

Aus dem Diabetes Zentrum Mergentheim
Forschungsinstitut der Diabetes Akademie Mergentheim FIDAM
Chefarzt: Prof. Dr. med. Thomas Haak

**Assoziation der ACE-Aktivität und Polymorphismen und
Hypoglykämieprobleme**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin
der Johann Wolfgang Goethe Universität
Frankfurt am Main

vorgelegt von
Mathias Plate
aus Greifswald

Buchs, Schweiz 2008

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. T. Haak

Korreferent: Prof Dr. C. Ohrloff

Tag der mündlichen Prüfung: 02.12.2009

1 Einleitung	1
1.1 Diabetes mellitus Typ-1	1
1.1.1 Definition und Klassifikation	1
1.1.2 Ätiologie	2
1.2 Insulintherapie	3
1.2.1 Insulin	3
1.2.2 Konventionelle Insulintherapie	4
1.2.3 Intensivierte Insulintherapie	5
1.2.4 Insulinpumpentherapie	6
1.2.5 Insulinpräparate	7
1.2.6 Kontrolle der Insulintherapie	9
1.3 Diabetische Folgeerkrankungen	9
1.3.1 Diabetische Mikroangiopathien	10
1.3.2 Diabetische Makroangiopathien	11
1.4 Hypoglykämie	13
1.4.1 Definition von Hypoglykämien	14
1.4.2 Ursachen von Hypoglykämien	17
1.4.2.1 Gegenregulation beim Stoffwechselgesunden	17
1.4.2.1.1 Endokrine Gegenregulation	17
1.4.2.1.2 Symptomatische Gegenregulation	18
1.4.2.1.3 Neuroglykopenische Gegenregulation	19
1.4.2.1.4 Störung der Gegenregulation beim Typ-1-Diabetiker	19
1.4.2.1.5 Hypoglykämie-assoziiertes autonomes Versagen, ein Circulus vitiosus	20
1.4.2.1.6 Therapiefehler als Hypoglykämie-Ursache	22

1.5 Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen	24
1.5.1 Ursachen für Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen	25
1.5.2 Anpassung der Glukoseutilisation an hypoglykämische Zustände	26
1.5.3 Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen und ACE	28
2 Zielsetzung und Fragestellung	30
3 Stichprobe und Methoden	31
3.1 Studiendesign	31
3.1.1 Unabhängige Variablen	31
3.1.2 Abhängige Variablen	32
3.2 Stichprobe	32
3.2.1 Einschlusskriterien	33
3.2.2 Ausschlusskriterien	33
3.3 Hyperinsulinämische hypoglykämische Glukose-Clamp-Technik	34
3.4 Testverfahren und Symptomcheckliste	35
3.4.1 Geteilte Aufmerksamkeit	36
3.4.2 Inkompatibilität	36
3.4.3 Symptomcheckliste	37
3.5 Ablauf der Untersuchung	37
3.5.1 Clamp-Protokoll	39
4 Statistik	41
5 Ergebnisse	42
5.1 Stichprobe	42
5.2 ACE-Aktivität und Genotypisierung des ACE	43
5.3 Blutglukoseverlauf der Clamp-Untersuchung	46

5.4 Endokrine Blutglukose-Gegenregulation	47
5.4.1 Adrenalin	47
5.4.2 Noradrenalin	49
5.4.3 Cortisol	50
5.4.4 Glukagon	51
5.4.5 STH	52
5.5 Symptomatische Blutglukose-Gegenregulation	53
5.5.1 Autonome Symptome	53
5.5.2 Neuroglykopenische Symptome	54
5.5.3 Kontrollsymptome	56
5.6 Neuropsychologische Effekte (Reaktionstests)	57
5.6.1 Geteilte Aufmerksamkeit	57
5.6.2 Inkompatibilität	58
5.7 Effekt des HbA1c auf die Hypoglykämie	59
6 Diskussion	61
7 Zusammenfassung	70
8 Summary	72
9 Literaturverzeichnis	74
10 Anhang	81
11 Danksagung	85
12 Lebenslauf	86
13 Ehrenwörtliche Erklärung	88

1. Einleitung

1.1. *Diabetes mellitus*

1.1.1. Definition und Klassifikation

Der Diabetes mellitus definiert sich durch einen nüchtern gemessenen venösen Plasma-Glukosespiegel von über 126 mg/dl [40]. Im Zentrum dieser Erkrankung steht ein gestörter Kohlenhydratstoffwechsel, der ohne adäquate Behandlung zu chronisch erhöhten Blutzuckerspiegeln führt. Das Peptidhormon *Insulin*, der einzige körpereigene Stoff zur Senkung der Blutglukose, spielt hierbei eine entscheidende Rolle. Das heutige Diagnosekriterium ist der erhöhte Blutglukosespiegel, wohingegen in der Antike der Diabetes durch eine erhöhte Uringlukose diagnostiziert wurde. Daher rührt auch der Name „Diabetes mellitus“, korrekt übersetzt bedeutet er soviel wie „honigsüßer Durchfluss“.

Unter „Diabetes mellitus“ als Oberbegriff lassen sich viele unterschiedliche Syndrome zusammenfassen [4], deren Leitsymptom eine gestörte Glukosetoleranz darstellt. Zwei Formen nehmen hierbei die Hauptrolle ein. Während dem *Typ 2-Diabetes Mellitus* eine Insulinresistenz bei zum Teil noch erhaltener Insulinsekretion zugrunde liegt, besteht beim *Typ 1-Diabetes Mellitus* eine partielle oder komplette Insulinsekretionsstörung.

In dieser Arbeit wird ausschließlich auf den Typ 1-Diabetes Mellitus eingegangen. Aufgrund unterschiedlicher Ätiologie, klinischem Erscheinungsbild, Verlauf und Behandlung soll dem Typ 2-Diabetes Mellitus hier keine gesonderte Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Dieser Abschnitt soll einen kurzen Überblick über medizinische Grundlagen des Diabetes mellitus, damit assoziierte Folgeerkrankungen und den derzeitigen Stand der Insulintherapie geben.

Anm: In dieser Arbeit wird aus Gründen der besseren Lesbarkeit stellvertretend für beide Geschlechter nur die maskuline Bezeichnung genannt.

1.1.2. Ätiologie

Der Typ 1-Diabetes Mellitus, auch „juveniler Diabetes“ genannt, ist eine der häufigsten endokrinologischen Erkrankungen des Kinder- und Jugendalters (Prävalenz: 7/100000 der unter 20-jährigen). Der Inzidenzgipfel liegt bei 13 Lebensjahren, wobei die Krankheit jedoch in jedem Alter auftreten kann [39]. Die Ursache des Insulinmangels bei Typ 1-Diabetes Mellitus ist der Untergang der insulinproduzierenden β -Zellen des Pankreas. Die chronische Entzündung der Inselzellen des Pankreas (Insulinitis) wird als mögliche Ursache des Insulinmangels angesehen. In den letzten Jahren gewann jedoch die Hypothese, dass der β -Zell-Untergang autoimmun-vermittelt ist, immer mehr an Bedeutung. Eine Rolle spielen hierbei offensichtlich T-Zell-vermittelte Prozesse. Es wird diskutiert, dass das körpereigene Insulin selbst als Autoantikörper fungiert [20;79]. Auch eine Infektion mit Enteroviren, insbesondere dem Coxsackie-Virus, wird als Auslöser dieses autoimmunologischen Prozesses diskutiert [27]. Im Schema 1.1 soll deutlich gemacht werden, wie wichtig Insulin für die Glukosehomöostase ist und welche Folgen ein Insulinmangel hat. Neben der Hauptwirkung, der Senkung der Blutglukose, besitzt Insulin noch weitere Wirkungen. In der Leber und im Fettgewebe hemmt es katabole Stoffwechselprozesse, in der Leber und der Muskulatur senkt es die Proteolyse, in der Leber hemmt es die Glukoneogenese. Anabole Prozesse wie die Proteinbiosynthese im Fett- und Muskelgewebe fördert Insulin ebenso wie die Glykogensynthese in Leber, Fett und Muskulatur. Auch die Triglyceridsynthese von Leber- und Fettgewebe werden beschleunigt [65]. Fehlt Insulin, wie es bei Typ-1-Diabetikern der Fall ist, fällt die hemmende Wirkung auf Glukogenolyse und Glukoneogenese weg, hierdurch steigt die hepatische Glukoseproduktion. Zusätzlich kann die Glukose nicht in die peripheren Gewebe aufgenommen werden. Dies führt zu einer Hyperglykämie, die unbehandelt zum Tod der Betroffenen führen kann. Auch die hemmende Wirkung des Insulins auf die Glukagon-Produktion der pankreatischen A-Zelle ist gestört, wodurch eine

Hyperglykämie weiter verstärkt werden kann. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es durch die Zerstörung der Inselzellen des Pankreas außerdem zum Verlust der A-Zell-Funktion. Glukagon spielt als anaboles Hormon eine wichtige Rolle in der Glukose-Hämostase, der Verlust der Glukagon-Produktion stellt ein erhöhtes Risiko dar, eine Hypoglykämie zu erleiden.

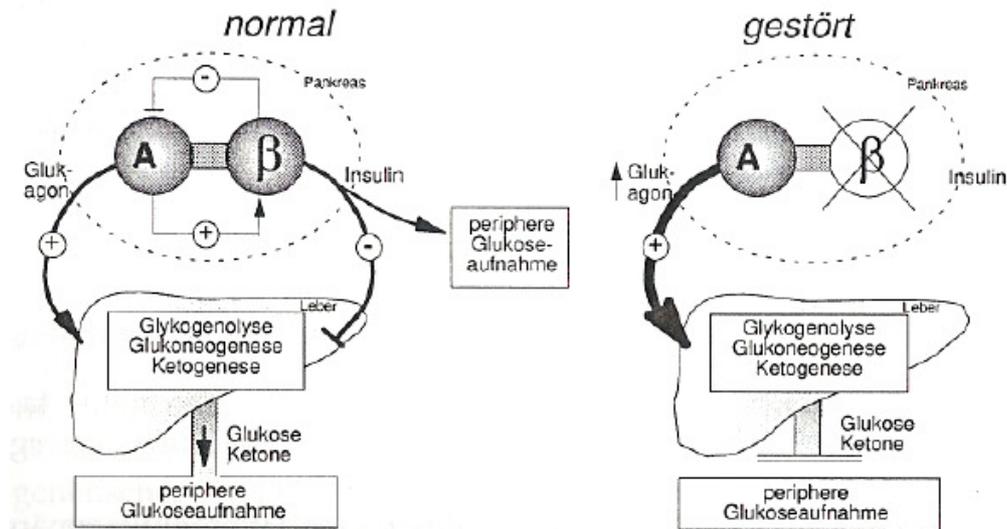


Abbildung 1.1: Links: normaler Glukose/ Insulin-Regelkreis beim Stoffwechselgesunden; rechts: gestörter Glukose/ Insulin-Regelkreis beim Diabetiker, nach Starke 1995

1.2 Insulintherapie

1.2.1 Insulin

Die Behandlung von an Diabetes-Typ-1 erkrankten Menschen besteht im Wesentlichen in der Substitution von Insulin. Diese Behandlung muss nach dem derzeitigen Wissensstand lebenslang erfolgen. Für die Entdeckung des Insulins wurde Banting 1923 mit dem Nobelpreis geehrt [60].

Insulin ist ein Peptidhormon. Es besteht aus zwei Aminosäureketten mit 21 beziehungsweise 30 Aminosäuren, die über 2 Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Das Insulinmolekül entsteht aus den Vorstufen Präproinsulin und Proinsulin in den β -Zellen des Pankreas. Der letzte Syntheseschritt ist die Abspaltung des C-Peptids vom

Proinsulin. Als Laborparameter spielt dieses C-Peptid in der klinischen Praxis eine bedeutende Rolle. Man kann hiermit quantitativ die endogene Insulinproduktion und somit die Restaktivität der pankreatischen Inselzellen bestimmen.

Durch Bindung des Hormons an den membranständigen Insulinrezeptor wird ein intrazellulärer Signaltransduktionsprozess aktiviert, der letztlich zur Glukose-Aufnahme in die Zelle führt. Der genaue molekulare Wirkungsmechanismus kann heute noch nicht endgültig und befriedigend beantwortet werden [49].

Ziel der Insulintherapie ist es, eine möglichst bedarfsgerechte Substitution zu erzielen, die, durch den Wegfall der körpereigenen Blutglukoseregulation, den wechselnden Insulinbedarf möglichst genau imitiert. Für die Behandlung des Typ 1-Diabetes Mellitus stehen drei grundlegend verschiedene Behandlungs-Strategien zur Verfügung: die konventionelle Insulintherapie, die intensivierete Insulintherapie sowie die Insulinpumpentherapie.

1.2.2 Konventionelle Insulintherapie

Bei der konventionellen Insulintherapie (CT) werden fixe Mischungen von kurzwirksamen Normalinsulin (30 %) und langwirksamen Verzögerungsinsulin (70%) normalerweise zweimal täglich subkutan injiziert. Dabei erreicht das Normalinsulin jeweils morgens und abends, 1-2 Stunden nach Injektion, sein Wirkmaximum. Das Verzögerungsinsulin erreicht sein Wirkmaximum jeweils mittags und gegen Mitternacht. Um unerwünschte Hypoglykämien zu vermeiden, muss mehrmals täglich zu festen Zeiten eine genau bestimmte Menge an Kohlenhydraten gegessen werden. Eine individuell gesteuerte Nahrungsaufnahme ist bei dieser Therapieform ebenso wenig möglich wie eine individuelle Anpassung bei vermehrter körperlicher Aktivität, weshalb eine bedarfsadaptierte Insulintherapie kaum einzuhalten ist. Einziger Vorteil dieser Therapieform gegenüber der Intensivierten Insulintherapie und der Insulinpumpentherapie, ist die vergleichsweise einfache Handhabung. Da immer die gleiche Kohlenhydratmenge

gegessen und die gleiche Insulinmenge gespritzt wird, sind nur zwei Injektionen täglich notwendig. Deshalb sind hier auch wenige Blutzuckerselbstmessungen notwendig. Die konventionelle Insulintherapie hat in den letzten zwei Jahrzehnten immer mehr an Bedeutung verloren.

1.2.3 Intensivierte Insulintherapie

Grundprinzip in der intensivierten Insulintherapie (ICT) ist die Trennung des basalen Insulinbedarfs unter Ruhebedingungen vom prandialen Insulinbedarf zur Nahrungsaufnahme. Der Grundbedarf wird durch täglich zwei Injektionen Verzögerungsinsulin, z.B. NPH-Insulin, beziehungsweise täglich eine Injektion eines langwirksamen Insulins, z.B. Insulin glargin, gedeckt. Die nahrungsabhängige Insulinsubstitution erfolgt ausschließlich mit kurzwirksamen Insulinen, z.B. Normalinsulin. Die Dosierung bestimmt hierbei der Typ-1-Diabetiker selbst, in Abhängigkeit von der Nahrungsmenge und des präprandialen Blutglukosewertes. Die Menge der Kohlenhydrate und den Zeitpunkt der Nahrungsaufnahme kann der Patient, je nach Hungergefühl, frei wählen. Auch eine individuelle Anpassung an körperliche Anstrengung ist möglich [5]. Die Durchführung dieser Therapieform erfordert einen sehr hohen Aufwand durch die 3-6-malige Blutglukoseselbsttestung, die jeweils individuelle Berechnung der Insulindosis und der mehrmaligen Injektion des Insulins. Einer bedarfsgerechten Insulinapplikation kommt diese Behandlungsform sehr nahe. Voraussetzung für die Durchführung einer intensivierten Insulintherapie ist eine ausführliche Schulung des Typ-1-Diabetikers, der hierbei selbst die Verantwortung trägt [43].

Wie Ergebnisse einer großen Langzeitstudie zeigen, lohnt sich dieser Mehraufwand jedoch für den Patienten beträchtlich. Die DCCT (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993) verglich die Konventionelle Insulintherapie mit der Intensivierten Insulintherapie. Es zeigte sich, dass Patienten der ICT gegenüber der CT a) einen um fast zwei Prozentpunkte niedrigeren HbA1c-Wert

aufweisen (siehe Abbildung 1.2); b) ein um 76 % niedrigeres Risiko für die Entwicklung einer Retinopathie (siehe 1.3.1) aufweisen; c) ein um 34 % niedrigeres Risiko für die Ausbildung einer Mikroalbuminurie (siehe 1.3.1) aufweisen und d) das Risiko an einer Neuropathie (siehe 1.3.1) zu erkranken um 69 % senken können [73].

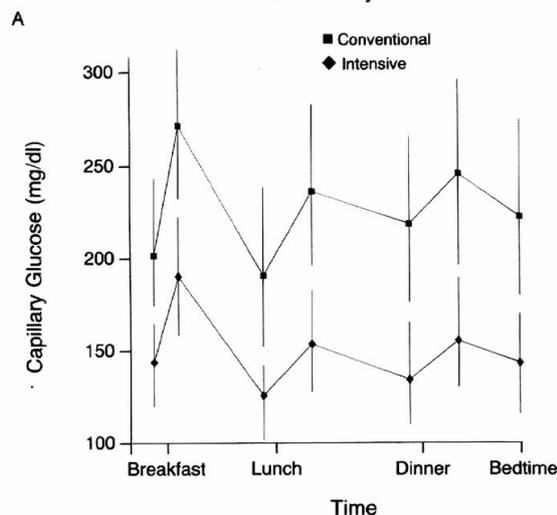
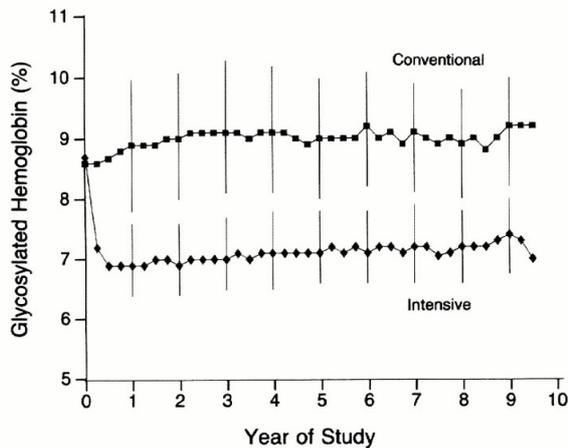


Abbildung 1.2: CT versus ICT: Ausmaß des Unterschieds von HbA1c (A) und Blutglukose-Tagesprofil (B) aus: The DCCT 1993

1.2.4 Insulinpumpentherapie

Die Insulinpumpentherapie, auch CSII („continuous subcutaneous insulin infusion“), bietet ein Höchstmass an bedarfsgerechter und individueller Insulintherapie, die die physiologische Insulinsekretion am besten imitiert. Die CSII gilt heute als Goldstandard. Angelehnt an die intensivierete Insulintherapie findet eine Trennung von basalen Grundbedarf und nahrungsabhängigen Insulinbedarf statt. Die

Applikation des Insulins erfolgt jedoch nicht über das mehrmalige Spritzen, sondern über einen Dauerkatheter, der im Unterhautfettgewebe liegt. Zur Anwendung kommen hier ausschließlich kurzwirksame Insuline (Normalinsulin, Insulin-Analoga). Der Grundbedarf wird über die so genannte Basalrate gedeckt, hier werden kleinste Insulin-Mengen kontinuierlich abgegeben. Abhängig von circadianen Schwankungen des Insulinbedarfs kann die Pumpe, ein kleines prozessorgesteuertes Gerät, einprogrammierte variable Basalraten applizieren. Das nahrungsabhängige Insulin wird, ebenfalls in der Menge variabel, per Knopfdruck über denselben Katheter abgegeben. Hierbei entfällt also das mehrmalige Spritzen. Aus hygienischen Gründen wird der Dauerkatheter etwa alle drei Tage gewechselt. Ist die Häufigkeit der Blutzuckerselbstmessungen etwa mit der Intensivierten Insulintherapie vergleichbar, erfordert die professionelle Handhabung der Insulinpumpe eine sehr ausführliche Schulung und ein gewisses Maß an technischem Verständnis auf Seiten des Typ-1-Diabetikers. Auch die hohen Kosten dieser Therapieform, die sich etwa auf das Doppelte im Vergleich zur ICT belaufen, spielen eine nicht unerhebliche Rolle.

1.2.5 Insulinpräparate

Für die bedarfsgerechte Insulin-Substitution stehen verschiedene Insulinpräparate zur Verfügung, die sich hinsichtlich Ihrer Wirkdauer, dem Zeitpunkt des Wirkeintritts und der Dauer des Wirkmaximums unterscheiden. Insulin steht als semisynthetisches oder gentechnisch hergestelltes Hormon zur Verfügung. Bis vor kurzem stand Insulin ausschließlich als Injektionslösung zur Verfügung, die subcutan injiziert werden muss. Seit 2005 steht Insulin auch als inhalatives Insulin Exubera[®] zur Verfügung. Das Wirkprofil ähnelt den sehr kurz wirksamen Insulinen (siehe Tabelle 1) [61]. Es zeigte sich in bisher vorliegenden Studien eine äquivalente Wirkung des inhalierbaren Insulins, wobei die Insulindosis jedoch etwa 8-10-mal höher war als von vergleichbaren subcutan verabreichten Insulinen. Es besteht eine

Kontraindikation für inhalatives Insulin bei Patienten die unter Lungenkrankheiten leiden oder Rauchen [59;68]. Da Langzeitstudien fehlen, hat sich das inhalierbare Insulin in der Therapie des Typ 1-Diabetes Mellitus bisher noch nicht etabliert [67]. Letzte Recherchen ergaben, dass der Pharmakonzern Pfizer das inhalative Insulinpräparat Exubera[®] ab September 2008 weltweit vom Markt nimmt. Als Grund dafür wird gehäuftes Auftreten von Lungentumoren als mögliche unerwünschte Nebenwirkung des Präparates angegeben.

Tabelle 1.1: Übersicht der Insuline in der Therapie des Typ 1-Diabetes mellitus. Die angegebenen Zeiten gelten für mittlere Insulindosen. Insbesondere die Zeit bis zum Erreichen des Wirkmaximums und die Wirkdauer sind bei großen Insulindosen länger, bei kleinen Insulindosen kürzer (Deutsche Diabetes Gesellschaft, Stand 05/2007).

Insulin	Handelsname	Wirkbeginn (h)	Wirkmaximum (h)	Wirkdauer (h)
Sehr kurz wirkende Insuline	Apidra [®] Humalog [®] NovoRapid [®]	0,25	1	2-3
	Exubera [®] (inhalierbares Insulin)	0,25	0,5-1,5	2-3
Kurz wirkende Insuline	Berlinsulin H Normal [®] Insulin B.Braun ratiopharm Rapid [®] Huminsulin Normal [®] Actrapid HM [®] Insuman Rapid [®]	0,5	2	4-6
Mittellang wirkende Insuline	Berlinsulin H Basal [®] Insulin B.Braun ratiopharm Basal [®] Huminsulin Basal [®] Protaphan HM [®]	1-2	4-6	8-12
Lang wirkende Insuline	Levemir [®]	3-4	10-14	16-20
Sehr lang wirkende Insuline	Lantus [®]	3-4	10-16	20-30

1.2.6 Erfolgskontrolle der Insulintherapie

Wichtigstes Werkzeug zur Therapiekontrolle des Diabetes mellitus ist die Höhe der Blutglukose, die durch den Patienten in der Regel selbst bestimmt wird. Hiervon hängt ab wie viel Einheiten Insulin z.B. zu den Mahlzeiten gespritzt werden muss, oder ob im Falle einer Hypoglykämie Blutzucker-steigernde Maßnahmen ergriffen werden müssen. Da aber der aktuelle Blutglukosewert keine Aussage über die langfristige Einstellung geben kann, bedient man sich eines weiteren Laborparameters, dem HbA1c-Wert. Hiermit erhält man Informationen über die mittlere Blutglukose der letzten 8-12 Wochen. Der HbA1c gibt den prozentualen Anteil des Hämoglobins an, der mit der Blutglukose eine Verbindung eingegangen ist. Es können sowohl der Glykosylierungsgrad des Gesamthämoglobins bestimmt werden, als auch der Glykosylierungsgrad bestimmter Unterfraktionen wie Hämoglobin A oder Hämoglobin C. Aufgrund der hohen Stabilität hat der HbA1c, der den Grad der Glykosylierung des Hämoglobin C darstellt, den höchsten Stellenwert und hat sich international als Referenzwert durchgesetzt [29]. Der Normwert des HbA1c liegt bei 4-6%.

1.3 Diabetische Folgeerkrankungen

Langfristig sind an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankte Menschen von einer erhöhten Morbidität und Mortalität betroffen. Verschiedene diabetesassoziierte Folgeerkrankungen sind für die erhöhte Morbidität verantwortlich, die dann wiederum einen großen Anteil an der erhöhten Mortalität verursachen [66].

Zu den diabetischen Folgeerkrankungen werden im Allgemeinen jene Krankheiten gezählt, die als direkte Folge eines zu hohen Blutzuckerspiegels entstehen. Dazu gehören vor allem die Mikroangiopathien, die Erkrankung der kleinen Blutgefäße, und die Makroangiopathien, die Erkrankung der großen Blutgefäße.

