Aminosäurerestes (Ser65) eine verminderte Degradation des Proteins durch das Proteasom zu verursachen. Es wurde außerdem bereits gezeigt, dass Thr57 phosphoryliert wird und eine fehlende Phosphorylierung an dieser Stelle ebenfalls zu einer eingeschränkten Degradation des Proteins führt. Diese Daten sprechen stark für eine pathogenetische Bedeutung von c.170G>C, p.Thr57Arg (4).

5 Diskussion

5.1 Diskussion PGL und Phäo

Im Folgenden werden die im Rahmen der vorliegenden Arbeit ermittelten Gene und ihre zugehörigen Varianten mit den in der Literatur und Datenbanken beschriebenen Mutationen und Fallbeschreibungen verglichen und diskutiert. Tabelle 13 dient als Übersicht der einzelnen Gene, die als Ursache für PGL und Phäo in Frage kommen.

Tabelle 13: Übersicht von Keimbahnmutationen, die als Ursache für PGL / Phäo in Frage kommen (zusammengesetzt nach (24, 39, 89, 90))

Genname (HGNC)	Ort (HGNC)	Syndrom	Vererbung	Hormonsekretion	PGL / Phäo Lokalisation	Malignitätsrisiko	Weitere Erkrankungen
Gene, die am Hypoxie – regulierten – Signalweg beteiligt sind (Cluster 1)							
<i>SDHA</i>	5p15	-	AD: Tumorveranlagung, AR: Leigh-Syndrom	Unbekannt	KH, EA	Unbekannt	GIST, Hypophysenadenom
<i>SDHB</i>	1p36.1-p35	PGL4	AD	MN, NMN, MTY/DA, KS	KH, EA, A	Ca. 40%	RCC, GIST, Hypophysenkarzinom, Hypophysenadenom
<i>SDHC</i>	1q23.3	PGL3	AD	MN, NMN, KS	KH, EA, A	Niedrig	RCC, GIST, Hypophysenkarzinom, Hypophysenadenom
<i>SDHD</i>	11q23	PGL1	AD, PV	MN, NMN, MTY/DA, KS	KH, EA, A	Ca. 5%	RCC, GIST, Hypophysenkarzinom, Hypophysenadenom
<i>SDHAF2 / SDH5</i>	11q12.2	PGL2	AD, PV	Unbekannt	KH	Unbekannt	Unbekannt
<i>VHL</i>	3p25.3	VHL	AD	NMN	A, EA, KH	≤ 5%	Hämangioblastom, RCC, Nieren- + Pankreaszysten, NET, ELST
<i>FH</i>	1q42.1	Hereditäre Leiomyomatose und RCC	AD: Tumorprädisposition, AR: Fumarase – Mangel	Unbekannt	A, EA	Unbekannt	Leiomyome, RCC

<i>EPAS1</i> <i>HIF2A</i>	2p21- p16	Familiäre Erythrozy- tose 3 / Pacak- Zuhang	Unbekannt	Unbekannt	EA, A	Unbekannt	Polyzythämie, Somatostatinom
<i>EGLN2</i> <i>PHD1</i>	19q13.2	-	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Polyzythämie
<i>EGLN1</i> <i>PHD2</i>	1q42.1	Familiäre Erythro- zytose 4	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Polyzythämie
<i>KIF1Bβ</i>	1p36.22	-	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Neuroblastom, CMT2A2
Gene, die am Kinase – Rezeptor – gekoppelten Signalweg beteiligt sind (Cluster 2)							
<i>NF1</i>	17q11.2	Neuro- fibro- matose Typ 1	AD	MN, NMN	A	Ca. 11%	Café-au-lait Spots, Lisch – Knoten, Neurofibrome, Gliome und weitere
<i>RET</i>	10q11.2	MEN2	AR	MN, NMN	A	≤ 5%	MTC, PHPT, Adenome und weitere
<i>TMEM127</i>	2q11.2	-	AD	MN, NMN	A, EA, KH	≤ 5%	RCC?
<i>MAX</i>	14q23.3	-	AD, PV	MN, NMN	A	10-25%	Unbekannt
<i>BAP1</i>	3p21.1	-	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Unbekannt	Melanome, Mesotheliom, Meningiom

A: Phäochromozytome (adrenal); **AD:** autosomal – dominant; **AR:** autosomal – rezessiv; **BAP1:** BRCA1 assoziiertes Protein – 1; **CMT2A2:** Charcot Marie Tooth – Syndrom Typ 2A2; **DA:** Dopamin; **EA:** extra – adrenal (abdominal und thorakal) PGL; **EGLNX:** Hypoxie – induzierbarer Faktor X der Familie EGL-9; **ELST:** endolymphatischer Sacktumor; **EPAS1:** endotheliales PAS Protein 1; **FH:** Fumarat Hydratase; **GIST:** gastrointestinaler Stromatumor; **HGNC:** HUGO Gen Nomenklatur Komitee; **HIF2A:** Hypoxie – induzierbarer Faktor 2A; **KH:** Kopf und Hals PGL; **KIF1B:** Kinesin Familie 1B; **MAX:** MYC assoziierter Faktor X; **MEN2:** Multiple Endokrine Neoplasie Typ 2; **MN:** Metanephrine; **MTC:** medulläres Schilddrüsenkarzinom; **MTY:** Metoxytyramin; **NET:** Neuroendokrine Tumore; **NF1:** Neurofibromatose Typ 1; **NMN:** Normetanephrine; **KS:** keine Sekretion; **PGL:** Paragangliome; **PHDX:** Prolyl Hydroxylase X; **Phäo:** Phäochromozytome; **PHPT:** primärer Hyperparathyreoidismus; **PV:** paternale Vererbung; **RCC:** Nierenzellkarzinom; **RET:** RET Protoonkogen; **SDHAF2:** Succinat Dehydrogenase Komplex assembly Factor 2; **SDHX:** Succinate Dehydrogenase Komplex, Untereinheit X; **TMEM127:** Transmembran Protein 127; **VHL:** von Hippel Lindau

5.2 SDH in Bezug auf PGL und Phäo

Paragangliome und Phäochromozytome sind seltene neuroendokrine Tumore. Etwa 30 – 40% der Tumore treten im Zusammenhang mit einer erblichen Erkrankung auf. Keimbahnmutationen in den Genen des SDH (Succinat – Dehydrogenase) Proteinkomplexes, wie SDHA, SDHB, SDHC, SDHD und SDHAF2, sind die am häufigsten vorkommenden von über 19 erblich genetischen Anomalien (38). SDH ist dabei das einzige membranständige Protein des Citratzyklus. Zudem ist sie als Komplex II der Atmungskette direkt in die Elektronentransportkette der inneren Mitochondrien Membran der Zelle eingebunden und katalysiert die Oxidation von Succinat zu Fumarat.

Es ist bekannt, dass die autosomal – dominant vererbten SDH Untereinheiten, die häufigste Ursache für erblich bedingten Paragangliome und Phäochromozytome sind (38). Kommt es jedoch in den einzelnen Untereinheiten des SDH zu Mutationen, dann führt dies zu verschiedenen Phänotypen und somit auch zu unterschiedlichen Paragangliom – Syndromen (7). Mutationen in SDHA führen zum Paragangliom – Syndrom Typ 5 (PGL 5), in SDHB führen dabei zum Paragangliom – Syndrom Typ 4 (PGL 4), in SDHC zum Paragangliom – Syndrom Typ 3 (PGL 3), in SDHD zum Paragangliom – Syndrom Typ 1 (PGL 1) und in SDHAF2 / SDH5 zum Paragangliom – Syndrom Typ 2 (PGL 2).

Diese PGL Typen 1 – 5 führen zu Phäochromozytome, Paragangliome, gastrointestinalen Stromatumoren, Hypophysenadenome, Schilddrüsen- und Nierenkarzinome. Patienten können Merkmale eines Katecholamin – Überschusses, Symptome der lokalen Tumormasse oder zunehmend auffällige Ergebnisse in der Bildgebung aufweisen. PGL – Typ 1 (SDHD) und PGL – Typ 2 (SDHAF2) zeichnen sich durch eine hohe Häufigkeit zur Entwicklung von multifokalen Tumoren aus. Zudem trifft die Erkrankung fast immer bei Patienten auf, die das defekte Allel von ihrem Vater erben (7).

Das mutierte Allel des SDH Gens wird nämlich von einem Elternteil an das Kind vererbt (first hit), wobei das zweite Allel im Laufe der Lebensjahre somatisch mutiert (second hit). In der Literatur sind derzeit zwei Fälle bekannt, bei denen beide Allele erst im Verlauf somatisch mutiert sind (double hit) (91). PGL – Typ 4 (SDHB) zeichnet sich durch ein erhöhtes Risiko für maligne PGL oder Phäo aus. PGL – Typ 3 (SDHC) und PGL – Typ 5 (SDHA) sind seltener und weisen eine geringere Penetranz zur Tumorentwicklung auf (92).

5.2.1 SDHB in Bezug auf PGL und Phäo

SDHB (Succinat – Dehydrogenase – Komplex Untereinheit B) – Mutationen sind eine der häufigsten Genmutationen unter den SDH – Mutationen, die zu PGL und Phäo führen. SDHB befindet sich auf dem Chromosom 1 (1p36.1 – p35), wobei Mutationen autosomal – dominant vererbt werden. Typisch für SDHB – Mutationen ist das Auftreten von PGL – Typ 4 (PGL 4). Außerdem ist die Penetranz der Tumore geringer als bei anderen klinischen Syndromen, so dass Mutationsträger erst identifiziert werden, wenn sie einen Tumor aufweisen (7). SDHB – bedingte Tumore befinden sich meist adrenal und extra – adrenal (Thorax und Abdomen) und produzieren Hormone, wie Metanephrin, Normetanephrin und Dopamin (93). Bei Erstdiagnose sind die Patienten häufig um den 30. bis 40. Lebensjahr. Es gibt eine hohe Anzahl an pädiatrischen Fällen. Es sind unter den Patienten, die eine SDHB bedingte Erkrankung aufweisen, Fälle von Kindern im 3. Lebensjahr bekannt. Wenn sich hierbei das PGL oder das Phäochromozytom vor dem 18. Lebensjahr gebildet hat, entwickelt sich in 25% der Fälle ein zweites und in 12% der Fälle ein drittes PGL / Phäo (94). Zudem haben die Tumore ein erhöhtes Malignitätsrisiko von etwa 40% mit hohen Metastasenbildung. Weitere Erkrankungen im Rahmen einer SDHB – Mutation können gastrointestinale Stromatumore (GIST), Schilddrüsenkarzinome, Adenome und Nierenkarzinome sein (95).

