

Bedeutung der endogenen Insulinreserve bei Typ-1-Diabetikern im Zusammenhang mit Häufigkeit und Schwere von Hypoglykämien

Einfluss auf die hormonelle Gegenregulation und Hypoglykämie-Wahrnehmung unter Berücksichtigung der Hypoglykämieanamnese

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Humanmedizin
der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
aus

Jana Catarina Schäfer
Wetzlar

Gießen 2002

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin
Medizinische Klinik III und Medizinische Poliklinik

Leiter: Prof. Dr. med. R. G. Bretzel

des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen

Gutachter: PD Dr. med. Linn

Gutachter: Prof. Dr. med. Preissner

Tag der Disputation: 13. März 2003

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1 Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern	1
1.1.1 Häufigkeit von Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern	1
1.1.2 Morbidität infolge von Hypoglykämien	3
1.1.3 Mortalität infolge schwerer Hypoglykämien unter Typ-1-Diabetikern	5
1.1.4 Risikofaktoren für die Entwicklung schwerer Hypoglykämien	5
1.1.4.1 fehlende endogene Insulinreserve, lange Diabetesdauer	6
1.1.4.2 gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung	6
1.1.4.3 hypoglycemia-associated autonomic failure	7
1.1.4.4 Human-Insulin vs. tierisches Insulin	7
1.1.4.5 intensivierete Insulintherapie, strenge metabolische Kontrolle	7
1.1.4.6 hohe ACE-Aktivität	8
1.2 Physiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung	9
1.2.1 Physiologie der Gegenregulation	9
1.2.2 Physiologie der Hypoglykämie-Wahrnehmung	12
1.3 Pathophysiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung	13
1.3.1 Pathophysiologie der Gegenregulation	13
1.3.1.1 defekte Gegenregulation und autonome Neuropathie	14
1.3.1.2 defekte Gegenregulation und fehlende residuale endogene Insulinsekretion	16
1.3.1.3 defekte Gegenregulation und metabolische Kontrolle	17
1.3.2 gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung - „hypoglycemia-unawareness“	18
1.4 Ziele und Fragestellung	21

2. Kollektiv und Methoden

2.1 Kollektiv	23
2.1.1 Typ-1-Diabetiker	23
2.1.2 Kontrollpersonen	25
2.2 Untersuchungsmethode	25
2.2.1 Hyperinsulinämischer hypoglykämischer Clamp	25
2.2.2 Material	29
2.2.3 Messmethoden	31
2.3 Auswertung	41
2.3.2 Bestimmung der Stärke der hormonellen Gegenregulation	41
2.3.3 statistische Methodik	42

3. Ergebnisse

3.1 Verlauf des hypoglykämischen Clamps	45
--	-----------

3.2 Hormonelle Gegenregulation während des Clamps	46
3.2.1 Glukagon	46
3.2.2 Adrenalin	49
3.2.3 Noradrenalin	51
3.2.4 Cortisol	53
3.2.5 STH	56
3.2.6. Glucoseinfusionsrate	58
3.3 Symptomwahrnehmung während des hypoglykämischen Clamps	60
3.4 Konzentrationstest	68
4. Diskussion	71
4.1 Angewandte Methodik	71
4.1.1 Kollektiv	71
4.1.2 Untersuchungsmethode	74
4.1.3 Auswertung	79
4.2 Ergebnisse	79
4.2.1 hormonelle Gegenregulation	79
4.2.1.1 Glukagon	80
4.2.1.2 Adrenalin	83
4.2.1.3 Noradrenalin	85
4.2.1.4 Cortisol	86
4.2.1.5 STH	88
4.2.1.6 Glucoseinfusionsrate	89
4.2.2 Symptomwahrnehmung	90
4.2.3 Konzentrationstest	93
5. Zusammenfassung	95
6. Literaturverzeichnis	99
7. Anhang	115
7.1 weitere Tabellen	115
7.2 Verzeichnis der Abbildungen	121
7.3 Verzeichnis der Tabellen	123
7.4 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	125
8. Danksagungen	127
9. Lebenslauf	129

1. Einleitung

Der Diabetes mellitus gehört zu den häufigsten Stoffwechselerkrankungen weltweit, bei Kindern ist es die häufigste chronische Erkrankung überhaupt. Die Inzidenz steigt noch dazu stetig - durchschnittlich um ca. 3 % jährlich (99). Derzeit sind weltweit ca. 150 Millionen Menschen betroffen (hiervon ca. 10 % Typ-1-Diabetiker), für das Jahr 2010 wird eine Gesamtzahl von 220 Millionen erwartet (5). Nach Schätzungen von 1988 waren damals knapp 5 % der Bundesbürger Diabetiker (110).

Vor der Entdeckung des Insulins war der Diabetes mellitus eine unweigerlich früh zum Tode führende Erkrankung. Etwa die Hälfte der betroffenen Kinder starb innerhalb eines Jahres nach Diagnosestellung (10). Am 11. Januar 1922 wurde mit dem 14jährigen Leonard Thompson in Toronto erstmals ein Diabetiker mit Insulin behandelt. Seitdem sind in der Therapie des Diabetes mellitus viele Erfolge erzielt worden. Nichtsdestotrotz haben Diabetiker im Rahmen der im Verlauf eintretenden Komplikationen auch heute noch eine reduzierte Lebenserwartung und insbesondere auch reduzierte Lebensqualität. *Bingley* und *Gale* beschrieben 1989 den Typ-1-Diabetes als eine chronische, bisher irreversible Erkrankung mit einer Reihe bedeutender Komplikationen, deren Therapie allenfalls palliativ ist (11). In Deutschland müssen sich jährlich ca. 9000 Diabetiker einer Dialyse unterziehen, 3000 erblinden pro Jahr, und 25000 bis 50000 Amputationen und 35000 Myocardinfarkten jährlich liegt ursächlich eine diabetische Stoffwechsellage zugrunde (5). Neben diesen und anderen allgemein bekannten, vor allem hyperglykämiebedingten Komplikationen stellen aber auch die insbesondere bei enger Blutzuckereinstellung häufiger auftretenden Hypoglykämien eine nicht zu vernachlässigende Beeinträchtigung im Leben vieler Diabetiker dar.

1.1 Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern

1.1.1 Häufigkeit von Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetikern

„Hypoglycemia is a fact of life for patients with insulin-dependent diabetes mellitus.“, heißt es zu Beginn des Kapitels über Hypoglykämien von *Cryer* und *Gerich* in *Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus* (33).

Die *Whipplesche Trias* nennt drei Kriterien, deren gleichzeitiges Bestehen eine Hypoglykämie definiert: 1. Symptome einer Hypoglykämie, 2. erniedrigte Blutzuckerkonzentration und 3. Verschwinden der Symptome nach Normalisierung der Plasmaglukosekonzentration. Allerdings verlaufen wahrscheinlich etwa 40 % der „biochemischen“ Hypoglykämien (BZ < 2,5 mmol/l, d. h. ca. 45 mg/dl) ohne Symptome, und es liegt andererseits bei 40 % der subjektiv erlebten hypoglykämischen Episoden der Blutzuckerspiegel noch über 4,5 mmol/l (ca. 80 mg/dl). Insgesamt ist wohl eine sehr geringe Korrelation zwischen „biochemischen“ und „klinischen“ Hypoglykämien zu verzeichnen (3). Als „schwer“ wird eine Hypoglykämie in den meisten Studien dann bezeichnet, wenn fremde Hilfe zur Behebung der hypoglykämischen Stoffwechsellage nötig war. Im DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) wurde folgende Definition verwendet: Eine schwere Hypoglykämie ist definiert als ein Ereignis mit Symptomen der Hypoglykämie, bei dem der Patient Hilfe von einer anderen Person benötigte und welches mit einer Blutzuckerkonzentration unter 50 mg/dl assoziiert war oder einer prompten Besserung auf orale Kohlenhydratzufuhr oder intravenöse Gabe von Glucose oder Glukagon (118). Dieselbe Definition kam auch im Rahmen dieser Studie zur Anwendung.

Hypoglykämien werden allgemein als die häufigste Komplikation bei der Behandlung von Diabetikern angesehen. Während eines Workshops der Juvenile Diabetes Foundation 1988 ergaben sich diesbezüglich folgende Daten: Unter konventioneller Therapie wiederfährt den meisten Patienten zumindest eine symptomatische Hypoglykämie pro Woche, unter ICT (intensified conventional therapy - intensivierter Insulintherapie) sind es dagegen etwa zwei. Mindestens eine schwere Hypoglykämie in einem Jahr erleben 10 % der konventionell behandelten Diabetiker und 25 % derer unter ICT, wobei sich die Häufigkeit schwerer Hypoglykämien unter ICT mit der Erfahrung der Patienten verringert. Die Häufigkeit unbemerkter Hypoglykämien ist aus naheliegenden Gründen nicht bekannt, aber wahrscheinlich nicht unbedeutend (31).

Aus den Daten des DCCT ergibt sich eine etwa dreifach erhöhte Inzidenz schwerer Hypoglykämien unter intensiviert behandelten Diabetikern (118, 122). Die früher vielfach beschriebene Feststellung einer umgekehrt proportionalen Beziehung zwischen der Häufigkeit von Hypoglykämien und mittlerem Blutzuckerspiegel (32, 33) konnte relativiert werden. Eine weitere Reduktion des HbA1c-Wertes unter 8 %

war mit einem immer geringer werdenden Anstieg des Risikos für schwere Hypoglykämien verbunden, führte aber zu einer weiteren proportionalen Verringerung des Risikos für hyperglykämiebedingte Komplikationen (konstante Risikominderung um 39 % bei Reduktion des HbA1c-Wertes um 10 %) (121).

In von *Widom* und *Simonson* zitierten Studien lag die Häufigkeit schwerer Hypoglykämien zwischen vier und 26 % pro Patient und Jahr (130).

Im DCCT erlebten im ersten Jahr 27 % der intensiviert und 10 % der konventionell Behandelten zumindest eine schwere Hypoglykämie, nach drei Jahren hatten 55 % bzw. 31 % diese Erfahrung gemacht (118).

1.1.2 Morbidität infolge von Hypoglykämien

Infolge von chronischen Hypoglykämien kommt es bei vielen Diabetikern zu einer erhöhten physischen Morbidität und durch die Angst vor weiteren hypoglykämischen Ereignissen zu rezidivierenden oder sogar persistierenden psychologischen Beeinträchtigungen (39, 73). Viele Diabetiker sind bezüglich dem möglichen Auftreten schwerer Hypoglykämien nicht weniger beunruhigt als bezüglich der Entwicklung von Blindheit oder Nierenversagen (31). Auch die nicht selten im Rahmen einer Hypoglykämie infolge der begleitenden Neuroglykopenie auftretenden Verhaltensänderungen können für den Diabetiker und seine Mitmenschen zu einem Problem werden.

Arkey geht unter Bezugnahme auf andere Studien davon aus, dass leichte Hypoglykämien zwar nicht mit strukturellen Schäden im Bereich des ZNS assoziiert sind, es aber durch schwere hypoglykämische Episoden zu neuropathologischen Veränderungen ähnlich denen nach einer schweren Hypoxie kommt. Im EEG ist der Schweregrad einer Hypoglykämie an einer immer geringeren Frequenz der Wellen zu erkennen. Außerdem kommt es bei vorbestehenden EEG-Veränderungen zu einer Aggravierung derselben (6). Auch wurden über mindestens einen Monat persistierende EEG-Veränderungen nach hypoglykämischen Ereignissen beschrieben (33).

Eine Längsschnittstudie an Kindern (60) ergab ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von neuropsychologischen Beeinträchtigungen infolge von

Hypoglykämien insbesondere für Kinder mit einer Diabetesmanifestation vor dem vierten bis fünften Lebensjahr. Die deutlichste Korrelation ließ sich zwischen der Häufigkeit asymptomatischer Hypoglykämien und der Beeinträchtigung des abstrakten Denkens und des räumlichen Vorstellungsvermögens erkennen. Die Autoren vermuten, dass es bei jüngeren Kindern mit noch inkompletter Entwicklung des ZNS schon durch milde oder sogar asymptomatische Hypoglykämien zu Schädigungen kommen kann.

Langan et al. fanden in einer retrospektiven Studie eine deutliche Korrelation zwischen der Häufigkeit schwerer Hypoglykämien und dem Grad intellektueller Beeinträchtigung, dem Performance-IQ und der Reaktionszeit (79). *Wredling et al.* konnten in der Gruppe der Patienten mit rezidivierenden schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte außerdem eine gestörte Frontallappenfunktion nachweisen und führen die im Laufe der Erkrankung erworbenen kognitiven Beeinträchtigungen zum einen auf einen organischen cerebralen Schaden und zum anderen auf veränderte Problemlösungsstrategien zurück. Letztere sind durch Unentschlossenheit und Bevorzugung von Akkuratheit gegenüber Schnelligkeit gekennzeichnet und könnten so die Patienten z. B. während einer hypoglykämischen Episode trotz Wahrnehmung derselben an der schnellen Einleitung von entsprechenden Maßnahmen hindern (132).

McCall beschreibt als charakteristisches morphologisches Substrat einer hypoglykämiebedingten cerebralen Schädigung eine selektive neuronale Nekrose mit besonderer Vulnerabilität von Cortex, Hippocampus und Ncl. caudatus (94).

Cryer erwähnt akute und manchmal auch chronische cerebrale Dysfunktionen als Folge von Hypoglykämien und beschreibt unter Bezugnahme auf andere Studien noch folgende hypoglykämiebedingten Veränderungen (größtenteils auf dem Boden einer sympathochromaffinen Antwort): Anstieg von systolischem Druck, glomerulärer Filtrationsrate und cerebralem Blutfluss und Absinken des intraokularen Drucks, Anstieg der Viskosität durch eine Verringerung des Plasmavolumens, daraufhin verstärkte Aktivierung der Plättchenaggregation und eventuell lang- oder kurzfristige Aggravierung der vaskulären Komplikationen (33). Von *Lefebvre* und *Scheen* wird sogar die Möglichkeit von Angina pectoris und sehr selten sogar eines Myocardinfarktes infolge zellulärer Malnutrition während hypoglykämischer Episoden in Erwägung gezogen (80).

Hepburn et al. betonen die nicht zu vernachlässigende Gefahr von schweren Verletzungen (vor allem Frakturen von langen Röhrenknochen und Wirbeln und Dislokationen von großen Gelenken) im Verlauf von hypoglykämiebedingten Krämpfen insbesondere während nächtlicher Hypoglykämien. 10 % der Patienten ihrer Diabetesklinik hatten sich im Verlauf eines hypoglykämischen Ereignisses muskuloskelettale Verletzungen oder Kopfverletzungen zugezogen (67).

1.1.3 Mortalität infolge schwerer Hypoglykämien unter Typ-1-Diabetikern

Auf der Konferenz der Juvenile Diabetes Foundation 1988 ging man davon aus, dass mindestens 4 % der Todesfälle von Patienten mit IDDM auf schwere Hypoglykämien zurückzuführen sein müssten. Aufgrund der Schwierigkeiten eine Hypoglykämie definitiv als direkt oder indirekt ursächlich für einen Todesfall zu beweisen, ist dieser Prozentsatz wahrscheinlich sogar noch zu gering (31). Unter Umständen sterben bis zu 9 % der intensiviert behandelten Diabetiker an den Folgen einer Hypoglykämie (34). In anderen Studien ergab sich eine Mortalität von 3 – 7 % (32). Im DCCT ließen sich zwei von elf Todesfällen vielleicht auf eine Hypoglykämie zurückführen (119). *Tattersall* entnimmt aus langfristigen Kohortenstudien Anteile an hypoglykämiebedingten Todesfällen unter Typ-1-Diabetikern von 1 – 13 % - ebenso unter Hinweis auf die Interpretationsproblematik insbesondere infolge der Schwierigkeiten, eine Hypoglykämie post mortem nachzuweisen (115).

1.1.4 Risikofaktoren für die Entwicklung schwerer Hypoglykämien

Umstände, die zu absolutem oder relativem Insulinüberschuss führen, wie inadäquate Insulindosen, ausgelassene Mahlzeiten, extreme physische Aktivitäten, Alkoholexzess, erhöhte Insulinsensitivität (zum Beispiel unter ICT – intensivierter konventioneller Insulintherapie, bei Niereninsuffizienz infolge reduzierter Insulin-clearance oder durch Antikörper gegen das zugeführte Insulin) werden als „konventionelle“ Risikofaktoren bezeichnet. Sie sind als solche schon lange bekannt, stellten sich aber insbesondere auch im DCCT als nur für einen geringen Anteil der schweren Hypoglykämien verantwortlich dar. Als signifikante Prädiktoren für das

Auftreten schwerer Hypoglykämien erwiesen sich in dieser Studie: schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte, Diabetesdauer zwischen neun und zwölf Jahren zu Beginn der Studie, höhere HbA1c-Werte zu Beginn der Studie, geringerer aktueller HbA1c und höhere tägliche Insulindosen. Keine Assoziationen ergaben sich bezüglich Geschlecht, Intelligenzquotient, peripherer Neuropathie und leichten Hypoglykämien in der Vorgeschichte. Bei gleichzeitigem Vorhandensein mehrerer dieser Faktoren verhielten sich die einzelnen relativen Risiken multiplikativ (118, 120).

1.1.4.1 fehlende endogene Insulinreserve, lange Diabetesdauer

Fukuda et al. beobachteten schon 1988 eine deutliche umgekehrte Korrelation zwischen noch vorhandener sekretorischer Kapazität der pankreatischen β -Zellen und dem Grad der glykämischen Instabilität (57). Im DCCT ergab sich bei den Patienten unter ICT - abgesehen von dem insgesamt gegenüber Patienten unter CT (konventionelle, nicht-intensivierte Insulintherapie) erhöhten Risiko für schwere Hypoglykämien - für solche mit noch stimulierbarem C-Peptid ein 65 % geringeres Risiko gegenüber solchen ohne endogene Insulinreserve (117). Retrospektiv hatten die Studienteilnehmer die später schwere Hypoglykämien entwickelten bei Studienbeginn niedrigere C-Peptid-Konzentrationen im Serum als die, bei denen keine derartigen Ereignisse auftraten (118). In einer prospektiven deutschen Studie betrug das relative Risiko für die Entwicklung einer schweren Hypoglykämie 4,0 (1,2 – 12,7) bei C-Peptid-Negativität (96).

Weiterhin wird in sehr vielen Studien ein deutlicher Zusammenhang zwischen langer Diabetesdauer und dem Risiko für schwere Hypoglykämien beschrieben (29, 53, 69, 81, 118, 120).

1.1.4.2 gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung

Sieht man von einem massiven Überschuss an Insulin ab, entscheidet letztendlich die Integrität des gegenregulatorischen Systems, ob eine Hyperinsulinämie in einer klinischen Hypoglykämie resultiert oder nicht (37). Hierbei spielt auch das gerade bei langjährigem Diabetes nicht seltene Syndrom „hypoglycemia-unawareness“ (gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung) eine wichtige Rolle. Je nach Studie ist es mit einem fünf- bis zehnfach erhöhten Risiko für schwere Hypoglykämien assoziiert (37, 39, 40, 59). Bei 36 % der im Wachzustand aufgetretenen Hypoglykämien im

DCCT konnten sich die Betroffenen an keine Warnsymptome erinnern, bei 51 % traten hypoglykämieanzeigende Symptome auf, wurden aber nicht als solche erkannt (118).

1.1.4.3 hypoglycemia-associated autonomic failure

Cryer beschreibt als Hauptursache hypoglykämischer Ereignisse das „hypoglycemia-associated autonomic failure“ bestehend aus gestörter Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung und erhöhten glykämischen Schwellen mit folgender Pathogenese: Phasen von relativem oder absolutem Insulinüberschuss führen bei fehlender gegenregulatorischer Glukagon-Antwort leichter zu Hypoglykämien, diese hypoglykämischen Ereignisse wiederum führen zu reduzierten autonomen Reaktionen und diese wiederum zu einer verminderten bzw. verspätet einsetzenden Symptomwahrnehmung (36, 39).

In einer Studie von *Fanelli et. al.* stellte sich u. a. auch das Vorliegen einer diabetischen autonomen Neuropathie in Kombination mit einer gestörten Hypoglykämie-Wahrnehmung als wichtiger Risikofaktor heraus (53).

1.1.4.4 Human-Insulin vs. tierisches Insulin

Nach der Einführung des Human-Insulins 1982 wurde dieses häufig mit veränderten gegenregulatorischen Antworten und insbesondere mit einer erhöhten Inzidenz des Syndroms „unawareness“ und damit einem häufigeren Auftreten von schweren Hypoglykämien in Verbindung gebracht. Auf dem Symposium „Hypoglycemia and Human Insulin“ 1990 in München konnte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Wechsel zu Human-Insulin und einer erhöhten Inzidenz schwerer Hypoglykämien nicht bestätigt werden (55).