1.3.1 Diabetische Mikroangiopathien

Die durch Mikroangiopathien verursachten Erkrankungen treten mit am häufigsten auf. So weisen etwa 60% der Typ-1-Diabetiker nach 40 Jahren Diabetesdauer eine gravierende proliferative Retinopathie auf. Eine diabetesbedingte Nephropathie entwickelt sich bei etwa 20% der Typ-1-Diabetiker nach 20-30 Jahren Diabetesdauer [41]. Je nach Einteilung kann man die diabetische Neuropathie zu den Mikroangiopathien zählen [62]. Pathophysiologisch kommt es bei der Mikroangiopathie zu biochemisch-metabolisch hervorgerufenen Endothelzell-Läsionen, hervorgerufen durch chronisch erhöhte Blutglukosewerte. Diese Läsion führt zu einer Intimaverdickung mit folgender Durchblutungsstörung der kleinen Gefäße besonders in der Retina, der Niere und an den Nerven.

An der Retina führen diese Durchblutungsstörungen zu einer Gefäßneubildung („Proliferation“). Diese neu gebildeten Gefäße weisen nur eine geringe Stabilität auf, weshalb sie schnell kollabieren und damit Netzhautblutungen verursachen, welche schlussendlich zur Erblindung führen können [47].

Die Diabetische Nephropathie entsteht durch Durchblutungsstörungen an den Glomeruli, welche für die Filtrationsleistung der Niere verantwortlich sind. Dies kann im schlimmsten Fall eine terminale Niereninsuffizienz zur Folge haben. Als diagnostisches Hilfsmittel bedient man sich dem Nachweis einer Mikroalbuminurie. Getriggert wird die Schädigung der Glomeruli außerdem durch die Arterielle Hypertonie.

An den Nerven ist der schädigende Mechanismus der chronischen Erhöhung der Blutglukose noch nicht genau geklärt. Symptome treten vor allem an distalen sensiblen Nervenendigungen auf. Dies sind Kribbeln, Brennen und Schmerzen in den Füßen. In weiter fortgeschrittenen Stadien kann es auch zum vollständigen Verlust der Sensibilitätsqualitäten (kalt/ warm, Vibration, Druck) kommen. Die motorische Neuropathie führt zu Muskelkrämpfen und Lähmungen, die autonome Neuropathie äußert sich in der Beeinträchtigung der

vegetativen Regulation aller autonom innervierten Organe (z.B. Herz, Gastrointestinaltrakt). In der Abbildung 1.3 ist die Prävalenz der diabetischen Retinopathie in Abhängigkeit von der Güte der Blutzucker-Einstellung (gemessen am HbA1c) dargestellt. Es zeigt deutlich, dass das Risiko an einer Retinopathie zu erkranken deutlich erhöht ist, je höher der HbA1c liegt. Ziel sollte es demnach sein, durch eine gute Stoffwechsel-Einstellung möglichst niedrige HbA1c-Werte zu erreichen, um das Retinopathie-Risiko zu senken.

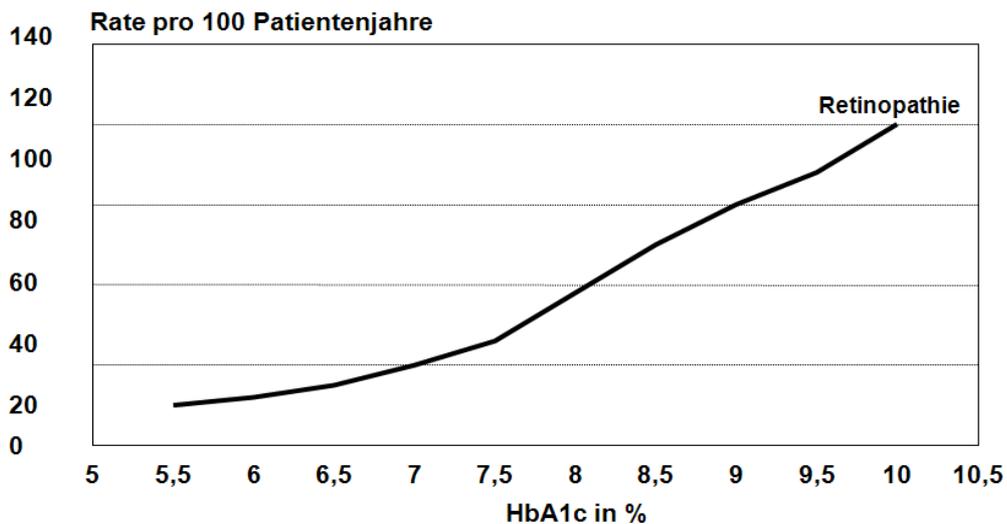


Abbildung 1.3: Prävalenz der Retinopathie in Abhängigkeit vom HbA1c, aus: The DCCT 1993.

1.3.2 Diabetische Makroangiopathien

Makroangiopathien bezeichnen die Schädigung der größeren Blutgefäße. Im Vergleich zur gesunden Normalbevölkerung haben Diabetiker eine 2-3 fach höhere Prävalenz, eine Koronare Herzerkrankung zu entwickeln. Das Risiko einen Schlaganfall zu erleiden ist doppelt so hoch, die Wahrscheinlichkeit eine arterielle Verschlusskrankheit zu bekommen, ist sogar 15-mal höher im Vergleich zur Normalbevölkerung [71].

Bei der Pathogenese dieser Makroangiopathien spielen Risikofaktoren wie Arterielle Hypertonie, Fettstoffwechselstörungen oder Nikotinabusus eine größere Rolle als mikroangiopathische Veränderungen. Diese Risikofaktoren schädigen die Gefäße eines

Diabetikers um ein Vielfaches mehr als die eines Nicht-Diabetikers. In der UKPDS (United Kingdom Prospektive Diabetes Study) wurden makroangiopathische Folgeerkrankungen bei Typ 2-Diabetikern untersucht, die sich in diesem Fall auf den Typ 1-Diabetes Mellitus übertragen lassen. Je schlechter die Blutglukose-Einstellung, desto höher ist das Risiko makroangiopathische Veränderungen zu entwickeln. Das Risiko eines Herzinfarktes kann um 14% gesenkt werden, wenn der HbA1c um 1% gesenkt wird. Ähnlich verhält sich das Risiko, einen Schlaganfall zu erleiden. Verbessert ein Diabetiker seine Stoffwechseleinstellung so, dass der HbA1c um 1% sinkt, dann sinkt das Risiko einen Schlaganfall zu erleiden um 12%. In Abbildung 1.4 ist die Prävalenz makroangiopathischer Veränderungen in Abhängigkeit von der Qualität der Stoffwechseleinstellung (gemessen am HbA1c) dargestellt. Ziel sollte es sein, durch strenge Blutzuckereinstellung, einen möglichst tiefen HbA1c-Wert zu erreichen, um so Folgeschäden zu vermeiden.

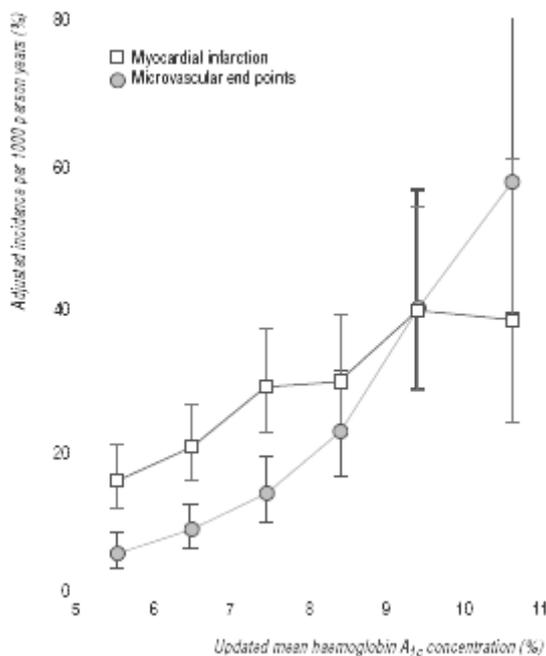


Abbildung 1.4: Prävalenz der Mikro- und Makroangiopathien in Abhängigkeit vom HbA1c, aus The UKPDS 2000

1.4 Hypoglykämie

Bereits kurz nach dem Beginn der Insulinbehandlung im Jahre 1922 in Toronto, wurde erstmals über die Hypoglykämie als Nebenwirkung der Insulinbehandlung berichtet [3]. Banting und Kollegen beschrieben eine bestimmte Abfolge von Symptomen. Neben Hunger und Müdigkeit beobachteten sie autonome Symptome wie Zittern und Schwitzen, begleitet von emotionalen Veränderungen und cerebralen Dysfunktionen. Auch den Zusammenhang zwischen der Tiefe der Blutglukose und Ausprägung der beschriebenen Symptome stellten Banting und Kollegen fest. Wird im Falle einer Hypoglykämie nicht rechtzeitig interveniert, sinkt der Blutzucker weiter, es können Krampfanfälle und Bewusstlosigkeit auftreten. Cryer schreibt, dass die Hypoglykämie der limitierende Faktor in der Behandlung des Diabetes mellitus ist [14], der eine ernstzunehmende Komplikation in der Insulintherapie darstellt und potentiell lebensbedrohlich ist [13]. Bei der Erreichung der Normoglykämie stellt die Hypoglykämie ein wesentliches Behandlungshindernis dar und wird sogar als das häufigste Krankheitsereignis von Typ-1-Diabetikern beschrieben [15]. Vor allem das Erleben schwerer Unterzuckerungen mit Hilfsbedürftigkeit, Krampfanfällen und Bewusstlosigkeit stellt für den Betroffenen eine große psychische Belastung dar [63].

Im engen Zusammenhang zu oft durchlebten Hypoglykämien steht das Syndrom der gestörten Hypoglykämiewahrnehmung. Bei den Betroffenen stellen sich die hypoglykämie-spezifischen Warnsymptome nicht ein oder sind so schwach ausgeprägt, dass sie nicht als solche erkannt werden. Das Risiko eine schwere Hypoglykämie mit Kontrollverlust zu erleiden, ist bei diesen Typ-1-Diabetikern deutlich erhöht.

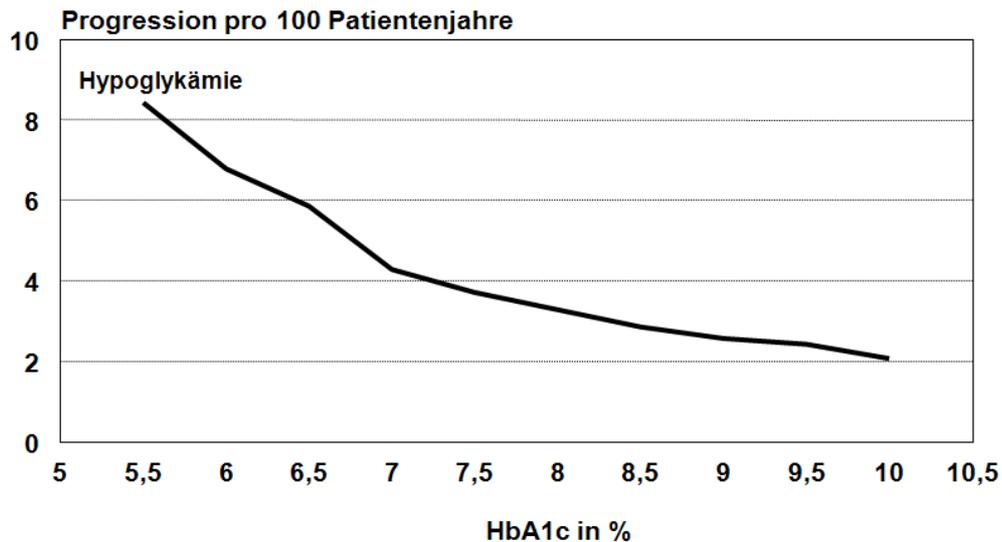


Abbildung 1.5: Prävalenz der Hypoglykämie in Abhängigkeit vom HbA1c, aus: The DCCT 1993

1.4.1 Definition von Hypoglykämien

Bis heute existiert keine einheitliche Definition von Hypoglykämien, die verbindliche Gültigkeit besitzt. Als gesichert dürfen aber eine Vielzahl von Symptomen angesehen werden, die sich ausprägen wenn der Blutzucker des Betroffenen unter einen kritischen Wert fällt. Diese Symptome teilt man ein in *autonome Symptome*, *neuroglykopenische Symptome* und *unspezifische Symptome*. Einen Überblick gibt Tabelle 1.2 [28].

Abhängig von der Tiefe der Blutglukose treten nicht bei jedem Betroffenen alle Symptome einer Hypoglykämie auf (siehe auch Kapitel 1.4.2.1.2). Die im Folgenden von mir aufgeführte Definition und Einteilung der Hypoglykämien in verschiedene Stadien, abhängig von der Intensität, stammt von Cryer aus dem Jahre 1993 [13] und wurde von Tattershall modifiziert [69].

1. *Biochemische asymptomatische Hypoglykämien* werden von den betroffenen Typ1-Diabetikern nicht bemerkt. Eine starre Festlegung, ab welchem Blutglukoseniveau man von einer Hypoglykämie spricht, gibt es hier nicht. Im Normalfall zieht man die Grenze bei Blutglukosewerten ≤ 70 mg/dl.

2. *Symptomatische (leichte) Hypoglykämien* werden vom Betroffenen selbst erkannt und können durch korrektes Verhalten (orale Zufuhr von schnell resorbierbaren Kohlenhydraten) selbst behandelt werden. Zur genauen Definition kann man sich die „Whipple´sche Triade“ hinzuziehen: folgende Kriterien müssen erfüllt sein, um von einer leichten Hypoglykämie zu sprechen: a) ein hypoglykämie-kompatibler Blutglukosewert liegt vor (≤ 70 mg/dl), b) hypoglykämie-assoziierte Symptome liegen vor; c) die Symptome verbessern sich nach oraler Zufuhr von Kohlenhydraten [76].

3. *Schwere Hypoglykämien* erfordern in jedem Fall fremde Hilfe. Dies kann beispielsweise durch die orale Gabe von schnell resorbierbaren Kohlenhydraten erfolgen.

4. *Sehr schwere Hypoglykämien* erfordern in jedem Fall Fremdhilfe. Darunter fallen unter anderem Krampfanfälle und / oder Bewusstlosigkeit. Sie werden durch eine intramuskuläre Glukagon-Injektion oder durch eine intravenöse Glukose-Infusion behandelt [28].

Im ebenfalls von Cryer veröffentlichten Report der Hypoglykämie-Arbeitsgruppe der American Diabetes Association wurden zu den drei beschriebenen Schweregraden der Hypoglykämie noch zwei weitere Grade postuliert, die sich vor die *asymptomatischen* Unterzuckerungen stellen. Dies ist zum einen die *wahrscheinliche* („*propable*“) *Hypoglykämie*, bei der hypoglykämiespezifische Symptome durch den Betroffenen korrekt behandelt werden, ohne dass die Hypoglykämie durch eine Blutzuckerselbstmessung bestätigt wurde. Zum anderen handelt es sich um die *relative Hypoglykämie*, bei der die Diabetiker typische hypoglykämiespezifische Symptome aufweisen, jedoch der Blutglukosewert ≥ 70 mg/dl beträgt [70]. Diese Gruppe dürfte sich auf Diabetiker mit schlecht eingestelltem Blutzucker beschränken.

Aufgrund dieser uneinheitlichen Einteilungen ist es schwer, eine klare Definition der Hypoglykämie zu geben oder Daten miteinander zu vergleichen, zumal leider nicht in jeder wissenschaftlichen Arbeit exakt definiert wird, nach welcher Einteilung sich die Autoren gerichtet haben

[11]. In dieser Arbeit verwendeten wir die oben aufgeführte Einteilung der Schweregrade von Hypoglykämien nach Cryer und Tattershall.

Tabelle 1.2: Hypoglykämiesymptome

Autonome Symptome	Neuroglykopenische Symptome	Unspezifische Symptome
Zittern, Nervosität	Schwindel	Hunger
Schweißausbruch, Wärmegefühl	Kopfschmerz	Übelkeit
Tachykardie	Verwirrtheit, inadäquates Verhalten	Erbrechen
Blutdruckanstieg	Denk- und Sprechstörungen	Sehstörungen
Angst, innere Unruhe	Konzentrationsschwäche	Benommenheit
Hypoventilation	Krämpfe	
	Hypothermie	
	Atem-und Kreislaufinsuffizienz	
	Evtl. irreversibles zentrales Defektsyndrom	

1.4.2 Ursachen von Hypoglykämien

1.4.2.1 Gegenregulation beim Stoffwechselgesunden

1.4.2.1.1 Endokrine Gegenregulation

Verallgemeinert darf man sagen, dass die Hauptursache einer Hypoglykämie in einem relativen Überangebot an Insulin liegt. Die vorher bereits beschriebene Insulinsubstitution kann, auch bei gutem Wissensstand des Typ-1-Diabetikers, die physiologische Insulinsekretion nicht hundertprozentig imitieren. Beim Stoffwechselgesunden erfolgt bei einem zu tiefen Blutglukoseniveau eine negative Rückkopplung, die Insulinsekretion wird vermindert oder sogar völlig gestoppt. Außerdem sezerniert der Organismus gegenregulatorische Hormone wie Glukagon, Adrenalin, Cortisol sowie Wachstumshormone, die dem erniedrigten Blutzuckerspiegel entgegenwirken.

Glukagon, von den pankreatischen α -Zellen sezerniert, erhöht den Blutglukosespiegel durch Stimulation der Glukoneogenese und der Glykogenolyse in der Leber. Adrenalin fördert über seine β -adrenergen Rezeptoren die Freisetzung von Substraten für die Glukoneogenese aus peripheren Geweben. Außerdem inhibiert Adrenalin den Glukoseverbrauch peripherer Gewebe und inhibiert, über α -2-adrenerge Rezeptoren, die Insulinsekretion. Weiterhin ist das Adrenalin maßgebend für die Entwicklung hypoglykämie-assoziiierter Symptome verantwortlich, die oben als autonome Symptome bezeichnet wurden. Cortisol und Wachstumshormone (STH, somatotropes Hormon) werden erst dann ausgeschüttet, wenn eine schwere Hypoglykämie etwa 30-40 Minuten lang vorliegt. Durch Cortisol und STH findet eine weitere Blockierung der Glukoseumsetzung peripherer Gewebe und eine Steigerung der Glukoseproduktion durch die Leber statt. Cryer schreibt diesen Mechanismen der Blutglukosegegenregulation eine streng hierarchische Organisation zu, die sich sowohl an der Tiefe als auch an der Dauer der Unterzuckerung orientiert und dementsprechend

greift [13;18]. Die glykämischen Schwellen dieser Hierarchie sind in Abbildung 1.5 vereinfacht dargestellt. Es kann beim Stoffwechselgesunden davon ausgegangen werden, dass eine Adrenalin-Ausschüttung respektive eine Sezernierung von Cortisol und Wachstumshormonen im Falle einer Unterzuckerung nicht nötig sein wird, da die vorangestellten Regulationsmechanismen (Stopp der Insulinsekretion und Ausschüttung von Glukagon) ausreichen sollten, der Hypoglykämie entgegenzuwirken.

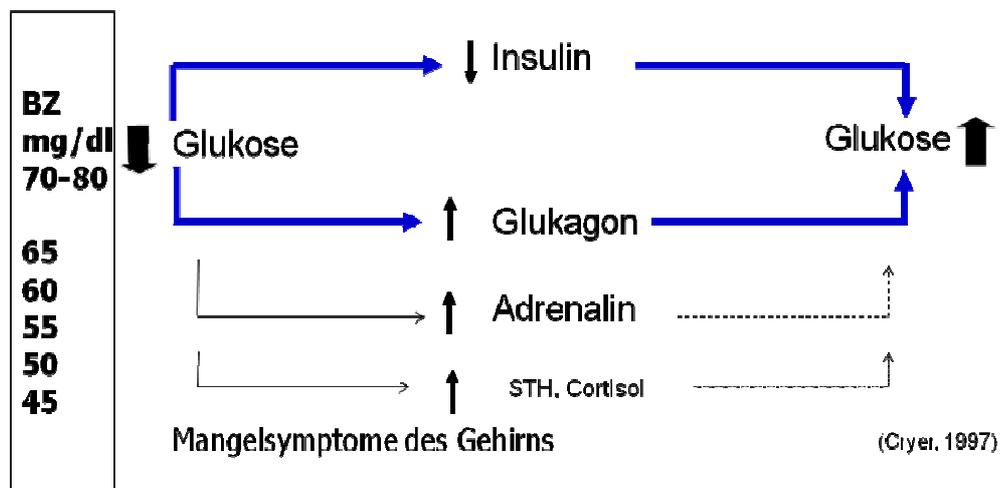


Abbildung 1.6: Glykämische Schwellen der Hypoglykämie-Gegenregulation, nach Cryer 1997

1.4.2.1.2 Symptomatische Gegenregulation

Ab einem Blutglukoselevel von 56-50 mg/dl treten beim Nichtdiabetiker die oben bereits erwähnten *autonomen* Symptome einer Unterzuckerung auf. Diese entstehen durch die Aktivierung des autonomen Nervensystems und stellen physiologische Reaktionen dar. Symptome wie Schwitzen und Zittern werden zusätzlich durch die bereits beschriebene systemische Freisetzung von Catecholaminen verstärkt. *Neuroglykopenische* Symptome wie Konzentrationschwäche oder Müdigkeit, die auch bei Blutglukosewerten von 56-50 mg/dl auftreten, entstehen aufgrund von beginnenden, leichten Beeinträchtigungen der kognitiven Leistungsfähigkeit [24;30]. Die Symptome, insbesondere die *neuroglykopenischen*, sind einfacher zu verstehen, wenn man sich deutlich macht, dass das Gehirn auf

Glukose als Substrat beziehungsweise Nährstoff angewiesen ist. Das Gehirn ist weder in der Lage selbst Glukose zu produzieren noch andere Nährstoffe wie zum Beispiel Fette oder Proteine zu verwerten. Der Transport von Glukose in das Gehirn über die Blut-Hirn-Schranke erfolgt ausschließlich über den GLUT-1-Transporter [50]. Man kann die Hypoglykämie-spezifischen Symptome auch als Energie-Mangel des Gehirns verstehen. Das Auftreten dieser Symptome soll dem Betroffenen ermöglichen, eine Hypoglykämie zu erkennen und zu behandeln.

1.4.2.1.3 Neuroglykopenische Gegenregulation (Neuropsychologische Effekte)

Bei zunehmender Tiefe einer Hypoglykämie treten ab Blutglukose-Spiegeln von 52-44 mg/dl neuropsychologische Defizite auf, die man mittels kognitiven Tests und evozierten EEG-Potentialen nachweisen kann. Komplexe Testaufgaben können auf diesem niedrigen Blutglukose-Level nicht mehr adäquat gelöst werden. Gleiches gilt für komplexe Alltagstätigkeiten. Als Ursache fand man eine Reduktion der synaptischen Übertragung im Hippocampus von bis zu 60 % während hypoglykämischen Episoden mit einem Blutglukose-Spiegel von weniger als 52 mg/dl [1]. Fällt der Blutzuckerspiegel weiter ab, können Veränderungen im Spontan-EEG beobachtet werden, es kann zu Bewusstseinstrübungen, Bewusstlosigkeit und Krampfanfällen kommen [23;75].

1.4.2.2. Störung der Gegenregulation beim Typ-1-Diabetiker

Beim Typ-1-Diabetiker ist dieser Regelkreis empfindlich gestört. Der entscheidende Punkt liegt in der Behandlung mit exogen verabreichtem Insulin per se. Dieses Insulin wird vom Gewebe passiv resorbiert. Eine Downregulation der Insulinsekretion der pankreatischen β -Zellen, wie sie beim Stoffwechselgesunden als erste Maßnahme bei zu tiefen Blutglukosespiegeln eintritt, schließt sich in

diesem Fall von selbst aus (siehe Abbildung 1.1). So wird das einmal injizierte Insulin vollständig passiv resorbiert, unabhängig davon ob der Blutzucker zu hoch oder zu niedrig ist. Betrachtet man die Resorptionszeiten langwirksamer Insuline, kann dies leicht dazu führen, dass eine schon bestehende Hypoglykämie noch weiter verstärkt wird.

Die Glukagon-Response als zweiter Schritt einer Gegenregulation findet aufgrund autonomer Regulationsstörungen nicht statt [2;12;16;17;26;32;70]. Die genauen Mechanismen des Verlustes der Glukagon-Sekretion auf den Reiz einer tiefen Blutglukose während der ersten Jahre nach Erkrankungsbeginn sind noch relativ ungeklärt. Es muss sich hierbei um einen Signaldefekt handeln, da die Glukagon-Sekretion durch andere Stimuli als die Hypoglykämie keinesfalls gestört ist. Möglicherweise besteht ein Zusammenhang mit dem endogenen Insulinmangel, aber auch Defekte der in nächster Nachbarschaft zu den geschädigten Insulin-produzierenden β -Zellen liegenden Glukagon-produzierenden pankreatischen α -Zellen, könnten eine wichtige Rolle spielen [6;25]. Die Betroffenen sind somit auf den nächsten Mechanismus, die Ausschüttung von Adrenalin angewiesen, der jedoch wie schon beschrieben erst bei tieferen Blutzuckerspiegeln beziehungsweise länger andauernden Unterzuckerungen zu greifen beginnt [16]. Beim Typ 1-Diabetes Mellitus besteht auch hier eine Adaptation, der zur Adrenalin-Sekretion nötige Grenzwert verschiebt sich im Verlauf der Erkrankung hin zu niedrigeren Blutglukosewerten. Dies wird zusätzlich durch kürzlich abgelaufene Hypoglykämien verstärkt.