5.2.2 SDHC in Bezug auf PGL und Phäo

SDHC (Succinat – Dehydrogenase – Komplex Untereinheit C) – Mutationen sind, genauso wie SDHAF2 (SDH komplex assembly factor 2) und SDHA (SDH Untereinheit A) – Mutationen, selten. Somit sind auch die klinischen Informationen begrenzt. Das SDHC liegt auf Chromosom 1 (1q23.3) und folgen einem autosomal – dominanten Erbgang. Mutationen im SDHC führen zu PGL – Typ 3 (PGL 3) und präsentieren sich meist als parasympathische Paragangliome im Kopf- und Halsbereich (7). Selten können aber auch adrenale und extra – adrenale Phäochromozytome auftreten. Die Tumore können entweder Metanephrine, Normetanephrine oder keine Hormone produzieren. Das Malignitätsrisiko ist gering und somit sind Metastasen auch eher selten (44). Weitere Erkrankungen im Rahmen von SDHC – Mutationen sind GIST, Schilddrüsenkarzinome, Adenome und Nierenkarzinome (7).

5.2.3 SDHD in Bezug auf PGL und Phäo

SDHD (Succinat – Dehydrogenase – Komplex Untereinheit D) – Mutationen führen häufig zu multifokalen parasymphatischen Paragangliomen im Kopf- und Halsbereich. Diese sind häufig biochemisch inaktiv, doch selten können SDHD – bedingte Tumore auch adrenal und extra – adrenal sein und Metanephrine, Normetanephrine und Dopamin produzieren. SDHD liegt anders als SDHB und SDHC auf dem Chromosom 11q23. Die Vererbung der SDHD – bedingten Tumore erfolgt auch hier autosomal – dominant. Die krankheitsverursachende Mutation wird dabei paternal vererbt und führt dann beim Patienten zum Paragangliom – Syndrom Typ 1 (PGL 1) (7). Dieser Vorgang wird als „paternale Transmission“ oder „maternal imprinting“ bezeichnet. Kommt es in einer Familie zu einem Tumor, kann es sein, dass eine Generation dabei übersprungen werden kann. Grund dafür ist, dass ein mutiertes Allel von der Mutter an die männliche Person zwar weitergegeben wird, jedoch ohne selbst erkrankt zu sein. Das aktive Allel kann aber dann von der männlichen Person wieder an die Kinder weitergegeben werden. Dadurch können SDHD bedingte Tumore eine Generation überspringen (96). Selten kann es dennoch zum Ausbruch der Erkrankung kommen nachdem das krankheitsauslösende Allel durch die Mutter vererbt wird. Das Malignitätsrisiko für SDHD bedingte – Tumore beträgt etwa 5%. Weitere Erkrankungen können gastrointestinale Stromatumore (GIST), Schilddrüsenkarzinome, Adenome und Nierenkarzinome sein (7).

5.2.4 TMEM127 in Bezug auf PGL und Phäo

Das Transmembranprotein 127 (TMEM127) – Gen enthält Informationen zur Herstellung eines Proteins, das als Tumor – Suppressor – Gen fungiert und sich auf Chromosom 2 befindet (2q11). Es verhindert, dass Zellen zu schnell und unkontrolliert wachsen oder sich teilen. Mutationen werden autosomal – dominant vererbt mit einem Malignitätsrisiko von kleiner – gleich 5% und erhöhen das Risiko, einen neuroendokrinen Tumor zu entwickeln, indem einzelne Proteinbausteine (Aminosäuren) in der TMEM127 – Proteinsequenz verändert sind oder zu einem verkürzten Protein führen (97). Die genaue Funktion des TMEM127 – Gens ist jedoch nicht vollständig geklärt.

Dabei ist seit 2010 durch die Forschungsgruppe Qin et al. bekannt, dass TMEM127 – Genmutationen am häufigsten bei Menschen mit Phäochromozytom und selten bei Menschen mit Paragangliomen auftreten. Es wurden bereits bei der ersten Entdeckung LOH – Analysen durchgeführt, wobei bei allen 35 getesteten Patienten ein Verlust des wildtypischen Gens ermittelt wurde. Die auftretenden Tumore kommen uni- oder bilateral vor und produzieren Katecholamine (98). TMEM127 – Mutationen sind insgesamt seltene Verursacher von PGL und Phäo. Die Patienten zeigen um das 43. Lebensjahr typische Symptome eines benignen Tumors, wobei extra – adrenale Tumore sehr selten vorkommen (7).

5.2.5 VHL in Bezug auf PGL und Phäo

Das von Hippel – Lindau Syndrom (VHL) ist ein hoch penetrantes, autosomal – dominant vererbtes Tumorsyndrom und durch das Auftreten typischer Tumorentitäten charakterisiert. VHL liegt auf Chromosom 3 (3p25.3), das Malignitätsrisiko der Tumore liegt bei kleiner – gleich 5% und sind meist adrenal, extra – adrenal und im Kopf- / Halsbereich lokalisiert.

Im Rahmen einer VHL – Mutation können Angiome der Retina, Hämangioblastome des Gehirns oder Rückenmarks, Phäochromozytome, Paragangliome, multiple Zysten in Pankreas und Niere, neuroendokrine Tumore, sowie Nierenzellkarzinome auftreten (99). Die Symptomatik des VHL – Syndroms ist je nach Patient variabel. Ursache für das Syndrom ist eine loss – of – function Mutation des Tumor – Suppressor Gens. VHL ist Teil der E3 Ubiquitin – Protein – Ligase – Komplexes und hat somit die Aufgabe HIF zu erkennen (43). Darüber hinaus beeinflusst VHL die Apoptose, Angiogenese und unterschiedliche zelluläre Prozesse (100). Die Penetranz für Paragangliome und Phäochromozytome liegt bei VHL – Patienten bei ungefähr 30% (101). VHL – Patienten unterliegen einer ständigen medizinischen Kontrolle und so werden Metastasen oft in frühen Stadien detektiert (47).

Bei VHL – induzierten – Tumoren kommt es überwiegend zur Produktion von Norepinephrin und Normetanephrin. Dies ist bei RET – und NF1 – bedingten Tumoren nicht der Fall. In den meisten Fällen kommt es durch die noch zu kleinen Tumore nicht zu Symptomen wie Hypertonie (102). In mehr als 50% der Fälle entwickelten die Patienten durch eine Missense – Mutation im Gen ein PGL oder Phäo. Diese Patienten erkranken oft vor dem 30. Lebensjahr. Kommt es zu der Erkrankung im Kindesalter

sind meist bilaterale oder multifokale PGL und Phäo beobachtet worden (47). Zudem sind einige Aminosäure Substitutionen bekannt, die zum VHL – Syndrom führen können (103). De – novo – Mutationen für das von Hippel – Lindau – Syndrom liegen bei etwa 20% und sind im Vergleich relativ hoch (7). Es lassen sich für VHL Subtypen gliedern, die man wie folgt unterscheidet:

Typ 1: häufigster Typ, meist durch große Deletion im VHL – Gen, verursachen kein PGL und Phäo, Symptome: Zysten in Pankreas und Niere, Nierenkarzinome, Gefäßläsionen in der Retina, Adenome im Nebenhoden, Tumore in Hirn und Rückenmark

Typ 2: aggressivere Form der Erkrankung, entwickeln PGL und Phäo weitere Subtypen: Typ 2a (selten einige bei Typ 1 erwähnten Tumore), Typ 2b (Nierenzellkarzinome und Tumore bei Typ 1 erwähnt) und Typ 2c (PGL und Phäo)

5.2.6 RET in Bezug auf PGL und Phäo

Das RET – Protein gehört zur Gruppe der Rezeptor – Tyrosinkinase und reguliert Zellproliferation und Apoptose. Das RET – Gen besteht aus insgesamt 21 Exons. Davon werden 6 als „Hot Spot Exons“ bezeichnet, die zu mehr als 90% bei MEN2 Patienten zu finden sind. Darunter zählen Exon 10, 11, 13, und 14. Dabei sind besonders cysteinreiche – Regionen (Exon 10 und 11) mit einer hohen Penetranz von etwa 50% für PGL und Phäo (104).

Mutationen im RET – Gen treten im Rahmen der multiplen endokrinen Neoplasie vom Typ 2 (MEN2) auf. Bei MEN2 Patienten wird in der Regel zunächst ein MTC diagnostiziert, denn sie kommt am häufigsten in dem Zusammenhang vor.

Die Unterteilung von MEN2 erfolgt in drei Subgruppen: MEN2A, MEN2B und familiäre MTC (FMTC). Besonders Patienten mit MEN2A können mit mehr als 90% Wahrscheinlichkeit ein MTC entwickeln. Die Chance an ein Phäochromozytom zu erkranken liegt bei 50% und einen Hyperparathyreoidismus zu entwickeln bei 15 – 30%. MEN2A ist ein hoch penetrantes, dominant vererbtes Tumorsyndrom. Die drei typischen Tumorentitäten sind MTC, Phäo und primärer Hyperparathyreoidismus (pHPT), während FMTC – Familien durch das alleinige Auftreten von medullären Schilddrüsenkarzinomen charakterisiert sind. Patienten mit MEN2B entwickeln nahezu 100% an ein MTC und 50% an ein Phäochromozytom. De novo Mutationen

kommen zu 5% bei MEN2A und zu 50% bei MEN2B vor. Das Risiko für MEN2 ist häufig familiär bedingt. Die Tumore werden zu einem frühen Zeitpunkt entdeckt, da Vorsorgeuntersuchungen durchgeführt werden, um Metastasenbildung zu erkennen. Somit kommt es eher selten zu Metastasen im Rahmen von MEN2 (7)

5.3 Zusammenfassung der Tumormerkmale im Vergleich zur Literatur

Im Folgenden werden die Ergebnisse der ermittelten Tumormerkmale (siehe 4.1.3) im untersuchten Kollektiv mit der vorhandenen Literatur verglichen. In den meisten Fällen handelt es sich bei den Ergebnissen um Tendenzen, die anhand der Literatur diskutiert werden.

Unter 42 Indexpatienten wurden bei 26 (61,9%) ein Paragangliom festgestellt und bei 10 Patienten (16,7%) ein Phäochromozytom. Dies spricht für ein häufigeres Vorkommen für Paragangliome als für Phäochromozytome. Laut vorhandener Literatur kommen Paragangliome sogar etwa doppelt so häufig vor als Phäochromozytome (38). Zudem konnte festgestellt werden, dass im vorliegenden Kollektiv Mutationen im SDH – Gen (SDHB, SDHC und SDHD) bei 29 von insgesamt 36 PGL – / Phäo – Patienten vorkommen. Laut Literatur stellen SDH – Mutationen, die am häufigsten vorkommenden Mutationen von über 19 erblich, genetischen Anomalien bezüglich PGL und Phäo dar (38).

Entsprechend Publikationen führen SDHB – Mutationen, wie auch bei den vorliegenden Patienten, zum PGL4 – Syndrom, SDHC – Mutationen zum PGL3 – Syndrom und SDHD – Mutationen zum PGL1 – Syndrom (24, 39, 89, 90). Dabei sind SDHB – Mutationen mit einem höheren Malignitäts- und Nierenkarzinomrisiko verbunden als Mutationen in anderen Untereinheiten (105). Zudem sind SDHB – Mutationen im Allgemeinen mit einer höheren Morbidität und Mortalität assoziiert als pathogene Varianten in den anderen SDH – Genen (105). Auch sind sie stark assoziiert mit extra – adrenalen sympathischen Paragangliomen mit erhöhtem Risiko für eine Metastasierung und seltener mit Phäochromozytomen und parasymphatischen PGLs (105). Bis zu 50% der Personen mit metastasierten extra – adrenalen Paragangliomen haben eine pathogene SDHB – Keimbahnvariante (106).