1.1.4.5 intensivierte Insulintherapie, strenge metabolische Kontrolle

In Auswertungen der Daten des DCCT ergab sich für konventionell behandelte Patienten eine stärkere Assoziation zwischen HbA1c-Werten und dem Risiko für schwere Hypoglykämien als für intensiviert behandelte. Insbesondere aber stellte sich heraus, dass die Risikozunahme für zum Beispiel eine zehnpromtente HbA1c-Reduktion mit sinkenden aktuellen HbA1c-Werten immer geringer wurde (bei einem HbA1c-Wert > 8 % 60 % und bei einem HbA1c-Wert ≤ 8 % 18 %) und außerdem bei Patienten unter ICT geringer ausgeprägt war (Risikoanstieg für eine Reduktion

des HbA1c-Anteiles um 10 % unter ICT 26 % und unter CT 54 %). Für etwa 60 % der zwei- bis dreifach erhöhten Inzidenz schwerer Hypoglykämien unter intensiviert behandelten Diabetikern ließen sich (in Gegenüberstellung mit konventionell Behandelten) Unterschiede in den HbA1c-Werten verantwortlich machen.(120,121).

Pampanelli et al. ermittelten im Rahmen einer retrospektiven Studie an 112 Typ-1-Diabetikern, die alle vom Beginn ihrer Erkrankung an eine intensivierete Insulintherapie durchführten, eine um den Faktor 60 geringere Häufigkeit schwerer Hypoglykämien gegenüber der im DCCT ermittelten Häufigkeit in der Gruppe der intensiviert behandelten Diabetiker. Insbesondere aber kommen sie zu dem Schluss, dass eine intensivierete Insulintherapie durchaus mit einer normalen Hypoglykämie-Wahrnehmung und -Gegenregulation vereinbar sein kann, solange der HbA1c-Wert über 6 % liegt. Eine umgekehrt proportionale Beziehung zur Höhe des HbA1c-Wertes ergab sich nur bezüglich der Häufigkeit milder, nicht aber schwerer Hypoglykämien (100).

Jürgens und Grüßler weisen darauf hin, dass es auch nach deutlich verbesserter Stoffwechsellage bei nicht rechtzeitiger Reduktion der Insulindosis auf Grund einer Verminderung der zuvor bestehenden Hyperglykämie-assoziierten Insulinresistenz zu einem erhöhten Risiko für Hypoglykämien kommen könnte (74).

Auch ein Perfektionismus des Patienten bzgl. seiner Diabeteseinstellung kann zum Risikofaktor werden (69, 96).

1.1.4.6 hohe ACE-Aktivität

Auch wenn allgemein eine gestörte hormonelle Gegenregulation sowie eine gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung als die härtesten Prädiktoren für das Risiko schwerer Hypoglykämien bezeichnet werden, so gibt es doch Diabetiker, für die beides zutrifft, die aber dennoch keine schweren Hypoglykämien erleiden. *Pedersen-Bjergaard et al.* fanden in diesem Zusammenhang eine signifikante positive Korrelation zwischen der ACE-Aktivität im Serum und der Rate schwerer Hypoglykämien. Diese Korrelation war am deutlichsten erkennbar bei Patienten ohne residuale endogene Insulinreserve und mit gestörter Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung. Die Häufigkeit leichter Hypoglykämien war unabhängig von der ACE-Aktivität (102).

1.2 Physiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung

1.2.1 Physiologie der Gegenregulation

Hypoglykämien sind - außer bei Diabetikern - ein ausgesprochen ungewöhnliches klinisches Ereignis (32). Dies und die Tatsache, dass das Gehirn von einer kontinuierlichen, ausreichenden Glucosezufuhr abhängig ist, sprechen dafür, dass normalerweise sehr effektive Mechanismen zur Vermeidung und Korrektur von Hypoglykämien vorhanden sind (31).

Unter normalen Umständen wird der cerebrale Glucosemetabolismus durch die Glucosephosphorylierung in den neuronalen Zellen limitiert. Da der Glucosetransport ins Gehirn - vor allem vermittelt über GLUT-1-Rezeptoren an der Blut-Hirn-Schranke - in linearer Korrelation zum Blutzuckerspiegel steht und bei normalen Plasmaglucosewerten etwa halbmaximal ist, kann dieser allerdings unter hypoglykämischen Bedingungen zum limitierenden Faktor der cerebralen Glucoseutilisation werden (78).

Dem Insulin als dominierendem Faktor in der Blutzuckersenkung steht ein ganzes System hierarchisch geordneter Faktoren zur Vermeidung und Korrektur von Hypoglykämien gegenüber (30). Bei einem Nicht-Diabetiker kommt es in Phasen geringer Glucoseaufnahme (Fasten) oder gesteigerten Verbrauchs (z. B. bei körperlicher Aktivität) primär zu einer Reduktion der pankreatischen Insulinsekretion (ab einer Plasmaglucosekonzentration von 80 – 85 mg/dl bzw. 4,4 – 4,7 mmol/l), so dass sich keine hypoglykämische Stoffwechsellage entwickelt (36, 55). Das Verschwinden des Insulins ist zwar als das wichtigste gegenregulatorische Ereignis zu betrachten, ist aber nicht allein ausschlaggebend (30, 39). Ein Wiederanstieg des Blutzuckers ist auch trotz peripherer Hyperinsulinämie und ohne portale Hypoinsulinämie möglich (30). *DeFeo et al.* konnten nach schneller Insulininjektion bei Nicht-Diabetikern einen Beginn der gegenregulatorischen Änderung der Glucosekinetik schon bei noch mehr als zehnfach erhöhten Insulinspiegeln nachweisen (46).

Unter den hormonellen gegenregulatorischen Faktoren kommt dem Glukagon die größte Bedeutung zu, Adrenalin gewinnt erst bei ungenügender Glukagon-Antwort

auf einen hypoglykämischen Reiz an kritischer Relevanz (36, 39). Bei fehlender Glukagon-Antwort (z. B. induziert durch Infusion von Somatostatin) beträgt der Wiederanstieg des Blutzuckerspiegels nur noch 60%, bei adäquater Adrenalin-Antwort kommt es aber nicht zu einer Hypoglykämie (30).

In einer Studie von *Boyle* und *Cryer* an Patienten mit Hypopituitarismus ließ sich eine Funktion von Cortisol und STH in der Bekämpfung prolongierter Hypoglykämien nachweisen, jedoch keine kritische Rolle im Rahmen der Prävention und der Wiederherstellung eines normalen Blutzuckerspiegels. So vermögen sie einen gleichzeitigen Ausfall der Glukagon- und Adrenalin-Antwort auch nicht zu kompensieren (20). Eine Autoregulation, d. h. ein dem Abfall des Blutzuckerspiegels proportionaler Anstieg der hepatischen Glucoseproduktion, unabhängig von hormonellen und neuronalen Faktoren erfolgt erst bei schweren Hypoglykämien (≤ 31 mg/dl) (31).

Der Schwellenwert für die Auslösung einer sympathoadrenalen Antwort liegt normalerweise bei einem Plasmaglucosespiegel von etwa 60 mg/dl. Ein so niedriger Wert wird in der Regel bei einem Stoffwechselgesunden nicht erreicht. Da die gleichen Mechanismen jedoch bei körperlicher Anstrengung schon bei höheren Blutzuckerspiegeln aktiviert werden, sind sie doch ein wichtiger Teil der normalen Physiologie (105).

Während der initialen Phase einer Hypoglykämie dient die hepatische Glykogenolyse als Quelle für die endogene Glucose-Produktion, später (nach zwei bis vier Stunden) kommt die hepatische Gluconeogenese hinzu, nach sechs bis acht Stunden ist diese für mehr als 75 % der Glucoseproduktion verantwortlich. Die Steigerung der Gluconeogenese erfolgt nicht nur durch die direkte Wirkung von gegenregulatorischen Hormonen auf die Leber, sondern auch durch deren periphere Wirkungen in Form einer Mobilisierung von Substraten der Gluconeogenese, die wiederum selbst blutzuckererhöhende Effekte haben können. So stehen zum Beispiel durch hormonell vermittelte gesteigerte Lipolyse mehr freie Fettsäuren zur Verfügung, die zusätzlich die Glucoseoxidation supprimieren (31, 33).

Ein Anstieg der hepatischen Glucoseproduktion erfolgt allerdings auch nach Elimination aller gegenregulatorischen Hormone (im Tierversuch simuliert durch Entfernung der Nebenniere und Somatostatininfusion). Unter cerebraler Hypoglykämie kam es hierbei zu einer verstärkten Lipolyse und Ketogenese

wahrscheinlich über direkte neuronale Stimulation (Sympathikus). Unter peripherer Hypo- und cerebraler Euglykämie erfolgte ein Anstieg der hepatischen Glucoseproduktion, was sich durch eine direkte hepatische Autoregulation oder einen Signalfluss von der Leber zum Gehirn und von dort wieder zur Leber erklären ließe (27). Auch *Arkey* beschreibt ein intaktes sympathisches Nervensystem mit neuroglykopenischer Rückkopplung über den Hypothalamus als essentiell für einen hypoglykämiebedingten Wiederanstieg der Blutzuckerkonzentration (6).

Wirkungen von Insulin und den gegenregulatorischen Hormonen:

Insulin: Reduktion der hepatischen Glucoseproduktion, in höheren Konzentrationen auch Steigerung des peripheren Glucoseverbrauchs

Glukagon: vorübergehend Steigerung der hepatischen Glykogenolyse und länger anhaltend Steigerung der hepatischen Gluconeogenese \Rightarrow Anstieg des Blutzuckerspiegels innerhalb von Minuten

Adrenalin: Steigerung der hepatischen Glykogenolyse und Gluconeogenese (β -rezeptorenvermittelt), Limitierung der Insulinsekretion (α_2 -Rezeptoren) und dauerhaft Limitierung der peripheren Glucoseutilisation an insulinsensitiven Geweben (β_2 -Rezeptoren) \Rightarrow anhaltender Anstieg des Blutzuckerspiegels

Noradrenalin: Anteil von 35 % des gesamten Anstiegs der Catecholaminkonzentration im Fettgewebe und von 50 % des Catecholaminanstiegs in der Muskulatur, infolge der lokalen Clearance (Wiederaufnahme in sympathische Nervenendigungen) u. U. Unterschätzung der Bedeutung bei alleiniger Betrachtung des Blutspiegels (38)

Cortisol, STH: verzögert (innerhalb von Stunden) Hemmung der Glucoseutilisation und Steigerung der Gluconeogenese

Durch die Catecholaminausschüttung kommt es außerdem infolge eines verstärkten Schwitzens und einer erhöhten Muskeldurchblutung zu einem Abfall der Kern- und damit auch der Hirntemperatur. In Studien an Tieren konnte nachgewiesen werden, dass unter hypoglykämischen Bedingungen ausgeprägtere cerebrale Schäden entstehen, wenn dieser physiologische Temperaturabfall verhindert wird (38).

Die Stärke der Gegenregulation ist primär eine Funktion des tiefsten Plasmaglucoosespiegels, der erreicht wird, erfährt aber bei etwa 38 mg/dl eine Sättigung (41).

1.2.2 Physiologie der Hypoglykämie-Wahrnehmung

Fraglich ist, inwieweit man in diesem Zusammenhang überhaupt von „Physiologie“ sprechen kann, da hypoglykämische Episoden an sich auf Grund des beschriebenen sehr sicheren Systems der Gegenregulation kein physiologisches Ereignis darstellen. Allerdings können auch bei Gesunden drei bis vier Stunden nach Glucoseaufnahme oder nach ein- bis dreitägigem Fasten Blutzuckerspiegel < 50 mg/dl gemessen werden. *Cryer et al.* werten das Auftreten typischer klinischer Symptome in Verbindung mit einem erniedrigten Blutzuckerspiegel als pathologische Hypoglykämie (32). In einer anderen Studie wird das Auftreten von neuroglykopenischen Symptomen als Zeichen einer inadäquaten Gegenregulation aufgefasst (108). Übereinstimmend werden auf jeden Fall die „normalen“ glykämischen Schwellen (ermittelt durch Induktion von Hypoglykämien bei stoffwechselgesunden Probanden) für die Symptomwahrnehmung höher (d. h. bei einer niedrigeren Blutzuckerkonzentration) angegeben als die für den Beginn der hormonellen Gegenregulation.

Nachdem man früher neuroglykopenische und adrenerge Symptome unterschied (32), ist man heute dazu übergegangen, letztere als autonome Symptome zu bezeichnen, da sich herausstellte, dass ein Teil cholinerg vermittelt ist (31).

Towler et al. (124) differenzierten die verschiedenen Symptome anhand der Durchführung von hypoglykämischen Clamps mit adrenerger und panautonomer medikamentöser Rezeptorblockade bei gesunden Probanden. Folgende Symptome wurden durch keine der beiden Maßnahmen beeinflusst und somit als **neuroglykopenisch** (d. h. durch einen intracerebralen Glucosemangel verursacht) angesehen: Konzentrationsschwäche, Verwirrtheit, Schwäche / Abgeschlagenheit, Schläfrigkeit, Wärmegefühl. Die Symptome Schwindel, Verschwommensehen und verwaschene Sprache wurden ebenfalls weder durch adrenerge noch durch panautonome Blockade beeinflusst und wurden auch vermehrt während

Hypoglykämie im Vergleich zu Euglykämie genannt, dies erreichte aber keine statistische Signifikanz.

Adrenerg vermittelt werden nach dieser häufig zitierten und weiteren Arbeiten zugrundegelegten Studie Ängstlichkeit, Zittern und Palpitationen / Herzklopfen, **cholinerg** Schwitzen, Hunger und Parästhesien / Kribbeln.

Noch unklar ist, inwieweit die adrenergen Symptome durch Adrenalin aus dem Nebennierenmark oder durch Noradrenalin aus sympathischen Nervenfasern hervorgerufen werden. Es gibt Hinweise darauf, dass Adrenalin wahrscheinlich vor allem für die hämodynamischen Antworten verantwortlich ist, da alle Symptome außer Palpitationen auch bei Patienten mit denerviertem Nebennierenmark auftreten.

Da Patienten mit einem im Bereich der Halswirbelsäule durchtrennten Rückenmark keine Hypoglykämie-Wahrnehmung mehr haben, wird vermutet, dass die normale Wahrnehmung hauptsächlich auf autonomen Symptomen beruht. Gleichzeitig impliziert dies, dass eine Stimulation durch das ZNS für die Entwicklung solcher Symptome nötig ist. So wird auch bei gesunden Individuen durch panautonome Blockade das Erkennen einer sich entwickelnden Hypoglykämie verhindert, bzw. es lässt sich eine starke (70%ige) Reduktion des Symptomen-Scores verzeichnen, wobei die dann noch erhaltenen neuroglykopenischen Symptome von den Betroffenen nicht unbedingt als Indikatoren einer Hypoglykämie gewertet werden (30,124).

1.3 Pathophysiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung

1.3.1 Pathophysiologie der Gegenregulation

Die Häufigkeit von Hypoglykämien bei Diabetikern und insbesondere die zwei- bis dreifach erhöhte Inzidenz unter ICT (s.o.) sowie das zuvor beschriebene, normalerweise sehr sichere System zur Vermeidung von Hypoglykämien werfen die Frage nach einer gestörten Gegenregulation und deren Ursachen auf.

Kurz nach der Manifestation eines Typ-1-Diabetes finden sich noch mit Nichtdiabetikern vergleichbare Anstiege der Glukagonkonzentration im Blut auf einen hypoglykämischen Reiz hin, in linearer Korrelation mit der Diabetesdauer zeigt sich aber eine zunehmende Abschwächung dieser Reaktion (46). Somit ist die defiziente Glukagon-Antwort ein erworbener Defekt. Er tritt relativ früh im Leben eines Diabetikers auf (spätestens nach fünf Jahren), wohingegen sich eine gestörte Adrenalin-Antwort meist erst spät nachweisen lässt (108). Es wurden aber auch schon innerhalb eines Jahres inadäquate Adrenalin-Reaktionen beschrieben (32).

Patienten, bei denen die Glukagon- und die Adrenalin-Antwort ausgefallen ist, erweisen sich in der Regel als wehrlos gegenüber iatrogenen Hypoglykämien selbst angesichts sonst normaler hormoneller Reaktionen und sehen sich damit einem etwa 25fach erhöhten Risiko ausgesetzt, schwere Hypoglykämien zu erleiden (39).

Über die Ursachen dieser Gegenregulationsstörung gibt es viele Hypothesen, insbesondere steht ein Zusammenhang mit der klassischen autonomen diabetischen Neuropathie (diabetic autonomic neuropathy - DAN) und rezidivierenden Hypoglykämien bzw. strenger glykämischer Kontrolle allgemein in Diskussion sowie eine Assoziation mit einer absoluten C-Peptid-Negativität.

1.3.1.1 defekte Gegenregulation und autonome Neuropathie

Cryer und *Gerich* nennen drei Gründe für die Annahme, eine defekte Adrenalin-Antwort als Manifestation einer DAN zu betrachten: Erstens stellt die Nebenniere als Quelle effektiver Plasmaadrenalin Spiegel einen Zusammenschluss postganglionärer sympathischer Neurone ohne Axone dar, zweitens ist diese Störung mit einer inadäquaten Ausschüttung von pankreatischem Polypeptid als Indikator einer parasymphatischen Neuropathie assoziiert, und drittens sind defekte Adrenalin-Antworten zuerst bei Patienten mit einer DAN beschrieben worden. Solche defizienten Antworten auf einen hypoglykämischen Reiz hin sind wahrscheinlich als Indikatoren einer frühen DAN zu betrachten. Gegen einen solchen Zusammenhang spricht allerdings die Spezifität für den hypoglykämischen Stimulus (33).

Eine solche Selektivität des Defekts versucht *Cryer* durch sein Modell des „hypoglycemia-associated autonomic failure“ (s. auch Punkt 1.1.4.3) zu erklären, das bei wahrscheinlich multifaktorieller Genese aber hauptsächlich durch

vorausgegangene Hypoglykämien verursacht wird und vor allem eine adrenomedulläre Unterfunktion widerspiegelt. Diese Unterfunktion beschreibt er wiederum als Indikator für ein hohes Risiko bezüglich der Entwicklung einer DAN (39).

In einer Studie von *Fanelli et al.* gibt es deutliche Hinweise darauf, dass eine DAN zu reduzierten Adrenalin-Antworten beiträgt, da eine Wiederherstellung einer normalen Hypoglykämie-Wahrnehmung nach längerer Zeit einer intensivierten Insulintherapie bei Patienten mit DAN bezüglich der autonomen Symptome im Gegensatz zu den neuroglykopenischen und zu Patienten ohne DAN nur unvollständig oder kaum nachweisbar blieb. Auch verbesserte sich die Adrenalin-Antwort bei Patienten mit einer DAN deutlich weniger (54). Verschiedene Untersuchungen - auch am Menschen - lassen inzwischen vermuten, dass der Defekt der Adrenalin-Antwort nicht spezifisch für den hypoglykämischen Reiz ist (54, 106). *Bottini et al.* konnten an Diabetikern mit einer DAN eine defiziente Adrenalin-ausschüttung auch in Reaktion auf körperliche Anstrengung nachweisen (19).

Taborsky et al. führten eine tierexperimentelle Studie durch, in der sie alle autonomen Inputs zum Pankreas (sympathische und parasympathische Nervenverbindungen und Adrenalin aus der Nebenniere) ausschalteten. Aus den Ergebnissen schlossen sie, dass auch die Glukagon-Antwort auf einen hypoglykämischen Reiz hin hauptsächlich durch das autonome Nervensystem vermittelt wird. Zur gleichen Schlussfolgerung kamen *Havel* und *Ahren* nach einer Untersuchung an gesunden Frauen unter Ausschaltung der Neurotransmission an sympathischen und parasympathischen Ganglien und im Nebennierenmark. Da eine defiziente Glukagon-Antwort schon relativ früh im Leben eines Diabetikers auftritt, ist anzunehmen, dass es schon lange vor der klinischen Manifestation einer DAN zu einer Beeinträchtigung der autonomen Reaktion kommt. Diese subklinische - funktionelle - Form der DAN und damit auch die gestörten Adrenalin- und Glukagon-Antworten sind im Gegensatz zu den anatomischen Veränderungen einer manifesten konventionellen DAN zumindest noch teilweise reversibel durch eine nahe-normoglykämische Stoffwechseleinstellung (63, 114).

1.3.1.2 defekte Gegenregulation und fehlende residuale endogene Insulinsekretion

Eine sich zusätzlich zu dieser als neuropathiebedingt eingestuften Hemmung entwickelnde negative Beeinflussung der gegenregulatorischen Glukagonausschüttung könnte aus einer proportional zur Abnahme des endogenen Restinsulins zunehmenden Sensitivität der α -Zellen gegenüber exogenem Insulin resultieren (114). *Fukuda et al.* beschrieben eine starke Assoziation zwischen defizienter Glukagon-Antwort und absolutem C-Peptid-Mangel (57). Eine genaue kausale Aufklärung dieses Zusammenhanges gelang jedoch noch nicht.