1.4.2.3 Hypoglykämie-assoziiertes autonomes Versagen, ein Circulus vitiosus

Cryer postulierte das Konzept des „Hypoglycemia-associated autonomic failure“, kurz HAAF, bei Typ-1-Diabetikern [13]. Durch die Absenkung der glykämischen Schwellen für die Glukagon-Ausschüttung und die Adrenalin-Ausschüttung erhöht sich die

Wahrscheinlichkeit für mögliche Blutzucker-Abfälle. Dies wiederum kann durch einen positiven Rückkopplungsprozess zu einer Verstärkung von Hypoglykämieproblemen führen, da sich die glykämische Schwelle für die Blutglukose-Gegenregulation weiter absenkt. Abbildung 1.6 soll einen schematischen Überblick über dieses Problem geben.

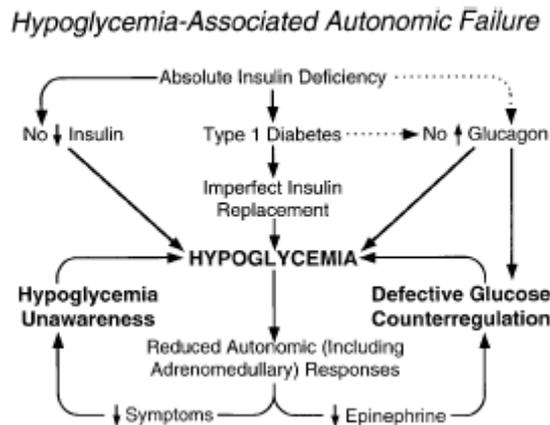


Abbildung 1.7: Konzept des hypoglykämie-assoziierten autonomen Versagens, nach Cryer 2003

Durch den Typ 1-Diabetes Mellitus kommt es zu einem absoluten Insulindefizit und zum Verlust der Glukagon-Response auf einen hypoglykämischen Reiz hin. Eine nicht vollkommen bedarfsgerechte exogene Insulin-Substitution oder mögliche Therapiefehler können leicht zu einer Hypoglykämie führen. Durch häufige Hypoglykämien kommt es abermals zur Anpassung der glykämischen Schwellen an niedrige Blutglukose-Werte. Die glykämischen Schwellen sinken auf ein niedriges Blutglukose-Niveau. Hierdurch erhöht sich die Wahrscheinlichkeit weiterer Hypoglykämien. Der Kreis schließt sich also indem häufige Hypoglykämien durch weiteres Absinken der Schwellen die nächsten Hypoglykämien bedingen.

Cryer weist jedoch ausdrücklich daraufhin, dass das HAAF reversibel ist. Vermeidet der Betroffene Typ-1-Diabetiker für 2 bis 3 Wochen strikt jede Hypoglykämie, kommt es zu einer deutlichen Verbesserung der reduzierten Adrenalin-Ausschüttung im Falle einer Hypoglykämie. Bezüglich einer Reversibilität der gestörten Glukagon-Response durch striktes Vermeiden von Hypoglykämien liegen keine Daten vor [16].

1.4.2.4 Therapiefehler als Hypoglykämie-Ursache

Abgesehen von unbeeinflussbaren Faktoren, gibt es eine Reihe von Therapiefehlern seitens des Typ-1-Diabetikers, die zu einer Hypoglykämie führen können. Dies sind im Einzelnen:

- Dosierungsfehler des Insulins
- Überschätzen des Kohlenhydratgehalts der Nahrung
- Konsum von alkoholischen Getränken
- Zu langer Abstand zwischen Injektion und Mahlzeit
- Nichtberücksichtigung körperlicher Aktivität bei der Insulindosierung
- Überkorrektur erhöhter Blutglukosewerte
- Ungenügende Berücksichtigung circadianer Schwankungen der Insulinempfindlichkeit

Diese Variablen verdeutlichen, wie wichtig es für den Betroffenen ist, genau über seine Erkrankung informiert zu sein. Nur so kann er die verschiedenen Einflussfaktoren richtig einordnen und durch seine erlernten Fertigkeiten eine bedarfsgerechte Insulinsubstitution erreichen und damit das Hypoglykämierisiko senken. Jedoch lässt sich das Risiko eine Hypoglykämie zu erleiden allein durch korrektes Verhalten aufgrund oben beschriebener Phänomene nicht völlig ausschließen. Weiterhin muss berücksichtigt werden, dass sich die circadiane Insulinempfindlichkeit des Organismus der aktiven Kontrolle des Betroffenen entzieht [33;45;73].

Das Ziel in der Behandlung des Typ1-Diabetes Mellitus sollte eine möglichst normnahe Einstellung der Blutglukose sein, um diabetische Folgeschäden zu verhindern. Dies stellt nun aber einen Risikofaktor für die Entstehung einer Hypoglykämie dar. Vergleicht man die Diabetische Retinopathie, als Indikator einer Mikroangiopathie, mit dem Hypoglykämierisiko, so verhalten sich diese reziprok zueinander (siehe Abbildung 1.7). Wir befinden uns in einem Dilemma: eine im

Hinblick auf die Folgeschäden optimale Blutzuckereinstellung stellt gleichzeitig ein erhöhtes Hypoglykämierisiko dar. So muss die Insulintherapie also zwei Ziele verfolgen: 1) Folgeschäden vermeiden und 2) schwere Hypoglykämien vermeiden.

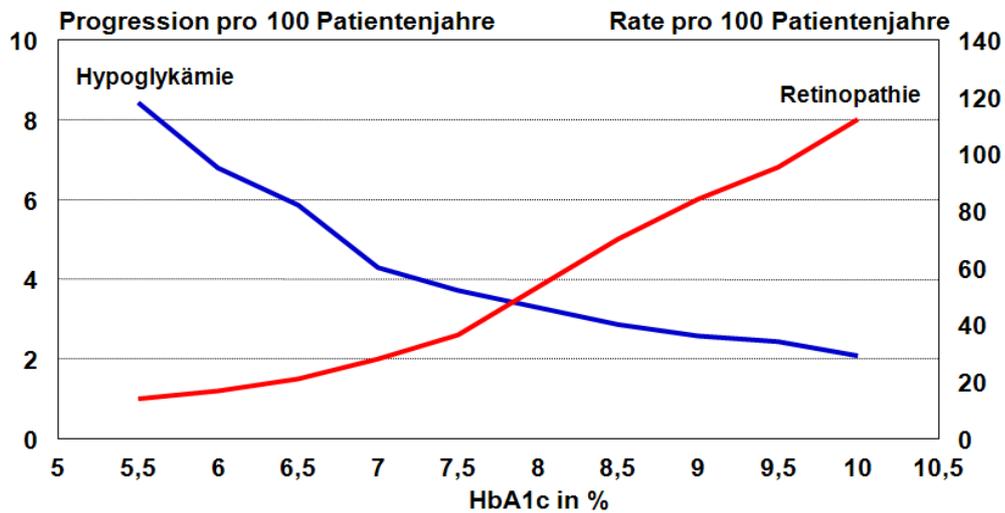


Abbildung 1.8: Graphische Darstellung des Zusammenhangs des relativen Risikos für schwere Retinopathie bzw. Hypoglykämie in Abhängigkeit von der Güte der Blutzuckereinstellung (HbA1c in %) aus: The DCCT 1993

1.5 Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen

Voraussetzung für die Behandlung von Hypoglykämien durch den Betroffenen selbst, ist das Erkennen einer solchen. Nur dann ist es möglich durch den Konsum schnell resorbierbarer Kohlenhydrate dem Geschehen entgegenzuwirken. Die rechtzeitige Wahrnehmung von hypoglykämiespezifischen Warnsymptomen (siehe Tabelle 1.2) spielt hierbei die entscheidende Rolle. Eine einheitliche Definition, wann man von einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung („hypoglycaemia unawareness“) spricht, ist in der Literatur nicht zu finden. Ich halte die Definition von Frier [22] für gut geeignet, der die Hypoglykämiewahrnehmungsstörung als fehlende Wahrnehmung der frühen Warnsymptome beziehungsweise die fehlende Interpretation von Symptomen als hypoglykämiespezifische Warnsymptome erklärt (Übersetzung: T. Kubiak [42]). Gerich und Kollegen beschränken sich dagegen ausschließlich auf die fehlenden autonomen Warnsymptome als Zeichen einer Unawareness [77]. Als weiteres Kriterium darf gelten, dass die Patienten eine Verschlechterung ihrer Wahrnehmung beschreiben. Das heißt, dass sie zu einem früheren Zeitpunkt bei bestimmten Blutglukose-Werten ausgeprägte Hypoglykämiesymptome aufwiesen, diese Symptome sich jedoch aktuell nicht mehr ausprägen. Eine streng hierarchische Einteilung, ob jemand völlig „aware“ oder völlig „unaware“ ist, kann es nicht geben, vielmehr befinden sich die Typ-1-Diabetiker in einem Zwischenstadium [42].

Schon in den Anfängen der Insulinbehandlung beschrieben Fletcher und Campbell Fälle von Patienten, die trotz einer ausgeprägten Hypoglykämie keine oder nur milde Warnsymptome aufwiesen [21]. Erste Langzeitstudien zu diesem Thema veröffentlichte Lawrence 1941, dabei stellte er fest, dass nach 5 bis 10-jähriger Diabetesdauer bei einigen Probanden eine Abschwächung der autonomen Warnsymptome stattgefunden hat. So wurden Hypoglykämien erst relativ spät anhand zentralnervöser Störungen bemerkt, was damals als „dangerous unaware“ bezeichnet wurde [46]. Neuere Studien

konnten zeigen, dass etwa 20-30 % der Typ-1-Diabetiker eine abgeschwächte Symptomwahrnehmung haben [58]. In einer Multicenterstudie mit 1076 eingeschlossenen Patienten, haben sogar 36,7% der Betroffenen innerhalb eines Jahres mindestens eine schwere Hypoglykämie durchlebt [55]. White und Kollegen zeigten 1983, dass das Risiko für schwere Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern mit Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen auf das 25-fache steigen kann [77].

1.5.1 Ursachen für Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen

Nun stellt sich die Frage woher diese häufigen unbemerkten Unterzuckerungen kommen. Eine seit vielen Jahren weit verbreitete Meinung ist, dass mit der Diabetesdauer auch die Wahrscheinlichkeit eine Wahrnehmungsstörung zu entwickeln steigt [45]. Als erwiesen gilt, dass die Wahrnehmungsfähigkeit schon nach einer schweren Hypoglykämie nachlässt. In einer Arbeit aus dem Jahr 2002 verglich Cryer Hypoglykämiesymptome und die Ausschüttung von Adrenalin, Noradrenalin und Glukagon als Antwort auf eine induzierte Hypoglykämie bei Typ-1-Diabetikern, bei denen am Nachmittag des Vortages a) eine Euglykämie und b) eine Hypoglykämie induziert wurde. Sowohl die Ausprägung der Symptome als auch die Ausschüttung der gegenregulatorischen Hormone war in der Hypoglykämie-Gruppe signifikant niedriger als in der euglykämischen Vergleichsgruppe. Es findet also schon durch eine einmalige schwere Unterzuckerung eine Adaptation statt. Diese Erkenntnisse stellte Cryer in seinem Modell des Hypoglykämie-assoziierten Versagens (HAAF) zusammen, über welches bereits ausführlicher geschrieben wurde (siehe 1.4.2.3) [14]. So kann die Hypoglykämiewahrnehmungsstörung als Teil des HAAF angesehen werden. Ähnliche Daten wurden 1994 von Boyle und Kollegen vorgelegt, die in den folgenden Schemata dargestellt sind [7].

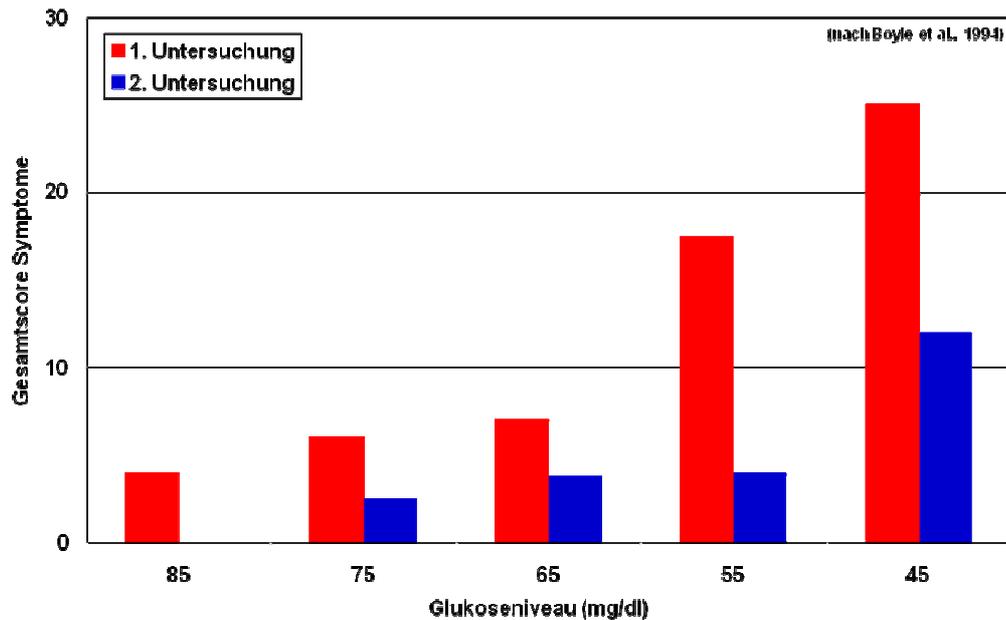


Abbildung 1.9: Ausprägung der Hypoglykämie-Symptome während zwei aufeinanderfolgenden Hypoglykämien, nach Boyle et al.1994

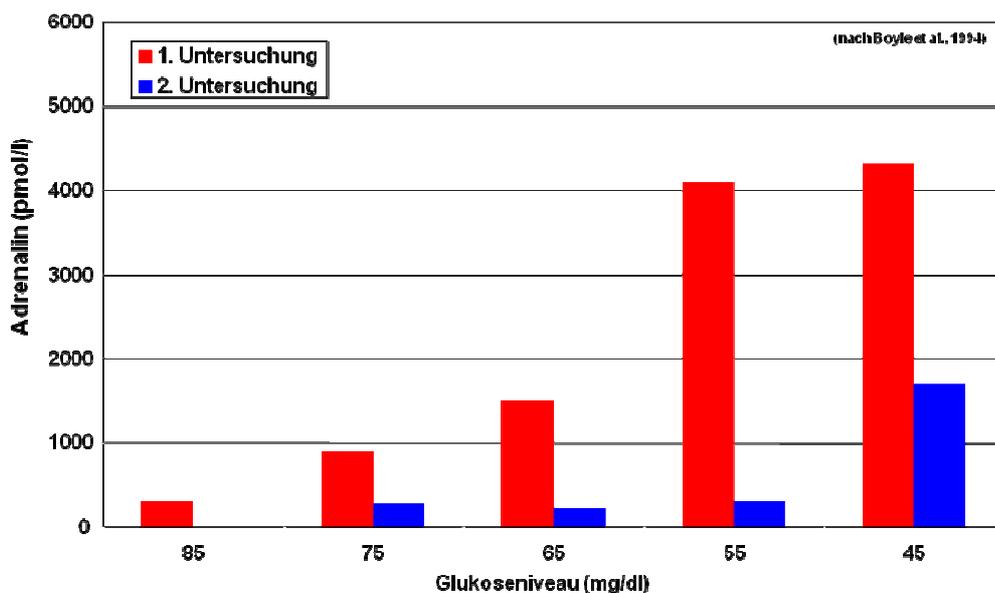


Abbildung 1.10: Ausprägung der Adrenalin-Ausschüttung während zwei aufeinanderfolgenden Hypoglykämien, nach Boyle et al. 1994

1.5.2 Anpassung der Glukoseutilisation des Gehirns an hypoglykämische Zustände

Boyle und Kollegen untersuchten 1995 die Glukoseverwertung des menschlichen Gehirns an 24 Typ-1-Diabetikern und 15 gesunden Kontrollpersonen. Hierbei wurden die an Typ 1-Diabetes Mellitus

erkrankten Teilnehmer, abhängig von der Qualität der Stoffwechseleinstellung (gemessen am aktuellen glykosylierten Hämoglobin) in drei Gruppen eingeteilt. Ausschlaggebend war hier die arterio-venöse Glukosedifferenz als Zeichen des aktuellen Glukoseverbrauchs des Gehirns. Während euglykämischen (105 mg/dl) und hypoglykämischen Phasen (45 mg/dl) wurden Glukosekonzentrationen im arteriellen Blut gemessen, denen man die Glukosekonzentration an der Jugularvene gegenüber stellte. Dazu mussten die Studienteilnehmer 9-prozentiges Stickoxid als Tracer inhalieren. Über die Fick'sche Formel konnte dann der cerebrale Blutfluss sowie die arterio-venöse Glukosedifferenz berechnet werden. Es zeigte sich in dieser Untersuchung eine deutliche Verringerung der cerebralen Glukoseutilisation während der hypoglykämischen Phase in der gesunden Kontrollgruppe sowie bei den schlecht eingestellten Diabetikern. Ähnliche Daten veröffentlichte Boyle 1994, allerdings ausschließlich anhand stoffwechselgesunder Probanden [8]. In der Gruppe der gut eingestellten Diabetiker (HbA1c 6,4-7,8%) zeigte sich jedoch keine signifikante Verringerung des cerebralen Glukoseverbrauchs. Scheinbar hatte das Gehirn der Betroffenen trotz Hypoglykämie genügend Substrat zur Verfügung. In dieser Gruppe traten während der Untersuchung auch deutlich weniger hypoglykämieassoziierte Symptome auf. Außerdem war die Adrenalinausschüttung als Zeichen der Gegenregulation deutlich geringer ausgeprägt. Bei diesen Studienteilnehmern hat scheinbar eine Anpassung an niedrige Blutglukose-Konzentrationen stattgefunden, die im Sinne eines Hypoglykämie-assoziierten autonomen Versagens beziehungsweise einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung interpretiert werden darf. Wie es genau zu der verbesserten Glukoseverwertung in dieser Gruppe kommt, konnte von den Autoren nur vermutet werden [7]. An tierexperimentellen Studien stellte die Arbeitsgruppe um Pellegrino 1990 eine vermehrte Glukoseaufnahme des Gehirns unter hypoglykämischen Bedingungen fest. Man interpretierte dies mit einer Zunahme des GLUT-1 Transporters an der Blut-Hirn-Schranke. Auf

diesem Weg vermag der Körper genügend Substrat für den Hirnstoffwechsel zur Verfügung zu stellen, auch wenn rezidivierende Hypoglykämien auftreten. In diesem Fall entspricht aber die peripher gemessene Blutglukose nicht der tatsächlich dem Gehirn zur Verfügung stehenden Glukose. Die cerebralen Glukosesensoren registrieren eine noch ausreichende Substrat-Menge, was dazu führt, dass keine Hypoglykämie „erkannt“ wird, der mit gegenregulatorischen Maßnahmen begegnet werden muss. Daraus ergab sich für die Autoren eine plausible Erklärung zur Ursache von Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen [57].

1.5.3 Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörungen und ACE

Die derzeitige Studienlage zeigt, dass das Risiko, eine Wahrnehmungsstörung zu entwickeln, nicht bei allen Typ-1-Diabetikern gleich verteilt ist [37]. Es scheint vielmehr Risikogruppen für Hypoglykämieprobleme zu geben [37;45;72]. Neben den bekannten Risikofaktoren wie lange Diabetesdauer, strenges Therapiemanagement und Verlust der Insulinrestsekretion [37] für das Auftreten von Hypoglykämiewahrnehmungsproblemen, besteht die Möglichkeit, dass genetische Faktoren eine wichtige Rolle spielen.

Die dänische Arbeitsgruppe um Pedersen-Bjergaard stellte 2001 eine Studie vor, in der ein Zusammenhang zwischen der Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE) und dem Auftreten schwerer Hypoglykämien untersucht wurde [53;54]. Dieses Enzym ist maßgeblich an der Blutdruckregulation beteiligt und stellt durch den Einsatz von ACE-Inhibitoren als pharmakologische Klasse einen wichtigen Ansatzpunkt für die medikamentöse Behandlung der Arteriellen Hypertonie dar. In sportmedizinischen Studien stellte sich heraus, dass die Aktivität und der Genpolymorphismus des ACE in einem Zusammenhang mit der Leistungsfähigkeit von Ausdauersportlern stehen [64]. Die Aktivität des Enzyms ist genetisch anhand des Genlocus determiniert. So weisen Personen, bei denen

das ACE auf einem Insertions-Allel (*I/I*) liegt, signifikant niedrigere Enzym-Aktivitäten auf als Personen bei denen das Gen auf einem Deletions-Allel (*D/D*) liegt. Einer indifferenten Gruppe (*I/D*) wird eine mittlere ACE-Aktivität zugeschrieben [10]. Bei Hochleistungs-Bergsteigern sowie verschiedener Typen von Hochleistungs-Ausdauersportlern zeigte sich eine deutlich höhere Frequenz des Insertions-Allels. Montgomery und Kollegen schlussfolgerten daraus, dass der Besitz des Angiotensin-Converting-Enzyms auf dem Insertions-Allel und der damit verbundenen niedrigeren ACE-Aktivität die Leistungsfähigkeit unter Bedingungen von niedriger Energie-Verfügbarkeit fördert [64].

Pedersen-Bjergaard interpretierte die niedrige Substratverfügbarkeit von Ausdauersportlern während eines Wettkampfes als ähnlichen Mechanismus wie die Hypoglykämie bei einem Typ-1-Diabetiker. In einer Fall-Kontroll Studie wurden insgesamt 207 an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankte und weder mit einem ACE-Hemmer noch einem Angiotensin-II-Antagonisten behandelte Patienten hinsichtlich des Auftretens schwerer Hypoglykämien innerhalb des letzten Jahres beziehungsweise der letzten 2 Jahre befragt. Verschiedene klinische Daten wie Dauer der Diabeteserkrankung, Insulin-Restsekretion, HbA1c, Aktivität des ACE und ACE-Polymorphismen wurden erfasst. Die Probanden wurden anhand des ACE-Genpolymorphismus in 3 Gruppen eingeteilt (*D/D*, *I/D*, *I/I*). Es zeigte sich ein 3,2-fach erhöhtes Risiko für schwere Hypoglykämien in der Gruppe mit dem Deletions-Allel (*D/D*) gegenüber den Probanden mit dem Insertions-Allel (*I/I*). Patienten mit einer ACE-Aktivität im oberen Viertel hatten ein 3,5 fach erhöhtes Risiko für Hypoglykämien im Vergleich zu denen, deren ACE-Aktivität im unteren Viertel liegt. Mit dieser Arbeit zeigten Pedersen-Bjergaard und Kollegen, dass die relativ einfach zu bestimmende ACE-Aktivität ein guter klinischer Marker ist, um das Risiko für schwere Hypoglykämien respektive die Entstehung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung bei Typ-1-Diabetikern vorauszusagen.

2. Zielsetzung und Fragestellung

Die hier vorliegende Arbeit wurde mit der Zielsetzung durchgeführt, die Rolle der ACE-Aktivität und deren Genpolymorphismen für die Genese einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu untersuchen.

Wir untersuchten die Hypothese, ob eine erhöhte ACE-Aktivität, die an einen bestimmten Genpolymorphismus gekoppelt ist, für das gehäufte Auftreten von Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen bei Typ-1-Diabetikern verantwortlich ist.

Sofern die Hypothese richtig ist, müssten Typ-1-Diabetiker mit einer hohen Aktivität des ACE und dem Genpolymorphismus *D/D* signifikant häufiger an einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung leiden, als Typ-1-Diabetiker mit einer niedrigen Enzymaktivität und dem Genpolymorphismus *I/I* [46,47].

3. Stichprobe und Methoden

3.1 Studiendesign

Es handelt sich um eine prospektive vergleichend kontrollierte Studie, in der die ACE-Aktivität und Polymorphismen von Typ-1-Diabetikern mit und ohne Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen miteinander verglichen wurden.