Darüber hinaus weisen 50% der PGL – Patienten (13 von 26 Patienten) im Kollektiv Mutationen im SDHD – Gen auf. Bereits im Jahr 2000 wurde mit der Identifizierung der

SDHD – Mutation in Familien, ein Fortschritt für die Ermittlung von PGL – Syndromen gesetzt. Insgesamt werden SDHD – Mutationen häufig im Rahmen von PGLs beschrieben und führen meist zu multifokalen Paragangliomen im Kopf- / Halsbereich (7, 105). Parasympathische Kopf – / Hals – Paragangliome produzieren in der Regel keine Hormone und sind sehr selten funktionell. Im untersuchten Kollektiv zeigte sich lediglich bei einem Patienten mit SDHB – Mutation eine Hormonproduktion, wobei die meisten PGLs im Kopf- / Halsbereich lagen. Im Vergleich zu anderen Stellen, ist die Metastasierung von Kopf – / Hals – Paragangliomen relativ selten. Die gemeldete Altersspanne ist groß und das mittlere Alter liegt bei 44 Jahren. Es gibt eine starke weibliche Dominanz, mit einem Verhältnis von Frauen zu Männern von bis zu 8: 1. Die Tumoren sind häufig bilateral oder multiple, was zusammen mit einem jüngeren Anfallsalter eindeutige Hinweise auf eine Erbkrankheit sind (38). Die Penetranz für SDHD – bedingte PGL / Phäo liegt bei etwa 90% und für SDHB – bedingte Tumore bei 80 – 100% im Alter von 70 Jahren (107).

Phäochromozytome können in jedem Alter auftreten, jedoch ist das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose um das 4. bis 5. Lebensjahrzehnt mit gleicher Geschlechterverteilung. Im vorliegenden Kollektiv kommen bei 50% der Patienten ein bilaterales Phäo vor. Bei jungen Patienten ist das Phäochromozytom signifikant häufiger erblich, insbesondere bei Kindern, bei denen in mindestens 70% der Fälle Keimbahnmutationen beobachtet wurden (38). Im Allgemeinen liegt das Risiko für ein sympathisches Paragangliom höher als für ein Phäochromozytom oder ein parasympathisches Paragangliom. Insgesamt wird empfohlen, dass sich Patienten mit PGL / Phäo unabhängig vom Alter, Anzahl der Tumore und klinischer Präsentation einem genetischen Screening unterziehen. Es wurde nämlich gezeigt, dass bis zu 24% der Patienten mit klinisch sporadischem PHEO / PGL eine erbliche Erkrankung aufweisen (38).

5.4 Diskussion Insulinomatose

5.4.1 Vergleichsstudie von Iacovazzo et al.

In der Studie von Iacovazzo et al. aus dem Jahr 2018 wurden zwei kaukasische Familien mit Insulinomatose, Diabetes und Augenerkrankungen aufgrund einer Mutation im MAFA – Gen beschrieben (siehe Abbildung 56). Die erste Familie (A family 1; 29 Angehörige, 17 weiblich) hat eine autosomal – dominant vererbte Insulinomatose

und Diabetes. Die zweite Familie (B family 2; 7 Angehörige, 2 weiblich) mit dem selben Phänotyp, wurde bereits 1977 von Karl – Heinz Tragl und Wolfgang R. Mayr in der August – Ausgabe von „The Lancet“ klinisch beschrieben (108). Die Auswertung der Studie zeigt, dass insgesamt 10 Angehörige beider Familien eine sekundäre hyperinsulinämische Hypoglykämie aufgrund einer Insulinomatose entwickelten. 15 Patienten wurden mit einem Diabetes mellitus vom MODY – Typ und neun Fälle mit sporadischen Insulinomatosen diagnostiziert (davon acht weibliche Patienten). Vier Angehörige, darunter auch die zwei einzigen homozygoten Mutationsträger, zeigten einen kongenitalen Katarakt und / oder Glaukom. Grund dafür ist, dass MAFA während der Entwicklung der Linse exprimiert wird und somit Mutationen im selbigen Gen zu kongenitalen Augenerkrankungen führen können. In der zweiten Familie wurden keine kongenitalen Augenbeschwerden beschrieben. Insgesamt wurden 25 Familienmitglieder (Familie 1 und 2) durch die Exom – Sequenzierung positiv auf die missense – Mutation im MAFA – Gen: c.191C>T, p.Ser64Phe getestet. Bei keinem der Patienten wurde eine Kombination von Insulinomatose und Diabetes beobachtet. Zudem kann nicht ausgeschlossen werden, dass eine Diabetes mellitus – Erkrankung der Insulinomatose vorausgegangen ist (4).

Zusammenfassend wurde von Iacovazzo et al. gezeigt, dass die MAFA missense – Mutation der Grund für die Insulinomatose oder den Diabetes mellitus in beiden Familien ist. Die Daten belegten, dass eine Mutation im Bereich von p.Ser64Phe die Phosphorylierung in der Transaktivierungsdomäne von MafA beeinträchtigt. Dies führt zu einer signifikant verbesserten Proteinstabilität und Proteinaktivität in der Betazellreihe. Zudem ist eine Mutation in dem beschriebenen Bereich (p.Ser64Phe) in der Lage, durch verminderte Phosphorylierung eines benachbarten Aminosäurerestes (Ser65) eine verminderte Degradation des Proteins durch das Proteasom zu verursachen (4). Andere Studien haben außerdem gezeigt, dass Thr57 phosphoryliert wird und eine fehlende Phosphorylierung an dieser Stelle ebenfalls zu einer eingeschränkten Degradation des Proteins führt (4, 109, 110).

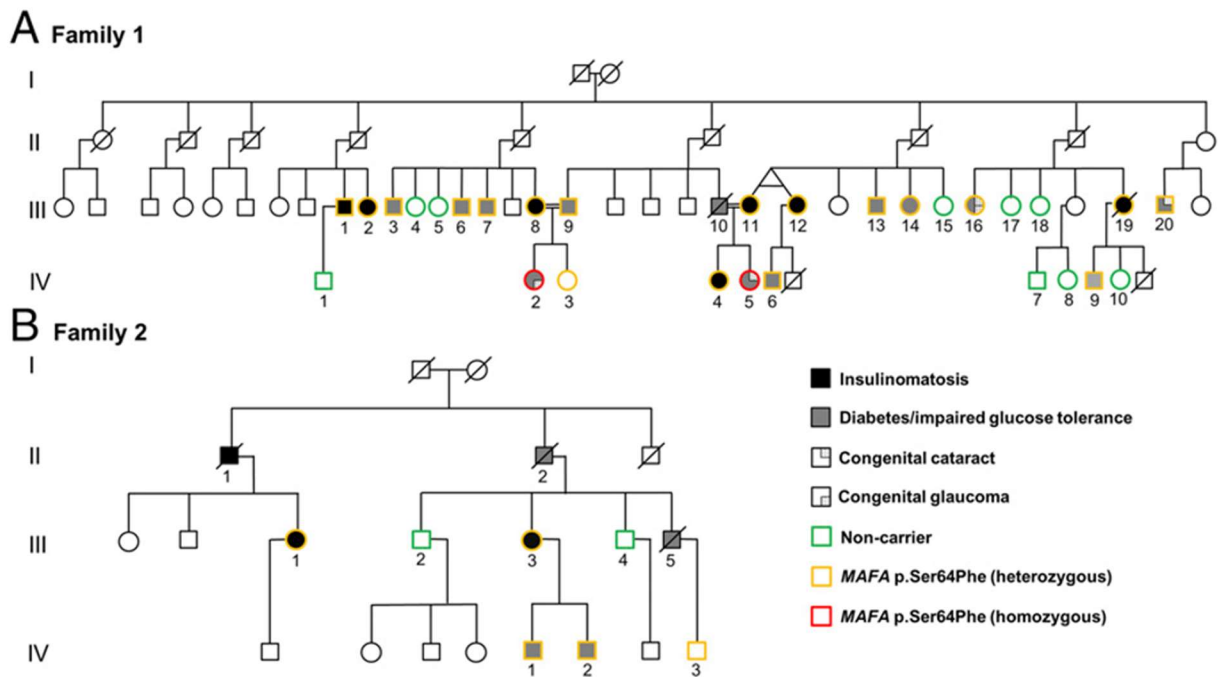


Abb. 56: Stammbaum zweier Familien mit Insulinomatose, Diabetes und kongenitalen Augenerkrankungen. Ursache ist eine Mutation im MAFA – Gen (4).

Die meisten Familienangehörigen mit einer Insulinomatose waren weiblich (Verhältnis Männer zu Frauen betrug 1:4). Das mittlere Alter bei Diagnosestellung war $39,4 \pm 13,1$ Jahre. Es sind keine frühzeitigen Hypoglykämien in der Vorgeschichte bekannt, die auf einen angeborenen Hyperinsulinismus hindeuten. Bei vier der sechs Patienten, die einer bildgebenden Untersuchung unterzogen wurden, zeigten sich multizentrische neuroendokrine Tumore der Bauchspeicheldrüse (in der Größe zwischen 0,4 und 1,1 cm) ohne lokale oder entfernte Metastasen. Ein Patient wurde bereits durch die Forschungsgruppe von Tragl und Mayr im Jahr 1977 frühzeitig diagnostiziert bevor Querschnittsuntersuchungen verfügbar waren. Sechs Patienten wurden operiert und zeigten eine persistierende oder rezidivierende Erkrankung und vier Patienten wurden mehrfach operiert. Probanden mit persistierenden oder rezidivierenden Erkrankungen und diejenigen, die sich keiner Pankreasoperation unterzogen, wurden mit schlechten Ergebnissen und wiederkehrender symptomatischer Hypoglykämie ärztlich behandelt (4).

Bei den meisten Patienten, bei denen Diabetes oder grenzwertig erhöhter Nüchternblutzucker diagnostiziert wurde, handelte es sich um Männer (das Verhältnis Männer zu Frauen betrug 3:1). Das Durchschnittsalter bei der Diagnose betrug $38,4 \pm 16,5$ Jahre. Der mittlere BMI von Diabetes – Patienten mit verfügbaren Daten betrug $25 \pm 3 \text{ kg/m}^2$. Der Phänotyp der Patienten entspricht einem MODY – Diabetes, da

weder andere klinische Merkmale der Insulinresistenz noch eine Anamnese für diabetische Ketoazidose angegeben wurden. Zudem waren die Inselautoantikörper negativ. In den meisten Fällen wurde der Diabetes mit Diät oder oralen Medikamenten (Metformin und / oder Sulfonylharnstoffen) behandelt. Die aktuellen HbA1c – Spiegel der Patienten lagen zwischen 37 und 74 mmol/mol (5,5 – 8,9%). Insgesamt hatten die Patienten keine klinisch signifikanten mikro- oder makrovaskulären Komplikationen. Die drei nicht betroffenen heterozygoten Mutationsträger wiesen, in Abwesenheit klinischer Symptome einer Hypoglykämie, normale HbA1c – und Nüchternglucosespiegel auf.