Eine erhöhte Sensitivität gegenüber gegenregulatorischen Hormonen bei absolutem Insulinmangel wurde von verschiedenen Arbeitsgruppen beschrieben (30, 34). Dies wird dadurch erklärt, dass es infolge der Unfähigkeit zu einer Erhöhung der Insulinsekretion beim Wiederanstieg des Blutzuckerspiegels im Gefolge einer Hypoglykämie zu verstärkten glykämischen Reaktionen auf die Ausschüttung von gegenregulatorischen Hormonen hin kommt. Auch könnte sich in diesem Zusammenhang eine mangelnde Glukagon-Antwort auf einen fehlenden intransulären Insulinabfall während einer Hypoglykämie zurückführen lassen (40).

Bolli et al. dagegen fanden bei ihren Patienten zwar eine umgekehrt proportionale Beziehung zwischen Stärke der Glukagon-Antwort und Diabetesdauer, allerdings keine Korrelation mit der stimulierten C-Peptid-Konzentration (12).

Weiterhin wird die Möglichkeit eines direkten protektiven Effektes des C-Peptids bezüglich der Entwicklung eines „hypoglycemia-associated autonomic failure“ diskutiert. Neben der vielfach beschriebenen negativen Korrelation zwischen stimulierbarer C-Peptid-Konzentration und dem Auftreten bzw. der Ausprägung von diabetischen Folgeerkrankungen (118, 127, 128) konnten auch Erfolge mit kurz- oder langfristiger Substitution von C-Peptid bei C-Peptid-negativen Patienten im Hinblick auf eine Verbesserung einer bestehenden Nephropathie, Retinopathie und gestörten Mikrozirkulation allgemein sowie insbesondere einer DAN erzielt werden (70).

1.3.1.3 defekte Gegenregulation und metabolische Kontrolle

Für eine Assoziation mit vorausgegangenen Hypoglykämien sprechen zum Beispiel Untersuchungen an Diabetikern und Nichtdiabetikern, bei denen sich durch eine einzige oder mehrere Hypoglykämien eine Verringerung der Stärke der Antworten aller gegenregulatorischen Hormone (außer STH) induzieren ließ (40, 83, 130). Ebenso ließ sich in einigen - wenn auch nicht allen - Studien eine Verbesserung der Gegenregulation durch striktes Vermeiden von Hypoglykämien erzielen (29, 53, 82).

Die glykämischen Schwellen für die einzelnen Hormone und die Symptome stehen in direktem Zusammenhang mit der Qualität der metabolischen Kontrolle. So sind die Schwellenwerte von Patienten mit hohen HbA1c-Werten niedriger (wobei eine niedrigere Schwelle bedeutet, dass die entsprechende Reaktion schon früher, d. h. bei höheren Blutzuckerkonzentrationen erfolgt) als die von Nicht-Diabetikern, die von Patienten unter ICT hingegen höher (34, 39, 83). Die veränderten glykämischen Schwellen als Funktion des Grades der metabolischen Kontrolle sind demnach reversibel, die gestörte Gegenregulation im Sinne von reduzierten hormonellen Reaktionen dagegen wahrscheinlich ein dauerhaftes Syndrom (25).

In Analogie hierzu wird als weiterer ursächlicher Faktor in der Genese dieser Gegenregulationsstörung ein adaptiver Prozess des Gehirns diskutiert. *Kumagai et al.* konnten an Ratten zeigen, dass es unter chronischer Hypoglykämie zu einem Anstieg des GLUT-1-Transporterproteins an der Blut-Hirn-Schranke und ebenso auch zu einer verstärkten Expression von GLUT-1-mRNA kommt (78). Bei Diabetikern mit nahe-normoglykämischer Stoffwechsellage erfolgte in einer Studie von *Boyle et al.* im Gegensatz zu Stoffwechselgesunden kein Abfall der cerebralen Glucoseaufnahme unter mäßiger Hypoglykämie und auch keine nachweisbare Gegenregulation (21). Dies deckt sich mit Ergebnissen aus Versuchen an Hunden, bei denen unter peripherer Hypoglykämie aber cerebraler Euglykämie eine deutlich reduzierte Gegenregulation zu verzeichnen war. Ebenso impliziert die Tatsache, dass in dieser Studie nach Denervation der Nebenniere trotz hoher Insulinspiegel keine Catecholamin-Antwort mehr nachweisbar war - Gleiches lässt sich bei sympathektomierten Patienten zeigen - , dass das ZNS in die gegenregulatorischen Prozesse involviert ist (41). Veränderungen der gegenregulatorischen Antworten beim Diabetiker spiegeln sich wider in ähnlichen direkten Veränderungen des Neuroglykopeniebeginns (44).

Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass sich im Gehirn infolge ausgeprägter Hypoglykämien weitreichende Veränderungen im Stoffwechsel und Neurotransmitterhaushalt entwickeln. So kann es zum Beispiel durch ein Versagen der energieabhängigen Wiederaufnahme von Glutamat während einer Hypoglykämie zu einer Überstimulation mit nachfolgendem Untergang von Neuronen kommen. Wahrscheinlich können im Gefolge von (chronischen) Hypoglykämien vielfältige Veränderungen in der cerebralen Signalübermittlung auftreten (94).

Einen weiteren Aspekt liefern Studien von *Davis et al.* an Patienten mit primärer Nebenniereninsuffizienz und an Nichtdiabetikern nach Cortisolinfusion. Aus diesen geht hervor, dass vorausgehende (hypoglykämiebedingte) Anstiege des Plasma-Cortisols eine Hauptursache des „hypoglycemia-associated autonomic failure“ darstellen könnten, wobei der Effekt des Cortisols auf die Glukagon-Antwort wahrscheinlich über eine Reduktion des autonomen Inputs zu den α -Zellen vermittelt wird (43, 45).

1.3.2 gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung - „hypoglycemia-unawareness“

Eine gestörte Wahrnehmung einer sich entwickelnden Hypoglykämie im Sinne eines Fehlens von autonomen Symptomen, durch deren Erkennen und entsprechendes Handeln schwerere hypoglykämische ZNS-Manifestationen vermieden werden könnten, wurde schon wenige Jahre nach Einführung des Insulins beschrieben. Lawrence berichtete 1941 vom Auftreten dieses Syndroms bei seinen Patienten nach fünf- bis zehnjähriger Behandlung mit Insulin. Die Entwicklung einer klinischen „unawareness“, definiert als Unfähigkeit zur (rechtzeitigen) Wahrnehmung von hypoglykämieanzeigenden Warnsymptomen mit konsekutiver Entwicklung von schweren Hypoglykämien, erfolgt wahrscheinlich schrittweise (37).

Die tatsächliche Prävalenz einer gestörten Hypoglykämie-Wahrnehmung ist unbekannt (37). *Hepburn et al.* ermittelten retrospektiv bei 7 % ihrer Patienten eine komplette und bei 16 % eine partielle „unawareness“. *Pramming et al.* konnten eine eindeutige Beziehung zwischen Diabetesdauer und der Häufigkeit des Syndroms „unawareness“ aufzeigen. So erlitten etwa 50 % ihrer Patienten mit langjährigem Diabetes mellitus (≥ 30 Jahre) schwere Hypoglykämien ohne vorausgehende Warnsignale. In der Studie von *Hepburn et al.* fand sich bei Patienten mit kompletter

„unawareness“ eine zehnfach erhöhte Inzidenz von schweren Hypoglykämien im Vergleich zu Patienten ohne Wahrnehmungsstörung. Aus einer Studie von *Gold et al.* ergab sich ein sechsfacher Anstieg der Häufigkeit (59), so dass eine gestörte Symptomwahrnehmung als Hauptrisikofaktor für die Entwicklung schwerer Hypoglykämien angesehen werden kann.

Im DCCT konnten sich bei 36 % der in wachem Zustand aufgetretenen schweren Hypoglykämien die Betroffenen an keine vorausgehenden Warnsignale erinnern, bei 51 % waren zwar hypoglykämieanzeigende Symptome vorhanden, wurden aber nicht als solche erkannt (118).

Als Hauptfaktor in der Pathogenese der Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung wird - wie auch im Zusammenhang mit der gestörten hormonellen Gegenregulation - eine relative Erhöhung der cerebralen Glucoseextraktion als adaptive Reaktion auf rezidivierende Hypoglykämien diskutiert (30, 72, 83). Bei einem Abfall der peripheren Plasmaglukosekonzentration kommt es dadurch lange Zeit nicht zu Symptomen und auch zu keiner Beeinträchtigung der kognitiven Funktion. Fällt der Blutzuckerspiegel weiter ab, kann sich dann aber unter Umständen plötzlich eine so massive Verschlechterung der kognitiven Funktion entwickeln, dass ohne vorherige Warnsignale Stupor oder sogar Koma eintreten (53).

Zur Theorie der adaptiv erhöhten cerebralen Glucoseextraktion passt auch die vielfach beschriebene Reversibilität der Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung durch striktes Vermeiden von Hypoglykämien und die Induzierbarkeit dieses Syndroms bei stoffwechselgesunden Probanden durch vorausgehende iatrogene Hypoglykämien (29, 53, 82, 83, 130). Ebenso im Konsens dazu steht die Feststellung, dass bei Patienten mit schlechter metabolischer Kontrolle Symptome bei (50 %) höheren Blutzuckerspiegeln auftreten als bei Nicht-Diabetikern, bei Patienten mit rezidivierenden Hypoglykämien dagegen bei niedrigeren Werten (31, 32, 38).

Auch die Tatsache, dass bei Nicht-Diabetikern nach Adrenalektomie oder Denervierung des Nebennierenmarks oder β -adrenerger Blockade die Hypoglykämie-Wahrnehmung nicht zwangsläufig gestört ist, legt nahe, dass ein Unvermögen des Gehirns, frühe Neuroglykopenien zu erkennen, einen ursächlichen Faktor der „unawareness“ darstellen könnte (31).

Häufig wird das Syndrom „unawareness“ auch als Resultat einer sympathochromaffinen Unterfunktion im Rahmen eines hypoglykämieinduzierten autonomen Versagens beschrieben, (25, 31, 33, 34, 37). Eine verringerte Aktivierung des sympathischen Nervensystems würde dagegen auch die reduzierten cholinergen Antworten erklären und wäre auch mit der Beobachtung vereinbar, dass bei Patienten mit durchtrenntem Halsmark (d.h. unterbrochenem Informationsfluss aus dem Gehirn) eine „unawareness“ zumindest bezüglich der autonomen Symptome besteht (37).

Andererseits bleibt zu bedenken, dass selbst bei vorhandenen autonomen Symptomen - ob nun mit oder ohne Stimulation durch das ZNS - eine adäquate kognitive Funktion nötig ist, um diese Symptome überhaupt als Indikatoren einer Hypoglykämie interpretieren und entsprechend handeln zu können (37). *Howorka et al.* konnten bei Typ-1-Diabetikern mit „unawareness“ während einer Hypoglykämie deutliche autonome Symptome nachweisen, die von diesen Patienten aber nicht wahrgenommen wurden. Eine messbare kognitive Dysfunktion stand in umgekehrter Relation zur Stärke der Symptomwahrnehmung (68).

Von *Fanelli et al.* wird für Patienten mit langer Diabetesdauer die Bedeutung betont, auf neuroglykopenische Symptome zu achten, da für diese eine niedrigere glykämische Schwelle (d. h. Auftreten bei höheren Blutzuckerkonzentrationen) ermittelt wurde als für eine Beeinträchtigung der kognitiven Funktion (54). In anderen Untersuchungen kam man allerdings bezüglich dieser Schwellen auch zu entgegengesetzten Ergebnissen (105).

In der Studie von *Fanelli et al.*, aus der die oben genannte Schlussfolgerung hervorgeht, normalisierte sich die Wahrnehmung von neuroglykopenischen Symptomen nach striktem Vermeiden von Hypoglykämien bei Patienten mit und ohne diabetische autonome Neuropathie. Bezüglich der autonomen Symptome trat nur eine Verbesserung ein und zwar bei Patienten mit DAN deutlich geringer ausgeprägt als bei solchen ohne DAN und bei diesen wiederum weniger ausgeprägt als bei Nicht-Diabetikern. Die Beeinträchtigung der kognitiven Funktion während einer Hypoglykämie war in beiden Diabetiker-Gruppen nach drei Monaten vergleichbar mit der von stoffwechselgesunden Probanden (54).

Die gestörte Wahrnehmung von neuroglykopenischen Symptomen lässt sich somit am wahrscheinlichsten als eine zunächst fehlende cerebrale Glykopenie bei

peripherer Hypoglykämie infolge einer relativ erhöhten cerebralen Glucoseextraktion als adaptive Reaktion auf rezidivierende Hypoglykämien interpretieren. Das Fehlen von autonomen Symptomen kann zum einen - zumindest bezüglich des adrenergen Teils - auf eine (hypoglykämieinduzierte) adrenomedulläre Unterfunktion per se und zum anderen - auch bezüglich des cholinergen Anteils - auf eine fehlende Aktivierung des sympathischen Nervensystems infolge einer relativ erhöhten intracerebralen Glucosekonzentration oder auf die Folgen einer DAN zurückgeführt werden.

1.4 Ziele und Fragestellung

Mit der Entdeckung des Insulins und der Möglichkeit, dieses den betroffenen Diabetikern zu substituieren, wurde der Diabetes mellitus Typ 1 von einer unweigerlich früh zum Tode führenden zu einer behandelbaren Erkrankung. Eine direkt kausale Behandlung bezogen auf den β -Zellverlust ist aber bis heute nicht möglich. Neben den Bemühungen einer immer genaueren Imitation der physiologischen endogenen Insulinsekretion im Rahmen der exogenen Substitution wurde immer wieder nach Möglichkeiten gesucht (z. B. anfängliche intravenöse Insulinsubstitution, Immunsuppressiva), um eine möglichst große Restaktivität der β -Zellen möglichst lange zu erhalten, um so eine optimalere Stoffwechseleinstellung zu erzielen. Diese wurde und wird angestrebt, um langfristige hyperglykämiebedingte Komplikationen zu vermeiden und damit auch die langfristige Prognose der Erkrankung günstig zu beeinflussen. Mit dem Anstreben einer nahe-normoglykämischen Stoffwechsellaage stieg aber auch die Häufigkeit von Hypoglykämien. Es fiel auf, dass es im Rahmen einer cerebralen Adaptation an niedrigere Blutzuckerkonzentrationen zu einer gestörten / verspäteten Wahrnehmung von Hypoglykämien kommen kann und rezidivierende schwere Hypoglykämien die hormonelle Gegenregulation ungünstig beeinflussen können. Andererseits stellte sich im Rahmen des DCCT heraus, dass eine noch vorhandene residuale endogene Insulinreserve das Risiko der Entwicklung schwerer Hypoglykämien reduziert. Demzufolge könnte sich über den Erhalt einer residualen β -Zellaktivität eine verbesserte Stoffwechsellaage ohne ein erhöhtes Risiko für schwere Hypoglykämien erzielen lassen.

Im Rahmen dieser Untersuchung sollte versucht werden, mögliche Zusammenhänge zwischen dem Ausmaß der noch vorhandenen endogenen Insulinsekretion, der Stärke der hormonellen Gegenregulation zur Vermeidung von (schweren) Hypoglykämien, der subjektiven Wahrnehmung von hypoglykämieanzeigenden Symptomen und dem anamnestischen Auftreten von (schweren) Hypoglykämien aufzuzeigen. Im einzelnen sollten geklärt werden:

- Korrelation zwischen C-Peptid-Konzentration nach Stimulation (als Maß der residualen β -Zellaktivität) und Stärke und zeitlichem Beginn der hormonellen Gegenregulation (Glukagon, Adrenalin, Noradrenalin, Cortisol, STH)
- Korrelation zwischen C-Peptid-Konzentration nach Stimulation und anamnestisch stattgehabten (schweren) Hypoglykämien
- Korrelation zwischen anamnestisch stattgehabten (schweren) Hypoglykämien und der während der Untersuchung gemessenen Stärke der hormonellen Gegenregulation
- Korrelation zwischen anamnestisch gestörter Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit (rezidivierende Hypoglykämien in der Vorgeschichte) und der während der Untersuchung anhand des Symptomen-Scores gemessenen Wahrnehmungsfähigkeit.

2. Kollektiv und Methoden

Die Untersuchungen wurden von der lokalen Ethikkommission der Justus-Liebig-Universität Gießen genehmigt (Bearbeitungsnummer 1/97).

2.1 Kollektiv

2.1.1 Typ-1-Diabetiker

Insgesamt wurden 43 Typ-1-Diabetiker im Alter zwischen 16 und 49 Jahren mit einer Diabetesdauer zwischen einer Woche und 31 Jahren untersucht, davon 23 mit und 20 ohne residuale endogene Insulinsekretion. Als „C-Peptid-positiv“ wurden, wie von *Hendriksen et. al.* beschrieben (65), solche Patienten bezeichnet, bei denen im Stimulationstest mit Glukagon ein prozentualer Anstieg des C-Peptids größer dem Dreifachen des prozentualen Variationskoeffizienten der Bestimmungsmethode zu verzeichnen war.

Insgesamt handelte es sich bei dem Kollektiv um Patienten der Diabetesambulanz der Medizinischen Poliklinik, bei denen zum Zeitpunkt der Untersuchung keine anderen akuten Erkrankungen und keine schweren diabetischen Sekundärkomplikationen vorlagen. Insbesondere wurde das Vorliegen einer diabetischen autonomen Neuropathie (DAN) ausgeschlossen. Bei drei Patienten bestand eine nicht-proliferative Retinopathie, bei fünf eine Nephropathie I° - II°, bei dreien eine leichtgradige Hypertonie, bei zweien eine Hyperliproteinämie und leichte periphere Neuropathie. Zwei Patientinnen befanden sich in psychiatrischer Betreuung, nahmen aber keine Psychopharmaka ein. Bei einer Patientin war eine Autoimmunthyreoiditis bekannt.

Bezüglich der zum Teil bestehenden Dauermedikation wurde ausgeschlossen, dass es sich um Präparate handelte, die Einfluss auf das autonome Nervensystem haben. Drei Patienten nahmen regelmäßig einen ACE-Hemmer, ebenfalls zwei einen Cholesterinesteraseinhibitor, einer ein Immunstimulans, vier ein Kontrazeptivum und die Patientin mit der Autoimmunthyreoiditis L-Thyroxin.

Bei einem Teil der Patienten war anamnestisch eine gestörte Hypoglykämiewahrnehmung bekannt. Sieben hatten im Verlauf des vorausgegangenen Jahres mindestens eine schwere Hypoglykämie mit Bewusstlosigkeit bzw. Notwendigkeit der Fremdhilfe erlitten. Diese wurden als „unaware“ bezeichnet. Sechs Patienten berichteten, schon häufiger Blutzuckerkonzentrationen < 50 mg/dl gemessen zu haben (im Folgenden als „subjektiv unaware“ bezeichnet); bei drei weiteren war dies jeweils einmal der Fall gewesen.

In den Tabellen 2.1 und 2.2 auf den beiden folgenden Seiten sind die demographischen Daten der Patienten im einzelnen wiedergegeben.