3.1.1 Unabhängige Variablen

Die Gruppeneinteilung der Probanden in „aware“ und „unaware“ erfolgte im Vorfeld der Studie mittels eines strukturierten Hypoglykämie-Anamnese-Fragebogens. Hierbei verwendeten wir eine deutsche Adaptation des 1995 von Clarke et al. entwickelten Fragebogens [10]. Traten in den letzten 12 Monaten mindestens drei schwere Hypoglykämien auf, die Fremdhilfe erforderten, so wird von einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung („unaware“) ausgegangen. Traten diese Ereignisse nicht auf, wurde von einer intakten Wahrnehmung („aware“) ausgegangen. Mit Hilfe einer schrittweisen hypoglykämischen Clamp-Untersuchung wurden diese anamnestischen Angaben validiert. Als Indikator für das Vorliegen beziehungsweise Fehlen einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung wurden das Ausmaß der Hypoglykämie und die glykämischen Schwellen, bei denen eine symptomatische beziehungsweise hormonelle Reaktion auf den hypoglykämischen Stimulus erfolgte, herangezogen. Anhand dieser Kriterien konnte gegebenenfalls eine Neueinteilung des Probandenkollektivs hinsichtlich des Vorliegens respektive Fehlens einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung vorgenommen werden.

3.1.2 Abhängige Variablen

Als abhängige Variablen wurden die ACE-Aktivität und ACE-Polymorphismen mit den geeigneten laboranalytischen Verfahren bei Patienten mit gestörter versus intakter Hypoglykämiewahrnehmung erfasst. Auf verschiedenen Blutzuckerniveaus wurden die subjektiv erlebten, hypoglykämie-spezifischen Symptome (autonom und neuroglykopenisch) mittels Symptomchecklisten [31], neuropsychologische Funktionsbeeinträchtigungen durch zwei Reaktionstests [81;82] und als biologischen Marker einer Gegenregulation die Plasmakonzentration der gegenregulatorischen Hormone (Glukagon, Cortisol, STH, Adrenalin und Noradrenalin) sowie die aktuelle Konzentration von Insulin bestimmt.

3.2 Stichprobe

Wir untersuchten insgesamt n=27 an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankte Probanden. Die Probanden befanden sich, bis auf eine Ausnahme, zum Zeitpunkt des Versuchs in stationärer Behandlung in der Diabetes-Klinik Bad Mergentheim. Bei einer Probandin handelte es sich um eine an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankte Praktikantin der Diabetesklinik. Wir versuchten, die Studie nicht an das Ende des Klinikaufenthaltes zu legen, um eventuelle Schwankungen im Blutzuckertagesprofil am Tag nach der Untersuchung behandeln zu können. Alle Probanden wurden ausführlich über Risiken und Nebenwirkungen sowie über das Anliegen dieser Studie informiert und gaben ihre schriftliche Einwilligung (siehe Anhang). Personen bei denen Vormundschaft bestand wurden nicht in die Studie aufgenommen. Die Studiendurchführung wurde der Ethik-Kommission der Landesärztekammer Baden-Württemberg zur Prüfung vorgelegt und genehmigt (Aktenzeichen 141-04).

3.2.1 Einschlusskriterien

An der Studie konnten Probanden teilnehmen, die seit mindestens 12 Monaten an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankt waren und zum Zeitpunkt der Untersuchung zwischen 18 und 60 Jahre alt waren.

3.2.2 Ausschlusskriterien

Um das Risiko unvorhergesehener Zwischenfälle während der Hypoglykämie-Induktion beziehungsweise während des hyperinsulinämischen Glukose-Clamps zu vermeiden, wurden Patienten ausgeschlossen, bei denen neben der Diabeteserkrankung eine weitere schwerwiegende Krankheit bestand.

Daher galten für die Untersuchung folgende Ausschlusskriterien:

- Koronare Herzerkrankung/ Herzinfarkt (Vorliegen eines normalen Ruhe-EKG, unauffällige Ergometrie)
- Cerebralsklerose/ Schlaganfall
- Proliferative Retinopathie (Augenarztbefund)
- Nephropathie (Kreatinin > 1,3 mg/dl)
- Epilepsie/ andere schwere neurologische Störungen
- Psychiatrische Erkrankungen (insbesondere Angststörungen)
- Autonome kardiale Neuropathie
- Schwangerschaft
- Bekannte Unverträglichkeitsreaktionen auf Insulinpräparate
- Unter- oder Übergewicht ($\text{BMI} < 20 \text{ kg/m}^2$ und $\text{BMI} > 28 \text{ kg/m}^2$)
- Asthma bronchiale
- Elektrolytabnormalität
- Störungen des Schilddrüsenstoffwechsels
- Behandlung mit ACE-Inhibitoren, Angiotensin-II-Antagonisten oder Beta-Blockern

Durch die ausführliche medizinische Eingangsdiagnostik während der stationären Aufnahme der Patienten war sichergestellt, dass alle möglichen, zum Ausschluss aus der Studie führenden Erkrankungen, zum Zeitpunkt der Stichprobengewinnung bekannt waren.

3.3 Hyperinsulinämische hypoglykämische Glukose-Clamp-Technik

Als Standard in der Hypoglykämieforschung hat sich in den vergangenen Jahren der hyperinsulinämische Glukose-Clamp etabliert [19;74]. Mit Hilfe dieser Technik ist es möglich, die Blutglukosekonzentration auf ein gewünschtes Niveau einzustellen und über einen bestimmten Zeitraum beizubehalten. Das Prinzip der Technik besteht in der Erzeugung einer Hyperinsulinämie durch kontinuierliche intravenöse Infusion von Humaninsulin. Die Steuerung der Blutglukosekonzentration erfolgt über eine variable intravenöse Glukose-Infusion. Die Festsetzung der jeweiligen Glukoseinfusionsdosis erfolgt auf der Basis des in fünfminütigen Abständen bestimmten Blutglukosewertes anhand des im Folgenden aufgeführten Standardalgorithmus von DeFronzo, Tobin & Andres.

$$S_i = \frac{(G_d - G_i) * 10 * (0,19 * kg)}{G_{inf} * 15} * PF + SM_{i-2} * \frac{G_i}{G_d} * FM_{i-1}$$

S_i Glukoseinfusionsrate

G_d Zielblutzucker

G_i aktueller Blutzucker

G_{inf} Konzentration der Glukoselösung

PF Pumpenfaktor, rechnet den aktuellen Glukosebedarf in Einstellrate des Perfusors um

FM_{1-2} Korrekturfaktoren des letzten Durchgangs

SM_{i-2} Metabolische Komponenten des vorletzten Durchgangs

In diese Gleichung gehen metabolische Komponenten der zwei vorausgegangenen Durchgänge zusätzlich zur aktuellen Abweichung vom Ziel-Blutzucker als Faktoren mit ein. Hierdurch kommt es zur ständigen Korrektur des Glukoseverbrauchs, was letztlich zur Stabilisierung des angestrebten Blutglukose-Niveaus führt. Vorteil dieser Methode ist die Herstellung von exakt replizierbaren und miteinander vergleichbaren Blutglukose-Niveaus. Dieser Algorithmus eignet sich hervorragend, um den Blutzucker auf einem Niveau zu halten. Um von einem Blutzucker-Level zum Nächsten zu kommen, ist dieser Algorithmus allerdings ungeeignet. Hierbei stützten wir uns auf Erfahrungswerte vorangegangener Untersuchungen.

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde der Versuchsablauf in der Sequenz „Euglykämische Äquikalibrierungsphase \Rightarrow Euglykämie \Rightarrow milde Hypoglykämie \Rightarrow moderate Hypoglykämie \Rightarrow Euglykämie“ durchgeführt (siehe Abbildung 3). Die Induktion der Hypoglykämie wurde durch eine langsame, schrittweise Senkung der Glukoseinfusionsrate realisiert.

Die Methode des hyperinsulinämischen Glukose-Clamps kann im Hinblick auf eine Entgleisung des Blutzuckers nach oben oder unten als sicher gelten, da durch das kurze Zeitintervall (5 Minuten) zwischen den Blutzuckermessungen gravierende Abweichungen vom angestrebten Blutzuckerspiegel schnell erkannt werden und somit schnell auf Verschiebungen reagiert werden kann.

3.4 Testverfahren und Symptomcheckliste

Zur Erhebung der neuropsychologischen Leistungsfähigkeit während der Untersuchung, insbesondere während einer kontrollierten Hypoglykämie, kamen zwei verschiedene Testverfahren zur Anwendung, die auf den verschiedenen Blutglukoselevels von den Probanden durchgeführt werden mussten. Hierzu wurden die beiden Tests „Geteilte Aufmerksamkeit“ und „Inkompatibilität“ aus der Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP) verwendet [81;82].

Ziel war es, Tests zu finden, deren Leistungen unterschiedlichen Aufmerksamkeitsbereichen zugeordnet werden können und bei denen Leistungen erhoben werden, die potentiell für eine Hypoglykämieerkennung und -behandlung relevant sind. Weiterhin wurden auf jedem Blutglukose-Niveau die hypoglykämiespezifischen Symptome mittels eines Fragebogens abgefragt.

3.4.1 Geteilte Aufmerksamkeit

Beim Test der „Geteilten Aufmerksamkeit“ müssen durch den Probanden akustische und visuelle Aufgaben gleichzeitig bearbeitet werden. Zum einen muss mit Tastendruck reagiert werden, wenn sich aus verschiedenen, auf einem Monitor erscheinenden Kreuzen, ein Quadrat bildet. Zum anderen müssen die Probanden auf kontinuierlich wechselnden Tönen hoher und tiefer Frequenz dann mit Tastendruck reagieren, wenn zwei gleiche Töne hintereinander ertönen. Es müssen beide Aufgaben gleichzeitig bewältigt werden. Gemessen werden die Reaktionszeiten und die Fehlreaktionen.

3.4.2 Inkompatibilität

In dem Test „Inkompatibilität“ müssen die Probanden mit Tastendruck auf einen links beziehungsweise rechts angeordneten Taster reagieren, je nachdem in welche Richtung ein Pfeil zeigt. Dabei soll der Proband auf einen in Bildschirmmitte erscheinenden Fixationspunkt schauen. Der Pfeil erscheint rechts oder links vom Fixationspunkt. Die Schwierigkeit besteht darin nur auf die Richtung des Pfeils und nicht auf die Bildschirmseite, auf der der Pfeil auftaucht, zu reagieren. Auch in diesem Test wurden Reaktionszeit und Fehlerquote zur Auswertung herangezogen.

3.4.3 Symptomcheckliste

Zur Erfassung der vom Probanden zum Testzeitpunkt wahrgenommenen Symptome einer Hypoglykämie wurde in allen Phasen der Untersuchung eine Symptomcheckliste zum Ausfüllen ausgeteilt. Hierbei handelte es sich um die deutsche Fassung des von Hepburn und Kollegen 1991 vorgelegten Fragebogens zur Erfassung von hypoglykämie-assoziierten Symptomen [30;31]. Die 30 aufgeführten Symptome werden in autonome, neuroglykopenische, unspezifische und „Dummy“-Symptome unterteilt. Der Proband muss die Intensität der aufgeführten Symptome auf einer Ratingskala von 1-7 (1=überhaupt nicht; 7=sehr stark) ankreuzen. Die Besonderheit dieser Checkliste liegt an den so genannten „Dummy“-Symptomen. Hierbei handelt es sich um Symptome, die nicht mit einer Hypoglykämie in Verbindung gebracht werden (z.B. Gelb Sehen, Blähungen, Schluckauf), die jedoch die Möglichkeit ausschließen sollen, dass durch eine zunehmende Sensibilität auf alle Körperempfindungen, eine Zunahme der Hypoglykämie-Symptome ausgelöst wird. Eine gute bis sehr gute Reliabilität der autonomen und neuroglykopenischen Symptome und befriedigende Reliabilität der Dummy-Symptome der, in der Deutschen Übersetzung vorliegenden Symptomcheckliste, wurde durch Hermanns nachgewiesen [35].

3.5 Ablauf der Untersuchung

In sitzender oder liegender Position legten wir zunächst eine Venenverweilkanüle (BD Venflon®, 18 G, Ø1,2 mm, Fa. Becton Dickinson, Braunschweig) in die Kubitalvene des dominanten Armes. Hierüber erfolgte die Infusion der Glukose-Lösung und des Insulins. Um 40-50 kapilläre Blutglukose-Messungen während der gesamten Untersuchungsdauer zu vermeiden, wurde auf dem Handrücken des nicht-dominanten Armes ebenfalls eine Venenverweilkanüle (Ø1,2 mm) gelegt. Diese diente den Blutentnahmen. Sowohl für die 5-

minütigen Blutglukose-Messungen, als auch zur Bestimmung von Adrenalin, Cortisol, Glukagon, ACE und Kalium. Zur Vermeidung der arterio-venösen Differenz der Blutglukose lag diese Hand des Patienten in einer thermostatgesteuerten Heizbox (Eigenbau, Temperatur 50-60°C). Durch Erwärmung der Hand kann auf sehr elegante Art und Weise eine Arterialisierung des venösen Blutes erreicht werden [48;51]. Der venöse Zugang wurde durch langsame Kochsalz-Infusion (NaCl 0,9[®] Braun, 500 ml, Fa. B. Braun AG, Melsungen) vor dem ungewünschten Verschluss geschützt. Die Blutentnahmen erfolgten mit 2-ml-Einwegspritzen (Fa. B. Braun AG, Melsungen) aus einem 3-Wegehahn (Discofix-3[®], Fa. B. Braun AG, Melsungen), der direkt an die Venenverweilkanüle angeschlossen war. Vor jeder Blutentnahme entnahmen wir etwa 5 ml Blut und verwarfen es, um Messungengenauigkeiten aufgrund der NaCl-Infusion zu vermeiden.

Als Insulin verwendeten wir Actrapid[®] (Novo Nordisk Pharma) mit einer konstanten Infusion von 0,8 mU/kg/m²/min, welches mit NaCl auf 50 ml verdünnt war und über einen Perfusor (Injektomat[®]c-IS, Fresenius Oberursel/ Taunus) appliziert wurde. Die 20%-ige Glukose-Lösung (Glucose 20[®] Braun, 1000 ml, Fa. B. Braun AG, Melsungen) verabreichten wir unverdünnt über einen Infusomaten (INCA[®]ST, Fresenius Oberursel/ Taunus), dessen Infusionsrate variabel war. Die Blutglukosebestimmung führten wir mit dem „HemoCue[®] Photometer“ (Mallinckrodt Medical GmbH, Hennef) durch, welches hinreichend genaue Messergebnisse für die Clamp-Untersuchung lieferte [78]. Anhand der aktuell gemessenen Blutglukose wurde mit Hilfe des oben beschriebenen Standardalgorithmus die benötigte Glukosemenge errechnet und eingestellt. Für diese Berechnung sowie für die oben beschriebenen Testaufgaben zur Aufmerksamkeitsprüfung benötigten wir jeweils 1 Computer.

3.5.1 Clamp-Protokoll

Um Störeinflüsse während der Clamp-Untersuchung zu vermeiden, wurde das Verzögerungsinsulin am Morgen des Versuchstages ausgesetzt. Nach einem kleinen Frühstück (20 g Kohlenhydrate) begann die Untersuchung um 8.00 Uhr in den Räumen der Diabetes Klinik.

Der Blutzucker wurde während der ersten 105 Minuten auf 100 mg/dl stabilisiert. Während dieser Phase konnten sich die Probanden mit der Versuchsanordnung vertraut machen. Es wurde eine große Blutentnahme zur Bestimmung der ACE-Aktivität und der ACE-Polymorphismen, der hormonellen Gegenregulation (Adrenalin, Cortisol, Glukagon) sowie der Serum-Kaliumkonzentration durchgeführt. (Die Bestimmung des Serum-Kaliums während der Untersuchung erfolgte aufgrund der zu erwartenden, durch Insulin verursachten Hypokaliämie.) Nach der Absenkung der Blutglukose auf 90 mg/dl erfolgte die euglykämische Ausgangserhebung auf diesem Blutzuckerlevel. Nach 30 Minuten wurde der Blutzucker bei 60 mg/dl stabilisiert und für 30 Minuten gehalten, dann auf 45 mg/dl abgesenkt und eine halbe Stunde gehalten bevor durch Erhöhung der Glukoseinfusionsrate ein Wiederanstieg der Blutglukose auf euglykämische Werte angestrebt wurde. Auf jedem 30-minütigem Blutzucker-Niveau wurden Blutentnahmen zur Bestimmung der Gegenregulation und des Kaliums durchgeführt. Wir evaluierten Symptome und Befinden mittels Fragebogen und führten Tests zur Quantifizierung des Reaktionsvermögens durch. Nach insgesamt 240 Minuten stellten wir die Insulininfusion ab. Die Untersuchung war nach etwa 280 Minuten beendet. Direkt im Anschluss an die Untersuchung bekamen die Probanden ein Mittagessen (50-60 g Kohlenhydrate), die individuelle Insulintherapie wurde am Abend des Untersuchungstages fortgeführt. Weiterhin wurden die Probanden instruiert, bis zum Abend mehrmalige Blutzuckerselbstkontrollen durchzuführen, um eventuell erneute Hypoglykämien rechtzeitig zu erkennen.

Die entnommenen Blutproben wurden direkt nach der Abnahme im Labor zentrifugiert und gegebenenfalls weiterverarbeitet oder

eingefroren. Durch die regelmäßige Bestimmung des Serum-Kalium-Wertes noch während der Untersuchung, konnten insulinbedingte Hypokaliämien direkt mit Kalinor[®] Brausetabletten behandelt werden.

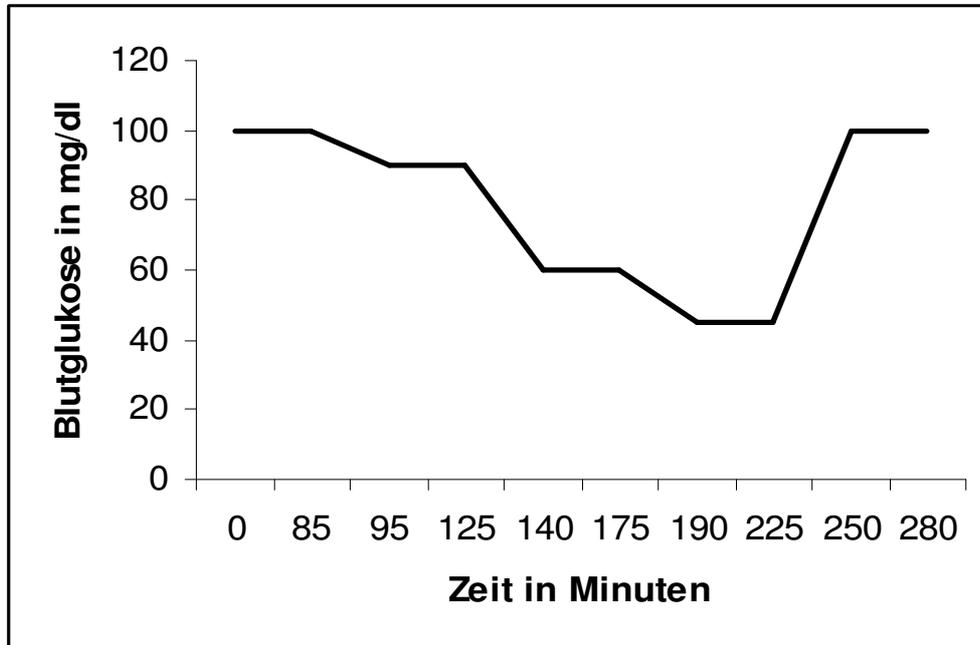


Abb. 1: Übersichtsdarstellung des Clamp-Protokolls

4. Statistik

Die statistische Analyse erfolgte mit Hilfe des Programms SYSTAT 10.2 (Systat Software Inc., San Jose, California, USA). Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte angegeben. Als statistisch signifikant werteten wir Ergebnisse, die eine Signifikanz von $p < .05$ aufwiesen.

Für die statistische Auswertung wurden das T-Test-Verfahren, die Varianzanalyse sowie der Pearson Chi Quadrat Test benutzt.

Es wurden Varianzanalysen für Messwiederholungen durchgeführt, um den Effekt der Hypoglykämie und den Effekt der ACE-Aktivität auf die Hypoglykämie zu sehen. Die Signifikanz-Angaben in den Grafiken beziehen sich auf T-Tests, in denen zum einen mit Hilfe von unabhängigen T-Tests der Effekt der ACE-Aktivität auf die jeweilige abhängige Variable getestet wurde und zum anderen mit Hilfe gepaarter T-Tests der Effekt der Hypoglykämie (milde Hypoglykämie bei 60 mg/dl und moderate Hypoglykämie bei 45 mg/dl) getestet wurde.

5. Ergebnisse

5.1 Stichprobe

An der Studie nahmen 27 Typ-1-Diabetiker teil. Davon wurden 26 Probanden in die statistische Auswertung einbezogen, ein Proband musste aufgrund der erst später bekannt gewordenen Einnahme von ACE-Hemmern ausgeschlossen werden. Die Probanden waren durchschnittlich 33,9 Jahre alt. Der Frauenanteil der an der Studie teilnehmenden Probanden lag bei 4 (15,4%). Das Probandenkollektiv hatte eine durchschnittliche Diabetesdauer von 10,1 Jahren. Der durchschnittliche HbA1c der Probanden lag bei 8,5 %. Nimmt man das C-Peptid als Marker für eine körpereigene Insulin-Restsekretion, so ließ sich bei 57,7 % der Probanden kein C-Peptid nachweisen (<0,01 g/l). Anhand der deutschen Übersetzung des Clarke-Fragebogens (siehe Anhang) wurde erhoben, ob die teilnehmenden Probanden im vergangenen Jahr eine schwere oder eine sehr schwere Hypoglykämie hatten. Eine schwere Hypoglykämie wurde definiert als Hilfsbedürftigkeit, eine sehr schwere Hypoglykämie wurde anhand einer notwendigen Glukose- oder Glukagon-Injektion determiniert. 46,2 % der Probanden hatten im letzten Jahr mindestens eine schwere Hypoglykämie, die Fremdhilfe erforderte. 19,2 % der an der Studie teilnehmenden Probanden erlebten im letzten Jahr mindestens eine sehr schwere Hypoglykämie, bei der eine Glukose- beziehungsweise Glukagon-Injektion nötig war.

Tabelle 5.1: Stichprobencharakteristika

	Alle (n=26)
Alter (Jahre)	33,9 ± 11,4
% weiblich	15,4
Diabetesdauer (Jahre)	10,1 ± 7,7
HbA1c (%)	8,5 ± 2,0
% C-Peptid negative	57,7
% schwere Unterzuckerung ¹	46,2
% sehr schwere Unterzuckerung ²	19,2

¹: Fremdhilfe erforderlich, ²: Glukose- oder Glukagon-Injektion erforderlich

5.2 ACE-Aktivität und Genotypisierung des ACE

Die Einteilung hohe versus niedrige ACE-Aktivität vollzogen wir anhand eines Splitting am Median der gemessenen Enzymaktivitäten, womit zwei Gruppen zu je 13 Probanden entstanden. Der Median lag bei 49 µU/l. Weiterhin wurde der Gen-Polymorphismus des ACE untersucht, wobei sich die Gruppen *DD* (Deletion/Deletion), *ID* (Insertion/Deletion) und *II* (Insertion/Insertion) voneinander unterschieden. In der *DD* Gruppe finden sich 7 Probanden (77,8%) mit einer hohen Enzymaktivität und 2 Probanden (22,2%) mit einer niedrigen Enzymaktivität. Die Indifferenz-Gruppe zeigt kaum einen Unterschied bezüglich der ACE-Aktivität. Es finden sich 5 Probanden (45,5%) mit niedriger Aktivität gegenüber 6 Studienteilnehmern (54,5%) mit einer hohen Enzymaktivität des ACE. Wie aus der Literatur zu erwarten war, zeigt die *II*- Gruppe signifikante Unterschiede in der Verteilung der Enzymaktivität auf. Alle 6 Probanden, die den Genpolymorphismus *II* tragen, weisen eine niedrige ACE-Aktivität auf. Diese Einteilung der Polymorphismen gegenüber den Enzymaktivitäten des ACE ist statistisch hochsignifikant.