Abschließend stellt sich die Frage, ob Insulinomatose und Diabetes mellitus in ein – und derselben Person zu finden sind und ob Mutationen im MAFA – Gen beides verursachen können. Dabei ist wichtig wovon das abhängt, wann und ob ein Diabetes oder eine Insulinomatose als Folge einer MAFA – Mutation entsteht. Insulinomatose und Diabetes schienen sich bei den meisten Patienten gegenseitig auszuschließen. Bei einem Angehörigen der zweiten untersuchten Familie durch Iacovazzo et al. könnten sich die beiden Phänotypen möglicherweise sequenziell entwickelt haben. Die Patientin wurde im Alter von 27 Jahren mit Gestationsdiabetes diagnostiziert. Nach der Geburt ihres Kindes zeigte sie eine gestörte Glukosetoleranz und wurde im Alter zwischen 33 und 35 Jahren mit Sulfonylharnstoffen behandelt. Ein oraler Glukosetoleranztest während der Behandlung im Alter von 39 Jahren wurde als normal gemeldet. Im Alter von 55 Jahren hatte die Patientin Symptome einer Hypoglykämie. Später wurde bei einer ¹⁸F-DOPA-PET – Bildgebung eine hyperinsulinämische Hypoglykämie und mehrere neuroendokrine Tumore der Pankreas diagnostiziert.

5.4.2 Vergleich der Familien

Eine Insulinomatose oder ein Diabetes mellitus vom MODY – Typ konnten sowohl in den beiden Familien der Publikation von Iacovazzo et al. (2018), als auch in der Familie der vorliegenden Arbeit beobachtet werden. Iacovazzo et al. konnten 2018 in den zwei Familien den heterozygoten Austausch im MAFA – Gen: c.191C>T, p.Ser64Phe feststellen. Diese Mutation führt zu den oben genannten Erkrankungen. Die in dieser Arbeit untersuchte Familie wies eine MAFA – Mutation in c.170G>C, p.Thr57Arg auf. Beide genannten Mutationen sind in einem hoch konservierten Bereich des MafA – Proteins gelegen, der als D/E/S/T/P – reiche Domäne bezeichnet wird und die Stabilität

der DNA – Bindung im Rahmen des Transaktivierungsprozesses beeinflusst. Insgesamt sind in der publizierten Studie 25 Familienangehörige (aus Familie 1 und 2) positiv auf die missense – Mutation im MAFA – Gen getestet. 10 Patienten (7 aus Familie 1 und 3 aus Familie 2) hatten tatsächlich eine bekannte Insulinomatose. 17 Angehörige (13 aus Familie 1 und 4 aus Familie 2) hatten entweder einen Diabetes mellitus oder eine gestörte Glukosetoleranz. Im Gegensatz dazu zeigten die Familienangehörigen in der vorliegenden Arbeit 12 Mutationsträger, 3 Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus, 2 mit einem aktuell erhöhten HbA1c Wert in der Blutuntersuchung und 2 Indexpatientinnen mit einer bekannten Insulinomatose. Zudem traten in einer der beiden Familien kongenitale Augenerkrankungen (Katarakt, Glaucom) auf. Dies konnte weder in der zweiten, publizierten Familie noch in der Familie, der vorliegenden Arbeit beobachtet werden. Iacovazzo et al. beobachteten einen dominanten Erbgang mit einer Penetranz (Diabetes und Insulinomatose zusammengenommen) von 90% (4). In der vorliegenden Familie wird derzeit von einer ca. 60%igen Penetranz ausgegangen.

5.4.3 Insulinomatose und Diabetes mellitus: verursacht durch dieselbe Mutation?

Es ist noch nicht geklärt, wie genau die Mechanismen funktionieren, die erklären, wie dieselbe Genmutation zu Diabetes mellitus oder Insulinomatose führen kann. Ein ähnlicher paradoxer Phänotyp wurde für Mutationen im Transkriptionsfaktor HNF4A und im Kaliumkanal – Gen ABCC8 beschrieben, bei denen ein vorübergehender angeborener Hyperinsulinismus einem Diabetes bei einigen Patienten vorausgehen kann. Die Insulinomatose stellt jedoch eine eigenständige Erkrankung dar, denn sie manifestiert sich bevorzugt bei Erwachsenen und ist ein neoplastischer Zustand, der durch das Auftreten multizentrischer insulinproduzierender neuroendokriner Tumoren definiert wird. Sie ist, im Gegensatz zum kongenitalen Hyperinsulinismus, nicht durch Inselzellhypertrophie gekennzeichnet. Zudem scheinen sich, in den meisten hier dargestellten Fällen, die beiden Phänotypen gegenseitig auszuschließen. Darüber hinaus können interindividuelle Faktoren, die noch nicht bekannt sind, die Entwicklung einer Insulinomatose oder Diabetes beeinflussen (4, 11).

5.4.4 Insulinomatose überwiegend bei Frauen?

In der Studie von Iacovazzo et al (2018) konnten insgesamt 10 Familienangehörige (aus Familie 1 und 2) mit einer Insulinomatose beobachtet werden. Darunter waren 8 Patienten weiblich und lediglich

2 von ihnen männlich (Familie 1: 7 Insulinomatose-Patienten, davon 1 Mann und 6 Frauen; Familie 2: 3 Insulinomatose – Patienten, davon 1 Mann und 2 Frauen). Die Männer der beiden Familien erkrankten im Gegensatz dazu eher an Diabetes mellitus oder an einer gestörten Glukosetoleranz (Familie 1 und 2: 17 Patienten mit Diabetes / gestörte Glukosetoleranz, davon 13 Männer und 4 Frauen) (4). In der vorliegenden Arbeit sind nur die beiden Indexpatientinnen an einer Insulinomatose erkrankt und insgesamt 6 Angehörige an Diabetes oder einem leicht erhöhten HbA1c, davon 4 Männer und 2 Frauen. Somit legen diese Ergebnisse nahe, dass Frauen eher an Insulinomatose und Männer eher an Diabetes/gestörte Glukosetoleranz erkranken.

Auch die sporadischen Insulinome treten häufiger bei Frauen auf, mit einem Verhältnis von Männern zu Frauen von 1: 1,4 (11). Es werden vielerlei Gründe für solch ein Ungleichgewicht bei der Verteilung der Erkrankung angenommen. Eine Behandlung mit Östrogenen beispielsweise erhöht die Proliferation und die Insulinfreisetzung in humanen Betazellen und Insulinomen in vitro. Auch in der Schwangerschaft ist eine Ausdehnung der Betazellmasse zu beobachten. Induziert wird dies durch die Signalisierung der Hormone Prolactin und Plazenta – Lactogen und vermittelt durch den Prolactinrezeptor (PRLR). Der Prolactinrezeptor war in MafA – Knockout – Inselzellen und in MIN6 – Betazellen (keine reine Betazelllinie, sondern eine gemischte Zelllinie mit anderen endokrinen Pankreashormonen) nach siRNA – vermitteltem Knockdown von MafA signifikant herunterreguliert. Es wurde zudem gezeigt, dass der Prlr – Promotor in Luciferase – Reporter – Assays direkt von MafA aktiviert wird (4, 111, 112).

Folglich könnten Östrogene und Prolaktin möglicherweise die Proliferation von β – Zellen fördern, wodurch weibliche Träger der p.Ser64Phe MAFA – Mutation zur Entwicklung einer Insulinomatose prädisponiert werden. Die Symptome der Krankheit manifestierten sich in allen Fällen nach der Pubertät und die meisten Patientinnen zeigten entweder während oder nach der Schwangerschaft die ersten hypoglykämischen Symptome (4, 11).

6 Zusammenfassung

6.1 Zusammenfassung PGL und Phäo

Paragangliome und Phäochromozytome sind seltene neuroendokrine Tumore, die sowohl sporadisch als auch im Rahmen von familiären Tumorsyndromen vorkommen können (7, 37, 113). Phäochromozytome sind hauptsächlich im Nebennierenmark lokalisiert und produzieren Katecholamine wie Adrenalin, Noradrenalin und Dopamin (7). Paragangliome entstehen in den Zellen der Neuralleiste und gehen von Paraganglien aus, die sowohl sympathischen als auch parasympathischen Ursprungs sein können. Überall wo Paraganglien vorhanden sind, können Paragangliome entstehen. Hauptsächlich kommen sie jedoch im Kopf, Nacken und Retroperitoneum vor. Zur klassischen Triade von Paragangliomen und Phäochromozytomen gehören Kopfschmerzen, Schwitzen und Palpitationen (7). Biochemisch aktive Tumore werden durch ihre Stoffwechselmetaboliten identifiziert, die durch den jeweiligen Tumor verstärkt abgegeben werden. Darüber hinaus können anatomische und funktionelle Bildgebungsverfahren eingesetzt werden, um einen Tumor zu detektieren. Die Entfernung des Tumors steht bei der Therapie im Vordergrund (7, 11).

In etwa 70% der Fälle kann eine genetische Ursache für das Vorhandensein eines Tumors festgestellt werden. 40% sind dabei auf Keimbahnmutationen und 30% auf somatische Mutationen zurückzuführen (23). Genetisch determinierte Paragangliome und Phäochromozytome sollten insbesondere bei einer positiven Familienanamnese, einer bilateralen Lokalisation des Tumors oder einer Präsentation im jungen Alter vermutet werden (37). Es sind derzeit etwa 20 verschiedene Gene identifiziert, die Ursache für ein PGL oder Phäo sein können, wobei Mutationen in SDH, NF1, RET und VHL sehr häufig vorkommen. Die Gene werden in zwei Cluster unterteilt: Cluster 1 – Mutationen sind am pseudo – hypoxischen Weg beteiligt und Cluster 2 – Mutationen stehen im Zusammenhang mit einer abnormalen Aktivierung von Kinase – Rezeptoren und Signalregulatoren (37).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 44 Indexpatienten mit Paragangliom oder Phäochromozytom, sowie Erkrankungen, die potenziell mit solchen Tumoren einhergehen (MEN2 – VHL – Syndrom), und ihre Familienmitglieder hinsichtlich krankheitsverursachender Mutationen genetisch analysiert. Abschließend wurde eine Bewertung der ermittelten Varianten unter Verwendung neuer Informationen zu

Patient, Familie des Patienten und Tumor (Hormonproduktion, Malignität, Anzahl der Tumore, ggf. LOH) des Patienten systematisch vorgenommen und anhand von Familien – Stammbäumen exemplarisch dargestellt und zusammenfassend ausgewertet.