Tabelle 2.1: Demographische Daten der C-Peptid-positiven Patienten
 unaware (schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte), subjektiv unaware (leichte Hypoglykämien in der Vorgeschichte), stim. C-Peptid = C-Peptid-Konzentration nach Stimulation, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, R = Range (Maximum – Minimum)

Patient/in	Geschlecht (w/m)	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	Diabetes- dauer (Jahre)	HbA1c (%)	stim. C-Peptid (ng/ml)	Insulin- bedarf (U/d)	Insulin- bedarf (U/kgKG/d)	unaware (ja / nein)	subjektiv unaware (ja / nein)
1*1	w	45	168	77	27,3	0,5	6,5	10,1	45	0,58	nein	nein
1*2	m	41	172	92	31	1,5	5,9	6,37	46	0,5	nein	nein
1*3	w	33	160	69	26,9	0,08	8,2	6,08	42	0,61	nein	nein
1*4	m	39	186	98	28,3	0,08	12,9	5,98	42	0,43	nein	nein
1*5	m	39	162	82	31,2	2	6,5	5,2	26	0,32	nein	nein
1*6	m	45	183	96	25,7	3	10,5	4,49	34	0,4	nein	nein
1*7	w	27	170	70	24,2	1	5,6	4,04	18	0,26	nein	nein
1*8	m	20	179	72,5	22,6	0,33	6,2	2,65	6	0,08	nein	nein
1*9	m	18	170	66	22,8	2	9,1	2,15	18	0,27	nein	nein
1*10	m	31	180	53,5	16,5	0,5	7	2,01	26	0,49	nein	nein
1*11	m	37	183	92	26,9	0,02	7	1,98	27	0,29	nein	nein
1*12	m	30	180	67	20,7	0,04	7,2	1,82	20	0,3	nein	nein
1*13	m	32	178	80	25,2	0,75	5,8	1,71	20	0,25	nein	nein
1*14	m	30	179	81,7	25,5	2	8	1,39	34	0,42	nein	nein
1*15	m	36	182	80	24,2	0,4	5,4	1,2	20	0,25	nein	nein
1*16	w	26	160	57,5	22,5	0,5	6,4	0,8	25	0,43	nein	nein
1*17	w	35	158	61,5	24,6	1,5	6,2	0,59	40	0,65	nein	nein
1*18	w	22	171	58	19,8	5	7,4	0,58	28	0,48	nein	nein
1*19	w	28	162	61	32,2	1	7,6	0,43	29	0,48	nein	nein
1*20	m	33	180	87	26,9	2,75	5,4	0,33	77	0,89	nein	nein
1*21	w	37	174	80	26,4	6,25	6,7	0,12	48	0,6	nein	nein
1*22	w	31	173	62	20,7	5,5	4,2	0,12	40	0,65	ja	#
1*23	m	33	154	50	21	8	7,7	0,11	40	0,8	ja	#
MW		32,5	172,3	73,6	24,9	1,94	7,10	2,62	32,7	0,45		
SD		7,1	9,3	13,9	3,85	2,22	1,84	2,63	14,6	0,19		
Median		33	173	72,5	25,2	1	6,7	1,82	29	0,43		
R		27	32	48	15,7	7,98	8,7	9,99	71	0,81		

Tabelle 2.2: Demographische Daten der C-Peptid-negativen Patienten
 unaware (schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte), subjektiv unaware (leichte Hypoglykämien in der Vorgeschichte), MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, R = Range (Maximum – Minimum), stim. C-Peptid = 0,03 ng/ml ♥ C-Peptid-Konzentration nach Stimulation < 0,05 ng/ml (Nachweisgrenze des verwendeten Testverfahrens)

Patient/in	Geschlecht (w/m)	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)	Diabetes- dauer (Jahre)	HbA1c (%)	stim. C-Peptid (ng/ml)	Insulin- bedarf (U/d)	Insulin- bedarf (U/kgKG/d)	unaware (ja / nein)	subjektiv unaware (ja / nein)
2*1	w	19	166	80	29	2	8,4	0,03	50	0,63	nein	nein
2*2	m	16	166	55	20	12	7,9	0,03	60	1,09	nein	nein
2*3	w	36	164	59	21,9	25	8,4	0,03	40	0,68	nein	ja
2*4	m	35	172	75	25,4	34	7,1	0,03	38	0,5	nein	nein
2*5	m	24	160	60	23,4	12	6,4	0,03	75	1,25	nein	nein
2*6	m	49	176	83	27,1	22	9,6	0,03	55	0,66	nein	nein
2*7	m	43	172	83	28,1	18	9	0,03	40	0,48	nein	ja
2*8	w	18	153	56	23,9	11	9	0,03	56	1	nein	nein
2*9	w	36	167	69	24,7	28	5,9	0,03	43	0,62	nein	nein
2*10	m	17	180	68	21	7	11,2	0,03	45	0,66	nein	ja
2*11	m	49	183	85	25,4	18	7,2	0,03	50	0,59	nein	nein
2*12	m	17	180	66	20,3	3,25	8	0,03	20	0,30	nein	nein
2*13	w	23	169	65	22,8	20	6	0,03	45	0,69	ja	#
2*14	m	32	173	85	28,4	31	7,3	0,03	48	0,56	ja	#
2*15	m	45	178	53	16,7	30	*	0,03	70	1,32	ja	#
2*16	m	35	193	88	23,6	15	6,4	0,03	75	0,85	ja	#
2*17	w	23	145	56,5	26,9	11	7,2	0,03	60	1,06	ja	#
2*18	w	24	157	51	20,7	15	6,7	0,03	45	0,88	nein	ja
2*19	w	32	169	75	26,3	18	8,4	0,03	50	0,67	nein	ja
2*20	w	47	168	62,5	22,1	2,25	6,7	0,03	30	0,48	nein	ja
MW		30,2	169,6	69,1	23,98	17,49	7,78	0,03	50,8	0,76		
SD		11,1	11,2	12,4	3,32	9,18	1,38	0,00	13,5	0,27		
Median		32,0	169,0	68,0	23,9	18,0	7,6	0,03	50,0	0,67		
R		33,0	48,0	37,0	12,3	32,0	5,3	0,00	55,0	1,02		

2.1.2 Kontrollpersonen

Als Kontrollgruppe dienten elf gesunde Probanden im Alter zwischen 19 und 48 Jahren. Außer einem oralen Kontrazeptivum bei vier Probandinnen bestand keine Medikation. Des weiteren lag in der Verwandtschaft ersten Grades kein Diabetes mellitus Typ 1 vor.

Die demographischen Daten der Kontrollgruppe sind in Tabelle 1.2 wiedergegeben.

Tabelle 2.3: Demographische Daten der gesunden Kontrollpersonen

Proband/in	Geschlecht (w/m)	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m ²)
1	w	21	172	65	22
2	w	20	170	70	24,2
3	w	23	170	60	20,8
4	w	23	169	63	22,1
5	m	26	175	65	21,2
6	m	23	185	75	21,9
7	m	19	179	73	22,1
8	m	32	182	82	24,8
9	w	24	170	54	19
10	w	37	166	63	22,9
11	w	48	159	48	19
MW		26,91	172,45	65,27	21,82
SD		8,79	7,42	9,59	1,82
Median		23	170	65	22
R		28	26	25	5,2

2.2 Untersuchungsmethode

2.2.1 Hyperinsulinämischer hypoglykämischer Clamp

Bei dieser Untersuchung erfolgt mittels konstanter intravenöser Insulininfusion und variabler Glukoseinfusion eine schrittweise Reduktion der Plasmaglukosekonzentration. Hierbei lassen sich verschiedene Parameter der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung unter relativ standardisierten Bedingungen untersuchen.

Beschreibung des Testprotokolls

Das eigentliche Testprotokoll erstreckte sich über 175 Minuten mit Beginn bei Minute -10 mit Blutzuckerkonzentrationen zwischen 80 und 120 mg/dl. Ab Minute 0 wurde innerhalb von 30 Minuten ein langsamer Blutzuckerabfall auf 60 – 70 mg/dl angestrebt, danach ein Plateau von 45 Minuten in diesem Konzentrationsbereich und schließlich innerhalb von 30 Minuten ein weiterer Abfall auf 40 – 45 mg/dl. Blutzuckerkonzentrationen in diesem Bereich sollten nun wieder über 45 Minuten beibehalten werden. Abbildung 2.1 gibt den Verlauf schematisch wieder.

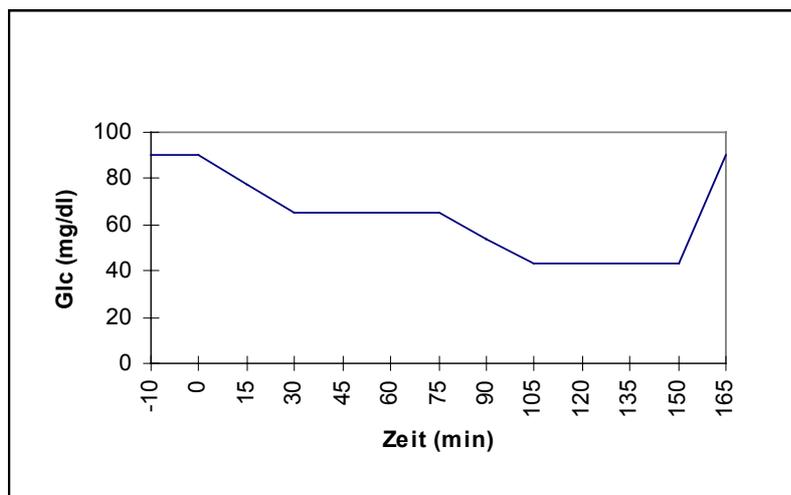


Abb. 2.1: schematische Darstellung der Blutzuckerkonzentration (Glc) im Verlauf der Untersuchung

Bei variabler Glucoseinfusion erfolgte die Insulininfusion mit $3,75 \text{ mU/kgm}^{-2} \text{ BMI/min}$ von Minute 0 bis Minute 75 und mit $7,5 \text{ mU/kgm}^{-2} \text{ BMI/min}$ von Minute 75 bis 150. Dies entspräche bei einer Person von 1,70 m Körpergröße und 70 kg Körpergewicht (und damit einem BMI von $24,2 \text{ kg/m}^2$) einer Insulininfusionsrate von 91 bzw. 182 mU/min oder 1,3 bzw. 2,6 mU/kg/min.

Blutproben zur Bestimmung der Blutzuckerkonzentration wurden alle fünf Minuten entnommen, solche zur Bestimmung der Konzentration der gegenregulatorischen Hormone und des Insulins alle 15 Minuten.

Zu Beginn des Tests und während der beiden Blutzuckerplateaus bei 60 – 70 mg/dl und 40 – 45 mg/dl wurden die von den Probanden wahrgenommenen Symptome mittels eines semiquantitativen Fragebogens erfasst und ein Konzentrationstest durchgeführt. Jedes Symptom sollte in seiner subjektiv wahrgenommenen Stärke anhand eines Scores von 0 (nicht vorhanden) bis 5 (maximal vorhanden) eingestuft

werden. Die Einteilung in adrenerge (Zittern, Herzklopfen, Nervosität, Ängstlichkeit), cholinerge (Schwitzen, Hunger, Kribbeln) und neuroglykopenische Symptome (Konzentrationschwäche, Verschwommensehen, Schwindel, Abgeschlagenheit / Schwäche) erfolgte in Übereinstimmung mit einer Studie von *Towler et al.* (125). Zur anschließenden Auswertung wurden die während der verschiedenen Phasen der Untersuchung vergebenen Punktwerte in den einzelnen Symptomgruppen für jeden Probanden addiert und zusätzlich einen Gesamt-Score durch Addition aller Punktwerte und einen autonomen Score unter Zusammenfassung der adrenergen und cholinergen Punkte gebildet. Weiterhin wurden alle Probanden dazu angehalten, jede subjektive Wahrnehmung im Zusammenhang mit dem Abfall der Blutzuckerkonzentration mitzuteilen, waren aber im einzelnen über die aktuelle Blutzuckerkonzentration nicht informiert. Zur Beurteilung der Konzentrationsfähigkeit wurde den Studienteilnehmern ein standardisierter Bogen mit je sieben Kästchen für jeweils eine Zahl pro Zeile vorgelegt mit der Anweisung, die Zahlen von 1000 bis 900 abwärts möglichst schnell darauf niederzuschreiben.

Vorbereitung und Durchführung des Clamps

Zur Herstellung der Insulininfusionslösung wurden in zwei (ggf. drei) Perfusorspritzen (50 ml) jeweils 50 ml einer 0,9%igen Kochsalzlösung und 15 IE Altinsulin aufgezogen. Den EDTA-Röhrchen für die Blutproben zur Glukagonbestimmung wurden jeweils 3000 Kallikreininhibitoreinheiten Aprotinin (150 µl Trasylo[®] Injektionslösung 100.000 KIE) zur Proteinaseinhibition zugegeben.

Die Probanden befanden sich vor Testbeginn im Nüchternzustand (Fastenperiode > 10 Stunden), und die letzte s. c. Insulininjektion bei den Diabetikern erfolgte am Vortag in Form der üblichen abendlichen Insulindosis. (Ausnahmen: Pat. 1.1 hatte eine Stunde zuvor 8 IE Basalinsulin gespritzt, Pat. 2.8 ihre morgendliche Basalinsulindosis sowie Altinsulin zur Abdeckung der eingenommenen kleinen Mahlzeit, Pat. 2.20 1,5 Stunden zuvor 14 IE Altinsulin bei einer Blutzuckerkonzentration von 352 mg/dl. Pat. 2.9 hatte eine Stunde zuvor zwei BE in Form von Haferflocken gegessen und Pat. 2.17 drei Stunden zuvor zwei Esslöffel Honig bei einer erniedrigten Blutzuckerkonzentration.)

Die meisten Testpersonen wurden am Tag der Untersuchung zwischen 7³⁰ und 8⁰⁰ Uhr in die Medizinische Klinik III und Poliklinik der Universität Gießen aufgenommen. Sechs Personen befanden sich schon mehrere Tage in stationärer Behandlung.

Bei den sich von Anfang an in liegender Position befindlichen Probanden wurde beiderseits eine Unterarmvene mittels Venenverweilkanüle antegrad cannuliert, an einen Arm das Infusionssystem angeschlossen und mit einer Infusion von Kochsalzlösung in langsamer Geschwindigkeit begonnen, um das System offenzuhalten. Am anderen Arm wurde eine kleine Blutprobe zur Bestimmung der Blutzuckerkonzentration entnommen und der Arm für die gesamte Testdauer in einem Heizkissen platziert. Diese und alle weiteren in fünfminütigen Abständen folgenden Blutzuckerbestimmungen erfolgten mittels der Glukose-Dehydrogenase-Technik aus Vollblut mit Hilfe des Blutzuckermessgerätes Hemocue[®] (63). Lag die gemessene Blutzuckerkonzentration oberhalb von 120 mg/dl, wurde die Insulininfusion mit der initialen Infusionsgeschwindigkeit sofort gestartet und ggf. auch einmal oder mehrmals 4 – 8 IE Altinsulin als Bolus i. v. gegeben, wobei die letzte Gabe mindestens 25 Minuten vor Beginn des eigentlichen Testes stattfand. Die Zeitdauer bis zum Beginn des Testes lag in der Gruppe der C-Peptid-positiven Patienten bei durchschnittlich etwa 33 min (bei Ausgangsblutzuckerkonzentrationen zwischen 98 und 292 mg/dl, im Mittel 160 mg/dl), in der Gruppe der C-Peptid-negativen Patienten bei ca. 58 min (bei Ausgangswerten zwischen 87 und 390 mg/dl, MW 242 mg/dl).

Anhand der fünfminütlich gemessenen Blutzuckerkonzentrationen wurde die Infusionsgeschwindigkeit der 20%igen Glucoselösung über ein Infusionsgerät mit Tropfenzähler angepasst, um den jeweils im Protokoll vorgesehenen Blutzuckerkonzentrationen möglichst nahe zu kommen.

Bei Minute 150 wurde die Insulininfusion ausgeschaltet und die Geschwindigkeit der Glucoseinfusion entsprechend der zuvor benötigten Glucosemenge erhöht. Es erfolgte nach 15 Minuten noch eine größere Blutentnahme zur Bestimmung der gegenregulatorischen Hormone und des Insulins und danach in 15minütigen Abständen nur noch Blutentnahmen zur Bestimmung der Blutzuckerkonzentration. Waren Konzentrationen von > 70 mg/dl erreicht, erhielten alle Probanden eine Mahlzeit (3 – 5 BE). Bei den Diabetikern wurde die Glucoseinfusion über

mindestens eine Stunde nach Beendigung der Insulininfusion fortgesetzt. Die ambulanten Patienten wurden erst entlassen, wenn sich die Blutzuckerkonzentration bei Werten > 100 mg/dl stabilisiert hatte. Außerdem erhielten sie die Anweisung, den Blutzucker im Verlauf der nächsten Stunden nochmals selbst zu kontrollieren und sich erst wieder zum Abendessen Insulin zu injizieren.

Die in Abständen von 15 Minuten stattfindenden Blutentnahmen zur Bestimmung der Konzentrationen von Cortisol, STH, Insulin und der Plasmaglukose erfolgten mit Serumröhrchen (10 ml), die für Glukagon und die Catecholamine mit EDTA-Röhrchen (4,5 ml). Die Proben wurden sofort nach der Abnahme auf Eis oder im Kühlschrank bei $+4^{\circ}$ C gekühlt und innerhalb von 30 - 45 Minuten ebenfalls bei $+4^{\circ}$ C zwölf Minuten mit 4000G zentrifugiert. Serum bzw. Plasma wurde anschließend abpipettiert und ggf. bis zur Substanzbestimmung bei -24° C gelagert. Die Blutentnahmen erfolgten ohne vorherige Venenstauung.

2.2.2 Material

1. Venenverweilkanüle, Vasocan[®] Braunüle, 20 G, 2 Stk., Fa. B. Braun AG, Melsungen
2. Mandrin, 20 G, mehrere, Fa. B. Braun AG, Melsungen
3. Pflaster, Kunstseide, Durapore[®], Fa. Mölnlycke AB, Mölnlycke, Schweden
4. Desinfektionsspray Softasept N[®], Fa. B. Braun AG, Melsungen
5. Stauschlauch
6. Dreiwegehahn Discofix-3[®], Fa. B. Braun AG, Melsungen
7. Einmalspritzen 50 ml, Perfusion Plastipak[®], 2 - 3 Stk., Fa. Becton Dickinson, Braunschweig
8. Original Perfusor[®]-Leitung, Fa. B. Braun AG, Melsungen
9. Glukoselösung 20 %, Glukose 20[®] Braun, 500 ml, Fa. B. Braun AG, Melsungen
10. Kochsalzlösung 0,9 %, NaCl 0,9[®] Braun, 250 ml, Fa. B. Braun AG, Melsungen
11. Original Infusomat[®]-Leitung, Fa. B. Braun AG, Melsungen

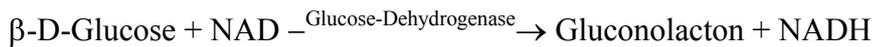
12. Infusionsschlauch Intrafix[®] Air P, Fa. B. Braun AG, Melsungen
13. Verbinder LS-2 Luer Lock[®], Fa. B. Braun AG, Melsungen
14. Kanüle 18 G, Terumo Europe N. V., Leuven, Belgien
15. Kanüle 26 G, Terumo Europe N. V., Leuven, Belgien
16. U-40 Insulinspritze, Terumo Europe N. V., Leuven, Belgien
17. H Insulin[®] Hoechst Injektionslösung, Fa. Hoechst AG, Frankfurt am Main
18. Infusionsgerät INCA[®], Fa. Fresenius AG, Bad Homburg
19. Infusionsgerät Injectomat c-IS[®], Fa. Fresenius AG, Bad Homburg
20. Probenröhrchen Kabevette[®] 10 ml, 13 Stk., Fa. Kabe-Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth (Bestellnr. 5515 N10)
21. Probenröhrchen Kabevette[®] 4,5 ml, EDTA-di Kaliumsalz, 26 Stk., Fa. Kabe-Labortechnik GmbH, Nümbrecht-Elsenroth (Bestellnr. E 501 ND5)
22. Trasylol[®] Injektionslösung, 100.000 KIE / 5 ml, Wirkstoff Aprotinin, Fa. Bayer AG, Leverkusen
23. Einmalspritzen 2 ml, ca. 45 Stk., Fa. B. Braun AG, Melsungen
24. Zellstofftupfer
25. Blutzuckermessgerät Hemocue[®], Hemocue AB, Angelholm, Schweden
26. Mikroküvetten Hemocue[®], Hemocue AB, Angelholm, Schweden
27. Eis
28. Heizkissen
29. Zentrifuge: Minifuge 2, Heraeus Instruments, Fabriknr. 0088282
30. Pipette Eppendorf Reference[®], variabel 100 – 1000 µl (Bestellnr. 4910 000. 069)
+ Standartips 1000 µl (Bestellnr. 0030 015. 002)
31. Küvetten: Röhren, Sarstedt Aktiengesellschaft & Co (Bestellnr. 55.484)

2.2.3 Messmethoden

Ermittlung der Plasmaglukosekonzentration

Bestimmung mittels HEMOCUE®

Mit Hilfe dieses photometrischen Verfahrens konnte während des Tests eine sofortige Messung der Glukosekonzentration direkt aus Vollblut durchgeführt werden. Das Blut wird in die 5 µl fassende Kavität der Küvette gegeben, an deren inneren Wänden sich das Reagenz befindet. Aufgrund der geringen Tiefe der Küvette (0,16 mm) ist die photometrische Bestimmung in unverdünntem Blut möglich. Durch das im Reagenz befindliche Saponin kommt es zu einer Lyse der Erythrocyten, durch die Mutarotase wird die Umwandlung von α-D-Glukose in β-D-Glukose beschleunigt, um letztendlich folgende Reaktionen zu ermöglichen:



Die Konzentration des farbigen MTTH ist proportional zur Glukosekonzentration. Die photometrische Messung erfolgt bei 660 und 840 nm.