Tabelle 5.2: ACE-Aktivität und Genpolymorphismus des ACE-Enzyms (in Klammern, Zeilenprozente)

Genetischer Polymorphismus	Niedrige ACE-Aktivität	Hohe ACE-Aktivität	p
DD	2 (22.2 %)	7 (77.8%)	
ID	5 (45.5%)	6 (54.5%)	
II	6 (100%)	0 (0%)	.012*

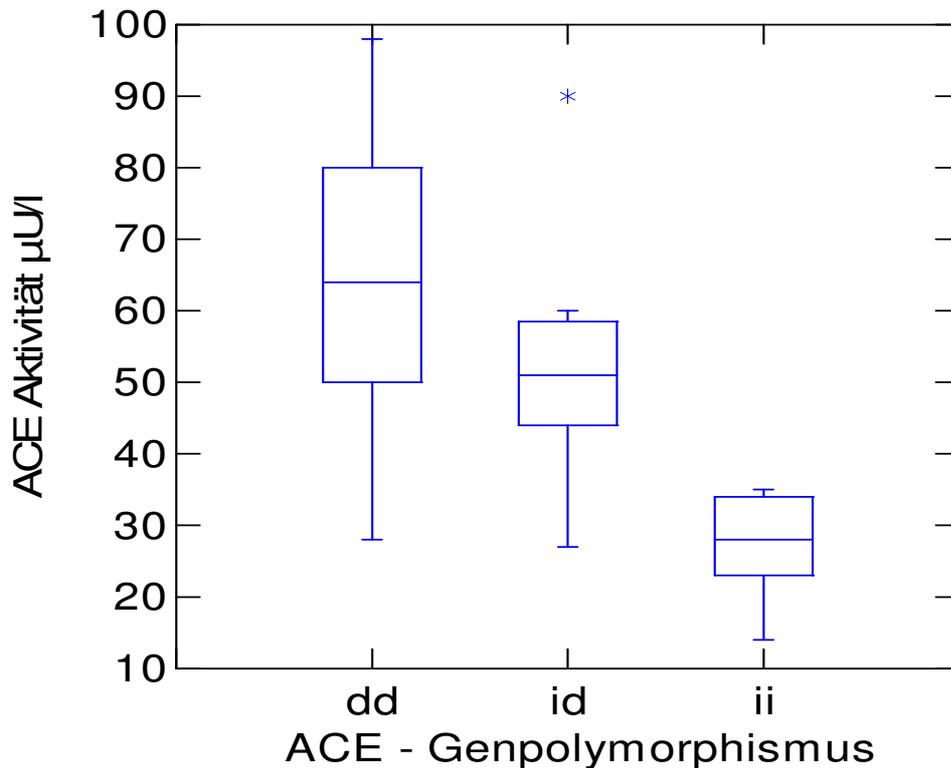


Abbildung 5.1: ACE-Aktivität in Abhängigkeit vom Genpolymorphismus

Im Folgenden untersuchten wir die Verteilung der Studienteilnehmer in hohe beziehungsweise niedrige Enzymaktivität. Dabei waren die Studienteilnehmer mit hoher ACE-Aktivität im Durchschnitt 2,9 Jahre jünger als die Teilnehmer mit niedriger ACE-Aktivität (35,4 versus 32,5 Jahre).

7,7 % der Probanden in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität waren Frauen, der Frauenanteil in der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität lag bei 23,1%.

Die Probanden mit hoher ACE-Aktivität hatten zum Zeitpunkt der Untersuchung im Durchschnitt eine um 1,8 Jahren kürzere Diabetesdauer als die Probanden mit einer niedrigen ACE-Aktivität (11,0 Jahre versus 9,2 Jahre).

Der HbA1c zeigte geringe Unterschiede in der Gruppenverteilung. Probanden mit niedriger Enzymaktivität wiesen einen HbA1c von durchschnittlich 8,1 % auf, wohingegen die Probanden, deren ACE eine hohe Aktivität hatte, einen um 0,7% höheren HbA1c-Wert (8,8%) hatten.

In der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität waren 53,8 % ohne nachweisbares C-Peptid gegenüber 61,5 % in der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität.

46,2 % der gesamten Probanden hatten im letzten Jahr mindestens eine schwere Hypoglykämie, die Fremdhilfe erforderte. Diese Verteilung fand sich sowohl in der Gruppe der niederen als auch in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität wieder (jeweils 46,9%).

In der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität waren 23,1% von einer sehr schweren Hypoglykämie betroffen, in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität kam es bei 15,4% der Probanden zu einer sehr schweren Hypoglykämie, die eine Glukose- oder Glukagon-Injektion erforderlich machte.

Im gesamten Probandenkollektiv sowie in der Einteilung der Gruppen anhand der Enzymaktivität des ACE fand sich kein signifikanter Unterschied zwischen dem Alter, der Geschlechtsverteilung, der Diabetesdauer, der Insulinrestsekretion (gemessen am C-Peptid), der Güte der Blutzuckereinstellung (gemessen am HbA1c) sowie dem Auftreten schwerer und sehr schwerer Hypoglykämien innerhalb des letzten Jahres.

Tabelle 5.3: Stichprobencharakteristika bei Diabetikern mit niedriger versus hoher ACE-Aktivität

	Niedrige ACE- Aktivität	Hohe ACE- Aktivität	p
Alter (Jahre)	35,4 ± 10,3	32,5 ± 12,7	.538
% weiblich	7,7	23,1	.277
Diabetesdauer (Jahre)	11,0 ± 9,7	9,2 ± 5,4	.570
HbA1c (%)	8,1 ± 1,3	8,8 ± 2,6	.356
% C-Peptid negative	53,8	61,5	.691
% schwere Unterzuckerung ¹	46,2	46,2	1.000
% sehr schwere Unterzuckerung ²	23,1	15,4	.619

¹: Fremdhilfe erforderlich, ²: Glukose- oder Glukagon-Injektion erforderlich

5.3 Blutglukoseverlauf der Clamp-Untersuchung

Anhand des Blutglukose-Verlaufs lässt sich zeigen wie hoch das tatsächlich erreichte Blutglukose-Niveau während der Clamp-Untersuchung war. Nach der 105-minütigen Äquikalibrierungsphase sollte der Blutzucker der Probanden auf 90 mg/dl gesenkt werden. Tatsächlich lag der durchschnittliche Wert bei $84,6 \pm 7,3$ mg/dl in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität und bei $89,7 \pm 6,9$ mg/dl in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität ($p=.08$). Im nächsten Schritt sollte ein Blutglukoselevel von 60 mg/dl erreicht werden. Hier lag die tatsächlich erreichte Blutglukose im Durchschnitt bei $59,1 \pm 4,4$ mg/dl bei Probanden mit hoher Enzymaktivität gegenüber $58,1 \pm 5,0$ mg/dl bei Probanden mit niedriger Enzymaktivität ($p=.59$). Während der Phase der moderaten Hypoglykämie sollte ein Blutglukoselevel von 45mg/dl erreicht werden. In der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität lag der Durchschnittswert bei $48,0 \pm 6,1$ mg/dl. In der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität wurden durchschnittliche Blutglukoselevel von $50,1 \pm 10,9$ mg/dl gemessen ($p=.58$). Der Effekt der Hypoglykämie ist hochsignifikant [$F=(2,48)=169,5$ $p<.001$]. Der Effekt der ACE-Aktivität

auf den Blutglukose-Verlauf verfehlte das Signifikanzniveau deutlich [$F=(2,48)=0,99$ $p=.377$].

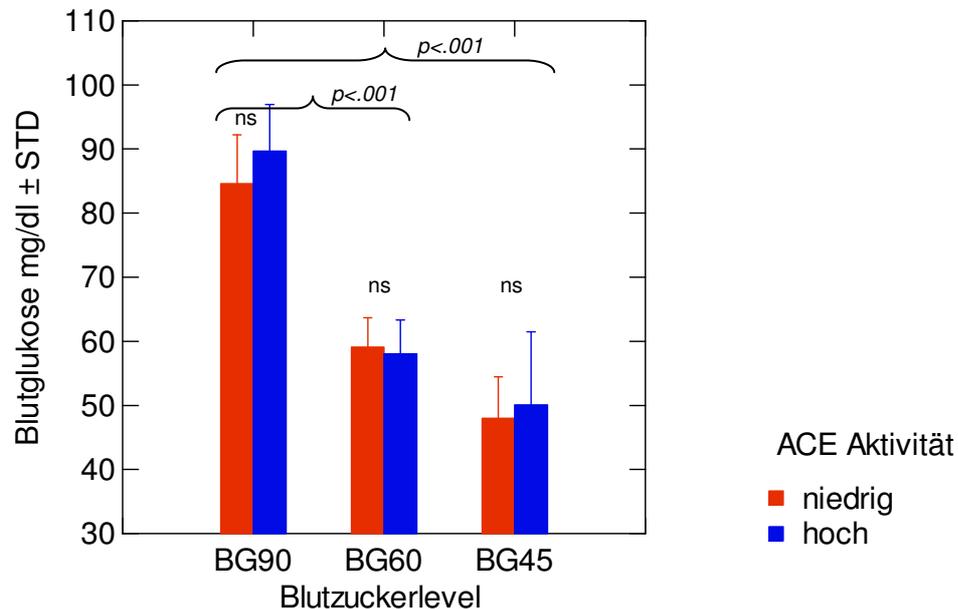


Abbildung 5.2: Blutglukose-Verlauf in Abhängigkeit der ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.4 Endokrine Blutglukose-Gegenregulation

Im Folgenden werden die während der Untersuchung gemessenen Werte der endokrinen Antwort auf die induzierte Hypoglykämie in den untersuchten Gruppen mit hoher beziehungsweise niedriger Enzymaktivität dargestellt.

5.4.1 Adrenalin

Die Adrenalin-Sekretion während der ersten Testphase bei einem Blutzucker von 90 mg/dl lag in der Studiengruppe mit geringerer ACE-Aktivität bei $67,9 \pm 30,7$ pg/ml. Probanden mit hoher ACE-Aktivität hatten eine vergleichbare Adrenalin-Sekretion von $64,8 \pm 39,5$ pg/ml ($p=.82$). Auf dem Level der leichten Hypoglykämie (Blutglukose 60 mg/dl) lag die Adrenalin-Ausschüttung in der Gruppe mit niedriger Enzymaktivität bei $250,1 \pm 546,9$ pg/ml, in der Vergleichsgruppe lagen

die Adrenalin-Konzentrationen etwas tiefer bei $198,2 \pm 266,0$ pg/ml ($p=.76$). Die Reaktion auf die moderate Hypoglykämie bei einem Blutzucker von 45 mg/dl zeigte Adrenalin-Konzentrationen von $621,7 \pm 588,5$ pg/ml in der Gruppe der geringeren ACE-Aktivität und von $632,462 \pm 670,9$ pg/ml in der Vergleichsgruppe ($p=.97$). Man sieht einen hochsignifikanten Effekt der Blutglukose-Level auf die Adrenalin-Ausschüttung [$F=(2,48)=18,2$ $p<.001$]. Es zeigt sich kein Effekt der ACE-Aktivität auf die Adrenalin-Response [$F=(2,48)=0,059$ $p=.910$].

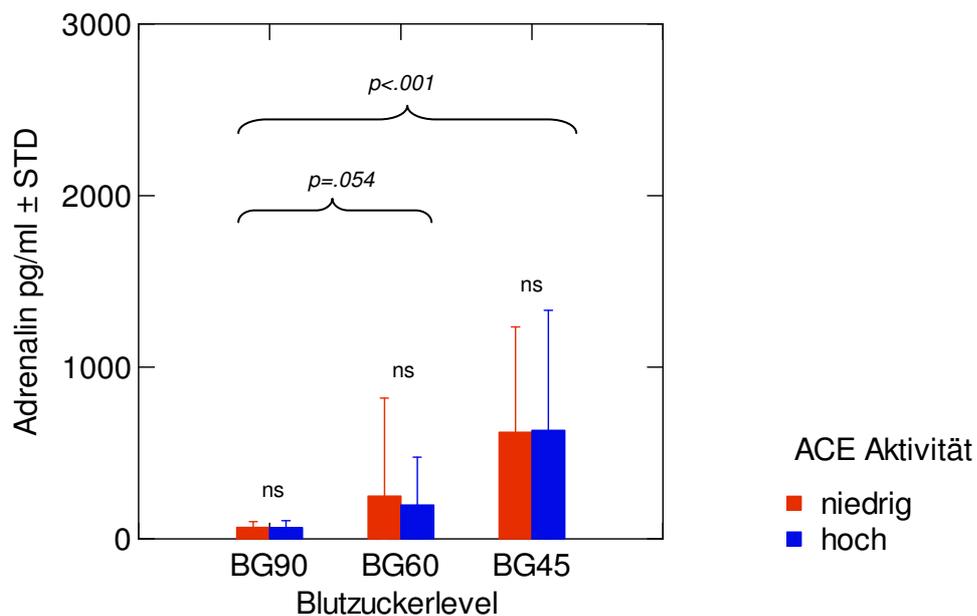


Abbildung 5.3: Adrenalin-Ausschüttung in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.4.2 Noradrenalin

Die Noradrenalin-Ausschüttung zeigte im Kollektiv weniger Streuung als die Adrenalin-Ausschüttung. Bei einem Blutglukoseniveau von 90 mg/dl lagen die gemessenen Noradrenalin-Konzentrationen in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität bei $328,4 \pm 102,5$ pg/ml, in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität bei $269,2 \pm 85,4$ pg/ml ($p=.12$). Auf dem Blutglukoselevel von 60 mg/dl lag die Noradrenalin-Response bei $354,2 \pm 106,7$ pg/ml in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität und bei $330,8 \pm 121,2$ pg/ml in der Vergleichsgruppe ($p=.63$). Eine Steigerung der Ausschüttung des Noradrenalins ist während der Hypoglykämie bei einem Blutzucker von 45 mg/dl zu sehen. In der Gruppe mit niedriger Enzymaktivität lag die Noradrenalin-Sekretion bei $435,4 \pm 123,2$ pg/ml und in dem Kollektiv mit hoher ACE-Aktivität bei $431,6 \pm 244,2$ pg/ml ($p=.96$). Der Effekt der Hypoglykämie ist hochsignifikant [$F=(2,46)=18,1$ $p<.001$]. Der Effekt der ACE-Aktivität verfehlte das Signifikanzniveau deutlich [$F=(2,46)=0,5$ $p=.61$].

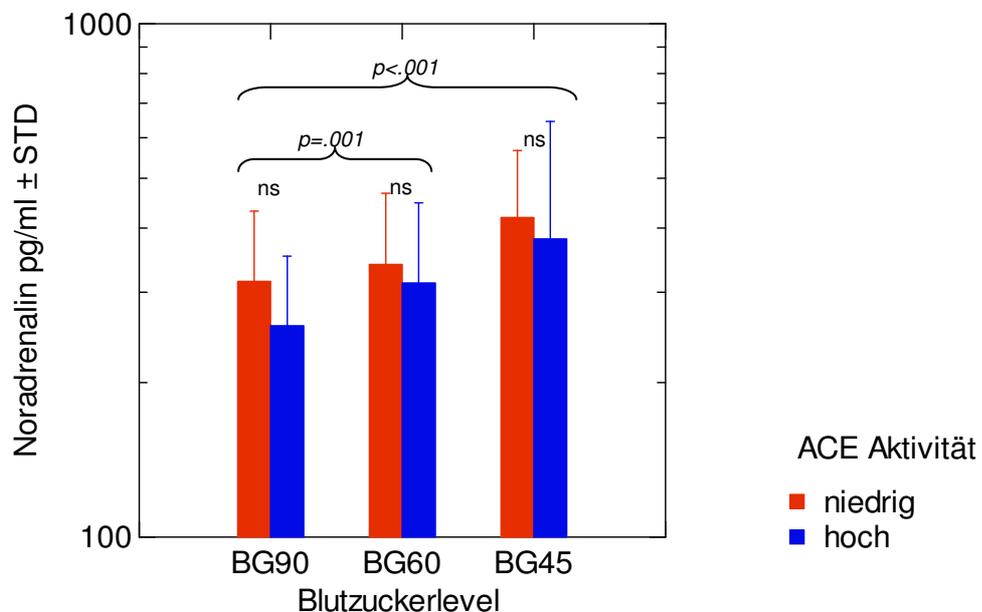


Abbildung 5.4: Noradrenalin-Ausschüttung in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.4.3 Cortisol

Die Sekretion von Cortisol war bei dem untersuchten Patientenkollektiv im euglykämischen und leicht hypoglykämischen Blutzuckerbereich relativ stabil. Bei einem Blutglukose-Level von 90 mg/dl lag die Serum-Cortisol-Konzentration in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität bei $8,69 \pm 2,24 \mu\text{g/dl}$, in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität wurden Cortisol-Konzentrationen von durchschnittlich $8,52 \pm 1,97 \mu\text{g/dl}$ gemessen ($p=.84$). Auf dem nächsten Level, bei einem Blutzucker von 60 mg/dl betrug die Cortisol-Response $9,47 \pm 3,12 \mu\text{g/dl}$ in der Gruppe mit einer niedrigen ACE-Aktivität und $11,09 \pm 4,99 \mu\text{g/dl}$ in der Vergleichsgruppe mit einer hohen ACE-Aktivität ($p=.33$). Während der moderaten Hypoglykämie (Blutzucker 45 mg/dl) kam es in beiden Gruppen zu einem Anstieg der Cortisol-Ausschüttung als Zeichen der Blutglukose-Gegenregulation. In der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität lag die durchschnittliche Cortisol-Konzentration bei $18,04 \pm 4,63 \mu\text{g/dl}$, in der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität bei $18,69 \pm 8,25 \mu\text{g/dl}$ ($p=.82$). Es lässt sich ein hochsignifikanter Effekt der Hypoglykämie auf die Cortisol-Ausschüttung erkennen [$F=(2,46)=50,9$ $p<.001$]. Ein signifikanter Effekt der niedrigen beziehungsweise hohen ACE-Aktivität auf die Cortisol-Ausschüttung lässt sich nicht erkennen [$F=(2,46)=0,56$ $p=.58$].

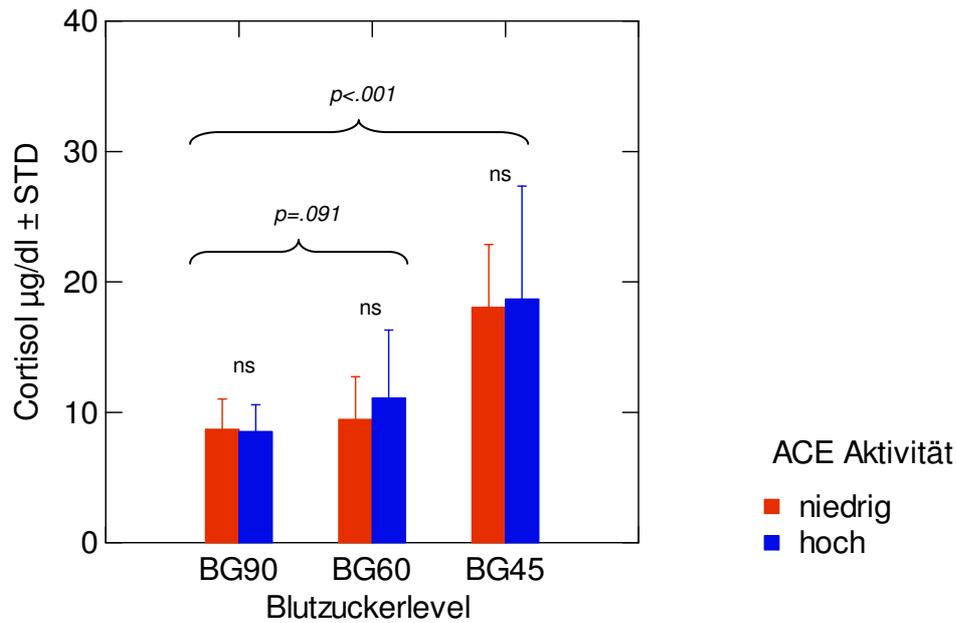


Abbildung 5.5: Cortisol-Ausschüttung in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.4.4 Glukagon

Die Glukagon-Ausschüttung zeigte leichte Unterschiede zwischen den Vergleichsgruppen mit hoher beziehungsweise niedriger ACE-Aktivität und keine Unterschiede auf den verschiedenen Blutzucker-Levels. Bei erhaltener Hypoglykämie-Gegenregulation bei Stoffwechselgesunden wäre mit einem deutlichen Anstieg der Glukagon-Ausschüttung während einer Unterzuckerung zu rechnen.

Auf dem euglykämischen Ausgangswert von 90 mg/dl hatte die Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität Glukagon-Spiegel von $64,5 \pm 36,2$ pg/ml, die Gruppe mit einer hohen ACE-Aktivität wies Spiegel von $86,7 \pm 44,2$ pg/ml auf ($p=.17$). In der Phase der leichten Hypoglykämie (Blutglukose 60 mg/dl) lagen die Hormonspiegel bei $62,6 \pm 35,3$ pg/ml in der Gruppe mit niedriger Enzymaktivität gegenüber $75,2 \pm 35,1$ pg/ml in der Gruppe mit hoher Enzymaktivität ($p=.37$). Auf dem Blutglukoselevel von 45 mg/dl wurden Glukagon-Werte von $66,5 \pm 37,6$ pg/ml in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität gemessen. Die Gruppe mit hoher ACE-Aktivität hatte Glukagon-Spiegel von $86,1 \pm$

45,0 pg/ml ($p=.24$). Bei der Glucagon-Ausschüttung zeigte die Hypoglykämie keinen signifikanten Effekt [$F=(2,48)=2.0$ $p=.144$]. Ein Effekt der ACE-Aktivität war nicht zu sehen [$F=(2,48)=0,75$ $p=.497$].

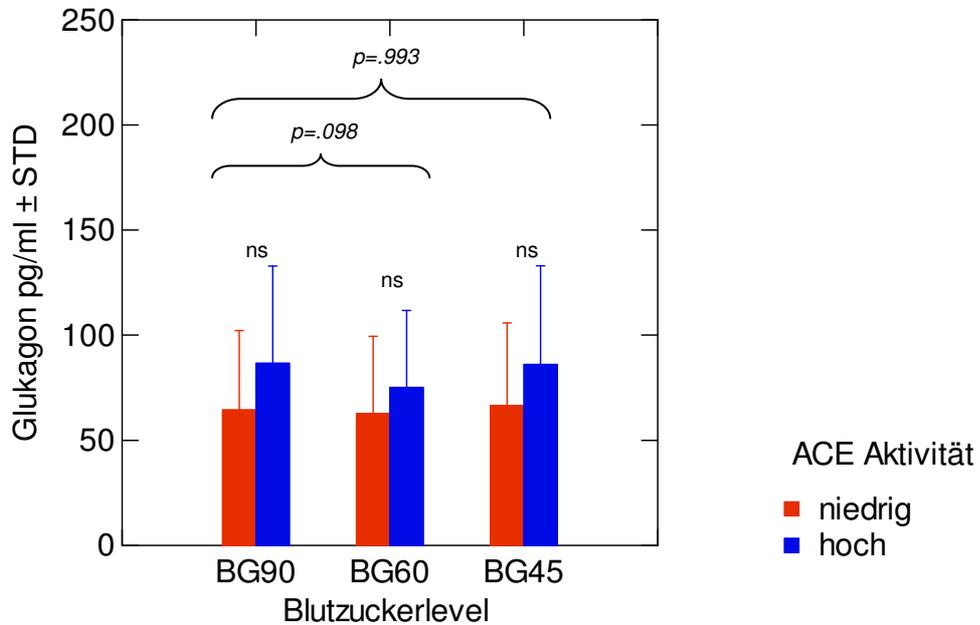


Abbildung 5.6: Glucagon-Ausschüttung in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.4.5 STH

Die STH-Ausschüttung als Effekt der Hypoglykämie-Gegenregulation ist in Abbildung 5.7 sehr gut zu erkennen. Auf dem Blutglukosespiegel von 90 mg/ dl wurden Konzentrationen des somatotropen Hormons von $3,21 \pm 6,47$ ng/ml in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität gemessen, in der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität lagen die Hormonkonzentrationen bei $2,10 \pm 3,74$ ng/ml ($p=.61$). Während der leichten Unterzuckerung (Blutglukose 60 mg/dl) lagen die STH-Spiegel bei $6,50 \pm 8,25$ ng/ml in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität und bei $4,27 \pm 3,49$ in der Vergleichs-Gruppe mit hoher ACE-Aktivität ($p=.40$). Während dem Blutzuckerspiegel von 45 mg/dl kam es zu einem deutlichen Anstieg der STH-Sekretion in beiden Gruppen. Die Gruppe

mit niedriger Enzymaktivität des ACE hatte Serum-STH-Spiegel von $27,93 \pm 11,40$ ng/ml, gegenüber $25,02 \pm 13,18$ ng/ml in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität ($p=.57$). Der Effekt der Hypoglykämie ist hochsignifikant [$F=(2,44)=61,6$ $p<.001$]. Der Effekt der ACE-Aktivität verfehlte das Signifikanzniveau deutlich [$F=(2,44)=0,08$ $p=.922$].