Dabei ist aufgefallen, dass unter 42 Patienten (von insgesamt 44 Indexpatienten) 26 Patienten (61,9%) an einem Paragangliom und 10 Patienten (16,7%) an einem Phäochromozytom erkrankt sind. SDHD – Mutationen, die zu einem PGL1 – Syndrom führen, stellen im Kollektiv unter den PGL – Patienten die dominierende Mutation dar. Die PGLs sind tendenziell häufig im Kopf- / Halsbereich lokalisiert sind, produzieren in der Regel keine Hormone und führen zu multifokalen PGLs. Ein LOH im Tumorgewebe wurde zudem öfters bei PGLs detektiert (7 von 26 PGLs). Unter den Phäochromozytom – Patienten sind 50% an einem bilateralen Phäo im Nebennierenmark erkrankt, produzieren Katecholamine und weisen häufig eine VHL – Mutation auf. Zudem zeigt sich eine deutliche Signifikanz in der Penetranz zwischen SDHB und SDHC mit $p < 0,05$ im T – Test, wobei SDHD – Mutationsträger tendenziell jünger sind bei der Erstdiagnose.

Insgesamt stellen die Ergebnisse der Familienuntersuchungen Tendenzen dar, die überwiegend anhand der Literatur bestätigt wurden. Patienten mit Paragangliom und Phäochromozytom sollten sich einem genetischen Screening unterziehen, denn in einigen Studien wurde gezeigt wurde, dass bis zu 24% der Patienten mit klinisch sporadischem PHEO / PGL eine erbliche Erkrankung aufweisen (38). Das Fehlen einer positiven Familienanamnese, ein zu junges Alter oder das Fehlen von multiplen Tumoren bezüglich eines PGL / Phäo oder anderer syndromalen Erkrankungen schließt nicht die Notwendigkeit eines Gentests aus. Allen PHEO – / PGL – Patienten und ihren Familien sollte eine genetische Diagnostik angeboten werden.

6.2 Zusammenfassung Insulinomatose

Insulinomatosen sind multizentrisch vorkommende, Insulin – produzierende, seltene neuroendokrine Tumore des Pankreas. Sie kommen nicht im Rahmen eines MEN1 – Syndroms vor und sind eher sporadisch oder familiär bedingt (4). Die heterozygote Missense – Mutation im MAFA – Gen: c.170G>C, p.Thr57Arg führt entweder zu einer Insulinomatose oder zu einem Diabetes mellitus vom MODY – Typ. Die in der

vorliegenden Arbeit untersuchte Familie weist 12 Mutationsträger auf (entweder durch Analyse ermittelt oder als Überträger aus dem Stammbaum geschlossen), darunter gehören die beiden Indexpatientinnen mit der Insulinomatose, drei Patienten mit bekanntem Diabetes mellitus und zwei Angehörigen mit erhöhten HbA1c – Werten. Unter denjenigen, die die Mutation nicht tragen, ist kein Fall von Diabetes oder Insulinomatose bekannt. Die Penetranz in der Familie liegt somit bei 60%. Dabei neigen Frauen vermutlich eher zur Insulinomatose und Männer eher zu einem Diabetes mellitus. Es ist nicht auszuschließen, dass Diabetes und Insulinomatose bei einem Patienten sequenziell auftreten. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung für die Insulinomatose liegt bei ca. 39 Jahren, für den Diabetes mellitus bei ca. 38 Jahren.

In der Studie von Iacovazzo et al. ist die jüngste Patientin mit Diabetes mellitus 11 Jahre alt; die jüngste Patientin mit einer Insulinomatose 18 Jahre alt (4). Es ist unklar, ab wann im Leben mit einer Symptomatik gerechnet werden muss. Bisher wurden keine Hypo- oder Hyperglykämien im Neugeborenenalter beschrieben. Patienten mit einer milden Diabetes mellitus – Erkrankung wurden mit oralen Antidiabetika oder Diät behandelt. Die Mutation ist eher gefährlich für Patienten, die eine Insulinomatose entwickeln und somit Hypoglykämien aufweisen. Zu den Symptomen zählen beispielsweise vegetative Hypoglykämie – Symptome, wie Zittern, Schwitzen, Herzklopfen, Tachykardie (Herzrasen) und Heißhunger. Zu den neuroglukopenen Symptomen gehören Benommenheit, Verwirrtheit, Sprachstörungen, Sehstörungen, atypisches Verhalten, Parästhesien, transiente Hemiplegie, Psychose, Delir, Krampfanfälle und Bewusstlosigkeit bis hin zu vitalen Bedrohungen des Patienten (4, 114). Deshalb sollten Mutationsträger schon bei Auftreten vegetativer Hypoglykämie – Symptome (auf jeden Fall aber bei neuroglukopenen Symptomen) den Arzt aufsuchen.

Zudem wurden den Familienangehörigen, die Mutationsträger sind, eine genetische Beratung durch einen Facharzt für Humangenetik und regelmäßige Nachuntersuchung zum Erkennen von Hypoglykämie – Symptomen durch den Endokrinologen empfohlen. Darüber hinaus sollte jährlich eine Untersuchung des Glucose – Metabolismus (Nüchtern – Glucose, Insulin, C – Peptid, Pro – Insulin und HbA1c) mit einer ausführlichen Anamnese erfolgen.

6.3 Allgemeine Zusammenfassung

Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit thematisierten Erkrankungen Paragangliom, Phäochromozytom und Insulinomatose haben die Gemeinsamkeit, dass sie im weitesten Sinne neuroendokrine Tumore sind. Ursächlich sind jeweils krankheitsverursachende Mutationen in unterschiedlichen Genen, die bereits detailliert beschrieben wurden. Wichtig für die betroffenen Patienten ist eine gute Anbindung und Nachsorge durch einen Arzt, mit der Möglichkeit eine Therapie bei Bedarf.

7 Literaturverzeichnis

Literatur

1. Eggenberger JC. Carcinoid and other neuroendocrine tumors of the colon and rectum. *Clin Colon Rectal Surg* 2011; 24(3):129–34. doi: 10.1055/s-0031-1285996.
2. Hauso O, Gustafsson BI, Kidd M, Waldum HL, Drozdov I, Chan AKC et al. Neuroendocrine tumor epidemiology: contrasting Norway and North America. *Cancer* 2008; 113(10):2655–64. doi: 10.1002/cncr.23883.
3. Kaltsas GA, Besser GM, Grossman AB. The diagnosis and medical management of advanced neuroendocrine tumors. *Endocr Rev* 2004; 25(3):458–511. doi: 10.1210/er.2003-0014.
4. Iacovazzo D, Flanagan SE, Walker E, Quezado R, de Sousa Barros, Fernando Antonio, Caswell R et al. *MAFA* missense mutation causes familial insulinomatosis and diabetes mellitus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2018; 115(5):1027–32. Verfügbar unter: <http://www.pnas.org/content/pnas/115/5/1027.full.pdf>.
5. Khatami F, Mohammadamoli M, Tavangar SM. Genetic and epigenetic differences of benign and malignant pheochromocytomas and paragangliomas (PPGLs). *Endocr Regul* 2018; 52(1):41–54. doi: 10.2478/enr-2018-0006.
6. Lefebvre M, Foulkes WD. Pheochromocytoma and paraganglioma syndromes: genetics and management update. *Curr Oncol* 2014; 21(1):e8-e17. doi: 10.3747/co.21.1579.
7. Martucci VL, Pacak K. Pheochromocytoma and paraganglioma: diagnosis, genetics, management, and treatment. *Curr Probl Cancer* 2014; 38(1):7–41. doi: 10.1016/j.currproblcancer.2014.01.001.

9. Kaltsas GA, Papadogias D, Makras P, Grossman AB. Treatment of advanced neuroendocrine tumours with radiolabelled somatostatin analogues. *Endocr Relat Cancer* 2005; 12(4):683–99. doi: 10.1677/erc.1.01116.
10. Hallet J, Law CHL, Cukier M, Saskin R, Liu N, Singh S. Exploring the rising incidence of neuroendocrine tumors: a population-based analysis of epidemiology, metastatic presentation, and outcomes. *Cancer* 2015; 121(4):589–97. doi: 10.1002/cncr.29099.
11. Beger HG, Büchler MW, Dralle H, Lerch MM, Malfertheiner P, Mössner J et al., Hrsg. *Erkrankungen des Pankreas*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013.
12. S2k-Leitlinie Neuroendokrine Tumore. *Z Gastroenterol* 2018; 56(6):583–681. doi: 10.1055/a-0604-2924.
13. Viúdez A, Jesus-Acosta A de, Carvalho FL, Vera R, Martín-Algarra S, Ramírez N. Pancreatic neuroendocrine tumors: Challenges in an underestimated disease. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 101:193–206. doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.03.013.
14. Waldeyer A, Anderhuber F, Hrsg. *Waldeyer - Anatomie des Menschen: Lehrbuch und Atlas in einem Band ; [44 Tabellen. 19., vollst. überarb. und aktualisierte Aufl. Berlin: de Gruyter; 2012. (De Gruyter Studium).*
15. Paraganglion – Biologie; 2018 [Stand: 15.10.2018]. Verfügbar unter: <https://www.biologie-seite.de/Biologie/Paraganglion>.
16. Pschyrembel Online | Paraganglien [Stand: 15.10.2018]. Verfügbar unter: <https://www.pschyrembel.de/Paraganglien/K0G9R>.
17. <https://www.facebook.com/spektrumverlag/>. Paraganglien; 2018 [Stand: 15.10.2018]. Verfügbar unter: <https://www.spektrum.de/lexikon/neurowissenschaft/paraganglien/9460>.
18. Anderhuber F, Pera F, Streicher J. *Waldeyer: Anatomie des Menschen ; Lehrbuch und Atlas in einem Band. 19. Aufl. s.l.: Walter de Gruyter*

- GmbH Co.KG; 2012. (De Gruyter Studium). Verfügbar unter:
<http://site.ebrary.com/lib/alltitles/docDetail.action?docID=10582174>.
19. Pellitteri PK, Rinaldo A, Myssiorek D, Gary Jackson C, Bradley PJ, Devaney KO et al. Paragangliomas of the head and neck. *Oral Oncol* 2004; 40(6):563–75. doi: 10.1016/j.oraloncology.2003.09.004.
 20. Krmpotić-Nemanić J, Draf W, Helms J. *Chirurgische Anatomie des Kopf-Hals-Bereiches*. Berlin, Heidelberg, s.l.: Springer Berlin Heidelberg; 1985 [Stand: 15.10.2018]. Verfügbar unter:
<http://dx.doi.org/10.1007/978-3-662-11319-6>.
 21. Kantorovich V, Koch CA, Pacak K. *Endotext: Pheochromocytoma and Paraganglioma Emergencies*. South Dartmouth (MA); 2000.
 22. Kotecka-Blicharz A, Hasse-Lazar K, Handkiewicz-Junak D, Gawlik T, Pawlaczek A, Oczko-Wojciechowska M et al. 131-I MIBG therapy of malignant pheochromocytoma and paraganglioma tumours - a single-centre study. *Endokrynol Pol* 2018; 69(3):246–51. doi: 10.5603/EP.a2018.0024.
 23. Castro-Vega LJ, Lepoutre-Lussey C, Gimenez-Roqueplo A-P, Favier J. Rethinking pheochromocytomas and paragangliomas from a genomic perspective. *Oncogene* 2016; 35(9):1080–9. doi: 10.1038/onc.2015.172.
 24. Dahia PLM. Pheochromocytoma and paraganglioma pathogenesis: learning from genetic heterogeneity. *Nat Rev Cancer* 2014; 14(2):108–19. doi: 10.1038/nrc3648.
 25. Nguyen E, Nakasaki M, Lee TK, Di Lu. Diagnosis of paraganglioma as a pancreatic mass: A case report. *Diagn Cytopathol* 2018. doi: 10.1002/dc.23974.
 26. Offergeld C, Brase C, Yaremchuk S, Mader I, Rischke HC, Gläsker S et al. Head and neck paragangliomas: clinical and molecular genetic classification. *Clinics (Sao Paulo)* 2012; 67(Suppl 1):19–28. doi: 10.6061/clinics/2012(Sup01)05.
 27. Pacak K, Del Rivero J. *Endotext: Pheochromocytoma*. South Dartmouth (MA); 2000.