Messbereich: 0 – 400 mg/dl

Normbereich: nüchtern 70 – 100 mg/dl

Spezifität: keine Beeinflussung durch Bilirubin, Creatinin oder Harnsäure in pathologischen Konzentrationen

Präzision: Intraassay-Variation: SD < 2,5 mg/dl

Interassay-Variation: SD < 3 mg/dl

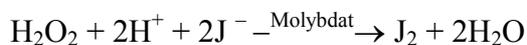
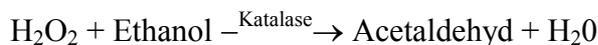
Bestimmung mittels BECKMAN Glucoseanalysator 2 (Fa. Beckman Instruments Inc. Fullerton, USA)

Mit dieser Methode wurde die Glucosekonzentration nach dem Test noch einmal aus den Seren der viertelstündlich abgenommenen Blutproben bestimmt. Es handelt sich um ein polarographisches Verfahren basierend auf der enzymatischen Oxidation der Glucose durch das Enzym Glucose-Oxidase (GOD). Dabei läuft folgende Reaktion ab:



Die Sauerstoffabnahme verhält sich proportional zur umgesetzten Glucose. Aus der Geschwindigkeit der Abnahme wird die Glucosekonzentration berechnet, wobei die maximale Geschwindigkeit ein direktes Maß für die ursprüngliche Konzentration ist, und digital in mg/dl angegeben wird.

Voraussetzung für eine korrekte Messung ist die Entfernung des entstandenen Wasserstoffperoxids, bevor dieses sich unter Bildung von Sauerstoff zersetzen kann. Dazu dienen folgende Hilfsreaktionen:



Die zweite Umsetzung verhindert falsche Messergebnisse, falls die Katalase-Aktivität der Reagenzlösung durch Lagerung verlorengegangen sein sollte.

Von der Firma wird eine absolute Spezifität angegeben, auch komme es zu keiner Beeinflussung durch Antikoagulantien, Glykolysehemmer, ikterische, lipämische oder hämolytische Proben.

Messbereich: 10 - 450 mg/dl

Normbereich: 70 – 100 mg/dl (nüchtern)

Interferenzen: stärkeähnliche Plasmaexpander, Hämolyse bei Hämoglobinkonzentrationen > 1 g/dl,

Sensitivität: 10 mg/dl

Präzision: Intraassay-Variation: SD < 2,5 mg/dl (bzgl. 150 mg/dl Glucose-Standard)

Interassay-Variation: SD < 3 mg/dl (im Normbereich)

Material:

1. BECKMAN Glucose Analyzer 2[®], Seriennr. 3284, Fa. Beckman Instruments GmbH München
2. Beckman Accustroke[™] Pipet 10 µl + Pipet Tips (Bestellnr. 651576), Fa. Beckman Instruments GmbH München
3. Reagenzien: Glucose Reagent (Glucoseoxidase 140 U/ml) + 150/50 Glucose/Urea Nitrogen Standard (β-D-Glucose 150 mg/dl, Harnstoff 50 mg/dl) (Kit Bestellnr. 671640), Fa. Beckman Instruments inc. Galway, Ireland

Ermittlung der Cortisolkonzentration mittels TDx[®] Cortisol Assay (Firma Abbott)

Das Verfahren basiert auf einem kompetitiven Fluoreszenzpolarisations-Immunoassay. Mit Tracer (Fluorescein) markiertes Antigen und Patienten-Antigen konkurrieren um die Bindungsstellen an den Antikörpern. Je mehr Tracer-Antigen-Komplexe an Antikörper gebunden sind, desto weniger befinden sich in Lösung. Enthält die Patientenprobe eine geringe Konzentration an Antigen, so ist nach Erreichen des Reaktionsgleichgewichts eine hohe Konzentration an gebundenen Tracer-Antigen-Komplexen vorhanden, was sich in einer hohen Polarisation widerspiegelt. Die Bestimmung der Beziehung zwischen Polarisation und Konzentration des Hormons erfolgt durch Ermittlung der Polarisationswerte von Kalibratoren mit bekannten Konzentrationen des Hormons. Aus den Polarisationswerten wird die Konzentration über eine gespeicherte Kalibrierungskurve berechnet.

Messbereich: 0,64 – 60 µg/dl

Normbereich: 5 – 18 µg/dl zwischen 7 und 9 Uhr, 2 – 13 µg/dl zwischen 16 und 18 Uhr

Interferenzen: für erhöhtes Protein (bis 10 g/dl), erhöhte Lipide (Cholesterin bis 500 mg/dl, Triglyceride bis 900 mg/dl), Hämolyse (bis 0,5 g Hb/dl) und Antikoagulantien Interferenz von < 5 %, für Bilirubin-konzentrationen > 10 mg/dl Interferenz > 10 %.

Spezifität: Kreuzreaktivität von 0,1 - 4,7 % für endogene Steroide, für Prednisolon 35 %

Sensitivität: 0,64 µg/dl

Präzision: Intraassay-Variation: VK < 5 % (für Konzentrationen von 15 bzw. 40 µg/dl) bzw. < 12 % (für 4 µg/dl)

Interassay-Variation: VK < 5 % bzw. < 12 %

Material:

1. TDX[®] Analyzer, Seriennr. K 00544
2. X Systems[™] Sample Cartridges + Cuvettes (Bestellnr. 9518-05 + -06)
3. Reagenzien: X Systems[™] Calibrators Cortisol + Controls Cortisol, TDX[®] Cortisol Reagent Pack (Antiserum, Fluorescein-Tracer, Vorbehandlungslösung) (Bestellnr. 9116-01, -10, -60)
→ jeweils Abbott GmbH Diagnostika, Wiesbaden-Delkenheim
4. Pipette Eppendorf Reference[®], variabel 100 – 1000 µl (Bestellnr. 4910 000. 069) + Standartips 100 µl (Bestellnr. 0030 003. 004)

Ermittlung der Glukagonkonzentration (Biochem Immunosystems)

Das Testprinzip beruht auf einem kompetitiven Radioimmunoassay. Unmarkiertes Antigen (Patientenproben bzw. Standards) und radioaktiv markiertes Antigen (¹²⁵I-markiertes, lyophilisiertes Glukagon in Phosphatpuffer mit BSA und 0,5 % Natriumacid) konkurrieren während der Inkubation um die begrenzte Anzahl der Antikörper-Bindungsstellen eines spezifischen Antiserums (Anti-Glukagon-Antikörper vom Kaninchen in Phosphatpuffer mit BSA und 0,05 % Natriumacid). Nach der Gleichgewichtseinstellung entsprechend dem Massenwirkungsgesetz erfolgt eine Trennung von freiem und gebundenem Glukagon mit Hilfe von Polyethylenglykol. Ungebundenes Antigen wird mit dem Überstand dekantiert und das zurückbleibende Präzipitat im Gammacounter gemessen. Die ermittelte Aktivität verhält sich proportional zur Glukagonkonzentration der Proben.

Die genauen Konzentrationen der Proben werden über eine Standardkurve berechnet, die bei jedem Test mit Hilfe von sieben Standards mit jeweils bekannter Glukagonkonzentration erstellt wird. Von allen Messwerten wird der über den Nullstandard ermittelte Wert für die unspezifische Bindung subtrahiert.

Messbereich: 15 – 800 pg/ml

Normbereich: 60 – 200 pg/ml

Interferenzen: hämolysierte Proben, Kontaminationen mit radioaktiven Isotopen

Spezifität: für Proinsulin vom Rind Kreuzreaktivität von 0,0005 %, für Proinsulin vom Schwein 0,035 %

Sensitivität: 14,5 pg/ml

Präzision: Intraassay-Variation: VK 8,0 - 9,5 %

Interassay-Variation: VK 8,2 - 9,0 %

Material:

1. Gammacounter: LKB-Wallac CliniGamma 1272-014, Seriennr. 2721208
2. BECKMAN J-6B Centrifuge
3. Mischer: Vibrofix V71 Electronic, Janke & Kunkel IKA[®]-Labortechnik
4. Reagenzien: Glucagon-Tracer (¹²⁵J-markiertes, lyophilisiertes Glukagon in Phosphatpuffer), Glucagon Standards (Glukagon in den Konzentrationen 0, 15, 50, 100, 200, 400 und 800 pg/ml in Phosphatpuffer), Glucagon Antiserum (Anti-Glukagon-Antikörper vom Kaninchen in Phosphatpuffer), TW PEG Solution (20 % Polyethylenglykol, 0,1 % Tween 20, 0,1 % Natriumarid), Carrier Serum (lyophilisierte bovine Gammaglobuline), Biochem Immunosystems GmbH, Freiburg
5. Pipette und Pipettenspitzen s. o., zusätzlich Eppendorf Multipette[®] 4780, Combitips 5 ml + 50 ml (Bestellnr. 0030 048. 067 bzw. 105), Adapter (Bestellnr. 0030 046. 030), Standartips 1000 µl (Bestellnr. 0030 015. 004)
6. Dekantier-Rack
7. Küvetten und Eindrückstopfen (s. o.)

Ermittlung der STH-Konzentration mittels HGH Maiacclone[®] (Biochem Immunosystems)

Das Testprinzip beruht auf einem immunradiometrischen Assay mit einem ¹²⁵J-markierten und einem fluoresceinmarkierten STH- Antikörper (monoklonaler Maus-Antikörper in Phosphatcitratpuffer mit Rinderserumalbumin, Schaf- und Mausserum), die an unterschiedliche Epitope des STH-Moleküls binden. Die Trennung von gebundenem und ungebundenem ¹²⁵J erfolgt magnetisch durch Zugabe eines Anti-Fluorescein-Antikörpers, der an magnetisierbare Partikel gebunden ist (Antikörper vom Schaf in Trispuffer mit Rinderserumalbumin und 0,1 % Natriumacid) . Durch zwei Waschschrte (Trispuffer mit 0,8 % Natriumacid) wird die nichtspezifische Bindung auf ein Minimum reduziert. Der danach in den Röhren noch vorhandene Rückstand wird im Gammacounter gemessen. Die ermittelte Radioaktivität verhält sich proportional zur Konzentration des Antigens, d. h. des STH. Berechnet wird die Konzentration über die Aktivität der Standards mit bekannten Konzentrationen.

Messbereich: 0 – 100 µIU/ml (1 µIU/ml ♥ 0,5 ng/ml)

Normbereich: < 10 µIU/ml

Interferenzen: stark hämolysierte, lipämische oder ikterische Proben

Spezifität: Kreuzreaktivität von 0,1 % für HPRL, 0,0056 % für HPL, 0,0012 % für TSH, 0,006 % für HCG

Sensitivität: 0,04 µIU/ml

Präzision: Intraassay-Variation: VK 2,38 - 2,87 %

Interassay-Variation: VK 1,79 - 2,54 %

Material:

1. - 3.: s. Glukagonbestimmung
4. Vortexmischer: Serono Vibrax
5. Wasserbad
6. Reagenzien: Anti-HGH Reagent (¹²⁵J-markierte Anti-HGH-Antikörper von der Maus, monoklonal in Phosphatcitratpuffer), HGH Maiacclone Standards (HGH in den Konzentrationen 0, 1, 3, 10, 30 und 100 µIU/ml in Rinderserum und Natriumacid), HGH MAIAclone Separation Reagent (Anti-Fluorescein-

Antikörper vom Schaf, kovalent an magnetisierbare Partikel gebunden in Tris-Puffer mit Rinderserum und Natriumacid), MAIAclone Wash Buffer Concentrate (Tris-Puffer mit 0,8 % Natriumacid), Serotest (lyophilisiertes humanes Kontrollserum mit Natriumacid), Biochem Immunosystems GmbH, Freiburg

7. Pipetten und Pipettenspitzen (s. o)
8. Magnet-Dekantier-Rack (Fa. Biochem)

Ermittlung der Insulinkonzentration mittels Enzymun-Test[®] (Boehringer Mannheim Immundiagnostica)

Das Testverfahren beruht auf einem Enzym-Immunoassay (ELISA). Das Insulin der zu bestimmenden Probe bindet an die Insulin-Antikörper, mit denen die Teströhrchen beschichtet sind, und an diese wiederum Enzym- (hier POD-) markierte Insulin-Antikörper. Nach Auswaschung ungebundener Antikörper kann durch Zugabe eines chromogenen Substrats (hier ABTS) eine photometrische Bestimmung der Immunkomplex-gebundenen Markerenzyme erfolgen. Die Ermittlung der Antigen- (Insulin-) Konzentration der Proben erfolgt durch Vergleich mit den Standards bekannter Enzymaktivität über eine Bezugskurve der Extinktionsmittelwerte.

Messbereich: 0 – 250 $\mu\text{U/ml}$

Normbereich: 3 – 17 $\mu\text{U/ml}$

Interferenzen: Hämolyse (Freisetzung von Insulin-abbauenden Enzymen aus den Erythrocyten), Lipämie und Bilirubin nicht

Spezifität: Kreuzreaktivität von 40 % für Human Proinsulin, 35 % für Rinderinsulin, 85 % für Schweineinsulin

Sensitivität: < 3 $\mu\text{U/ml}$

Präzision: Interassay-Variation: VK 2,1 - 9,1 %

Material:

1. Pipettier- und Waschstation ES 33, Photometer 4010
2. 100 µl-Pipette und Pipettenspitzen (s. o.)
3. Enzymun-Test[®] Insulin: Inkubationspuffer (Phosphatpuffer 40 mmol/l), anti-Insulin-POD-Konjugat, Standards, Substrat-Puffer-Lösung (Phosphat/Citrat 100 mmol/l), Substrat-Chromogen-Lösung (ABTS 1,9 mmol/l), mit Anti-Insulin-Antikörpern beschichtete Kunststoffröhrchen, Roche Diagnostics (Kit Bestellnr. 1289 101)

Ermittlung der HbA1c-Konzentration mittels DIAMAT[®] (Bio-Rad Laboratories)

Das Testprinzip beruht auf der Auftrennung der einzelnen HbA1c-Fractionen an einer Kationenaustauschersäule als stationärer Phase unter hohem Druck im Sinne einer High Performance Liquid Chromatography (HPLC). Über eine Pumpe, die Durchflussgeschwindigkeit und -menge reguliert, wird die hämolysierte Probe im Eluenten (drei Phosphatpuffer in steigender Ionenstärke) über die Trennsäule geleitet. Nach Selektion und Anreicherung von jeweils gleichen Probenbestandteilen erfolgt die Detektion der einzelnen Fraktionen bei 415 und 690 nm.

Normbereich: 4,3 - 6,1 % (95%-Konfidenzintervall)

Interferenzen: deutlich verlängerte oder verkürzte Erythrocytenüberlebenszeit, HbF > 5 %, HbA₂ > 1,5 %, keine Beeinflussung des Tests durch lipämische Proben

Präzision: Intraassay-Variation: VK 0,4 - 2,3 %

Interassay-Variation: VK: 0,6 - 3,1 %

Material:

1. Bio-Rad DIAMAT[™] Analysensystem, Seriennr. 909 59 211 (Bestellnr. 196-1001)

2. Bio-Rad Reagenziensatz: Hämolyseagenz (0,1 % Polyoxiethylenether in Boratpuffer), Elutionspuffer (Phosphatpuffer mit Natriumacid), Waschlösung (Phosphatpuffer mit Natriumacid) (Kit Bestellnr. 196-1004)
3. Analytische Trennsäule (HPLC-Säule mit sphärischem Kationentauscher und vier Vorfiltern)
4. HbA_{1c} Referenzstandard (lyophilisiertes Vollbluthämolysat)
5. Polypropylenröhrchen 1,5 ml
→ jeweils Bio-Rad Laboratories, München
7. Wasserbad

Ermittlung der Catecholaminkonzentration

Die Bestimmung erfolgte ebenfalls mittels HPLC, hierbei unter Anlagerung an Aluminiumoxid und elektro-chemischer Detektion (Entstehung eines Elektronenflusses durch Oxidation und Reduktion von funktionellen Gruppen) anhand der verschiedenen Retentionszeiten der einzelnen Probenbestandteile bis zum Erreichen des Detektors.

Material:

1. Elektrochemischer Detektor Coulochem Model 5100A (esa Fa. Bischoff)
2. Zentrifuge
3. Vortexmischer (s. o.)
4. Reagenzien: D-Reagenz (TRIS-Puffer + EDTA + 5N HCL → pH 8,7), Aluminiumoxid, E-Waschpuffer (TRIS-Puffer + EDTA + 5N HCL → pH 8,1), AFG-Extraktionsmittel (100%ige Essigsäure + 10%iges Natriumdisulfid + 5%iges EDTA), Int. Standard (DHBA), Eluenz (Fa. Bischoff)
5. Küvetten, Pipetten und Pipettenspitzen (s. o.)

Ermittlung der C-Peptid-Konzentration (Double Antibody, Diagnostic Product Corporation)

Die Bestimmung erfolgt in Analogie zu der des Glukagons mittels eines kompetitiven Radioimmunoassays mit gleicher Markierungssubstanz (^{125}J), Antikörpern ebenfalls vom Kaninchen und gleicher Separationssubstanz (PEG).

Normbereich: 0,8 - 4,0 ng/ml (95%-Konfidenzintervall)

Interferenzen: kein Einfluss durch Hämolyse oder Proteine

Spezifität: Kreuzreaktivität von 20 % bezüglich Proinsulin

Sensitivität: 0,05 ng/ml

Präzision: Intraassay-Variation: VK 3 - 5,3 %

Interassay-Variation: VK 1,9 -10,0 %

Material:

1. Gammacounter: Multi Crystal Gamma Counter LB 2103, Seriennr. 1606 (Fa. Berthold)
2. Zentrifuge
3. Vortexmischer (s. o.)
4. C-Peptide Double Antibody Reagenzienkit: C-Peptide Antiserum (PED1), ^{125}J C-Peptide (PED2), C-Peptide Controls (PED3-9, X), Precipitating Solution (PEGG)
5. C-Peptid-Kontrollen
6. Dekantier-Rack
→ 4. - 6. jeweils DPC[®] Biermann, Bad Nauheim
8. variable Pipette, Pipettenspitzen, Küvetten (s. o.)

Test der kardiovaskulären autonomen Funktion

Um das Vorliegen einer diabetischen autonomen Neuropathie bei den an der Studie teilnehmenden Diabetikern auszuschließen, wurde vor der Durchführung des hypoglykämischen Clamps eine Untersuchung ähnlich einem von Ewing (51) beschriebenen Test durchgeführt. Bestimmt wurden die Herzfrequenzvariabilität über 150 artefaktfreie RR-Intervalle in Ruhe, der Quotient von längstem und kürzestem RR-Intervall während tiefer Respiration und während eines Valsalva-Manövers und der Quotient aus dem kürzesten RR-Intervall um den 15. und dem längsten um den 30. Herzschlag nach dem Aufstehen aus liegender Position. Die Diagnose einer diabetischen autonomen Neuropathie wurde gestellt, wenn zwei oder mehr Parameter pathologisch ausfielen.

2.3 Auswertung

2.3.2 Bestimmung der Stärke der hormonellen Gegenregulation

Die Ermittlung der Stärke der hormonellen Gegenregulation erfolgte jeweils durch Berechnung der Fläche unter der Kurve (area under the curve - AUC) in den einzelnen Konzentrations- / Zeit-Diagrammen der verschiedenen Hormone. Somit konnte sowohl die Höhe als auch die Dauer des Anstiegs der Hormonkonzentration berücksichtigt werden.

Zur Berechnung der AUC wurde die Trapezregel

$$\text{AUC} = \frac{1}{2} \sum_{i=0}^{n-1} (t_{i+1} - t_i)(y_i + y_{i+1}) \text{ in vereinfachter Form}$$

$\text{AUC} = T^* \times \text{MW}^*$ verwendet.

Hierbei ist T^* die Zeitspanne vom Beginn eines signifikanten Anstiegs der Hormonkonzentration bis zu Minute 150, und MW^* entspricht dem Mittelwert aller gemessenen Werte in diesem Zeitraum abzüglich des Wertes zu Beginn des Anstiegs.

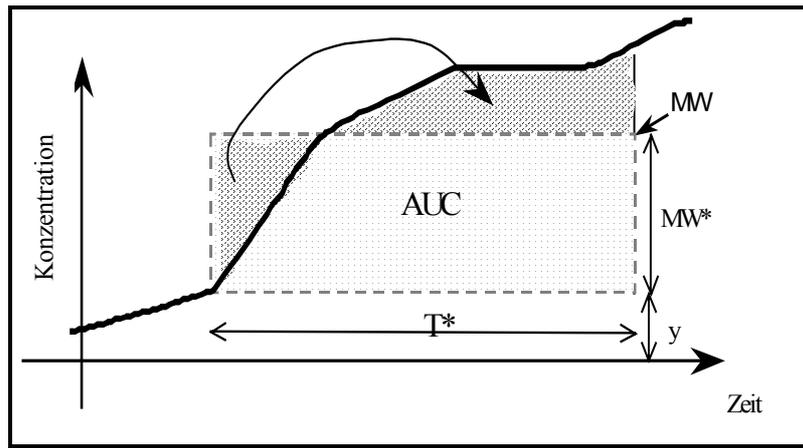


Abb. 2.2: Schematische Darstellung zur Verdeutlichung der Berechnung der area under the curve (AUC) für die gegenregulatorischen Hormonantworten, T^* = Zeitspanne vom Beginn eines signifikanten Hormonanstiegs bis Minute 150, MW = Mittelwert aller gemessenen Hormonkonzentrationen in diesem Zeitraum, y = Hormonkonzentration bei Beginn des Anstieges, $MW^* = MW - y$

Ein Anstieg wurde als signifikant bezeichnet, wenn dieser über mindestens drei aufeinanderfolgende Werte mindestens das Zweifache des Variationskoeffizienten des jeweiligen Assays betrug. Bezüglich des Cortisols vollzog sich der Anstieg der Serumkonzentration zum Teil erst bei Minute 135, dann aber so deutlich, dass trotzdem eine Signifikanz angenommen werden konnte.