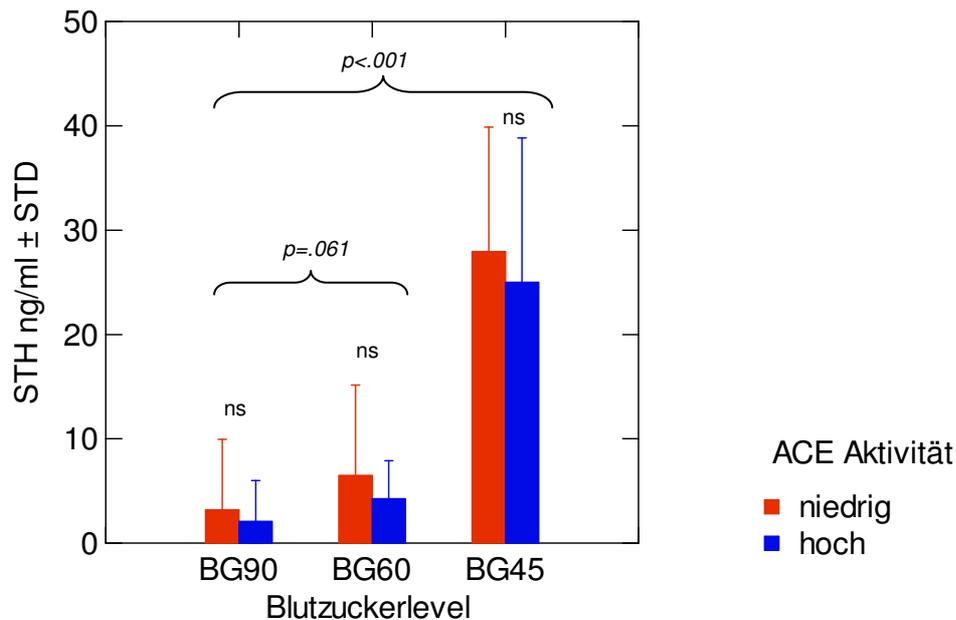


Abbildung 5.7: STH-Ausschüttung in Abhängigkeit vom Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.5 Symptomatische Blutglukose-Gegenregulation

5.5.1 Autonome Symptome

Während der ersten Untersuchungsphase bei 90 mg/dl wiesen die Probanden mit niedriger ACE-Aktivität einen durchschnittlichen Symptomscore für autonome Hypoglykämie-Symptome von $6,99 \pm 1,64$ auf. In der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität wurde ein Symptomscore von $7,25 \pm 1,7$ gemessen ($p=.69$). Auf dem Level der leichten Hypoglykämie mit einem Blutzuckerspiegel von 60 mg/dl lagen die Scores leicht höher bei $8,57 \pm 3,60$ in der Gruppe mit niedriger

ACE-Aktivität und bei $7,58 \pm 1,71$ in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität ($p=.38$). Einen deutlichen Anstieg der Symptomscores für autonome Symptome konnten wir während der moderaten Hypoglykämie auf einem Blutzuckerniveau von 45 mg/dl beobachten. Hier stiegen die Symptomscores auf $13,78 \pm 6,40$ bei den Probanden mit niedriger Enzymaktivität und $12,26 \pm 4,49$ bei den Probanden mit hoher Enzymaktivität ($p=.49$).

Man erkennt hier einen deutlichen Effekt der Hypoglykämie auf dem in Bezug auf eine Zunahme der autonomen hypoglykämiespezifischen Symptome [$F=(2,48)=29,9$ $p<.001$]. Ein Effekt der ACE-Aktivität auf die autonomen Symptome ist nicht zu sehen [$F=(2,48)=0,622$ $p=.541$].

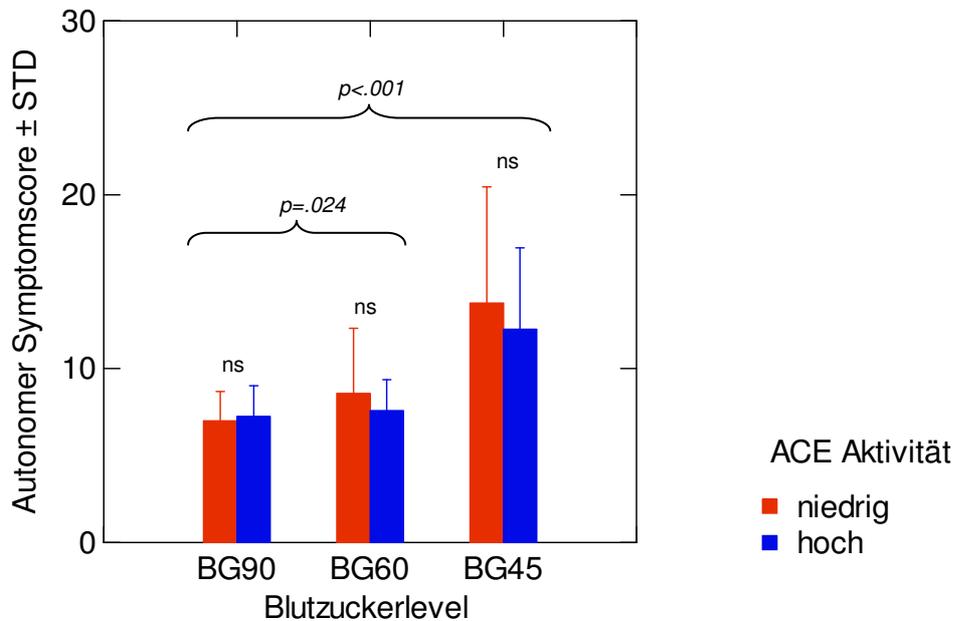


Abbildung 5.8: Autonomer Symptomscore in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.5.2 Neuroglykopenische Symptome

Auf dem Blutzuckerniveau von 90 mg/dl war bei den Probanden mit niedriger ACE-Aktivität ein durchschnittlicher Symptomscore für neuroglykopenische hypoglykämiespezifische Symptome von $10,92 \pm 2,87$ zu beobachten. Probanden mit hoher ACE-Aktivität hatten einen

durchschnittlichen Score von $11,00 \pm 4,40$ ($p=.95$). Während der leichten Hypoglykämie bei einem Blutzucker von 60 mg/dl hatte die Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität durchschnittlich $13,54 \pm 5,47$ Punkte gegenüber $12,00 \pm 4,06$ Punkten in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität ($p=.42$). Auch bei den neuroglykopenischen Symptomen kam es zu einem Anstieg des Symptomscores während dem hypoglykämischen Level bei 45 mg/dl. In der Probandengruppe mit niedriger Enzymaktivität wurden bei 45 mg/dl durchschnittlich $19,39 \pm 7,62$ Punkte gegenüber $18,92 \pm 4,94$ Punkten in der Gruppe mit hoher Enzymaktivität gemessen ($p=.85$).

In der Untersuchung der neuroglykopenischen Symptome auf eine induzierte Hypoglykämie sieht man einen deutlichen Effekt der Hypoglykämie [$F=(2,48)=32,5$ $p<.001$], jedoch keinen statistisch signifikanten Effekt der ACE-Aktivität [$F=(2,48)=0,3$ $p=.745$].

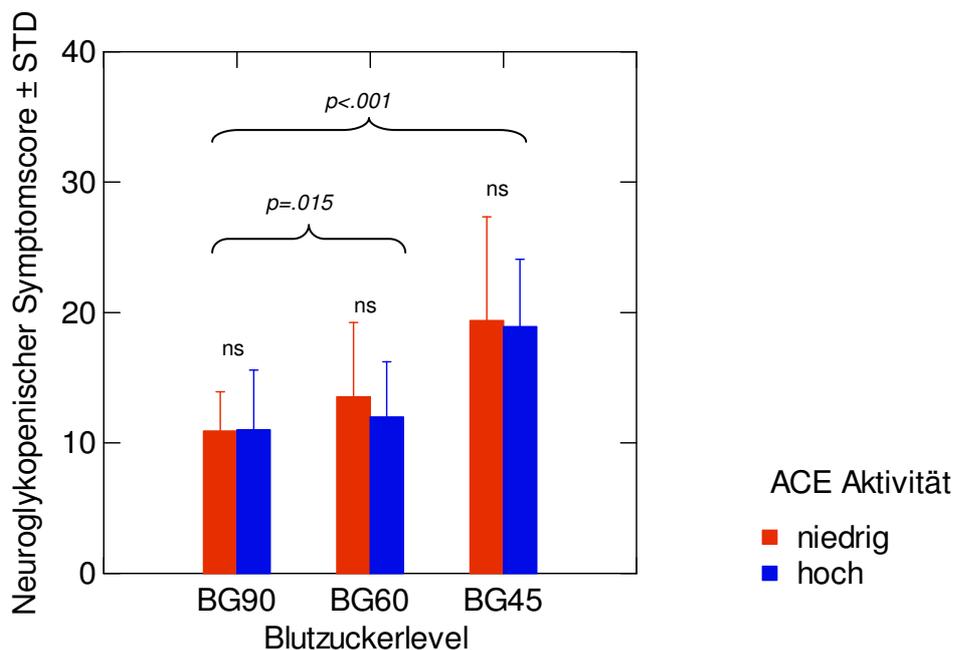


Abbildung 5.9: Neuroglykopenischer Symptomscore in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.5.3 Kontrollsymptome

Die Kontrollsymptome beschreiben die in Kapitel 3.4.3 dieser Arbeit als „Dummy“-Symptome bezeichneten Symptome. Diese sind nicht spezifisch für eine Hypoglykämie. Hier erreichten die Probanden der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität während der Untersuchung bei einem Blutglukoselevel von 90 mg/dl einen durchschnittlichen Symptomscore von $10,46 \pm 0,78$. Die Gruppe mit hoher ACE-Aktivität hatte einen Score von $10,92 \pm 2,75$ auf diesem Blutzucker-Level ($p=.57$). Während der leichten Hypoglykämie (Blutglukosespiegel 60 mg/dl) lagen die Punkte in der Gruppe mit niedriger Enzymaktivität bei $10,85 \pm 1,35$ und bei $10,85 \pm 2,76$ in der Gruppe mit hoher Enzymaktivität ($p=1.00$). Im Gegensatz zu den autonomen und neuroglykopenischen hypoglykämiespezifischen Symptomen konnte während der Hypoglykämie bei 45 mg/dl kaum ein Anstieg des Symptomscores gesehen werden. Die Scores lagen bei $11,69 \pm 2,29$ in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität und bei $11,31 \pm 2,93$ in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität ($p=.72$). Der Effekt der Hypoglykämie ist signifikant [$F=(2,48)=5,2$ $p=.009$]. Der Effekt der ACE-Aktivität verfehlte das Signifikanzniveau deutlich [$F=(2,48)=1,3$ $p=.290$].

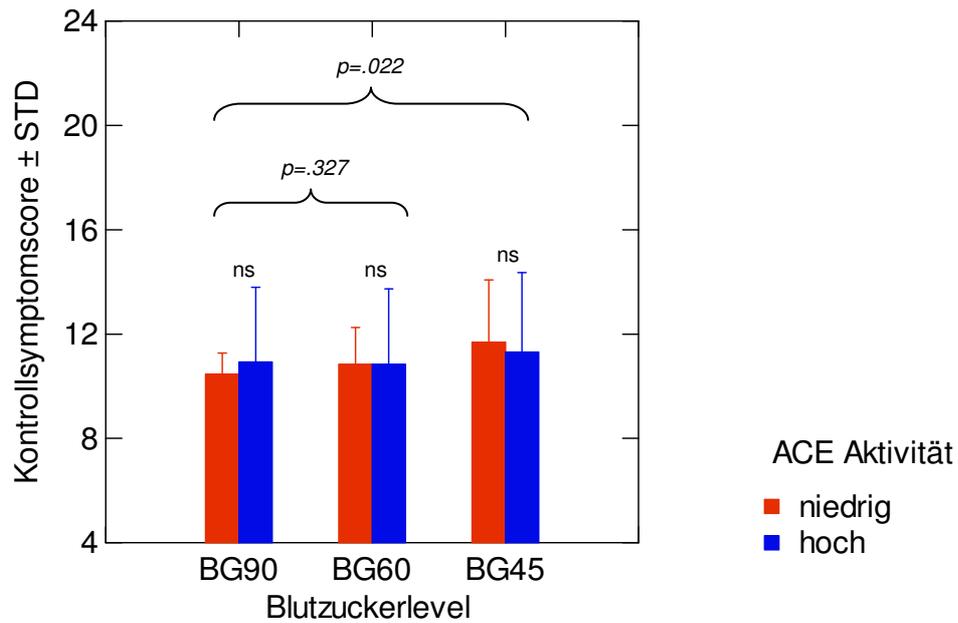


Abbildung 5.10: Kontrollsymptomscore in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.6 Neuropsychologische Effekte (Reaktionstests)

4.6.1 Geteilte Aufmerksamkeit

Im neuropsychologischen Test der Geteilten Aufmerksamkeit wird die Leistung der Probanden in Millisekunden (msec) dargestellt. Auf dem Blutzuckerlevel von 90 mg/dl erreichten die Probanden mit niedriger Aktivität des ACE durchschnittliche Reaktionszeiten von $726,2 \pm 85,3$ msec, die Probanden mit hoher Aktivität des ACE reagierten nach $695,5 \pm 92,2$ msec ($p=.39$). Auf dem Blutglukoselevel von 60 mg/dl wurden bei der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität Reaktionszeiten von $763,8 \pm 87,8$ msec gemessen. In der Vergleichsgruppe mit hoher ACE-Aktivität wurden $713,5 \pm 72,5$ msec gemessen ($p=.13$). Auf dem Level der moderaten Hypoglykämie bei 45 mg/dl lagen die durchschnittlichen Reaktionszeiten bei den Probanden mit einer niedrigen Enzymaktivität bei $812,4 \pm 99,5$ msec. Bei den Probanden mit hoher Enzymaktivität

wurden durchschnittliche Reaktionszeiten von $766,9 \pm 99,5$ msec gemessen ($p=.26$).

In dieser Untersuchung zeigt sich ein Effekt der Hypoglykämie auf die Reaktionszeiten [$F=(2,48)=19,7$ $p<.001$]. Es ist kein signifikanter Effekt der ACE-Aktivität auf die Reaktionszeit zu erkennen [$F=(2,48)=0,320$ $p=.728$].

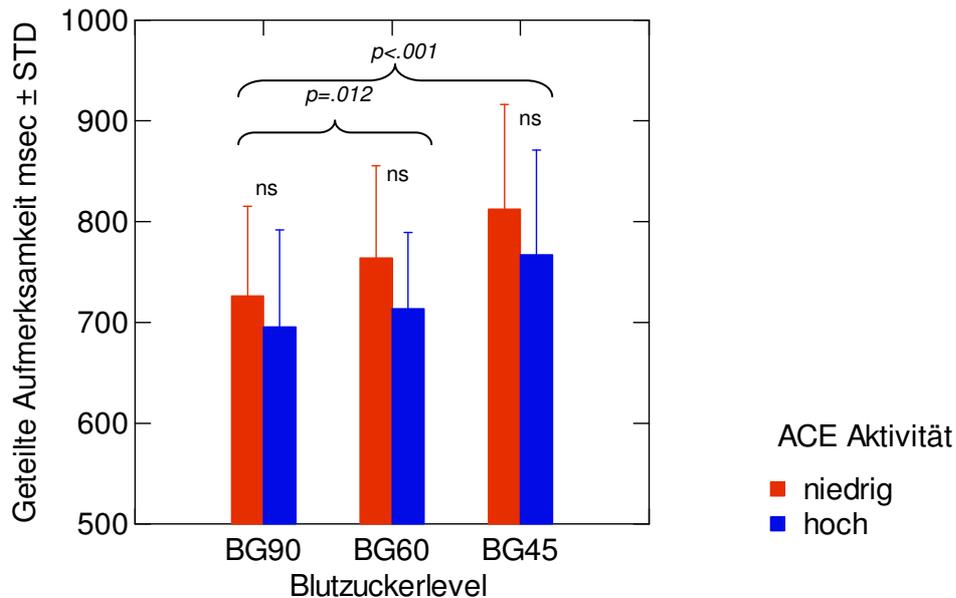


Abbildung 5.11: Neuropsychologische Leistungen (Geteilte Aufmerksamkeit) in Abhängigkeit von Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.6.2 Inkompatibilität

Beim Testverfahren der Inkompatibilität (siehe Kapitel 3.4.2) werden die Leistungen anhand der durchschnittlichen Reaktionszeit in Millisekunden (msec) dargestellt.

Auf dem Level der Euglykämie bei einem Blutglukosespiegel von 90 mg/dl erreichten die Probanden der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität im Durchschnitt eine Reaktionszeit von $501,2 \pm 98,2$ msec, die Probanden in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität erreichten eine durchschnittliche Reaktionszeit von $494,4 \pm 122,6$ msec ($p=.87$). Bei einem Blutglukosespiegel von 60 mg/dl wurden in der Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität Reaktionszeiten von $519,2 \pm 93,7$ msec

gegenüber $502,7 \pm 96,7$ msec in der Gruppe mit hoher ACE-Aktivität gemessen ($p=.66$). Während der hypoglykämischen Sequenz bei einem Blutglukosespiegel von 45 mg/dl stiegen die Reaktionszeiten leicht an. In der Gruppe mit niedriger Enzymaktivität wurden $554,5 \pm 103,6$ msec gemessen, in der Gruppe mit hoher Enzymaktivität $537,5 \pm 123,7$ msec ($p=.76$). Der Effekt der Hypoglykämie ist hochsignifikant [$F=(2,48)=18,2$ $p<.001$]. Der Effekt der ACE-Aktivität verfehlte das Signifikanzniveau deutlich [$F=(2,48)=0,059$ $p=.934$].

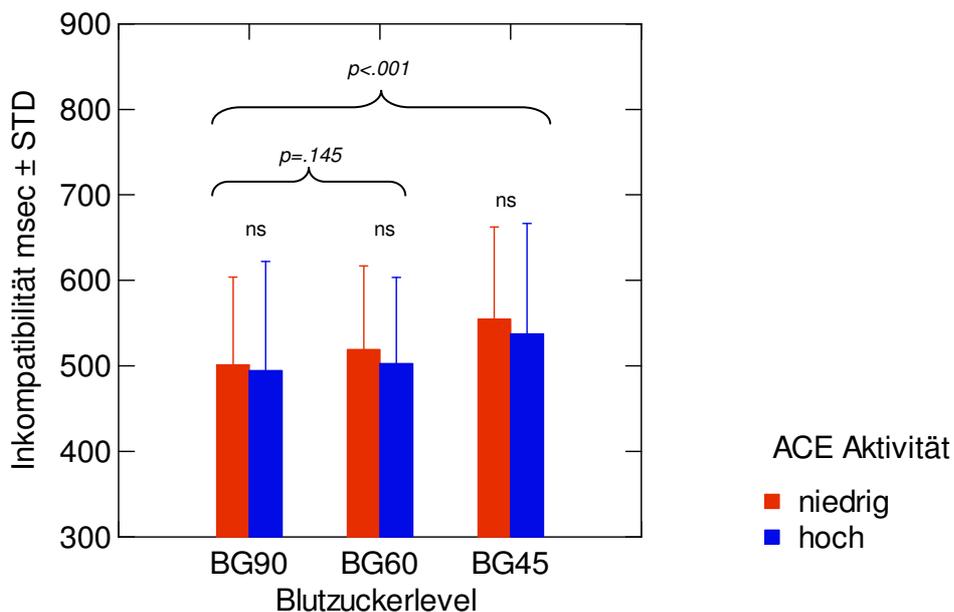


Abbildung 5.12: Neuropsychologische Leistungen (Inkompatibilität) in Abhängigkeit vom Blutzucker-Level und ACE-Aktivität. (ns=nicht signifikant, bezogen auf die ACE-Aktivität. Die Propability-Werte auf den Klammern beziehen sich auf den Effekt der Hypoglykämie.)

5.7 Effekt des HbA1c auf die Hypoglykämie

Der durchschnittliche HbA1c der Probanden lag bei 8,5%. Eine Einteilung hoher HbA1c versus niedriger HbA1c wurde anhand eines Splitting am Median der gemessenen HbA1c-Werte vollzogen. Der Median des HbA1c lag bei 8%, es fielen 12 Probanden in die Gruppe mit einem niedrigen HbA1c (durchschnittlicher HbA1c 6,9%) und 14 Probanden in die Gruppe mit einem hohen HbA1c-Wert (durchschnittlicher HbA1c 9,7%). In Tabelle 5.4 ist der Effekt des HbA1c als Maß der Qualität der Stoffwechseleinstellung auf die

endokrine Blutzuckergegenregulation am Beispiel des Adrenalins und des Cortisols, sowie auf die Ausprägung autonomer hypoglykämie-spezifischer Symptome dargestellt. Es zeigte sich, dass die Probanden mit einem niedrigen HbA1c eine signifikant niedrigere Adrenalin-Ausschüttung hatten als Probanden mit einem hohen HbA1c (372,3 pg/ml versus 841,1 pg/dl während der moderaten Hypoglykämie, $p=.034$). Während der Hypoglykämie bei 45 mg/dl hatten Probanden mit einem HbA1c < 8% eine signifikant niedrigere Ausschüttung von Cortisol als Probanden der Vergleichsgruppe mit einem HbA1c > 8% (372,3 μ g/ml versus 841,1 μ g/ml, $p=.033$). Während der moderaten Hypoglykämie zeigte sich ein durchschnittlicher Symptomscore von 11,0 bei Probanden mit einem niedrigen HbA1c, während Probanden der Vergleichsgruppe einen Symptomscore von 14,5 aufwiesen ($p=.043$). Die Tabelle 5.4 gibt eine kleine Auswahl der Effekte des HbA1c auf die Hypoglykämie wieder.

Tabelle 5.4: Effekt des HbA1c auf die Ausschüttung von Adrenalin und Cortisol sowie die Ausprägung autonomer Symptome während der Hypoglykämie.

	Eu-glykämie 90 mg/dl	Milde Hypoglykämie 60mg/dl	Moderate Hypoglykämie 45 mg/dl	p
		Adrenalin pg/ml		
HbA1c<8%	71,1	84,9	372,3	.034*
<i>HbA1c>8%</i>	<i>72,1</i>	<i>340,3</i>	<i>841,1</i>	
		Cortisol μg/ml		
HbA1c<8%	8,08	8,04	14,9	.033*
<i>HbA1c>8%</i>	<i>9,39</i>	<i>12,06</i>	<i>21,5</i>	
		Autonomer Symptom- score		
HbA1c<8%	7,2	7,6	11,0	.043*
<i>HbA1c>8%</i>	<i>6,9</i>	<i>8,3</i>	<i>14,5</i>	

6 Diskussion

Hypoglykämien stellen in der Behandlung des Typ 1-Diabetes Mellitus einen limitierenden Faktor dar [14]. Die Inzidenz für schwere Hypoglykämien, bei denen Fremdhilfe erforderlich war, lag in der DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) bei 61,2 pro 100 Patientenjahre bei Typ-1-Diabetikern mit intensivierter Insulin-Therapie. Die Inzidenz für sehr schwere Hypoglykämien, bei denen ein Krampfanfall und/ oder Bewusstlosigkeit auftraten, lag in dieser Gruppe bei 16,3 pro 100 Patientenjahre [72]. Schwere Hypoglykämien, die innerhalb kürzester Zeit zum Kontrollverlust der Betroffenen und im Ausnahmefall sogar zum Tode führen können, stellen ohne Zweifel eine Gefahr sowohl für den Betroffenen als auch für seine Mitmenschen dar [34]. Darüber hinaus sind Hypoglykämien aufgrund des Kontrollverlustes und deren Folgen eine starke psychische Belastungssituation, einhergehend mit einer Beeinträchtigung der Lebensqualität für den Betroffenen [36;44].

Der menschliche Organismus ist mit gegenregulatorischen Mechanismen ausgestattet, die einer Hypoglykämie entgegenwirken. Dieser Regelkreis ist bei Typ-1-Diabetikern aufgrund der fehlenden endogenen Insulinsekretion und der dadurch notwendigen exogenen Insulin-Substitution empfindlich gestört. Hinzu kommt, dass ein Teil der Betroffenen im Laufe der Diabetes-Erkrankung eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung entwickelt. Bei diesem Personenkreis ist die Wahrscheinlichkeit eine schwere oder sehr schwere Hypoglykämie zu erleiden nochmals deutlich erhöht. Ein Risikofaktor für das Entwickeln einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung stellt die Dauer der Diabetes-Erkrankung dar. Doch nicht jeder Typ-1-Diabetiker entwickelt im Laufe der Erkrankung eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung.

In einer von Pedersen-Bjergaard 2001 im Lancet veröffentlichten Arbeit [53] wurde ein Zusammenhang zwischen der Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms und dem Auftreten einer

Hypoglykämiewahrnehmungsstörung bei Typ-1-Diabetikern untersucht. Mittels Fragebogen wurden 171 Typ-1-Diabetiker anhand ihrer Hypoglykämiewahrnehmung in 2 Gruppen eingeteilt (erhaltene versus gestörte Wahrnehmung). Mittels Vollblutentnahme bestimmte man dann bei diesen Probanden die Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms und die genetische Determination dieses Enzyms (Deletionsallel *D/D*, Insertionsallel *I/I* oder Indifferenzallel *I/D*). Man fand heraus, dass Typ-1-Diabetiker mit einer hohen ACE-Enzymaktivität, beziehungsweise dem Genpolymorphismus *D/D*, ein signifikant höheres Risiko aufwiesen, eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu entwickeln. Es wurde postuliert, dass eine niedrige Enzymaktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms, und dem damit verbundenen Genpolymorphismus *I/I*, somit allenfalls ein zusätzlicher Mechanismus des Körpers sein könnte, schwere Hypoglykämien zu vermeiden. So könnte die ACE-Aktivität bei Typ-1-Diabetikern ein unabhängiger Marker für das Hypoglykämierisiko sein. Sollte sich diese von Pedersen-Bjergaard mittels einer retrospektiven Studie postulierte These, experimentell nachweisen lassen, so kann man durch eine relativ einfache Bestimmung der Enzymaktivität des ACE bei Typ-1-Diabetikern Voraussagen treffen, ob ein erhöhtes Risiko besteht, im Laufe der Erkrankung eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu entwickeln.