28. Erlic Z, Fischli S. CME: Phäochromozytom in der Hausarztpraxis. *Praxis (Bern 1994)* 2018; 107(17-18):977–84. doi: 10.1024/1661-8157/a003047.
29. Subramanian A, Maker VK. Organs of Zuckermandl: their surgical significance and a review of a century of literature. *Am J Surg* 2006; 192(2):224–34. doi: 10.1016/j.amjsurg.2006.02.018.
30. Lam AK-Y. Update on Adrenal Tumours in 2017 World Health Organization (WHO) of Endocrine Tumours. *Endocr Pathol* 2017; 28(3):213–27. doi: 10.1007/s12022-017-9484-5.
31. Nonnenmacher m. Paragangliom – Ursachen, Symptome & Behandlung | MedLexi.de; 2018 [Stand: 16.10.2018]. Verfügbar unter: <https://medlexi.de/Paragangliom>.
32. 5.2 Phäochromozytom und Paragangliom. In: Lehnert H, Hrsg. *Rationelle Diagnostik und Therapie in Endokrinologie, Diabetologie und Stoffwechsel*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2015.
33. Zhikrivetskaya SO, Snezhkina AV, Zaretsky AR, Alekseev BY, Pokrovsky AV, Golovyuk AL et al. Molecular markers of paragangliomas/pheochromocytomas. *Oncotarget* 2017; 8(15):25756–82. doi: 10.18632/oncotarget.15201.
34. Fottner C, Helisch A, Anlauf M, Rossmann H, Musholt TJ, Kreft A et al. 6-18F-fluoro-L-dihydroxyphenylalanine positron emission tomography is superior to 123I-metaiodobenzyl-guanidine scintigraphy in the detection of extraadrenal and hereditary pheochromocytomas and paragangliomas: correlation with vesicular monoamine transporter expression. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(6):2800–10. doi: 10.1210/jc.2009-2352.
35. Astuti D, Latif F, Dallol A, Dahia PL, Douglas F, George E et al. Gene mutations in the succinate dehydrogenase subunit SDHB cause susceptibility to familial pheochromocytoma and to familial paraganglioma. *Am J Hum Genet* 2001; 69(1):49–54. doi: 10.1086/321282.

36. Milholland B, Dong X, Zhang L, Hao X, Suh Y, Vijg J. Differences between germline and somatic mutation rates in humans and mice. *Nat Commun* 2017; 8. doi: 10.1038/ncomms15183.
37. Eijkelenkamp K, Olderode-Berends MJW, van der Luijt RB, Robledo M, van Dooren M, Feelders RA et al. Homozygous TMEM127 mutations in 2 patients with bilateral pheochromocytomas. *Clin Genet* 2018; 93(5):1049–56. doi: 10.1111/cge.13202.
38. Turchini J, Cheung VKY, Tischler AS, Krijger RR de, Gill AJ. Pathology and genetics of phaeochromocytoma and paraganglioma. *Histopathology* 2018; 72(1):97–105. doi: 10.1111/his.13402.
39. Jochmanová I, Zelinka T, Widimský J, Pacak K. HIF signaling pathway in pheochromocytoma and other neuroendocrine tumors. *Physiol Res* 2014; 63 Suppl 2:S251-62.
40. Keith B, Johnson RS, Simon MC. HIF1 α and HIF2 α : sibling rivalry in hypoxic tumor growth and progression. *Nat Rev Cancer* 2011; 12(1):9–22. doi: 10.1038/nrc3183.
41. Hewitson KS, McNeill LA, Elkins JM, Schofield CJ. The role of iron and 2-oxoglutarate oxygenases in signalling. *Biochem Soc Trans* 2003; 31(Pt 3):510–5.
42. Blouw B, Song H, Tihan T, Bosze J, Ferrara N, Gerber H-P et al. The hypoxic response of tumors is dependent on their microenvironment. *Cancer Cell* 2003; 4(2):133–46. doi: 10.1016/S1535-6108(03)00194-6.
43. Jochmanová I, Yang C, Zhuang Z, Pacak K. Hypoxia-Inducible Factor Signaling in Pheochromocytoma: Turning the Rudder in the Right Direction. *J Natl Cancer Inst* 2013; 105(17):1270–83. doi: 10.1093/jnci/djt201.
44. Crona J, Taïeb D, Pacak K. New Perspectives on Pheochromocytoma and Paraganglioma: Toward a Molecular Classification. *Endocr Rev* 2017; 38(6):489–515. doi: 10.1210/er.2017-00062.
45. Dahia PLM. Transcription association of VHL and SDH mutations link hypoxia and oxidoreductase signals in pheochromocytomas. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1073:208–20. doi: 10.1196/annals.1353.023.

46. Amorim-Pires D, Peixoto J, Lima J. Hypoxia Pathway Mutations in Pheochromocytomas and Paragangliomas. *Cytogenet Genome Res* 2016; 150(3-4):227–41. doi: 10.1159/000457479.
47. Eisenhofer G, Klink B, Richter S, Lenders JWM, Robledo M. Metabologenomics of Pheochromocytoma and Paraganglioma: An Integrated Approach for Personalised Biochemical and Genetic Testing. *Clin Biochem Rev* 2017; 38(2):69–100.
48. HAN S-i, ARAMATA S, Yasuda K, KATAOKA K. MafA stability in pancreatic beta cells is regulated by glucose and is dependent on its constitutive phosphorylation at multiple sites by glycogen synthase kinase 3. *Mol Cell Biol* 2007; 27(19):6593–605. doi: 10.1128/MCB.01573-06.
49. Eychène A, Rocques N, Pouponnot C. A new MAFia in cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8(9):683–93. doi: 10.1038/nrc2460.
50. ARAMATA S, HAN S-i, KATAOKA K. Roles and Regulation of Transcription Factor MafA in Islet β -cells. *Endocr J* 2007; 54(5):659–66. doi: 10.1507/endocrj.KR-101.
51. MAFA-26564. Fajans. *Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young*
52. Ellard S, Bellanné-Chantelot C, Hattersley AT. Best practice guidelines for the molecular genetic diagnosis of maturity-onset diabetes of the young. *Diabetologia* 2008; 51(4):546–53. doi: 10.1007/s00125-008-0942-y.
53. Fajans. *Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young*.
54. Gardner DS, Tai ES. Clinical features and treatment of maturity onset diabetes of the young (MODY). *Diabetes Metab Syndr Obes* 2012; 5:101–8. doi: 10.2147/DMSO.S23353.
55. Barrio R. Nine Novel Mutations in Maturity-Onset Diabetes of the Young (MODY) Candidate Genes in 22 Spanish Families. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002; 87(6):2532–9. doi: 10.1210/jc.87.6.2532.

56. Plengvidhya N, Boonyasrisawat W, Chongjaroen N, Jungtrakoon P, Sriussadaporn S, Vannaseang S et al. Mutations of maturity-onset diabetes of the young (MODY) genes in Thais with early-onset type 2 diabetes mellitus. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 70(6):847–53. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03397.x.
57. Fajans. *Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young*.
58. Eehalt F, Saeger HD, Schmidt CM, Grützmann R. Neuroendocrine tumors of the pancreas. *Oncologist* 2009; 14(5):456–67. doi: 10.1634/theoncologist.2008-0259.
59. Ritzel RA, Isermann B, Schilling T, Knaebel H-P, Büchler MW, Nawroth PP. Diagnosis and localization of insulinoma after negative laparotomy by hyperinsulinemic, hypoglycemic clamp and intra-arterial calcium stimulation. *Rev Diabet Stud* 2004; 1(1):42–6. doi: 10.1900/RDS.2004.1.42.
60. Anlauf M, Bauersfeld J, Raffel A, Koch CA, Henopp T, Alkatout I et al. Insulinomatosis: A Multicentric Insulinoma Disease that Frequently Causes Early Recurrent Hyperinsulinemic Hypoglycemia. *The American Journal of Surgical Pathology* 2009; 33(3):339–46. Verfügbar unter: https://journals.lww.com/ajsp/Fulltext/2009/03000/Insulinomatosis__A_Multicentric_Insulinoma_Disease.2.aspx.
61. Plöckinger U. Diagnosis and Treatment of Gastrinomas in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN-1). *Cancers (Basel)* 2012; 4(1):39–54. doi: 10.3390/cancers4010039.
62. Klöppel G. Klassifikation und Pathologie endokriner Tumoren des Pankreas. In: Beger HG, Büchler MW, Dralle H, Lerch MM, Malfertheiner P, Mössner J et al., Hrsg. *Erkrankungen des Pankreas*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2013. S. 203–10.
63. Veves A. *Diabetic Neuropathy*. 1. Aufl. s.l.: Humana Press; 2007. (Clinical Diabetes). Verfügbar unter: <http://gbv.ebib.com/patron/FullRecord.aspx?p=338240>.

64. Iwai A, Sakamoto T, Kinoshita Y, Yokota J, Yoshioka T, Sugimoto T. Computed tomographic imaging of the brain in after hypoglycemia coma. *Neuroradiology* 1987; 29(4):398–400. doi: 10.1007/BF00348923.
65. medscimonit-17-8-cs103. Fajans. *Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young*
66. Starke A, Saddig C, Mansfeld L, Koester R, Tschahargane C, Czygan P et al. Malignant metastatic insulinoma-postoperative treatment and follow-up. *World J Surg* 2005; 29(6):789–93. doi: 10.1007/s00268-005-7743-y.
67. gr. A1022-6.QXD. Fajans. *Molecular Mechanisms and Clinical Pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young*
68. Cranston I, Lomas J, Amiel SA, Maran A, Macdonald I. Restoration of hypoglycaemia awareness in patients with long-duration insulin-dependent diabetes. *The Lancet* 1994; 344(8918):283–7. doi: 10.1016/S0140-6736(94)91336-6.
69. Beger HG, Hrsg. *Erkrankungen des Pankreas: Evidenz in Diagnostik, Therapie und Langzeitverlauf*. Berlin: Springer; 2013. (SpringerLink). Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-37964-2>.
70. Nessa A, Rahman SA, Hussain K. Hyperinsulinemic Hypoglycemia - The Molecular Mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2016; 7:29. doi: 10.3389/fendo.2016.00029.
71. Maiorana A, Dionisi-Vici C. Hyperinsulinemic hypoglycemia: clinical, molecular and therapeutical novelties. *J Inherit Metab Dis* 2017; 40(4):531–42. doi: 10.1007/s10545-017-0059-x.
72. Thorens B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia* 2015; 58(2):221–32. doi: 10.1007/s00125-014-3451-1.
73. 17.2 Kongenitaler Hyperinsulinismus und Diabetes mellitus. In: Arenz S, Jorch G, Schnitzler A, Hrsg. *Neonatologie: Die Medizin des Früh- und Reifgeborenen ; 187 Tabellen*. Stuttgart: Thieme; 2010.