2.3.3 statistische Methodik

Da es sich bei den zu untersuchenden Zielvariablen hauptsächlich um biologische Größen handelte und insgesamt nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden konnte, wurden nicht-parametrische Tests verwendet bzw. bei Verwendung parametrischer Testverfahren die Variablen zuvor logarithmiert.

Da zur Logarithmierung keine Variable den Wert Null annehmen darf, mussten bzgl. der AUC in den Fällen, in denen keine signifikante Gegenregulation zu verzeichnen war, Ersatzwerte gefunden werden. Durch die Multiplikation mit dem Faktor Zeit ergaben sich bei der Berechnung der AUC je nach zu untersuchendem Parameter zum Teil auch bei nur noch sehr geringer gegenregulatorischer Hormonantwort Werte im dreistelligen Bereich, so dass ein Ersetzen der Nullwerte (keine signifikante Gegenregulation) durch den Wert 1 ($\log 1 = 0$) nicht angemessen erschien. So erfolgte für jedes Hormon gesondert die Anpassung der Ersatzwerte an den jeweiligen niedrigsten AUC-Wert und zwar wie folgt: für Cortisol = $20 \mu\text{g} \times$

min/dl, für Adrenalin = 300 pg × min/dl, für Noradrenalin = 800 pg × min/dl, für Glukagon = 300 pg × min/ml und für STH = 20 ng × min/ml.

Die Auswertung bezüglich einer möglichen Korrelation zwischen der Höhe der residualen endogenen Insulinreserve und der (noch) vorhandenen Stärke der hormonellen Gegenregulation erfolgte mit Hilfe von zwei verschiedenen Testverfahren, die jeweils die enge Korrelation zwischen Diabetesdauer und Höhe der C-Peptid-Konzentration ($r = 0,8$) berücksichtigten. Die Dauer der Erkrankung wurde dabei als Störgröße betrachtet, um dadurch den alleinigen Einfluss der Höhe der C-Peptid-Konzentration auf die Stärke der hormonellen Gegenregulation betrachten zu können.

Es erfolgte zum einen als nicht-parametrisches Verfahren die Berechnung des partiellen Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman nach folgender Formel:

$$r_{AB.C} = \frac{r_{AB} - r_{AC} \times r_{BC}}{\sqrt{(1 - r_{AC}^2) \times (1 - r_{BC}^2)}}$$

mit A ♥ Zielvariable (verschiedene Parameter der hormonellen Gegenregulation)

B ♥ C-Peptid

C ♥ Diabetesdauer

Dann ist $r_{AB.C}$ der partielle Korrelationskoeffizient zwischen Höhe der C-Peptid-Konzentration (B) und der Stärke der hormonellen Gegenregulation als Zielvariablen (A) unter Konstanthaltung der Diabetesdauer (C) als Störgröße.

Zusätzlich wurde als parametrisches Verfahren unter vorheriger Logarithmierung aller Variablen eine multiple Regressionsanalyse mit Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeiten für den gemeinsamen und den jeweils alleinigen Einfluss von C-Peptid-Konzentration und Diabetesdauer auf die Stärke der hormonellen Gegenregulation verwendet. Als Zielparameter diesbezüglich galten zum einen die jeweiligen AUC für Cortisol, Adrenalin, Noradrenalin, Glukagon, STH und der Mittelwert der AUC aller Hormone und zum anderen die Glucoseinfusionsrate (in mg/kgKG/min) während der ersten (Minute 0 – 25) und der letzten (Minute 105 - 145) Phase der Untersuchung sowie der Differenz der Glucoseinfusionsraten während der ersten (Minute 30 – 75) und zweiten (Minute 105 – 145) hypoglykämischen Phase.

Zum Vergleich der subjektiven Wahrnehmung von hypoglykämieanzeigenden Symptomen sowie der Konzentrationsfähigkeit während hypoglykämischer Episoden zwischen den verschiedenen Untersuchungsgruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test als nicht-parametrisches Verfahren für mehr als zwei unverbundene Stichproben angewendet. Es erfolgte zum einen die Unterteilung anhand des Vorhandenseins einer noch stimulierbaren C-Peptid-Konzentration im Serum (CPP vs. CPN) und zum anderen anhand des Kriteriums „schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte“ („aware“ vs. „unaware“) jeweils auch in Gegenüberstellung zur Kontrollgruppe. Bei Nachweis von statistisch signifikanten Unterschieden wurden zur genaueren Interpretation derselben die mittleren Rangzahlen der einzelnen Gruppen betrachtet.

Zusätzlich wurde mittels Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman auf das Vorliegen einer möglichen Korrelation zwischen der Höhe der C-Peptid-Konzentration im Serum nach Stimulation und der Stärke der subjektiven Symptomwahrnehmung sowie einer Korrelation mit der anamnestischen Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit getestet. Bezüglich der zuletzt genannten Fragestellung erhielten die Diabetiker mit einer subjektiv und objektiv uneingeschränkten Wahrnehmung von hypoglykämieanzeigenden Symptomen („aware*“) die Rangzahl 1, solche mit einer lediglich subjektiven Einschränkung derselben (anamnestisch rezidivierend leichte hypoglykämische Episoden, jedoch keine objektivierbaren schweren Hypoglykämien = „subjektiv unaware“) die Rangzahl 2 und solche mit eindeutig schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte (bzw. mindestens einer = „unaware“) die 3.

Der Kruskal-Wallis-Test kam auch zur Anwendung zum Vergleich des zeitlichen Beginns der hormonellen Gegenregulation in den einzelnen Gruppen. Im Rahmen der Einteilung anhand der anamnestischen Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit war ein statistischer Vergleich aber nur für die gegenregulatorische Adrenalinsekretion möglich, da bei den anderen Hormonen auf Grund eines bei einzelnen Probanden nicht mehr vorhandenen signifikanten Hormonanstieges, die einzelnen Gruppengrößen zu klein wurden.

3. Ergebnisse

3.1 Verlauf des hypoglykämischen Clamps

In der folgenden Abbildung sind die mittleren Konzentrationen von Plasmaglukose und Insulin im Verlauf des hypoglykämischen Clamps unter Zusammenfassung der gesunden Probanden und der Diabetiker graphisch dargestellt. Der unter Punkt 2.2.1 beschriebene angestrebte Verlauf der Blutzuckerkonzentration konnte weitestgehend eingehalten werden. Die Verdoppelung der Insulininfusionsrate während des zweiten Abschnitts des Clamps ab Minute 75 spiegelt sich wider in einer entsprechend verdoppelten Insulinkonzentration im Serum.

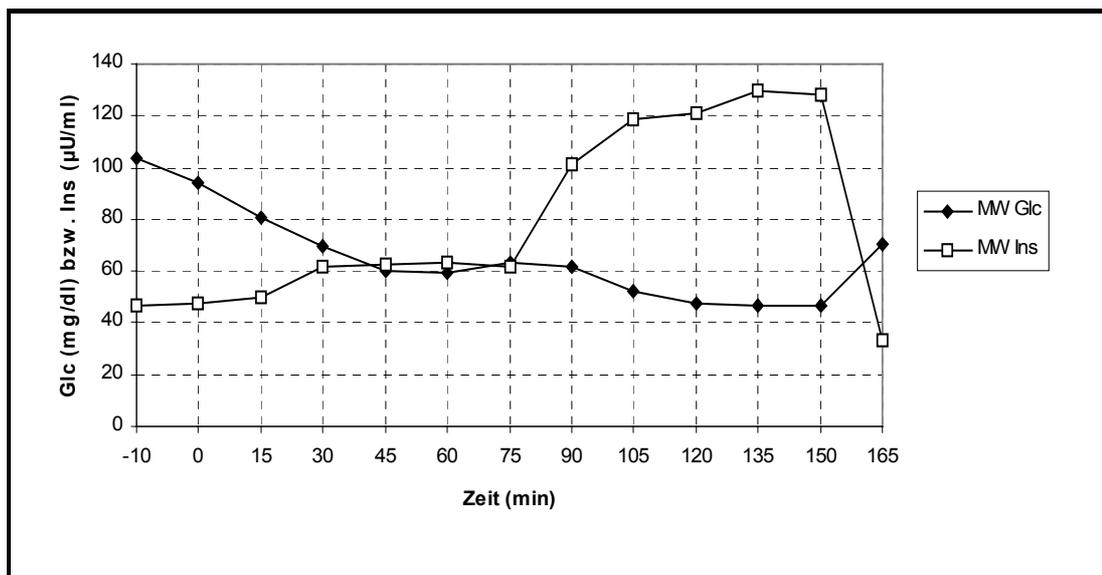


Abb. 3.1: Verlauf der mittleren Konzentrationen von Plasmaglukose (Glc) und Insulin (Ins) während des Clamps (Diabetiker und gesunde Probanden)

Mit Beginn der eigentlichen Testphase (Minute 0) hatten die Diabetiker eine Plasmaglukosekonzentration von im Mittel 109 mg/dl. Die mittleren Konzentrationen während der beiden hypoglykämischen Perioden betragen 65 bzw. 48 mg/dl.

Bei den Kontrollpersonen lag die mittlere Blutzuckerkonzentration zu Beginn des Tests bei 89 mg/dl, fiel aber dann ca. 15 - 30 Minuten nach Beginn der Insulininfusion sehr rasch ab (bei Minute 45 durchschnittlich 50 mg/dl), so dass der Mittelwert der Blutzuckerkonzentrationen in der ersten hypoglykämischen Testphase

(Minute 30 - 75) 55 mg/dl betrug. Dieser unerwünschte Abfall ließ sich auch durch frühzeitiges Erhöhen der Glucoseinfusionsrate nicht vermeiden. Andererseits konnte in diesem Kollektiv später das niedrigste Plateau des Blutzuckerverlaufs trotz starker Reduktion der Glucoseinfusionsgeschwindigkeit bis hin zum Ausschalten nicht immer ganz erreicht werden (Mittelwert in der zweiten hypoglykämischen Phase 49 mg/dl).

Die basale Insulinkonzentration betrug bei den gesunden Probanden im Mittel 12 $\mu\text{U/ml}$. In der ersten Testphase lag die Insulinkonzentration durchschnittlich bei ca. 50 $\mu\text{U/ml}$ und nach Verdopplung der Insulininfusionsrate dann bei ca. 108 $\mu\text{U/ml}$.

Da bei den Typ-1-Diabetikern bei der ersten Blutentnahme meist eine Blutzuckerkonzentration größer als 120 mg/dl gemessen wurde, wurde die Insulininfusion hier häufig schon vor Beginn des eigentlichen Clamps gestartet, und zum Teil wurden auch, wie schon beschrieben, einzelne intravenöse Bolusgaben zusätzlich verabreicht. So lag die Plasmainsulinkonzentration bei den Diabetikern schon bei Minute -10 bei durchschnittlich 60 $\mu\text{U/ml}$. Dies war auch der Mittelwert der gesamten ersten Phase, in der zweiten Phase waren dies ca. 130 $\mu\text{U/ml}$.

3.2 Hormonelle Gegenregulation während des Clamps

3.2.1 Glukagon

Bei neun Probanden der Kontrollgruppe (82 %) war nach einer anfänglichen Suppression infolge der Insulinzufuhr ein signifikanter Anstieg der Glukagonkonzentration im Serum zu verzeichnen. Dieser Anstieg begann meist nach 75 Minuten (Minimum 30, Maximum 105) und unterlag in seiner Stärke einer deutlichen interindividuellen Variabilität bei einem Median der AUC von 2043 und einem Maximum von 9222. Bei zwei Kontrollpersonen erzielte der Anstieg keine signifikante Höhe.

Unter den Diabetikern mit noch residualer endogener Insulinsekretion (C-Peptid-positiv) blieb bei acht Studienteilnehmern (35 %) die gegenregulatorische Glukagon-

Antwort unter dem Signifikanzniveau. Bei den übrigen begann die Gegenregulation durchschnittlich nach 87 Minuten (Median 90, Minimum 30, Maximum 120). Der Median der AUC betrug 3674 und lag somit noch über dem der Kontrollgruppe, ebenso der Maximalwert (16845 vs. 9222).

In der Gruppe der C-Peptid-negativen Patienten war bei fünf Personen bzw. 25 % (alle ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte) ein noch über dem geforderten Signifikanzniveau liegender Anstieg der Glukagonkonzentration zu erkennen. Dieser begann meist nach 105 Minuten. Auf Grund des großen Anteils von Patienten ohne signifikante Gegenregulation (und damit per def. einer AUC = 300) betrug der Median der AUC 300 (Mittelwert 445).

Im Folgenden sind die erwähnten Zahlenwerte noch einmal tabellarisch aufgeführt (Tab. 3.1) und in einer zweiten Tabelle (Tab. 3.2) den mittleren Blutzuckerkonzentrationen in den einzelnen Gruppen während der ersten und zweiten hypoglykämischen Testphase gegenübergestellt.

Tab. 3.1: Übersicht über den Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Glukagon-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert (MW) der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben in den einzelnen Gruppen, AUC in $pg \times min/ml$

	Anteil mit Anstieg		Median/MW der	Median/MW
	prozentual	absolut	Zeit bis Anstieg	AUC Glukagon
Kontrollgruppe	82	9 / 11	75 / 80 min	2043 / 2461
CPP	65	8 / 23	90 / 87 min	3674 / 2561
CPN	25	5 / 20	105 / 102 min	300 / 445
aware	53	19 / 36	105 / 91 min	819 / 1915
unaware	0	0 / 7	#	300 / 300

Tab. 3.2: Übersicht über die mittleren Blutzuckerkonzentrationen während der ersten (Minute 30 – 75) und zweiten (Minute 105 – 150) hypoglykämischen Testphase in den einzelnen Gruppen

	mittlere BZ-Konz.	
	Min. 30 – 75	Min. 105 - 150
Kontrollgruppe	55 mg/dl	49 mg/dl
CPP	66 mg/dl	49 mg/dl
CPN	64 mg/dl	47 mg/dl
aware	65 mg/dl	48 mg/dl
unaware	63 mg/dl	47 mg/dl

Im Rahmen der multiplen Regressionsanalyse zeigte sich eine statistisch signifikante Korrelation ($p = 0,01$) zwischen Stärke der gegenregulatorischen Glukagonsekretion und der Höhe der C-Peptid-Konzentration im Serum nach Stimulation. Über die Berechnung des partiellen Rangkorrelationskoeffizienten ließ sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang nach Elimination des Einflusses der Diabetesdauer nicht mehr nachweisen.

Erfolgte die statistische Auswertung über den Gesichtspunkt der Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit unter Betrachtung der Vorgeschichte von leichten und schweren Hypoglykämien, so ergab sich im Rahmen der Rangkorrelationsanalyse nach Spearman (mit der Wichtung „aware*“ = 1, „subjektiv unaware“ = 2, „unaware“ = 3) eine sehr deutliche Korrelation ($r = -0,46$, $p = 0,002$) im Sinne eines positiven Zusammenhanges zwischen Stärke der noch vorhandenen gegenregulatorischen Glukagonsekretion und Ausprägung der Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit. Der ungerichtete Vergleich zwischen den gesunden Probanden und Diabetikern mit und ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte über den Kruskal-Wallis-Test zeigte ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen, wobei die mittlere Rangzahl in der Gruppe der Kontrollpersonen am höchsten und in der der Diabetiker mit schweren Hypoglykämien am niedrigsten war.

Der Beginn der gegenregulatorischen Glukagonsekretion in den Gruppen CPP, CPN und gesunde Probanden war statistisch signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis-Test), anhand der mittleren Rangzahlen im Sinne eines frühen Beginns in der Kontrollgruppe und eines späten in der Gruppe der C-Peptid-negativen Diabetiker.

Die nachfolgende Abbildung (Abb. 3.2) gibt den Zusammenhang zwischen der Stärke der Glukagon-Antwort und der Höhe der residualen endogenen Insulinsekretion graphisch wieder.

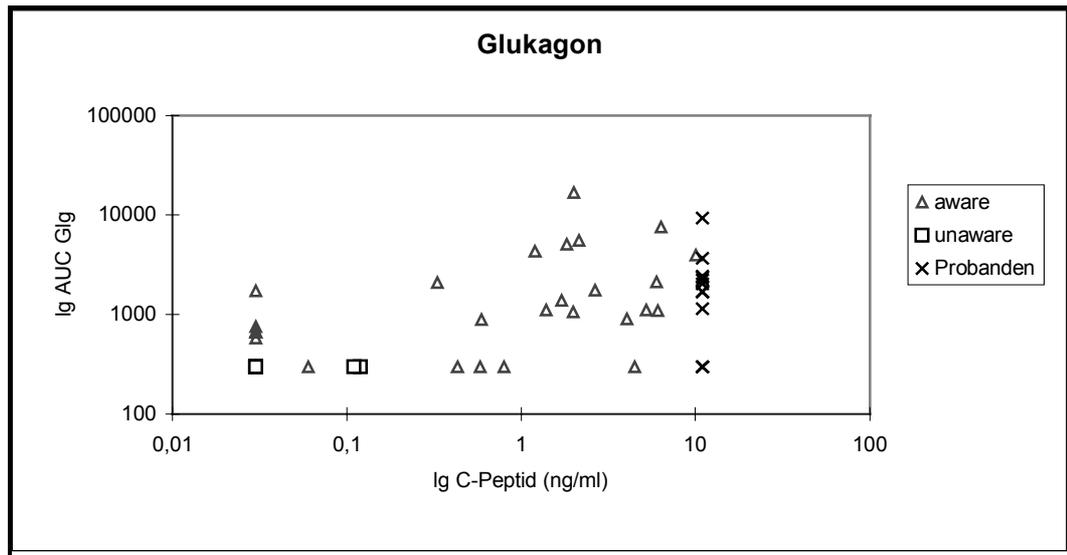


Abb. 3.2: *Stärke der gegenregulatorischen Glukagonsekretion (logarithmiert) als area under the curve AUC (pg×min/ml) in Abhängigkeit von der Höhe der C-Peptidkonzentration nach Stimulation*

3.2.2 Adrenalin

Die Stärke der Gegenregulation im Rahmen der Adrenalinsekretion in der Kontrollgruppe unterlag einer großen Schwankungsbreite (Minimum / Median / Maximum = 0 bzw. per def. 300 / 30615 / 62925), die meisten Werte lagen jedoch um den Median. Auch der Zeitpunkt des Beginns eines signifikanten Anstiegs schwankte stark (Minute 0 vs. Minute 120), befand sich aber meist bei Minute 30. Bei einer Probandin blieb ein gegenregulatorischer Adrenalinanstieg in signifikanter Höhe aus.

In der Gruppe der C-Peptid-positiven Diabetiker zeigte sich noch bei allen Clamp-Teilnehmern ein signifikanter Anstieg der Adrenalinsekretion. Die Stärke der Gegenregulation schwankte auch hier stark bei einem Median der AUC von 19148 und Minimum bzw. Maximum von 690 bzw. 101805. Der Anstieg der AdrenalinKonzentration im Blut begann durchschnittlich bei Minute 36 (Median 30) bei einer Streubreite von Minute 0 bis Minute 120.

Unter den Diabetikern ohne residuale endogene Insulinsekretion war bei einem überhaupt keine gegenregulatorische Adrenalinantwort mehr nachweisbar. Der Median der AUC lag in dieser Gruppe bei 4680, das Maximum bei 94200. Die Reaktion dieser Patienten im Sinne einer gesteigerten Adrenalinsekretion auf den hypoglykämischen Reiz hin erfolgte im Mittel bei Minute 76 (Median 90). Bei einem Patienten begann die Gegenregulation schon bei Minute 0.

In der Gruppe der Diabetiker ohne schwere Wahrnehmungsstörung (aware) betrug die AUC durchschnittlich 28935 (Median 18779) bei einem Maximalwert von 101805 und einer Person ohne signifikanten Anstieg der Adrenalinkonzentration, in der mit einer solchen Störung (unaware) im Mittel 2839 (Median 3660, Max. 4500, Min. 690).

Mit der Tabelle 3.3 erfolgt noch einmal eine zusammenfassende Darstellung der beschriebenen Ergebnisse.