In der hier vorliegenden experimentellen Studie wurden die Enzymaktivitäten des Angiotensin-Converting-Enzyms sowie der Genpolymorphismus dieses Enzyms bei 26 an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankten Personen bestimmt. Anhand der Enzymaktivität des ACE wurden die Probanden am Median in eine Gruppe mit niedriger ACE-Aktivität und eine Gruppe mit hoher ACE-Aktivität eingeteilt. Während einer experimentell induzierten Hypoglykämie untersuchten wir mit Hilfe der Glukose-Clamp-Technik, ob es zwischen diesen beiden Gruppen signifikante Unterschiede hinsichtlich der Hypoglykämie-Gegenregulation auf hormoneller, auf symptomatischer und auf neuroglykopenischer Ebene gibt, um die individuelle

Hypoglykämiewahrnehmung und Hypoglykämie-Gegenregulation möglichst präzise darzustellen.

Die ACE-Aktivität ist anhand des Allels genetisch determiniert. Probanden die das Deletionsallel (*D/D*) des ACE-Gens tragen, weisen eine signifikant höhere ACE-Enzymaktivität auf als Probanden, die das Insertionsallel (*I/I*) des ACE-Gens tragen. In einer Indifferenzgruppe mit dem Insertions-/ Deletionsallel (*I/D*) weisen die Probanden mittlere Enzymaktivitäten des Angiotensin-Converting-Enzyms auf. Eine Einteilung in Gruppen kann sowohl anhand der Genpolymorphismen (3-Gruppen-Vergleich) als auch anhand der absoluten Enzymaktivitäten (2-Gruppen-Vergleich) vollzogen werden. In dieser Arbeit wurde eine Gruppeneinteilung anhand des Medians der Enzymaktivitäten in *I/I* vollzogen, da in dieser Einteilung aufgrund des 2-Gruppen-Vergleiches die Teststärke größer ausfiel. Zu einer Beeinflussung der Ergebnisse kommt es dadurch nicht, was confirmatorisch getestet wurde.

Anhand des Blutglukoseverlaufs der Clamp-Untersuchung konnte gezeigt werden, dass die Blutzuckermanipulation während der Clamp-Untersuchung erfolgreich war und der Blutzucker der Probanden auf dem jeweils angestrebten Blutglukose-Level gehalten werden konnte. Die Blutzucker-Niveaus der miteinander verglichenen Gruppen mit hoher ACE-Aktivität versus niedrige ACE-Aktivität unterschieden sich nicht, so dass davon auszugehen ist, dass die ACE-Aktivität keinen Einfluss auf die Qualität der Blutzucker-Einstellung hat. Anhand dieser Basis konnten die endokrine Blutzuckergegenregulation, die symptomatische Blutzuckergegenregulation und die neuropsychologischen Effekte der Hypoglykämie in der Untersuchungsgruppe mit hoher ACE-Aktivität gegen die Untersuchungsgruppe mit niedriger Enzymaktivität verglichen und interpretiert werden. Dies spricht insgesamt dafür, dass die Qualität der hier vorliegenden Untersuchung gut war.

In Anlehnung an der dieser Arbeit zugrunde liegenden, von Pedersen-Bjergaard postulierten These, dass eine hohe ACE-Aktivität einen Einfluss auf die Hypoglykämiewahrnehmung bei Typ-1-Diabetikern hat, sollte erwartet werden, dass ein deutlicher Effekt der Enzymaktivität auf die Hypoglykämie gezeigt werden kann. Geht man davon aus, dass Typ-1-Diabetiker mit einer hohen ACE-Aktivität, eine signifikant höhere Prävalenz für eine gestörte Hypoglykämiewahrnehmung beziehungsweise eine gestörte Hypoglykämie-Gegenregulation haben, so müssten in diesem Kollektiv die endokrinen Effekte der Hypoglykämie (Ausschüttung von Adrenalin, Noradrenalin, Cortisol, Glukagon, STH) deutlich geringer ausfallen als in der Kontrollgruppe mit einer niedrigen ACE-Enzymaktivität. Tatsächlich aber konnten diese Ergebnisse in unserer experimentellen Arbeit nicht gezeigt werden. Anhand der Hormonkonzentrationen konnte jeweils ein deutlicher Effekt der Hypoglykämie gesehen werden, was sich in einem Anstieg der Konzentrationen der gegenregulatorischen Hormone während der leichten und moderaten Hypoglykämie zeigte. Ein signifikanter Effekt der Enzymaktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms auf die Hormon-Ausschüttung während der Hypoglykämie, also eine Abnahme der endokrinen Reaktion in der Untersuchungsgruppe mit hoher ACE-Aktivität, blieb aus.

Anhand der symptomatischen Blutzuckergegenregulation wäre zu erwarten gewesen, dass die Gruppe mit hoher ACE-Aktivität während der leichten und milden Hypoglykämie einen signifikant niedrigeren Symptomscore erreicht als die Kontrollgruppe mit niedriger Enzymaktivität. Tatsächlich waren weder bei autonomen noch bei neuroglykopenischen Hypoglykämie-Symptomen deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen ersichtlich. Wiederum ist hier ein Effekt der Hypoglykämie auf die Ausprägung der Symptome zu sehen, jedoch kein Effekt der ACE-Aktivität. Anhand der Kontroll-Symptome, auch als „Dummy-Symptome“ beschrieben, war kein Effekt der Hypoglykämie, noch ein Effekt der ACE-Aktivität zu erwarten. Tatsächlich sahen wir jedoch einen statistisch signifikanten Effekt der

Hypoglykämie. Dieser Effekt ist am ehesten zufälliger Natur, da die Symptome unspezifisch sind.

Bei den Testverfahren „Geteilte Aufmerksamkeit“ und „Inkompatibilität“ hätte sich eine gestörte Hypoglykämiewahrnehmung anhand unveränderter Reaktionszeiten während der leichten und milden Hypoglykämie, beziehungsweise anhand niedrigerer Reaktionszeiten in der Gruppe mit einer hohen ACE-Enzymaktivität dargestellt. Die Auswertung zeigt, dass hier wiederum ein leichter Effekt der Hypoglykämie auf das Reaktionsvermögen der Probanden zu sehen ist. Ein Effekt der ACE-Aktivität auf die Reaktionszeiten konnte weder im Reaktionstest „Inkompatibilität“ noch im Test „Geteilte Aufmerksamkeit“ nachgewiesen werden.

Die Zusammenschau der Ergebnisse zeigt, dass in der hier vorliegenden Untersuchung ein signifikanter Unterschied der ACE-Aktivität auf die Ausprägung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung ausblieb. Die anhand der absoluten Enzymaktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms gebildeten Gruppen mit jeweils 13 Probanden zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich der endokrinen Blutglukose-Gegenregulation, der hypoglykämiespezifischen Symptome und hinsichtlich der Reaktionstests während der Untersuchung bei Blutglukose-Spiegeln von 90 mg/dl, 60 mg/dl und 45 mg/dl. Die von der dänischen Arbeitsgruppe um Pedersen-Bjergaard veröffentlichten Daten [52;53] konnten in dieser experimentellen Untersuchung nicht verifiziert werden.

In dieser Arbeit zeigten sich jedoch Effekte des HbA1c auf die endokrine Hypoglykämie-Gegenregulation anhand der Adrenalin- und Cortisol-Ausschüttung während der induzierten Hypoglykämie. Es konnte auch ein Effekt des HbA1c auf die Ausprägung autonomer hypoglykämiespezifischer Symptome während der induzierten Hypoglykämie gezeigt werden. Es spricht somit vieles dafür, dass eine gute Blutzuckereinstellung (niedriger HbA1c) mit einer Anpassung an niedrige Blutzuckerwerte einhergeht und somit zu einer schlechteren Hypoglykämie-Response führt. Dieser, von Cryer als „Hypoglycemia-

Associated Autonomic Failure“ (HAAF) beschriebene Mechanismus konnte hier gesehen werden [16].

Integration der Studienergebnisse in den aktuellen Forschungsstand

Verglichen mit den Arbeiten aus Dänemark, in denen jeweils 171, 206 und 171 Probanden hinsichtlich ihrer Hypoglykämiewahrnehmung und der Enzymaktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms untersucht wurden, ist die Stichprobe unserer Untersuchung mit 26 Probanden sehr klein. Diese kleine Stichprobe beeinflusst die statistische Power massgeblich. Hierbei sollte jedoch beachtet werden, dass es sich in der hier vorgelegten Arbeit um eine experimentelle Studie handelt. Der Vorteil in der von uns gewählten experimentellen Untersuchung liegt in der standardisierten Technik, in der die Hypoglykämie und die dabei erhobenen Messwerte bei jedem einzelnen Probanden objektivierbar und reproduzierbar sind. Für jeden Probanden galten die gleichen Testbedingungen. Blutentnahmen zur Bestimmung der endokrinen Blutzucker-Regulation wurden zu vorgegebenen Zeitpunkten entnommen, ebenso führten wir die Symptom-Befragungen mittels Fragebogen zu genau vorgegebenen Zeitpunkten auf dem jeweiligen Blutglukose-Niveau durch. Auch die mittels Computer erhobenen Reaktionstests führten wir zu standardisierten Zeiten durch. In unsere Auswertung bezüglich eines Effektes der ACE-Aktivität auf die Ausprägung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung bei Typ-1-Diabetikern bezogen wir ausschließlich Daten ein, die mittels dieser Standards erhoben wurden.

Pedersen-Bjergaard kommt in seiner 2001 erstmals im Lancet veröffentlichten Arbeit, deren Daten 2003 und 2008 nochmals in ähnlicher Form veröffentlicht wurden [53], jeweils zu anderen Ergebnissen als wir sie in der hier vorliegenden Arbeit erheben konnten. Eine Erklärung dafür könnte die Art der Gruppenbildung sein. Pedersen-Bjergaard hat die Einteilung der Probanden in erhaltene oder eingeschränkte Hypoglykämiewahrnehmung ausschließlich

mittels Fragebogen erhoben. Es wurden keine weiteren Untersuchungen unternommen, um die Aussagekraft der Einteilung zu erhöhen beziehungsweise zu verifizieren. Zu ebendiesem Problem liegt eine Arbeit, ebenfalls von Pedersen-Bjergaard vor, in der prospektiv untersucht wurde, inwieweit sich Typ-1-Diabetiker an erlebte Hypoglykämien erinnern. Hierbei kam man zu dem Schluss, dass sich etwa 90% der Betroffenen korrekt an durchgemachte Unterzuckerungen während der letzten 12 Monate erinnern. Je häufiger jedoch eine schwere Unterzuckerung auftrat, desto ungenauer wurden die von den Probanden abgegebenen Urteile [56]. Da es in den dänischen Studien genau um die Typ-1-Diabetiker geht, die häufige Hypoglykämien durchmachen, sehe ich hier einen Schwachpunkt der vorliegenden Arbeiten. Dieses Problem stellt sich bei unserer Studie nicht, da wir die Hypoglykämie nicht ausschließlich mittels Fragebogen erhoben, sondern experimentell induzierten.

Ein weiterer limitierender Faktor der hier vorgelegten Studie ist, dass es sich um eine sehr selektive Stichprobe handelt. Die in unsere Studie eingeschlossenen Probanden hatten aufgrund der Ausschlusskriterien neben der Diabetes-Erkrankung keine weiteren Begleiterkrankungen. Anhand der Baseline-Charakteristika ist erkennbar, dass von den in die dänischen Studien eingeschlossenen Probanden zum einen deutlich älter waren und zum anderen eine nicht unerhebliche Anzahl der Probanden an Begleiterkrankungen beziehungsweise diabetischen Folgeerkrankungen litt. Durch den Ausschluss von Probanden mit diabetischen Folgeerkrankungen oder Begleiterkrankungen aus der hier vorliegenden Studie ist das um etwa 10 Jahre jüngere Durchschnittsalter zu erklären (33,9 Jahre versus 44 Jahre). Ob dies einen Einfluss auf die Hypoglykämiewahrnehmung hat, ist jedoch unklar.

Der niedrige Frauenanteil der an unserer Studie teilnehmenden Probanden liegt dem der Probanden-Rekrutierung zugrunde liegende Kollektiv zugrunde und ist am ehesten zufälliger Natur.

Zu ähnlichen Ergebnissen wie in dieser hier vorgelegten Arbeit kamen in der näheren Vergangenheit mehrere Autoren. In einer retrospektiven

Studie untersuchte Zammit die Hypoglykämie-Häufigkeit von 300 Typ-1-Diabetikern und bestimmte deren ACE-Aktivität. In verschiedenen statistischen Tests konnte nur eine sehr geringe, klinisch nicht relevante Übereinstimmung zwischen hoher Enzymaktivität und dem gehäuften Auftreten schwerer Hypoglykämien gezeigt werden [80]. Holstein veröffentlichte 2006 eine Arbeit an 231 Typ-1-Diabetikern. Es konnte auch hier kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem gehäuften Auftreten von Hypoglykämien und dem *D/D* Polymorphismus des Angiotensin-Converting-Enzyms, beziehungsweise der Enzymaktivität, nachgewiesen werden [38]. An 585 an Typ 1-Diabetes Mellitus erkrankten Kindern und Jugendlichen untersuchte die australische Arbeitsgruppe um Bulsara in einer großen prospektiven Kohortenstudie über einen Zeitraum von 13 Jahren den Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des Deletionsallels des Angiotensin-Converting-Enzyms und der Frequenz schwerer Hypoglykämien. Auch in dieser Arbeit zeigte sich kein signifikantes Ansteigen der Hypoglykämien bei Probanden mit dem *D/D* Genotyp des ACE im Vergleich zu Probanden die den *I/I* Genotyp des Angiotensin-Converting-Enzyms tragen [9]. Im Hinblick auf das Probandenkollektiv ähnelt diese an Adoleszenten durchgeführte prospektive Studie der unseren am meisten. Somit scheinen das Alter sowie die Begleiterkrankungen und diabetischen Folgeerkrankungen keinen Einfluss auf die ACE-Aktivität und Hypoglykämiewahrnehmungsstörungen zu haben. Die Gemeinsamkeit dieser drei aktuellen Arbeiten liegt wiederum in der Datenerhebung, auch hier wurden keine experimentellen Studien durchgeführt, was die Aussagekraft mildert.

Zusammenfassend dürfen wir in der hier vorgelegten Studie von einer guten Qualität ausgehen. Die hyperinsulinämische hypoglykämische Glukose-Clamp-Technik gilt weltweit als Goldstandard in der Diabetes-Forschung und ist zudem eine sehr komplexe Untersuchungsmethode. Einschränkend muss darauf hingewiesen werden dass es sich um ein kleines und zudem selektives Probandenkollektiv handelt, wodurch die statistische Power gering ausfällt.

Ausblick

Entgegen dem von Pedersen-Bjergaard und Kollegen beschriebenen Zusammenhang zwischen einer hohen Aktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms beziehungsweise dem Genpolymorphismus *D/D* dieses Enzyms und dem gehäuften Auftreten von schweren Hypoglykämien, konnte diese Assoziation in der hier vorgelegten experimentellen Studie nicht nachgewiesen werden. Eine einfache, mittels PCR durchführbare Genotypisierung des Angiotensin-Converting-Enzyms oder eine noch einfachere Bestimmung der Enzymaktivität um potentiell Hypoglykämie-gefährdete Typ-1-Diabetiker zu erkennen, scheint nach Auswertung unserer Daten nicht die geeignete Methode zu sein. Trotzdem entwickeln einige Typ-1-Diabetiker im Laufe ihrer Erkrankung eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung und andere wiederum nicht. Somit bleibt eine genetische Determination als Ursache für die schnelle Adaptation einiger Typ-1-Diabetiker an niedere Blutzucker nicht ausgeschlossen. Jedoch spricht viel dafür, dass die Ursachen einer gestörten Hypoglykämiewahrnehmung am ehesten physiologischer Natur sind und die bisher bekannten Risikofaktoren für das Auftreten von schweren Hypoglykämien (niedriges C-Peptid, niedriger HbA1c, Diabetesdauer) nach wie vor einen hohen Stellenwert einnehmen und eine höhere klinische Relevanz haben als der in dieser Arbeit untersuchte genetische Faktor der ACE-Enzymaktivität.

7. Zusammenfassung

Hypoglykämien stellen in der Behandlung des Typ 1-Diabetes Mellitus ein zentrales Problem dar. Mit dem Ziel, eine möglichst physiologische Insulinsubstitution zu erreichen, um diabetische Folgeschäden zu vermeiden, steigt auch die Gefahr von Hypoglykämien deutlich an. Werden diese Hypoglykämien von den Typ-1-Diabetikern als solche erkannt, können sie durch Kohlenhydratzufuhr sehr einfach behandelt werden. Problematischer ist es, wenn die Unterzuckerung asymptomatisch bleibt und in schweren Fällen bis zum Krampfanfall oder zur Bewusstlosigkeit führt. Dies stellt eine hohe psychische Belastung für die Betroffenen und deren Umfeld dar. Man weiss, dass mit steigender Erkrankungsdauer auch die Wahrscheinlichkeit steigt, eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu entwickeln. Jedoch scheinen nicht alle Typ-1-Diabetiker im Laufe ihrer Erkrankung eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu entwickeln, so dass hier von einer zusätzlichen genetischen Genese dieses Krankheitsbildes ausgegangen werden kann. Hierzu untersuchte die dänische Arbeitsgruppe um Pedersen-Bjergaard 171 Typ-1-Diabetiker hinsichtlich ihrer Hypoglykämiewahrnehmung und der Enzymaktivität beziehungsweise dem Genpolymorphismus des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE). Es wurde festgestellt, dass Typ-1-Diabetiker mit einer hohen Enzymaktivität, beziehungsweise dem Genpolymorphismus *D/D* (Deletionsallel) des ACE, ein 2.5-fach höheres Risiko haben eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu entwickeln als Typ-1-Diabetiker mit einer niedrigen Enzymaktivität beziehungsweise dem Genpolymorphismus *I/I* (Insertionsallel) des ACE. Sollten sich diese Daten in weiteren Studien bestätigen, könnte man mittels relativ einfacher Blutuntersuchung Voraussagen treffen, ob ein Typ-1-Diabetiker im Laufe der Erkrankung eine Hypoglykämiewahrnehmungsstörung entwickeln wird oder nicht. Dies hätte direkten Einfluss auf die individuelle Behandlungsstrategie. Diese mittels Fragebogen und Blutentnahme (zur Enzymbestimmung) erhobenen Daten wollten wir in dieser Studie experimentell verifizieren.

Wir verwendeten die in der Hypoglykämieforschung etablierte hypoglykämische Glukose-Clamp-Technik. 26 Typ-1-Diabetiker wurden mittels experimentell induzierter und kontrollierter Hypoglykämie hinsichtlich ihrer Hypoglykämiewahrnehmung auf endokriner, symptomatischer und neuropsychologischer Ebene untersucht. Dazu wurden die jeweiligen Blutglukose-Spiegel mittels intravenös appliziertem Insulin auf 90 mg/dl (Euglykämie), 60 mg/dl (milde Hypoglykämie) und 45 mg/dl (moderate Hypoglykämie) stabilisiert, um auf diesen Blutglukose-Niveaus Blutbestimmungen vorzunehmen, Symptome abzufragen und Reaktionstests durchzuführen. Die Enzymaktivitäten des ACE sowie der jeweilige Genpolymorphismus dieses Enzyms wurden aus venösem Vollblut bestimmt. Es wurden zwei Gruppen mit je 13 Probanden mit hoher versus niedriger ACE-Aktivität am Median der absoluten Enzymaktivität des Angiotensin-Converting-Enzyms gebildet. Die Auswertung unserer Daten zeigte eine qualitativ gut durchgeführte Untersuchung, die angestrebten Blutzuckerspiegel wurden erreicht und alle Probanden haben die geforderten Tests beziehungsweise Fragebögen absolviert. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Typ-1-Diabetiker mit einer hohen ACE-Aktivität hinsichtlich ihrer Hypoglykämiewahrnehmung auf endokriner, symptomatischer und neuropsychologischer Ebene gegenüber der Vergleichsgruppe mit niedriger ACE-Aktivität.

Die von Pedersen-Bjergaard veröffentlichten Daten konnten in dieser Arbeit experimentell nicht nachgewiesen werden. Es ist allerdings zu bedenken dass die von Pedersen-Bjergaard publizierten Arbeiten anhand retrospektiv ermittelter Daten entstanden sind, wohingegen in dieser vorgelegten Arbeit die Daten in einer experimentellen klinischen Studie erhoben worden sind. Als entscheidenden Nachteil dieser Arbeit darf man das geringe Probandenkollektiv sehen, was die statistische Aussagekraft verringert. Weitere klinische Studien mit einer größeren Anzahl an Probanden sollten folgen, um nach genetischen Ursachen für die Entstehung einer Hypoglykämiewahrnehmungsstörung zu suchen.

8. Summary

Hypoglycaemia is one of the main problems in the treatment of type 1 diabetic patients. In the aim to reach a physiological insulin-substitution to reduce the long-term complications of diabetes, the risk of hypoglycaemic episodes will increase. It is easy to treat hypoglycaemia with eating carbohydrates if the episode is recognised as such as hypoglycaemia. It is much more complicated if the hypoglycaemia is asymptomatic and will result in epileptic seizure or unconsciousness. This is a great emotional stress for diabetic patients and their surroundings.

It is known that the probability of hypoglycaemia unawareness increases with diabetes-duration. But not all type 1 diabetic patients develop this hypoglycaemia unawareness, so that genetic influence is suggested. The Danish team of Pedersen-Bjergaard investigated 171 type 1 diabetic patients in regard to their hypoglycaemia awareness and the activity and genotype of angiotensin converting enzyme (ACE). There was a positive relationship between serum-ACE-activity and rate of severe hypoglycaemia with a 2.7 times higher rate in patients with high enzyme-activity respectively genotype *D/D* (deletion allele) in comparison to patients with low activity of ACE respectively genotype *I/I* (insertion allele). If these results could be reproduced in other studies, it would be easy to predict the individual risk of hypoglycaemia unawareness. This could influence the individual management of insulin therapy. We tried to reproduce these results, which were recorded by questionnaires and blood sample (for enzyme diagnostic), in a clinical experimental trial.

We used the glucose-clamp-technique, which is well established in hypoglycaemia research. By experimental induced hypoglycaemia, 26 type 1 diabetic patients were investigated in regard to their hypoglycaemia awareness on endocrine, symptomatic and neuropsychological level. To take blood samples, ask symptoms of hypoglycaemia and make reaction-tests, the blood-glucose-level of the

participants were stabilised at 90 mg/dl (euglycaemia), 60 mg/dl (mild hypoglycaemia) and 45 mg/dl (moderate hypoglycaemia) by intravenous insulin infusion. We analysed the enzyme-activity of ACE and the genotype of this enzyme by venous blood samples. Two groups with 13 test persons, high versus low ACE-activity; each was build at the median range of absolute enzyme-activity of the angiotensine-converting-enzyme.

The data-analyse showed a good quality of this study. All participants completed the required tests respectively questionnaires and the target values of blood glucose has been achieved. There was no significant difference between the two groups in regard to their hypoglycaemia awareness on endocrine, symptomatic and neuropsychological level. The data published by Pedersen-Bjergaard can not be proved by experimental way in this study. However it has to be considered that the data presented by Pedersen-Bjergaard developed from retrospective studies, whereas in this presented study data were collected by the way of clinical experimental study. The important handicap of this work is the small collective of test persons, which reduces the statistical power significant. Further clinical investigations with a larger number of patients should follow to search for genetic causes of hypoglycaemia unawareness in type 1 diabetic patients.

9. Literaturverzeichnis

Reference List

- [1] Abdelmalik PA, Shannon P, Yiu A, Liang P, Adamchik Y, Weisspapir M, Samoiloa M, Burnham WM, Carlen PL: Hypoglycemic seizures during transient hypoglycemia exacerbate hippocampal dysfunction. *Neurobiol Dis* 2007;26:646-660.
- [2] Amiel S: Glucose counter-regulation in health and disease: current concepts in hypoglycaemia recognition and response. *Q J Med* 1991;80:707-727.
- [3] Banting FG, Cambell WR, Fletcher A.A.: Further clinical experience with insulin (pancreatic extracts) in the treatment of diabetes mellitus. *British Medical Journal* 1923;1:8-12.
- [4] Berger M: Epidemiologie des Diabetes mellitus; in M.Berger (ed): *Diabetes mellitus*. München, Urban & Schwarzenberg, 1995, pp 12-21.
- [5] Berger M: *Praxis der Insulintherapie*. Berlin, Springer, 2001.
- [6] Bolli G, De FP, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusano F, Brunetti P, Gerich JE: Abnormal glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus. Interaction of anti-insulin antibodies and impaired glucagon and epinephrine secretion. *Diabetes* 1983;32:134-141.
- [7] Boyle PJ, Kempers SF, O'Connor AM, Nagy RJ: Brain glucose uptake and unawareness of hypoglycemia in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 28-12-1995;333:1726-1731.
- [8] Boyle PJ, Nagy RJ, O'Connor AM, Kempers SF, Yeo RA, Qualls C: Adaptation in brain glucose uptake following recurrent hypoglycemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 27-9-1994;91:9352-9356.
- [9] Bulsara MK, Holman CD, van Bockxmeer FM, Davis EA, Gallego PH, Beilby JP, Palmer LJ, Choong C, Jones TW: The relationship between ACE genotype and risk of severe hypoglycaemia in a large population-based cohort of children and adolescents with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2007;50:965-971.
- [10] Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, Julian D, Schlundt D, Polonsky W: Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care* 1995;18:517-522.