74. Nessa A, Rahman SA, Hussain K. Hyperinsulinemic Hypoglycemia - The Molecular Mechanisms. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2016; 7:29. doi: 10.3389/fendo.2016.00029.
75. Babenko AP, Polak M, Cavé H, Busiah K, Czernichow P, Scharfmann R et al. Activating mutations in the ABCC8 gene in neonatal diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2006; 355(5):456–66. doi: 10.1056/NEJMoa055068.
76. Bennett RL, French KS, Resta RG, Doyle DL. Standardized human pedigree nomenclature: update and assessment of the recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *J Genet Couns* 2008; 17(5):424–33. doi: 10.1007/s10897-008-9169-9.
77. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977; 74(12):5463–7.
78. "Next-Generation Sequencing_ NGS.
79. Lehmann U, Tost J, Hrsg. *Pyrosequencing: Methods and Protocols*. 2nd ed. 2015. New York, NY: Humana Press; 2015. (SpringerLink Bücher; Bd. 1315). Verfügbar unter: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4939-2715-9>.
80. Harrington CT, Lin EI, Olson MT, Eshleman JR. Fundamentals of pyrosequencing. *Arch Pathol Lab Med* 2013; 137(9):1296–303. doi: 10.5858/arpa.2012-0463-RA.
81. Behjati S, Tarpey PS. What is next generation sequencing? *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2013; 98(6):236–8. doi: 10.1136/archdischild-2013-304340.
82. Illumina. *An Introduction to Next-Generation Sequencing Technology*.
83. Alekseyev YO, Fazeli R, Yang S, Basran R, Maher T, Miller NS et al. A Next-Generation Sequencing Primer—How Does It Work and What Can It Do? *Acad Pathol* 2018; 5. doi: 10.1177/2374289518766521.
84. Yohe S, Thyagarajan B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141(11):1544–57. doi: 10.5858/arpa.2016-0501-RA.

85. Le Gallo M, Lozy F, Bell DW. Next-Generation Sequencing. *Adv Exp Med Biol* 2017; 943:119–48. doi: 10.1007/978-3-319-43139-0_5.
86. Knudson AG. Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1971; 68(4):820–3.
87. DocMedicus Verlag GmbH & Co. KG. SNPs | DocMedicus Gesundheitslexikon: DocMedicus Verlag GmbH & Co. KG; 2018 [Stand: 07.12.2018]. Verfügbar unter: <http://www.gesundheitslexikon.com/Labormedizin-Labordiagnostik/Gendiagnostik/SNPs.html>.
88. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med* 2015; 17(5):405–24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
89. Gimenez-Roqueplo A-P, Dahia PL, Robledo M. An update on the genetics of paraganglioma, pheochromocytoma, and associated hereditary syndromes. *Horm Metab Res* 2012; 44(5):328–33. doi: 10.1055/s-0031-1301302.
90. Rana HQ, Rainville IR, Vaidya A. Genetic testing in the clinical care of patients with pheochromocytoma and paraganglioma. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2014; 21(3):166–76. doi: 10.1097/MED.0000000000000059.
91. Gill AJ. Succinate dehydrogenase (SDH)-deficient neoplasia. *Histopathology* 2018; 72(1):106–16. doi: 10.1111/his.13277.
92. Benn DE, Robinson BG, Clifton-Bligh RJ. 15 YEARS OF PARAGANGLIOMA: Clinical manifestations of paraganglioma syndromes types 1-5. *Endocr Relat Cancer* 2015; 22(4):T91-103. doi: 10.1530/ERC-15-0268.
93. Kantorovich V, Pacak K. Pheochromocytoma and Paraganglioma. In: Martini L, Hrsg. *Neuroendocrinology*. 1. ed. Amsterdam, Heidelberg: Elsevier; 2010. S. 343–73 (Progress in Brain Research; vol. 182).
94. Letouzé E, Martinelli C, Lorient C, Burnichon N, Abermil N, Ottolenghi C et al. SDH mutations establish a hypermethylator phenotype in

- paraganglioma. *Cancer Cell* 2013; 23(6):739–52. doi: 10.1016/j.ccr.2013.04.018.
95. Ricketts C, Woodward ER, Killick P, Morris MR, Astuti D, Latif F et al. Germline SDHB mutations and familial renal cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100(17):1260–2. doi: 10.1093/jnci/djn254.
96. Hoekstra AS, Addie RD, Ras C, Seifar RM, Ruivenkamp CA, Briaire-de Bruijn IH et al. Parent-of-origin tumorigenesis is mediated by an essential imprinted modifier in SDHD-linked paragangliomas: SLC22A18 and CDKN1C are candidate tumour modifiers. *Hum Mol Genet* 2016; 25(17):3715–28. doi: 10.1093/hmg/ddw218.
97. Elston MS, Meyer-Rochow GY, Prosser D, Love DR, Conaglen JV. Novel mutation in the TMEM127 gene associated with pheochromocytoma. *Intern Med J* 2013; 43(4):449–51. doi: 10.1111/imj.12088.
98. Yao L, Schiavi F, Cascon A, Qin Y, Inglada-Pérez L, King EE et al. Spectrum and prevalence of FP/TMEM127 gene mutations in pheochromocytomas and paragangliomas. *JAMA* 2010; 304(23):2611–9. doi: 10.1001/jama.2010.1830.
99. Lonser RR, Glenn GM, Walther M, Chew EY, Libutti SK, Linehan WM et al. von Hippel-Lindau disease. *The Lancet* 2003; 361(9374):2059–67. doi: 10.1016/S0140-6736(03)13643-4.
100. Gossage L, Eisen T, Maher ER. VHL, the story of a tumour suppressor gene. *Nat Rev Cancer* 2015; 15(1):55–64. doi: 10.1038/nrc3844.
101. Aufforth RD, Ramakant P, Sadowski SM, Mehta A, Trebska-McGowan K, Nilubol N et al. Pheochromocytoma Screening Initiation and Frequency in von Hippel-Lindau Syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2015; 100(12):4498–504. doi: 10.1210/jc.2015-3045.
102. Eisenhofer G, Walther MM, Huynh TT, Li ST, Bornstein SR, Vortmeyer A et al. Pheochromocytomas in von Hippel-Lindau syndrome and multiple endocrine neoplasia type 2 display distinct

- biochemical and clinical phenotypes. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2001; 86(5):1999–2008. doi: 10.1210/jcem.86.5.7496.
103. Nielsen SM, Rhodes L, Blanco I, Chung WK, Eng C, Maher ER et al. Von Hippel-Lindau Disease: Genetics and Role of Genetic Counseling in a Multiple Neoplasia Syndrome. *J Clin Oncol* 2016; 34(18):2172–81. doi: 10.1200/JCO.2015.65.6140.
104. Mukherjee S, Zakalik D. RET codon 804 mutations in multiple endocrine neoplasia 2: genotype-phenotype correlations and implications in clinical management. *Clin Genet* 2011; 79(1):1–16. doi: 10.1111/j.1399-0004.2010.01453.x.
105. Andrews KA, Ascher DB, Pires DEV, Barnes DR, Vialard L, Casey RT et al. Tumour risks and genotype-phenotype correlations associated with germline variants in succinate dehydrogenase subunit genes SDHB, SDHC and SDHD. *J Med Genet* 2018; 55(6):384–94. doi: 10.1136/jmedgenet-2017-105127.
106. Fishbein L, Merrill S, Fraker DL, Cohen DL, Nathanson KL. Inherited mutations in pheochromocytoma and paraganglioma: why all patients should be offered genetic testing. *Ann Surg Oncol* 2013; 20(5):1444–50. doi: 10.1245/s10434-013-2942-5.
107. Fishbein L, Nathanson KL. Pheochromocytoma and paraganglioma: understanding the complexities of the genetic background. *Cancer Genet* 2012; 205(1-2):1–11. doi: 10.1016/j.cancergen.2012.01.009.
108. Tragl K-H, Mayr W. FAMILIAL ISLET-CELL ADENOMATOSIS. *The Lancet* 1977; 310(8035):426–8. doi: 10.1016/S0140-6736(77)90609-2.
109. Benkhelifa S, Provot S, Nabais E, Eychène A, Calothy G, Felder-Schmittbuhl MP. Phosphorylation of MafA is essential for its transcriptional and biological properties. *Mol Cell Biol* 2001; 21(14):4441–52. doi: 10.1128/MCB.21.14.4441-4452.2001.
110. Guo S, Vanderford NL, Stein R. Phosphorylation within the MafA N terminus regulates C-terminal dimerization and DNA binding. *J Biol Chem* 2010; 285(17):12655–61. doi: 10.1074/jbc.M110.105759.

111. Ishihara H, Asano T, Tsukuda K, Katagiri H, Inukai K, Anai M et al. Pancreatic beta cell line MIN6 exhibits characteristics of glucose metabolism and glucose-stimulated insulin secretion similar to those of normal islets. *Diabetologia* 1993; 36(11):1139–45.
112. Nakashima K, Kanda Y, Hirokawa Y, Kawasaki F, Matsuki M, Kaku K. MIN6 is not a pure beta cell line but a mixed cell line with other pancreatic endocrine hormones. *Endocr J* 2009; 56(1):45–53.
113. Lefebvre S, Borson-Chazot F, Boutry-Kryza N, Wion N, Schillo F, Peix J-L et al. Screening of mutations in genes that predispose to hereditary paragangliomas and pheochromocytomas. *Horm Metab Res* 2012; 44(5):334–8. doi: 10.1055/s-0032-1306308.
114. Bauersfeld J, Klöppel G. Die Insulinomatose des Pankreas: eine neue Ursache für einen rezidivierenden organischen Hyperinsulinismus; 2008. Verfügbar unter: <https://books.google.de/books?id=tjCISgAACAAJ>.

8 Anhang

8.1 Verwendete Fragebögen

Der Fragebogen wurde mit allen Familienangehörigen persönlich durchgesprochen und offene Fragen beantwortet.

Familienangehörige: Insulinomatose

1. Allgemeines

Name:

Geburtsdatum:

Geschlecht:

Herkunft:

2. Eigenanamnese:

3. Spezifische Fragen zum Thema MAFA

Diabetes mellitus:

Insulinomatose:

Angeborener Katarakt:

Angeborenes Glaukom:

Auffälligkeiten:

8.2 Auswertung anhand von Tabellen

Tabelle 14-16: Tabellarische Darstellung der Ergebnisse aus den Blut- und Speichelproben der Familienangehörigen und der ausgewerteten Fragebögen. Dabei entspricht die Nummerierung der ersten oberen Zeile (III/4, III/5, IV/3, IV/4, IV/5, V/2-V/7) der Position der Personen auf dem Stammbaum in Abb. 55: Stammbaum der Familie mit Insulinomatose und Diabetes mellitus.