Tab. 3.3: *Übersicht über den Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Adrenalin-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert (MW) der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben in den einzelnen Gruppen, AUC in $\text{pg} \times \text{min}/\text{dl}$*

	Anteil mit Anstieg		Median/MW der Zeit bis Anstieg	Median/MW AUC Adrenalin
	prozentual	absolut		
Kontrollgruppe	91	10 / 11	30 / 39 min	30.615 / 31.677
CPP	100	23 / 23	30 / 36 min	19.148 / 33.455
CPN	95	19 / 20	90 / 76 min	4.680 / 16.520
aware	97	35 / 36	45 / 48 min	18.779 / 28.935
unaware	100	7 / 7	90 / 86 min	3.660 / 2.839

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Stärke der Adrenalin-Antwort und der Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration war mittels keinem der beiden verwendeten statistischen Verfahren nachweisbar, wenn der gemeinsame Einfluss der Diabetesdauer rechnerisch eliminiert wurde.

Im Rahmen der Auswertung bzgl. der Hypoglykämievorgeschichte ergaben sich jedoch statistisch signifikante Beziehungen analog denen für das Glukagon beschriebenen. Hier war die mittlere Rangzahl beim Gruppenvergleich (gesunde Probanden, aware, unaware) mittels Kruskal-Wallis-Test in der Gruppe der gesunden

Probanden aber kaum größer als die der Diabetiker ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte.

Betrachtet man den zeitlichen Beginn der hormonellen Gegenregulation über die mittleren Rangzahlen im Rahmen des Kruskal-Wallis-Testes, so fand dieser bei den Diabetikern mit residualer endogener Insulinsekretion und den Kontrollpersonen ungefähr zum gleichen Zeitpunkt statt, bei den C-Peptid-negativen Diabetikern aber deutlich später. Der Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,001$). Auch hinsichtlich der Hypoglykämieanamnese zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen ($p = 0,02$), entsprechend den mittleren Rangzahlen im Sinne einer positiven Korrelation zwischen spätem Beginn der gegenregulatorischen Adrenalinsekretion und dem Ausprägungsgrad von stattgehabten Hypoglykämien (keine, leichte, schwere).

In Abbildung 3.3 ist die Stärke der gegenregulatorischen Adrenalinsekretion als AUC der Höhe der C-Peptid-Konzentration im Serum gegenübergestellt.

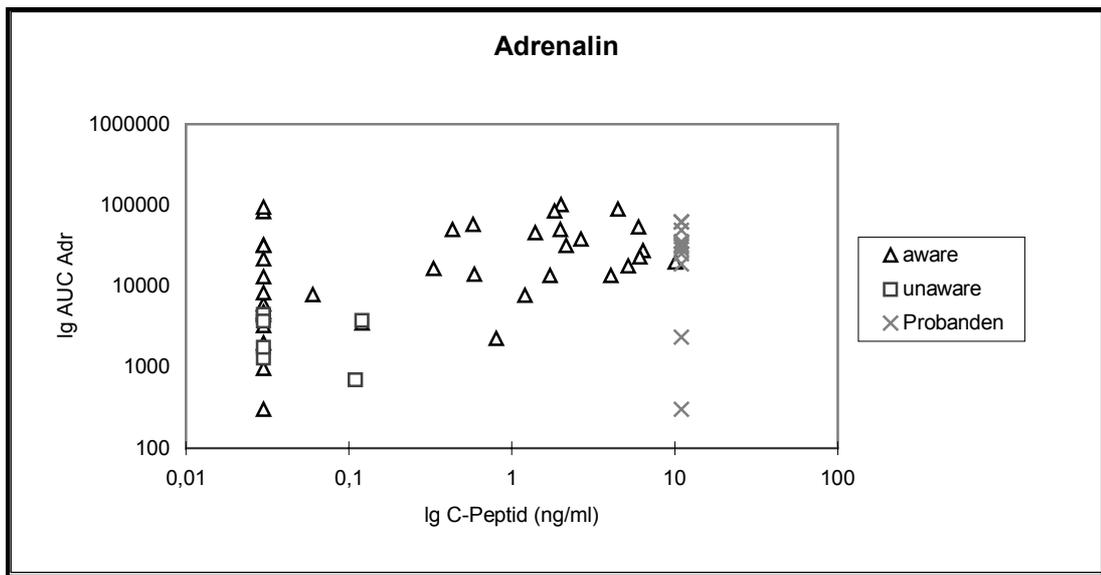


Abb. 3.3: Stärke der gegenregulatorischen Adrenalinsekretion (logarithmiert) als area under the curve AUC (pg x min/dl) in Abhängigkeit von der Höhe der C-Peptidkonzentration nach Stimulation

3.2.3 Noradrenalin

Im Kontrollkollektiv schwankte die Höhe der AUC für die noradrenerge Gegenregulation zwischen 3975 und 18900 bei einem medianen Wert von 6221. Der

Zeitpunkt für den Beginn einer signifikanten Noradrenalinanstiegs lag im Mittel bei Minute 70 (Median 75, Minimum 15, Maximum 105).

Unter den C-Peptid-positiven Diabetikern begann die gegenregulatorische Noradrenalinsekretion durchschnittlich nach 60 Minuten (Median 68, Minimum 0, Maximum 105). Der Median der AUC betrug 14099, wobei der höchste Wert bei 30870 lag. Bei einer Person (4 %) war kein signifikanter Anstieg zu verzeichnen.

Der früheste und späteste Beginn des Noradrenalinanstiegs lag bei den Diabetikern ohne residuale Insulinsekretion jeweils zum gleichen Zeitpunkt, der Median diesbzgl. war mit 90 Minuten aber deutlich größer. Der Median der AUC betrug 4230 und war damit kleiner als der unter den gesunden Probanden, ebenso der Maximalwert mit 16770. In dieser Gruppe hatten sechs Personen (30 %) keine Noradrenalin-Antwort mehr. Davon gehörten vier zu den sog. „unaware“. Der höchste Wert für die AUC lag unter den „unaware“ bei 4425.

Die nachfolgende Tabelle (Tab. 3.4) fasst die Ergebnisse bzgl. des Noradrenalins noch einmal zusammen.

Tab. 3.4: *Übersicht über den Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Noradrenalin-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert (MW) der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben in den einzelnen Gruppen, AUC in $\text{pg} \times \text{min}/\text{dl}$*

	Anteil mit Anstieg		Median/MW der Zeit bis Anstieg	Median AUC Noradrenalin
	prozentual	absolut		
Kontrollgruppe	100	11 / 11	75 / 70 min	6.221 / 8.086
CPP	96	22 / 23	68 / 60 min	13.300 / 10.064
CPN	70	14 / 20	90 / 80 min	4.230 / 5.444
aware	94	34 / 36	90 / 67 min	6.360 / 8.854
unaware	43	3 / 7	90 / 85 min	800 / 1.728

Wie schon für die Variable Adrenalin beschrieben, konnte auch für Noradrenalin nach rechnerischer Elimination des Einflusses der Diabetesdauer keine statistisch signifikante Korrelation mehr nachgewiesen werden zwischen Stärke der Hormonantwort und Höhe der residualen endogenen Insulinreserve.

Jedoch ergab sich auch hier ein signifikanter positiver Zusammenhang zwischen dem Ausprägungsgrad von stattgehabten Hypoglykämien und der Stärke der gegenregulatorischen Hormonsekretion ($p = 0,0002$, $r = -0,56$). Auch der ungerichtete Vergleich der Gruppen gesunde Probanden und Diabetiker mit und ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte zeigte statistisch signifikante

Unterschiede auf, wobei hier die mittleren Rangzahlen der Kontrollpersonen (29,8) und der Diabetiker ohne anamnestisch schwere Hypoglykämien (30,6) nahezu identisch waren, aber deutlich größer als die der von schweren Hypoglykämien betroffenen Diabetiker (7,7).

Die mittleren Rangzahlen bzgl. des Beginns der gegenregulatorischen Noradrenalinsekretion bei den gesunden Probanden und den Diabetikern mit und ohne Stimulierbarkeit der C-Peptid-Konzentration im Serum waren entsprechend den oben genannten Medianen angeordnet. Die Unterschiede waren aber nicht mehr statistisch signifikant.

Mit der Abbildung 3.4 erfolgt noch einmal eine graphische Darstellung der oben genannten Ergebnisse.

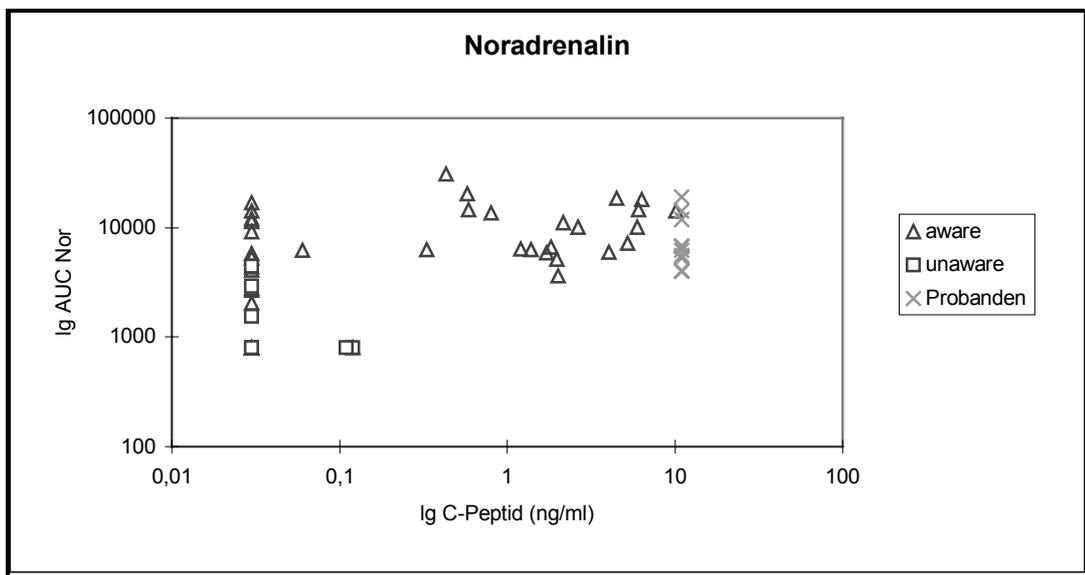


Abb. 3.4: Stärke der gegenregulatorischen Noradrenalinsekretion (logarithmiert) als area under the curve AUC (pg×min/dl) in Abhängigkeit von der Höhe der C-Peptidkonzentration nach Stimulation

3.2.4 Cortisol

Der Anstieg der Cortisolkonzentration während des hypoglykämischen Clamps bei den gesunden Probanden verlief interindividuell sehr unterschiedlich. Bei dreien (27 %) war überhaupt kein Anstieg zu verzeichnen, stattdessen zog sich die bei allen anfänglich vorhandene Suppression über den ganzen Testverlauf hinweg. Als Median der AUC ergab sich 204, das Maximum betrug 1481. Bei einigen erfolgte der Anstieg erst sehr spät (d. h. ab Minute 135) - dann aber umso deutlicher mit

> 100 % , so dass der mittlere Zeitpunkt bei Minute 98 (Median 105), der früheste bei Minute 45 lag.

Bezüglich des Cortisols war bis auf eine Ausnahme (4 %) noch bei allen Patienten mit endogener Insulinreserve ein signifikanter Anstieg zu verzeichnen, der im Mittel nach 79 Minuten (Median 75, Minimum 30, Maximum 120) begann. Der Median der AUC lag mit 492 noch deutlich über dem der Kontrollgruppe. Auch die maximale Stärke der Gegenregulation war größer (1952 vs. 1481).

Bei sechs der 20 C-Peptid-negativen Patienten (30 %) fehlte ein signifikanter Anstieg der Cortisolkonzentration auf den hypoglykämischen Reiz hin. Der Median der AUC befand sich mit 117 deutlich unter dem der beiden anderen Gruppen (204 und 492). Der größte Wert für die AUC betrug hier 1071. Bei zwei Patienten zeigte sich schon nach 45 Minuten ein signifikanter Anstieg, ansonsten erfolgte dieser aber erst spät (Median = Minute 105, Maximum = Minute 135).

Von den sieben als „unaware“ bezeichneten Diabetikern hatten drei (43 %) keine gegenregulatorische Cortisol-Antwort mehr. Bei den übrigen war diese nur gering ausgeprägt (Median der AUC 42, Maximum 182). Unter den „aware“ betrug der Median 395, das Maximum 1952.

Im Folgenden werden die erläuterten Ergebnisse noch einmal tabellarisch (Tab. 3.5) aufgeführt.

Tab. 3.5: *Übersicht über den Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Cortisol-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert (MW) der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben in den einzelnen Gruppen, AUC in $\mu\text{g}\times\text{min}/\text{dl}$*

	Anteil mit Anstieg		Median/MW der	Median
	prozentual	absolut	Zeit bis Anstieg	AUC Cortisol
Kontrollgruppe	73	8 / 11	105 / 98 min	204 / 384
CPP	96	22 / 23	75 / 79 min	492 / 669
CPN	70	14 / 20	105 / 100 min	117 / 268
aware	89	32 / 36	83 / 83 min	396 / 582
unaware	57	4 / 7	120 / 116 min	42 / 68

Mittels der multiplen Regressionsanalyse ließ sich ein statistisch signifikanter positiver Zusammenhang ($p = 0,04$) zwischen der Höhe der gegenregulatorischen

Cortisolsekretion und der Höhe der C-Peptid-Konzentration nach Stimulation zeigen. Erfolgte die statistische Auswertung über den partiellen Rangkorrelationskoeffizienten, so war diese Korrelation nicht mehr statistisch signifikant.

Die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman bzgl. der Vorgeschichte von Hypoglykämien ergab ein ähnliches Ergebnis wie bei den bisher beschriebenen Hormonen ($p = 0,0001$, $r = -0,56$). Das Ergebnis des Kruskal-Wallis-Testes war ebenfalls statistisch signifikant mit den folgenden mittleren Rangzahlen: Kontrollpersonen 24,2, Diabetiker ohne stattgehabte schwere Hypoglykämien 31,8 und solche mit 10,4.

Bezüglich des zeitlichen Beginns des gegenregulatorischen Anstiegs der Cortisolkonzentration ergab sich ebenfalls ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den gesunden Kontrollpersonen und den Diabetikern mit und ohne eigene Insulinreserve, wobei die mittleren Rangzahlen der zuerst und zuletzt Genannten kaum differierten (26 bzw. 27), die der C-Peptid-positiven Diabetiker aber deutlich darunter lag (18) im Sinne eines früheren Beginns.

Mit der folgenden Abbildung (Abb. 3.5) erfolgt eine graphische Darstellung des Zusammenhanges zwischen gegenregulatorischer Cortisolsekretion und residueller endogener Insulinsekretion.

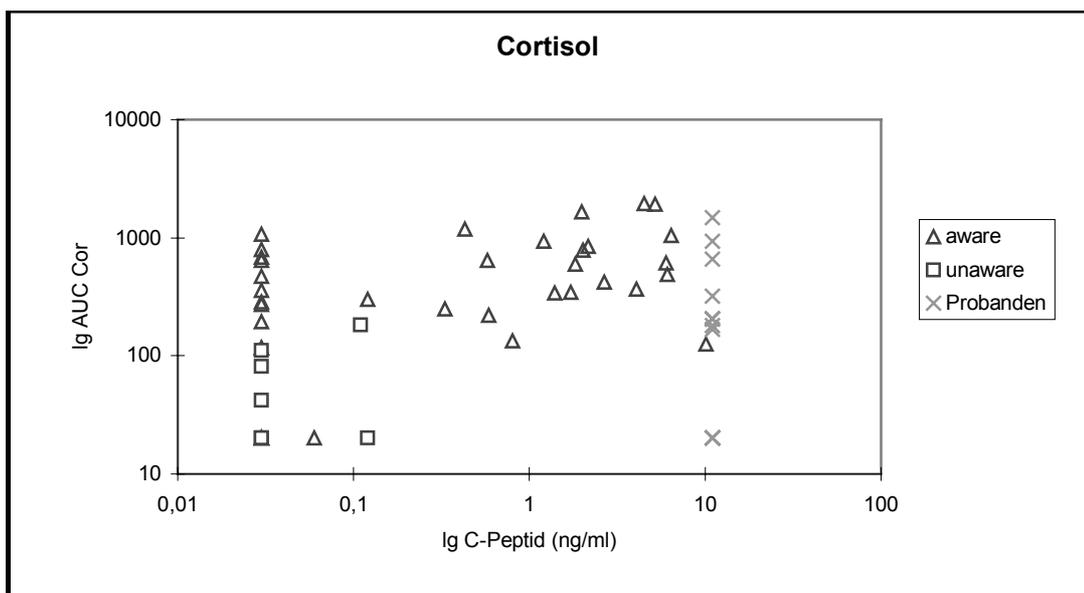


Abb. 3.5: Stärke der gegenregulatorischen Cortisolsekretion (logarithmiert) als area under the curve AUC ($\mu\text{g}\times\text{min}/\text{dl}$) in Abhängigkeit von der Höhe der C-Peptidkonzentration nach Stimulation

3.2.5 STH

Der hypoglykämiebedingte Anstieg der STH-Konzentration im Serum in der Kontrollgruppe begann nach einer anfänglichen Suppression durchschnittlich nach 50 Minuten (Median 30). Bei zwei Personen war von Anfang an ein Anstieg zu verzeichnen, bei einer Probandin kam es erst bei Minute 135 zu einer dann aber sehr deutlichen Gegenregulation. Der Median der AUC ergab 1688 bei einer Streubreite zwischen minimal 126 und maximal 4787.

Unter den Patienten mit noch residualer endogener Insulinsekretion stieg die STH-Konzentration bei sechs von Anfang an. Der durchschnittliche Beginn lag mit Minute 41 (Median 45) etwas früher als in der Kontrollgruppe (spätester Zeitpunkt: Minute 105). Die Stärke der Gegenregulation gemessen am Median der AUC war in der Gruppe der C-Peptid-positiven Patienten (1313) etwas geringer als unter den gesunden Probanden (1688). Die minimale Stärke betrug 365, die maximale 3971.

Bei den C-Peptid-negativen Patienten war die Stärke des STH-Anstiegs während des hypoglykämischen Clamps bzgl. des Medians der AUC mit 777 wiederum noch geringer, bzgl. des Mittelwertes aber identisch (1496). Ein signifikanter Anstieg, der im Mittel nach 61 Minuten (Median 45, Minimum 0, Maximum 120) begann, war noch bei 18 von 20 Patienten (90 %) nachweisbar. Die maximale Stärke betrug 7920.

Am geringsten war die Ausprägung des STH-Anstiegs unter den Diabetikern mit schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte (Median der AUC 630, MW 684). Die beiden Testpersonen ohne signifikanten STH-Anstieg gehörten allerdings nicht zu diesen. Unter den sog. „aware“ ergab der Median der AUC 1302 (MW 1518).

In der nachstehenden Tabelle erfolgt noch einmal eine Zusammenfassung der oben genannten Ergebnisse.

Tab. 3.6: Übersicht über den Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer STH-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert (MW) der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben in den einzelnen Gruppen, AUC in $\text{ng} \times \text{min/ml}$

	Anteil mit Anstieg		Median/MW der	Median
	prozentual	absolut	Zeit bis Anstieg	AUC STH
Kontrollgruppe	100	11 / 11	30 / 50 min	1.688 / 1.645
CPP	100	23 / 23	45 / 41 min	1.313 / 1.496
CPN	90	18 / 20	45 / 61 min	777 / 1.496
aware	94	34 / 36	45 / 48 min	1.302 / 1.518
unaware	100	7 / 7	53 / 60 min	630 / 684

Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Stärke der gegenregulatorischen Hormonantwort und Höhe der C-Peptid-Konzentration ließ sich für das STH mit den beiden verwendeten statistischen Verfahren nicht nachweisen.

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,03$ konnte noch von einer statistisch signifikanten Beziehung zwischen Ausprägung der anamnestischen Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit und der gegenregulatorischen STH-Sekretion ausgegangen werden. Entsprechend der oben genannten Wichtung der einzelnen Gruppen für die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman betrug der Korrelationskoeffizient $-0,33$. Der ungerichtete Gruppenvergleich (Kruskal-Wallis-Test) unter Einbeziehung der gesunden Probanden ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede.

Ebenfalls zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich des zeitlichen Beginns der gegenregulatorischen STH-Sekretion.

Die Abbildung 3.6 gibt eine graphische Darstellung der Beziehung zwischen stimulierter C-Peptid-Konzentration und Stärke der gegenregulatorischen STH-Sekretion.