- [11] Clarke WL, Gonder-Frederick L, Cox DJ: The frequency of severe hypoglycaemia in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Horm Res* 1996;45 Suppl 1:48-52.
- [12] Clarke WL, Gonder-Frederick LA, Richards FE, Cryer PE: Multifactorial origin of hypoglycemic symptom unawareness in IDDM. Association with defective glucose counterregulation and better glycemic control. *Diabetes* 1991;40:680-685.
- [13] Cryer PE: Hypoglycemia. Pathophysiology, diagnosis and treatment. Oxford, Oxford University Press, 1997.
- [14] Cryer PE: Hypoglycaemia: the limiting factor in the glycaemic management of Type I and Type II diabetes. *Diabetologia* 2002;45:937-948.
- [15] Cryer PE, Binder C, Bolli GB, Cherrington AD, Gale EA, Gerich JE, Sherwin RS: Hypoglycemia in IDDM. *Diabetes* 1989;38:1193-1199.
- [16] Cryer PE, Davis SN, Shamon H: Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care* 2003;26:1902-1912.
- [17] de Galan BE, Schouwenberg BJ, Tack CJ, Smits P: Pathophysiology and management of recurrent hypoglycaemia and hypoglycaemia unawareness in diabetes. *Neth J Med* 2006;64:269-279.
- [18] De FP, Perriello G, Torlone E, Fanelli C, Ventura MM, Santeusano F, Brunetti P, Gerich JE, Bolli GB: Evidence against important catecholamine compensation for absent glucagon counterregulation. *Am J Physiol* 1991;260:E203-E212.
- [19] DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R: Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 1979;237:E214-E223.
- [20] Dieterle C: [(Auto)immunological aspects of type 1 diabetes mellitus]. *MMW Fortschr Med* 20-4-2006;148:36-39.
- [21] Fletcher AA, Campbell BM: The blood sugar following insulin administration and the symptom complex - hypoglycemia. *Journal of Metabolic Research* 1922;2:637-649.
- [22] Frier BM: Hypoglycemia unawareness; in B.M.Frier, B.M.Fisher (eds): *Hypoglycemia and diabetes: Clinical and physiological aspects*. London, Edward Arnold, 1993, pp 285-301.
- [23] Frier BM: Morbidity of hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;65 Suppl 1:S47-S52.
- [24] Frier BM, Fisher B-M: Impaired hypoglycemia awareness; in B.M.Frier, B.M.Fisher (eds): *Hypoglycemia in clinical diabetes*. New York, John Wiley & Sons, 1999, pp 111-146.

- [25] Gerich JE, Langlois M, Noacco C, Karam JH, Forsham PH: Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. *Science* 12-10-1973;182:171-173.
- [26] Gerich JE, Mokan M, Veneman T, Korytkowski M, Mitrakou A: Hypoglycemia unawareness. *Endocr Rev* 1991;12:356-371.
- [27] Harkonen T, Paananen A, Lankinen H, Hovi T, Vaarala O, Roivainen M: Enterovirus infection may induce humoral immune response reacting with islet cell autoantigens in humans. *J Med Virol* 2003;69:426-440.
- [28] Hauner M: Hypoglykämie; in K.Alexander et al. (ed): *Thiemes Innere Medizin*. Stuttgart, Thieme, 1999, pp 310-315.
- [29] Heinemann L, Sawicki P, Withold W, Starke A.A.R.: Klinische Chemie; in M.Berger (ed): *Diabetes mellitus*. München, Urban & Schwarzenberg, 1995, pp 39-60.
- [30] Hepburn DA: Symptoms of hypoglycemia; in B.M.Frier, B.M.Fisher (eds): *Hypoglycemia and diabetes. Clinical and physiological aspects*. New York, John Wiley & Son, 1999, pp 93-103.
- [31] Hepburn DA, Deary IJ, Frier BM, Patrick AW, Quinn JD, Fisher BM: Symptoms of acute insulin-induced hypoglycemia in humans with and without IDDM. Factor-analysis approach. *Diabetes Care* 1991;14:949-957.
- [32] Hepburn DA, Patrick AW, Eadington DW, Ewing DJ, Frier BM: Unawareness of hypoglycaemia in insulin-treated diabetic patients: prevalence and relationship to autonomic neuropathy. *Diabet Med* 1990;7:711-717.
- [33] Hermanns N: Definition von Hypoglykämien; in N.Hermanns (ed): *Selbstregulation einer modernen Verhaltensmedizin*. Lengerich, Pabst Science Publishers, 2003, pp 27-30.
- [34] Hermanns N: Diabetestherapie als Selbstregulationsproblem; in N.Hermanns (ed): *Selbstregulation einer modernen Verhaltensmedizin*. Lengerich, Pabst Science Publishers, 2003, pp 30-33.
- [35] Hermanns N: Hypoglykämieinduzierte Effekte auf Aufmerksamkeitsleistungen; in N.Hermanns (ed): *Selbstregulation einer modernen Verhaltensmedizin*. Lengerich, Pabst Science Publishers, 2003, pp 161-162.
- [36] Hermanns N, Kubiak T, Kulzer B, Haak T: Emotional changes during experimentally induced hypoglycaemia in type 1 diabetes. *Biol Psychol* 2003;63:15-44.

- [37] Hermanns N, Kulzer B, Maierm B., Kubiak T, Haak T: Risikoindikatoren für das Auftreten schwerer Hypoglykämien bei Patienten mit Typ-1-Diabetes mellitus. *Diabetes und Stoffwechsel* 2002;11:145-149.
- [38] Holstein A, Plaschke A, Bottcher Y, Stumvoll M, Kovacs P: The Insertion/Deletion Polymorphism in the Angiotensin-converting Enzyme Gene and Hypoglycemia Awareness in Patients with Type 1 Diabetes. *Horm Metab Res* 2006;38:603-606.
- [39] Hürter P: *Diabetes bei Kindern und Jugendlichen*. Berlin, Springer, 2005.
- [40] Kerner W. Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. *Evidenzbasierte Leitlinien DDG. Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinien DDG. 1, 5-7*. 2004. W. A. Scherbaum, W. Kiess. 2004. Ref Type: Generic
- [41] Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, Kahn CR: Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complications. *N Engl J Med* 26-11-1987;317:1390-1398.
- [42] Kubiak T: Hypoglykämiewahrnehmungsstörung; in T.Kubiak (ed): *Neuropsychologische Effekte experimentell induzierter Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern mit und ohne Hypoglykämiewahrnehmungsstörung*. Freiburg, unveröffentlichte Diplomarbeit, 1998, pp 27-35.
- [43] Kulzer B: Psychologische Aspekte des Diabetes - Ein Überblick. *Diabetes und Stoffwechsel* 1993;2:219.
- [44] Kulzer B: Angst vor Unterzuckerungen; in C.W.Kohlmann, E.Küstner, B.Kulzer (eds): *Diabetes und Psychologie*. Bern, Huber, 1995, pp 64-80.
- [45] Kulzer B, Hermanns N, Kubiak T, Haak T: Hypoglykämieprobleme bei Diabetes mellitus - Ätiologie, Diagnostik und Behandlung. *Diabetes und Stoffwechsel* 2004;13:139-151.
- [46] Lawrence RD: Insulin hypoglycemia. Changes in nervous manifestations. *Lancet* 1941;2:602.
- [47] Lemmen KD, Kroll P, Wagner W: Diabetische Augenerkrankungen; in M.Berger (ed): *Diabetes mellitus*. München, Urban & Schwarzenberg, 1995, pp 512-528.
- [48] Liu D, Moberg E, Kollind M, Lins PE, Adamson U, Macdonald IA: Arterial, arterialized venous, venous and capillary blood glucose measurements in normal man during hyperinsulinaemic euglycaemia and hypoglycaemia. *Diabetologia* 1992;35:287-290.

- [49] Löffler G: Endokrine Gewebe II: Die schnelle Stoffwechselregulation; in G.Löffler, P.Petrides (eds): Biochemie und Pathobiochemie. Berlin, Springer, 1997, pp 788-798.
- [50] McCall AL: Effect of glucose deprivation on glucose metabolism in central nervous system.; in B.M.Frier, B.M.Fisher (eds): Hypoglycemia and diabetes. Clinical and physiological aspects. New York, John Wiley & Sons, 1999, pp 56-71.
- [51] McGuire EA, Helderman JH, Tobin JD, Andres R, Berman M: Effects of arterial versus venous sampling on analysis of glucose kinetics in man. *J Appl Physiol* 1976;41:565-573.
- [52] Pedersen-Bjergaard U, Dhamrait SS, Sethi AA, Frandsen E, Nordestgaard BG, Montgomery HE, Pramming S, Hougaard P, Thorsteinsson B: Genetic variation and activity of the renin-angiotensin system and severe hypoglycemia in type 1 diabetes. *Am J Med* 2008;121:246-248.
- [53] Pedersen-Bjergaard U, gerholm-Larsen B, Pramming S, Hougaard P, Thorsteinsson B: Activity of angiotensin-converting enzyme and risk of severe hypoglycaemia in type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 21-4-2001;357:1248-1253.
- [54] Pedersen-Bjergaard U, gerholm-Larsen B, Pramming S, Hougaard P, Thorsteinsson B: Prediction of severe hypoglycaemia by angiotensin-converting enzyme activity and genotype in type 1 diabetes. *Diabetologia* 2003;46:89-96.
- [55] Pedersen-Bjergaard U, Pramming S, Heller SR, Wallace TM, Rasmussen AK, Jorgensen HV, Matthews DR, Hougaard P, Thorsteinsson B: Severe hypoglycaemia in 1076 adult patients with type 1 diabetes: influence of risk markers and selection. *Diabetes Metab Res Rev* 2004;20:479-486.
- [56] Pedersen-Bjergaard U, Pramming S, Thorsteinsson B: Recall of severe hypoglycaemia and self-estimated state of awareness in type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2003;19:232-240.
- [57] Pelligrino DA, Segil LJ, Albrecht RF: Brain glucose utilization and transport and cortical function in chronic vs. acute hypoglycemia. *Am J Physiol* 1990;259:E729-E735.
- [58] Pramming S, Thorsteinsson B, Bendtson I, Binder C: Symptomatic hypoglycaemia in 411 type 1 diabetic patients. *Diabet Med* 1991;8:217-222.
- [59] Quattrin T, Belanger A, Bohannon NJ, Schwartz SL: Efficacy and safety of inhaled insulin (Exubera) compared with subcutaneous insulin therapy in patients with type 1 diabetes: results of a 6-month, randomized, comparative trial. *Diabetes Care* 2004;27:2622-2627.

- [60] Raju TN: A mysterious something: the discovery of insulin and the 1923 Nobel Prize for Frederick G. Banting (1891-1941) and John J.R. Macleod (1876-1935). *Acta Paediatr* 2006;95:1155-1156.
- [61] Rave K, Bott S, Heinemann L, Sha S, Becker RH, Willavize SA, Heise T: Time-action profile of inhaled insulin in comparison with subcutaneously injected insulin lispro and regular human insulin. *Diabetes Care* 2005;28:1077-1082.
- [62] Reiners K, Auer P: Diabetische Neuropathie; in M.Berger (ed): *Diabetes mellitus*. München, Urban & Schwarzenberg, 1995, pp 512-528.
- [63] Richmond J: Effects of hypoglycaemia: patients' perceptions and experiences. *Br J Nurs* 26-9-1996;5:1054-1059.
- [64] Rigat B, Hubert C, henc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F: An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-1346.
- [65] Rosak C, Böhm BO, Mehnert H: *Diabetologie in Klinik und Praxis*. Stuttgart, Thieme, 2001.
- [66] Schneider H, Lischinski M, Jutzi E: Survival time after onset of diabetes: 29-year follow-up mortality study in a diabetes cohort from a rural district. *Diabete Metab* 1993;19:152-158.
- [67] Siddiqui NI: Evaluation of inhaled insulin therapy for diabetes mellitus. *Mymensingh Med J* 2007;16:237-245.
- [68] Skyler JS, Weinstock RS, Raskin P, Yale JF, Barrett E, Gerich JE, Gerstein HC: Use of inhaled insulin in a basal/bolus insulin regimen in type 1 diabetic subjects: a 6-month, randomized, comparative trial. *Diabetes Care* 2005;28:1630-1635.
- [69] Tattershall R.B.: Frequency and causes of hypoglycemia; in B.M.Fisher, B.M.Frier (eds): *Hypoglycemia and diabetes. Clinical and physiological aspects*. London, Edward Arnold, 1993, pp 176-189.
- [70] The American Diabetes Association Workgroup on Hypoglycemia: Defining and reporting hypoglycemia in diabetes: a report. *Diabetes Care* 2005;28:1245-1249.
- [71] The Carter Center of Emory University: Closing the gap: the problem of diabetes mellitus in the United States. *Diabetes Care* 1985;8:391-406.
- [72] The Diabetes Control and Complication Trial Research Group: Hypoglycemia in the diabetes control and complication trial. *Diabetes* 1997;46:271-286.

- [73] The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med* 30-9-1993;329:977-986.
- [74] Vignesh JP, Mohan V: Hypoglycaemia unawareness. *J Assoc Physicians India* 2004;52:727-732.
- [75] Warren RE, Frier BM: Hypoglycaemia and cognitive function. *Diabetes Obes Metab* 2005;7:493-503.
- [76] Whipple A.O.: The surgical therapy of hyperinsulinism. *Journal of Internal Surgery* 1938;3:237-276.
- [77] White NH, Skor DA, Cryer PE, Levandoski LA, Bier DM, Santiago JV: Identification of type I diabetic patients at increased risk for hypoglycemia during intensive therapy. *N Engl J Med* 3-3-1983;308:485-491.
- [78] Willms B, Schumann E.: Der HemoCue-Glukose-Analyser, ein schnelles und genaues Blutzuckermessgerät für die Praxis. *Diabetes und Stoffwechsel* 1997;6:245-248.
- [79] Wilson DB: Immunology: Insulin auto-antigenicity in type 1 diabetes. *Nature* 24-11-2005;438:E5-E6.
- [80] Zammitt NN, Geddes J, Warren RE, Marioni R, Ashby JP, Frier BM: Serum angiotensin-converting enzyme and frequency of severe hypoglycaemia in Type 1 diabetes: does a relationship exist? *Diabet Med* 2007;24:1449-1454.
- [81] Zimmermann P, Fimm B. Testbatterie zur Aufmerksamkeitsprüfung (TAP). Psytest. 1992. Würselen.
Ref Type: Computer Program
- [82] Zimmermann P, Leclercq M: Neuropsychological aspects of attentional functions and disturbances; in M.Leclercq, P.Zimmermann (eds): *Applied Neuropsychology of Attention. Theory, Diagnosis & Rehabilitation*. London, Psychology Press, 2002, pp 56-85.

10 Anhang

Inhaltsverzeichnis

- Hypoglykämie-Fragebogen nach Clarke, 1995
- Symptomcheckliste nach Hepburn, 1991
- Einverständniserklärung der Probanden

Hypoglykämiewahrnehmung

1. Wählen Sie die Aussage aus, die Sie am besten beschreibt:
 - Ich habe *immer* Symptome, wenn mein Blutzucker niedrig ist
 - Ich habe *manchmal* Symptome, wenn mein Blutzucker niedrig ist
 - Ich habe *nie* Symptome, wenn mein Blutzucker niedrig ist
2. Haben Sie z. Zt. bei niedrigem Blutzucker weniger Symptome als früher?
 - ja
 - nein
3. Wie häufig hatten Sie in den letzten zwölf Monaten schwere Hypoglykämien, bei denen sie hilflos waren, ohne jedoch bewußtlos zu sein.
 - nie
 - ein- oder zweimal
 - jeden zweiten Monat
 - einmal im Monat
 - mehr als einmal im Monat
4. Wie häufig hatten Sie in den letzten zwölf Monaten sehr schwere Hypoglykämien, bei denen Sie bewußtlos waren
 - nie
 - 1-2 mal
 - 3-4 mal
 - 5-10 mal
 - mehr als 10
5. Wie häufig hatten Sie in den letzten vier Wochen Blutzuckerwerte unter 50 mg/dl *mit* Symptomen?
 - nie
 - 1-3 mal
 - 1 pro Woche
 - 2-3 pro Woche
 - 4-5 pro Woche
 - fast täglich
6. Wie häufig hatten Sie in den letzten vier Wochen Blutzuckerwerte unter 50 mg/dl *ohne* Symptome?
 - nie
 - 1-3 mal
 - 1 pro Woche
 - 2-3 pro Woche
 - 4-5 pro Woche
 - fast täglich
7. Wie tief muß Ihr Blutzucker sinken, damit Sie Symptome wahrnehmen?
 - 60-70 mg/dl
 - 50-60 mg/dl
 - 40.50 mg/dl
 - unter 40 mg/dl

Ab welchem Blutzuckerwert spüren Sie Symptome? _____
8. Wie zuverlässig können Sie anhand Ihrer Symptome erkennen, daß Ihr Blutzucker niedrig ist
 - nie
 - kaum
 - manchmal
 - häufig
 - immer

Symptomcheckliste

Intensität

Symptome	Überhaupt nicht						Sehr stark
	1	2	3	4	5	6	7
1. Schwäche	<input type="checkbox"/>						
2. Schluckauf	<input type="checkbox"/>						
3. Blähungen	<input type="checkbox"/>						
4. Sprachschwierigkeiten	<input type="checkbox"/>						
5. Doppeltsehen	<input type="checkbox"/>						
6. Gelbliches Sehen	<input type="checkbox"/>						
7. Übelkeit	<input type="checkbox"/>						
8. Kopfschmerzen	<input type="checkbox"/>						
9. Schwitzen	<input type="checkbox"/>						
10. Verstopfung	<input type="checkbox"/>						
11. Juckreiz	<input type="checkbox"/>						
12. Rückenschmerzen	<input type="checkbox"/>						
13. Benommenheit	<input type="checkbox"/>						
14. Zittern	<input type="checkbox"/>						
15. Schwindel	<input type="checkbox"/>						
16. Konzentrationsprobleme	<input type="checkbox"/>						
17. Herzklopfen	<input type="checkbox"/>						
18. Traurigkeit	<input type="checkbox"/>						
19. Schmerzen in den Beinen	<input type="checkbox"/>						
20. Schüttelfrostartige Schauer	<input type="checkbox"/>						
21. Verschwommenes Sehen	<input type="checkbox"/>						
22. Angst	<input type="checkbox"/>						
23. Herzschmerzen	<input type="checkbox"/>						
24. Unterleibskrämpfe	<input type="checkbox"/>						
25. Kribbeln um den Mund	<input type="checkbox"/>						
26. Atemschwierigkeiten	<input type="checkbox"/>						
27. Hunger	<input type="checkbox"/>						
28. Müdigkeit	<input type="checkbox"/>						
29. Verwirrtheit	<input type="checkbox"/>						
30. Wärmegefühl	<input type="checkbox"/>						

Patienteneinverständniserklärung: Version 1.1

Versionsdatum: 31.08.2004

Assoziation der ACE-Aktivität und Polymorphismen und Hypoglykämieprobleme

Name: _____

Einverständniserklärung:

Hiermit erkläre ich mich bereit, an der Studie „Assoziation der ACE-Aktivität und Polymorphismen und Hypoglykämieprobleme“ teilzunehmen.

Ich wurde darüber aufgeklärt, dass meine Zustimmung zu dieser Studie freiwillig erfolgt und ich diese Zustimmung ohne jede Angabe von Gründen wieder zurückziehen kann.

Ich habe eine schriftliche Patientenaufklärung erhalten und gelesen. Ich hatte zusätzlich die Gelegenheit, Fragen über die Ziele und den Ablauf der Untersuchung sowie über die Weiterverwendung und Anonymisierung meiner Untersuchungsergebnisse zu stellen.

Ich erkläre mich mit einer genetischen Bestimmung der ACE-Polymorphismen einverstanden. Mir wurde versichert, dass ich die Ergebnisse dieser Bestimmung vom Prüfarzt erfahren kann. Die kommerzielle Nutzung der Studienergebnisse ist ausgeschlossen. Mir wurde weiterhin versichert, dass ich bei Studienrücktritt eine Vernichtung des Probenmaterials einfordern kann. Die Dauer der Aufbewahrung des Probenmaterials beträgt 2 Jahre.

Ich wurde darüber aufgeklärt, daß die im Rahmen dieser klinischen Prüfung erhobenen Daten in anonymisierter Form an die zuständigen Gesundheitsbehörden (örtliche Überwachungsbehörde, Bundesoberbehörden) weitergegeben werden können.

Ich entbinde den Prüfarzt gegenüber den staatlichen Gesundheitsbehörden von seiner Schweigepflicht insofern, als Gesundheitsbehörden und Monitor, soweit zur Überprüfung der korrekten Datenübertragung erforderlich, Einsicht in die im Rahmen dieser klinischen Prüfung erfolgten Originalaufzeichnungen nehmen können.

Ort, Datum_____
Unterschrift_____
Unterschrift des Prüfarztes

11. Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. med. Thomas Haak für die Möglichkeit, unter seiner Leitung die Arbeit im Diabetes Zentrum Mergentheim durchführen zu können sowie für das Interesse an diesem Thema.

Herrn Prof. Dr. Norbert Hermanns gilt besonderer Dank für die hervorragende Betreuung während der Testphase und während der Entstehung dieser Dissertation. Ohne ihn und seine unendliche Geduld, seine kritischen Anmerkungen und nicht zuletzt seine Ermunterung, wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Bei den Mitarbeitern der Diabetesklinik möchte ich mich für die Hilfe bei der Betreuung der Patienten bedanken. Hervorzuheben seien hier kurz die Mitarbeiter des Labors, die mir eine große Hilfe waren, sowie die Pflegedienstleitung für die Bereitstellung des Equipments.

Bei Frau Dr. med. B. Fischer und dem Team der Universitätsklinik Gießen möchte ich mich für die Laboranalysen bedanken.

Grosser Dank gebührt meiner Freundin Nikola, die mir während des Schreibens stets den Rücken freigehalten hat und mich immer wieder ermuntert hat, weiter zu machen.

12. LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name: Mathias Plate

Adresse: Blumenweg 9
CH-5033 Buchs AG, Schweiz
Tel.: 0041-(0)-62 5345152
E-Mail: mathias.plate@web.de

geboren am: 16. Mai 1978
in: Greifswald
Familienstand: ledig

Schul Ausbildung

09/ 1984 – 06/ 1991 Polytechnische Oberschule Erich Weinert, Greifswald

08/ 1991 – 06/ 1997 Friedrich-Ludwig-Jahn-Gymnasium, Greifswald

20. Juni 1997 Allgemeine Hochschulreife

Zivildienst

08/ 1997 – 08/ 1998 Rettungsdienst Deutsches Rotes Kreuz, Greifswald

6. November 1997 Prüfung zum Rettungssanitäter

Arbeitsverhältnis

09/ 1998 - 03/ 1999 Tätigkeit als Rettungssanitäter bei der HKS Rettungsdienst GmbH Greifswald

Hochschulausbildung

03/ 1999 – 12/ 2006 Studium der Humanmedizin an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität Frankfurt a. M.

11.09.2002 Ärztliche Vorprüfung

17.11.2006 2. Staatsexamen

05.12.2006 Approbation als Arzt

09/ 2004 Beginn der Dissertation bei
Prof. Dr. med. T. Haak, Diabetesklinik
Bad Mergentheim

Praktische Ausbildung:

03/ 2003 Famulatur, Chirurgie,
Kreiskrankenhaus Berchtesgaden

07/ 2003 Famulatur, Allgemeinmedizin,
Allgemeinarztpraxis, Greifswald

09/ 2003 Famulatur, Pädiatrie,
Kinderarztpraxis, Greifswald

08/ 2004 Famulatur, Innere Medizin,
Diabetesklinik Bad Mergentheim

08/ 2005 - 07/ 2006

Praktisches Jahr

1. Tertial Pädiatrie, Städtische Kliniken
Frankfurt a.M. Höchst

2. Tertial Chirurgie, Kantonsspital Aarau,
Schweiz

3. Tertial Innere Medizin, Städtische Kliniken
Frankfurt a.M. Höchst

seit 03/2007

Ärztliche Ausbildung

03/ 2007 – 09/2008

Assistenzarzt Innere Medizin
Klinik Barmelweid, Schweiz

seit 10/ 2008

Assistenzarzt Pädiatrie
Kantonsspital Baden, Schweiz

Buchs im September 2008

13. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die am Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingebrachte Arbeit mit dem Titel

Assoziation der ACE-Aktivität und Polymorphismen und Hypoglykämieprobleme

unter der Leitung von Prof. Dr. med. Thomas Haak ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung keine anderen als in der Dissertation angeführten Hilfsmittelbenutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- und ausländischen Medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die vorliegende Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Buchs im September 2008