ID	Reference	III/4	III/5	IV/3	IV/4	IV/5
Sex		F	M	F	F	F
Age	Years	82	78	57	48	49
BMI	(kg/m ²)	26,06	42,1	27	26	35,5
MAFA	c.170C>G, p.Thr57Arg	C/C	C/C	<u>C/G</u>	<u>C/G</u>	C/C
CRP	<5 mg/l	3,6	<u>6,6</u>	1,1	0,54	2,6
TG	<150 mg/dl	118	<u>335</u>	74	63	<u>186</u>
Chol	<200 mg/dl	<u>235</u>	<u>206</u>	181	141	180
HDL	>40 mg/dl	82	<u>55</u>	81	75	58
LDL	<160 mg/dl	129	84	85	53	85
Q LDL/HDL	<3	1,6	1,5	1,1	0,7	1,5
Quick, aPTT, Fib	70-130% 25-37 sec 200-390 mg/dl	66 37.9 sec -	99 24.5 sec 263	npf	npf	106 24.9 sec 316
Complete blood count		npf	npf	npf	npf	npf
F-Gluc	70 – 100 mg/dl	85	92	<u>143</u>	<u>128</u>	82
OH-But	<74 µmol/l	<u>183</u>	-	70	60	-
HbA1c	4.1 – 5.6 %	5,4	5,6	<u>7,3</u>	<u>7,5</u>	5,2
	21 – 38 mmol/mol Hb	36	38	<u>57</u>	<u>59</u>	34
Insulin	6 – 25 mU/i	<u>4,5</u>	16,9	6,7	6,3	25,4
Pro-insulin	<9.4 pmol/l	3,1	3,9	8,07	<0.1	3,2
C-Pep	0.8 – 5.2 ng/ml	1,66	5,32	2	<u><0.01</u>	4,57
Cortisol	4,3 – 22,4 µg/dl	7,2	-	5	4,9	-
Aldosterone	49,3 – 175 pg/ml	104	-	76	33	-
TSH	0.4 – 4.9 mU/l	1,61	1,33	1,21	2,28	1,31

V/2	V/3	V/4	V/5	V/6	V/7
F	M	M	M	M	F
30	38	31	29	18	11
38	29	29,9	26,6	17,3	13,9
C/G	C/G	C/C	C/G	C/C	C/C
<u>22</u>	3,5	2,5	1,6	<0.20	0,44
138	<u>260</u>	<u>261</u>	<u>154</u>	<u>199</u>	109
192	<u>254</u>	<u>263</u>	<u>214</u>	139	161
71	45	56	55	51	63
93	157	155	128	48	76
1,3	3,5	2,8	2,3	0,9	1,2
npf	npf	npf	npf	104 26.8 sec 188	92 32.7 s 233
npf	<u>Platelet count:</u> <u>140/nl,</u> otherwise npf	npf	<u>Platelet count:</u> <u>127/nl,</u> otherwise npf	npf	npf
95	<u>125</u>	94	<u>129</u>	87	75
<u>154</u>	30	21	45	-	-
<u>5,8</u>	<u>6,6</u>	5,4	5,4	5,1	5,5
<u>40</u>	<u>49</u>	35	36	33	37
15,7	<u>26,5</u>	9,3	24,3	16,7	4,8
<u>11,2</u>	7,5	5,86	2,42	<u>27,3</u>	2,4
3,37	4,52	2,54	2,75	4,63	1,15
18,4	11,3	5,9	14	-	-
136	153	149	103	-	-
1,84	2,8	4	1,21	0,48	1,16

Tabelle 15:

ID	Reference	III/4	III/5	IV/3	IV/4	IV/5
Sex		F	M	F	F	F
Age	Years	82	78	57	48	49
BMI	(kg/m ²)	26,06	42,1	27	26	35,5
MAFA	c.170C>G, p.Thr57Arg	C/C	C/C	<u>C/G</u>	<u>C/G</u>	C/C
Na	136 – 145 mmol/l	138	143	141	140	141
K	3.5 – 5.1 mmol/l	3,5	4,4	<u>3,45</u>	3,77	3,4
Ca	2.15 – 2.58 mmol/l	2,53	2,11	2,25	2,37	2,28
Mg	0.66 – 1.07 mmol/l	0,72	-	0,9	0,68	-
Crea, HN		npf	npf	npf	npf	npf
Phos	2.3 – 4.7 mg/dl	4,1	2,6	2,8	2,9	3,2
AST	5 – 31 U/l	29	21	25	<u>34</u>	19
ALT	<35 U/l	14	22	21	27	23
ALP	37 – 111 U/l	106	88	103	98	53
GGT	9 – 36 U/l	19	98	24	14	20
Bili	0,3 – 1.2 mg/dl	0,54	<0.30	0,58	0,42	0,33
Alb	35 – 50 g/l	41	35	40	38	36
Lip	<60 U/l	41	28	12	4	30
Amy	28 – 139 U/l	81	34	37	<u>19</u>	42

V/2	V/3	V/4	V/5	V/6	V/7
F	M	M	M	M	F
30	38	31	29	18	11
38	29	29,9	26,6	17,3	13,9
C/G	C/G	C/C	C/G	C/C	C/C
141	144	143	<u>146</u>	141	141
<u>3,37</u>	<u>2,91</u>	<u>3,03</u>	<u>3,43</u>	3,5	3,2
2,4	2,28	2,39	2,21	2,54	2,42
0,78	0,79	0,84	0,9	-	-
npf	npf	npf	npf	npf	npf
<u>2</u>	3,9	3	2,5	3,9	4,5
27	<u>73</u>	34	24	22	26
19	<u>171</u>	<u>59</u>	40	15	18
57	87	90	65	159	276
11	<u>78</u>	59	29	15	11
0,38	0,45	0,59	0,49	2,15	0,94
37	41	46	40	46	44
29	36	30	38	15	21
43	47	57	46	65	46

Tabelle 16:

ID	Reference	II/1	III/1	III/2	III/3	IV/1
Sex		F	F	F	M	M
Age	Years	† 58	75	90	†75	†53
Diagnosis		Death: hypoglycemia/ hyperglycemia?	Bronchial CA 1980 Now: Brain CA dementia Diabetes Typ 2 since 2016	dementia	CUP with bronchial metastases Diabetes	Bronchial CA 2009 Hypertonie
Therapy/ Medikation			Insulin injection chemotherapy			Death 2009

IV/2	IV/3	IV/4	V/2	V/3	V/5
M	F	F	F	M	M
†56	57	48	30	38	29
Pankreas head Ca 2010 Diabetes Typ 2 with 40 years Hypertonie Apoplex	Insulinomatosis 2015 Pancreatic fistula Bile duct stenosis Liver calcification Appendectomy Cholecystectomy Diabetes Depression	Insulinomatosis 2009 Hypothyroidism Morbus Crohn Appendectomy Cholecystectomy Diabetes	IFG (?) Astigmatism Diabetes?	Diabetes? Rosacea Asthma	Pollen allergy Asthma 2x Hypoglycemia with tremor
Insulin injection Death 2011	Partial pancreatectomy -Kreon -Pantoprazol -MCP	Pancreatectomy -Insulin subs. -Kreon -Pantoprazol -MCP	Contraceptives	Foster spray (Formoterol, Beclometason)	Cetirizin (anti- histamine)

Danksagung

In erster Linie möchte ich mich bei meiner Arbeitsgruppe im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin bedanken. Besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, die sich stets Zeit nahm und mich von ihrem großen Erfahrungsreichtum und ihren guten Ideen profitieren lies. In den Jahren meiner Doktorarbeit wurde ich hervorragend betreut, immer wieder motiviert und mit neuen wissenschaftlichen Erkenntnissen bereichert.

Abschließend möchte ich mich bei meiner gesamten Familie bedanken, besonders bei meinen lieben Eltern und meiner Schwester für Ihre lebenslange Liebe, Vertrauen und ihre unermüdliche Unterstützung in all meinen Lebenswegen, vielen Dank!

Zudem Danke ich meinem Lebenspartner für seine stetige Zuversicht und motivierende Unterstützung, insbesondere bei der Erarbeitung meiner Dissertation.

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name	Mursal Ghiasi
Geburtsdatum	06. Oktober 1990
Geburtsort	Kabul, Afghanistan
Nationalität	Deutsche

BERUFSERFAHRUNG

Seit 04.2019	Assistenzärztin im Klinikum Darmstadt in der medizinischen Klinik I – Kardiologie und internistische Intensivmedizin
05.2014 – 11.2018	Ärztlicher Bereitschaftsdienst der Kassenärztlichen Vereinigung Hessen Frankfurt am Main im Bürgerhospital und Uniklinikum
05.2017 – 05.2018	Praktisches Jahr am Klinikum Darmstadt
05.2017 – 09.2017	Chirurgische Klinik, Pathologie, Neurochirurgie, ZNA
09.2017 – 12.2017	Darmstädter Kinderkliniken Prinzessin Margaret, Klinik für Neonatologie
12.2017 – 04.2018	Medizinische Klinik III (Nieren-, Hochdruck- und Rheumaerkrankungen) und IV (Onkologie & Hämatologie, Palliativmedizin)
08.2014 – 10.2016	Famulaturen im Rahmen des Studiums
09.2016 – 10.2016	Famulatur in der Allgemeinarztpraxis Dr. Lohwasser
03.2016 – 04.2016	Famulatur in der Inneren Medizin, Bereich Kardiologie
09.2014 – 10.2014	Famulatur in der Notfallambulanz
08.2014 – 08.2014	Famulatur Anästhesie, Notfallmedizin und Intensivstation
07.2011 – 09.2011	Krankenpflegepraktikum im Klinikum Darmstadt

STUDIUM UND SCHULBILDUNG

Seit 10.2015	Promotionsaufnahme am Institut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsmedizin Mainz
--------------	---

04.2011 – 10.2017	Studium der Humanmedizin an der Johannes Gutenberg – Universität Mainz
10.2017 – 05.2018	Studium der Humanmedizin an der Goethe – Universität Frankfurt am Main
02.2003 – 06.2010	Leibnizgymnasium Offenbach Schulabschluss: Abitur

PERSÖNLICHE INTERESSEN

Ehrenamtliche Tätigkeiten

Botschafterin der hessischen Landesregierung im Rahmen des Projekts: „Hessen meets Vietnam – Vietnam meets Hessen“

Patin für Migrantenkinder der Lokalen Agenda 21 Offenbach am Main

Stellvertretende Schulsprecherin Leibnizschule Offenbach

Schülerstipendium für begabte Zuwanderer „Start Stiftung“

Stipendium der Deutsche Bank Stiftung, Stiftung der Deutschen Wirtschaft (Studienkompass)

Weiterstadt, den 04.10.2020