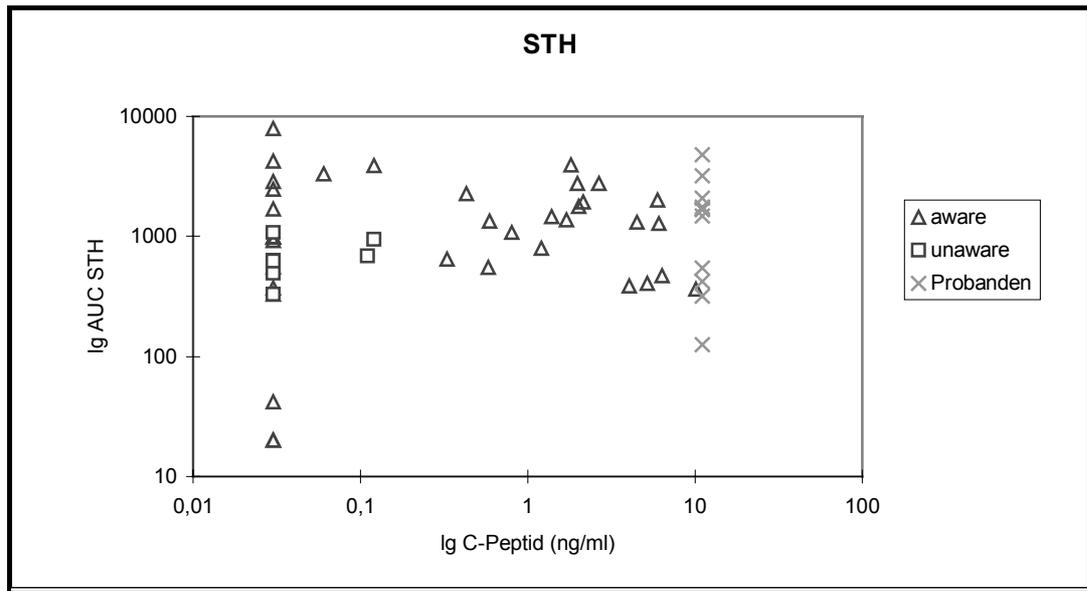


Abb. 3.5: Stärke der gegenregulatorischen STH-Sekretion (logarithmiert) als area under the curve AUC ($\mu\text{g} \times \text{min}/\text{dl}$) in Abhängigkeit von der Höhe der C-Peptidkonzentration nach Stimulation

3.2.6. Glucoseinfusionsrate

Um einen zu starken bzw. zu schnellen, nicht ausreichend durch die endogene Glucosemobilisation im Rahmen der hormonellen Gegenregulation kompensierbaren Abfall der Blutzuckerkonzentration während der Insulinzufuhr zu vermeiden, erfolgte auch eine exogene Glucosezufuhr. Die Tabelle 3.7 bringt eine Zusammenfassung der durchschnittlichen Glucoseinfusionsraten während der verschiedenen Phasen der Untersuchung und für die Differenz zwischen erster und zweiter hypoglykämischer Testphase unter Gegenüberstellung der einzelnen untersuchten Gruppen.

Es fällt insgesamt eine hohe interindividuelle Variabilität im Sinne einer großen Standardabweichung in den verschiedenen Gruppen auf. In der ersten Untersuchungsphase sind Median und Mittelwert eindeutig in der Kontrollgruppe am niedrigsten, während der Hypoglykämie dann aber unter den C-Peptid-positiven Diabetikern. Die durchschnittlich größte Menge an Glucose benötigten die Patienten mit schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte (unaware) und zwar insbesondere während der zweiten hypoglykämischen Phase. Eine deutlich positive Differenz, d. h. geringerer Glucosebedarf während der Phase der ausgeprägteren Hypoglykämie, ergab sich im Mittel nur bei den gesunden Probanden und angedeutet

auch bei den Diabetikern ohne gegenüber denen mit objektivierbar gestörter Hypoglykämiewahrnehmung.

Statistisch signifikante Unterschiede bezogen auf die Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration ließen sich nicht nachweisen.

Für die Phase der tiefsten Hypoglykämie zeigte die Rangkorrelationsanalyse bzgl. der Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit eine statistisch signifikante Korrelation entsprechend der bereits bei den Hormonen beschriebenen Wichtung im Sinne eines höheren Glucosebedarfes bei schlechterer anamnestischer Wahrnehmungsfähigkeit ($p = 0,006$, $r = 0,41$). Für diese Phase ließen sich auch mit dem Kruskal-Wallis-Test signifikante Unterschiede zwischen den gesunden Kontrollpersonen und den Diabetikern mit und denen ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte nachweisen, wobei die mittlere Rangzahl bei letzteren am größten war (im Sinne eines hohen Glucosebedarfes) und bei den Diabetikern ohne stattgehabte schwere Hypoglykämien am niedrigsten. Dieser ungerichtete Vergleich ergab auch für die Differenz der Glucoseinfusionsrate zwischen erster und zweiter hypoglykämischer Testphase einen statistisch signifikanten Gruppenunterschied, anhand der Rangzahlen im Sinne eines bei den Kontrollpersonen und den Diabetikern ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte im Verlauf der Hypoglykämie abnehmenden und bei denen mit einer solchen Vorgeschichte zunehmenden Glucosebedarfes.

Tabelle 3.7: Median (Med.), Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) der Glucoseinfusionsraten in mg/min/kgKG während verschiedener Phasen (Minute 0 – 25, 30 - 75 und 105 - 145) der Untersuchung und für die Differenz zwischen erster (Minute 30 - 75) und zweiter (Minute 105 - 145) hypoglykämischer Phase

	MW (0 - 25)			MW (30 - 75)			MW (105 - 145)			Differenz		
	Med.	MW	SD	Med.	MW	SD	Med.	MW	SD	Med.	MW	SD
Probanden	0,46	0,53	0,39	3,61	4,10	1,50	3,46	3,50	2,17	0,64	0,34	1,43
CPP	0,87	1,35	1,42	2,04	2,38	1,73	1,88	2,5	2,6	0,09	-0,13	2,17
CPN	0,99	1,44	1,41	2,99	2,89	1,40	3,34	3,13	1,79	-0,36	-0,24	1,31
aware	0,87	1,32	1,41	2,04	2,40	1,55	2,25	2,36	2,2	0,39	0,04	1,38
unaware	0,9	1,3	1,04	3,82	3,67	1,61	5,52	5,06	1,09	-1,59	-1,39	0

3.3 Symptomwahrnehmung während des hypoglykämischen Clamps

In den Abb. 3.7 - 3.9 werden zunächst die gesunden Probanden der Gesamtheit der Diabetiker bzgl. ihrer Symptomwahrnehmung während der verschiedenen Testphasen gegenübergestellt. Abb. 3.10 gibt außerdem die Differenz der Höhe der Symptomen-Scores während Normoglykämie und der zweiten hypoglykämischen Phase (durchschnittliche Blutzuckerkonzentration 40 – 45 mg/dl) wieder. Dargestellt sind jeweils oberes und unteres Quartil sowie Median, Maximum und Minimum. In beiden Gruppen bestand zu allen Zeitpunkten eine hohe interindividuelle Variabilität in der subjektiven Wahrnehmung von hypoglykämieanzeigenden Symptomen. Der Bereich zwischen oberem und unterem Quartil lag in der Gesamtgruppe der Diabetiker während allen Testphasen für alle Symptomgruppen bei höheren bzw. ähnlichen Scorewerten wie in der Gruppe der gesunden Probanden. Das untere Quartil für die Differenz des Symptomen-Scores zwischen zweiter hypoglykämischer und normoglykämischer Testphase war immer positiv. Der Median der Differenzen der Gesamtscores betrug bei den gesunden Probanden 5 und in der Gruppe der Diabetiker 6 (davon cholinerg 3 bzw. 4).

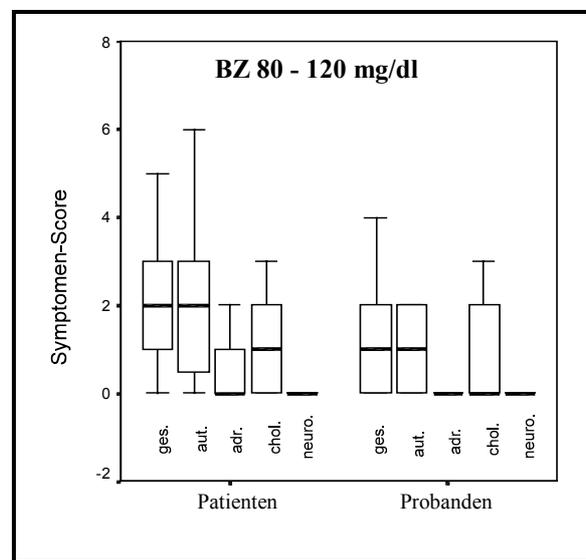


Abb. 3.7: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker (Patienten) während der Phase der Euglykämie (Blutzuckerkonzentration 80 – 120 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

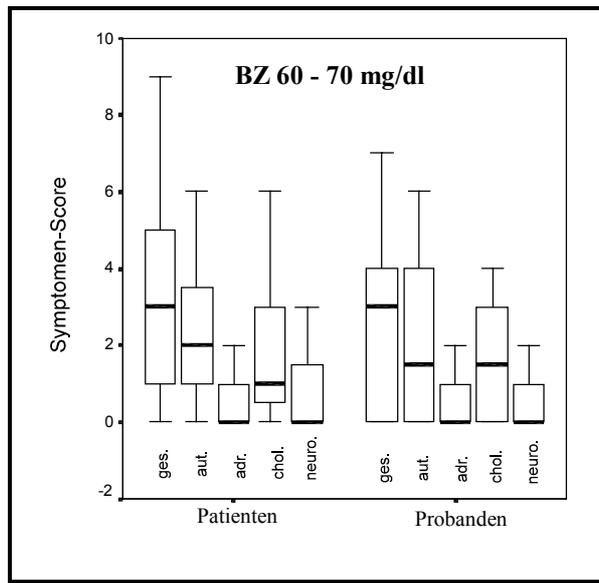


Abb. 3.8: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker (Patienten) während der ersten hypoglykämischen Phase (Blutzuckerkonzentration 60 – 70 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro = neuroglykopenisch

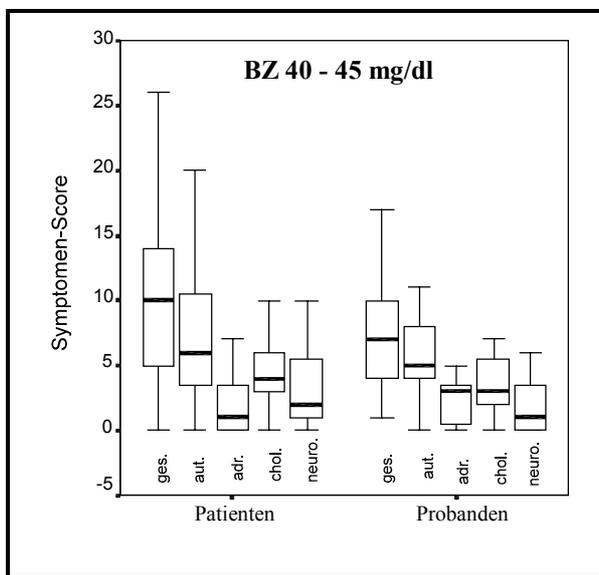


Abb. 3.9: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker (Patienten) während der zweiten hypoglykämischen Phase (Blutzuckerkonzentration 40 – 45 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro = neuroglykopenisch

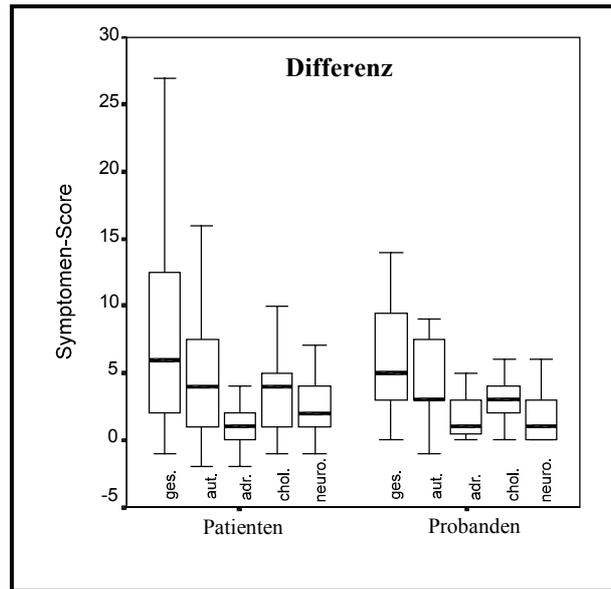


Abb. 3.10: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker (Patienten), Differenz der jeweiligen Symptomen-Scores während Euglykämie und zweiter hypoglykämischer Phase, ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

Im Folgenden wird die Gruppe der gesunden Probanden den beiden Untergruppen von Diabetikern CPP (C-Peptid-positive Diabetiker) und CPN (C-Peptid-negative Diabetiker) gegenübergestellt. Im Rahmen des 50 %-Quartils fallen während Normoglykämie und dem niedrigstem Blutzuckerplateau keine wesentlichen Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen auf. Die oberen Quartile liegen in der Gruppe der CPN mit Ausnahme des autonomen Symptomen-Scores während Normoglykämie jeweils etwas über denen der CPN (vgl. Abb. 3.11 - 3.14). Statistisch signifikante Unterschiede ließen sich während der Blutzuckerkonzentration 60 – 70 mg/dl für den Gesamt-Score und bei näherer Differenzierung den autonomen bzw. cholinergen Symptomen-Score nachweisen. Im Rahmen des Kruskal-Wallis-Testes waren die mittleren Rangzahlen jeweils in der Gruppe der C-Peptid-negativen Diabetikern am höchsten, danach folgten die gesunden Probanden und danach die Diabetiker ohne residuale endogene Insulinsekretion. Die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ergab eine negative Korrelation zur Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration im Serum für die genannten Scores.

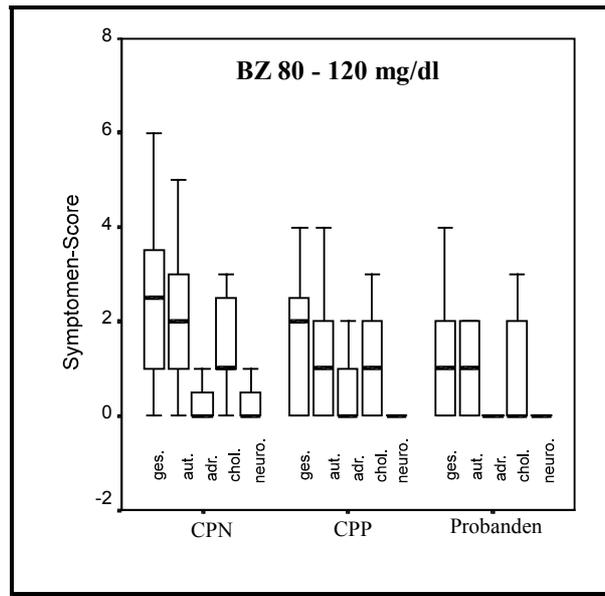


Abb. 3.11: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der C-Peptid-positiven (CPP) und C-Peptid-negativen Diabetiker (CPN) während der Phase der Euglykämie (Blutzuckerkonzentration 80 – 120 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

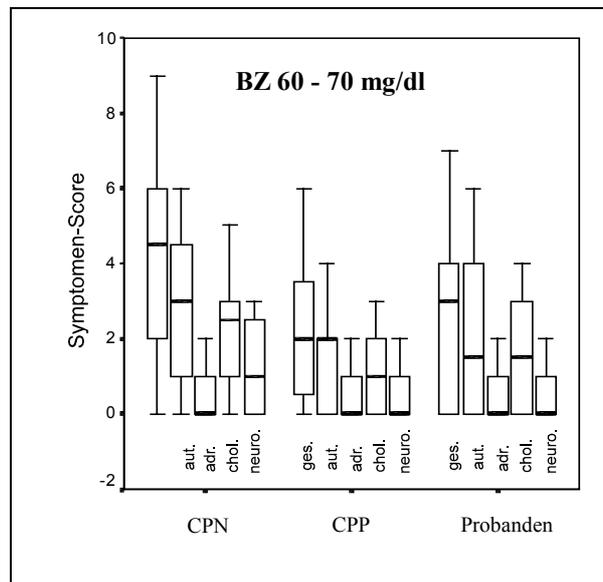


Abb. 3.12: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der C-Peptid-positiven (CPP) und C-Peptid-negativen Diabetiker (CPN) während der ersten hypoglykämischen Phase (Blutzuckerkonzentration 60 – 70 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

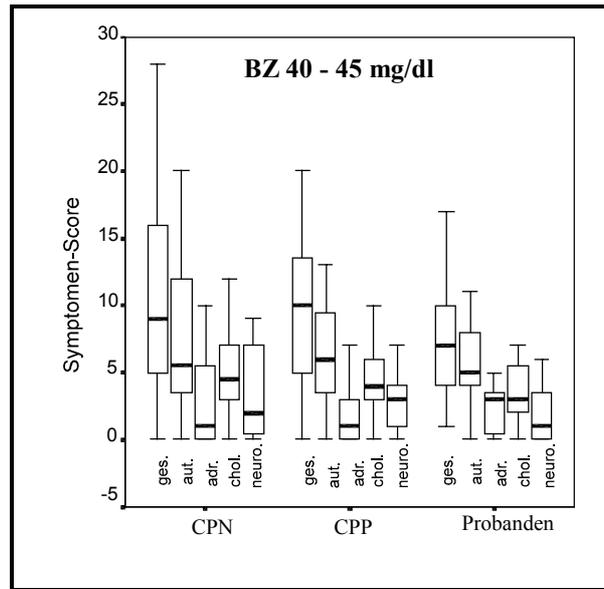


Abb. 3.13: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der C-Peptid-positiven (CPP) und C-Peptid-negativen Diabetiker (CPN) während der zweiten hypoglykämischen Phase (Blutzuckerkonzentration 40 – 45 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

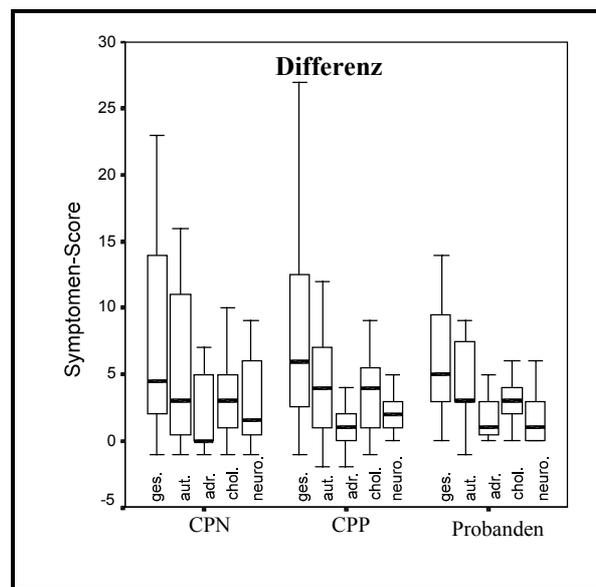


Abb. 3.14: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der C-Peptid-positiven (CPP) und C-Peptid-negativen Diabetiker (CPN), Differenz der jeweiligen Symptomen-Scores während Euglykämie und zweiter hypoglykämischer Phase, ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

Die nächsten Abbildungen (Abb. 3.15 - 3.18) zeigen in derselben Darstellungsweise die Symptomwahrnehmung während des Clamps für die Gruppe der Diabetiker mit schwerer / schweren Hypoglykämie(n) in der Vorgeschichte (unaware) und für

solche ohne (aware), wieder in Gegenüberstellung zu den Nicht-Diabetikern. Das 50 %-Quartil liegt in der Gruppe der „aware“ für den Gesamtscore wie auch für die verschiedenen Symptomgruppierungen jeweils über dem der „unaware“. Die größeren Unterschiede in den Symptomen-Scores während Euglykämie und der zweiten hypoglykämischen Testphase unter den Diabetikern mit schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte im Vergleich zu denen ohne eine solche Vorgeschichte fallen bei den autonomen Symptomen etwas deutlicher auf (50 %-Quartil 2 - 9,25 vs. -1 - 2) als bei den neuroglykopenischen (1 - 4,25 vs. 0 - 2).

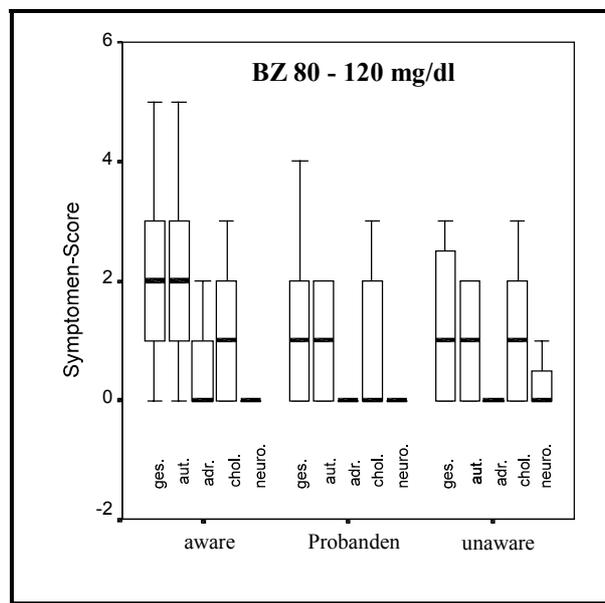


Abb. 3.15: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der Diabetiker ohne (aware) und mit objektiver Wahrnehmungsstörung (unaware) während der Phase der Euglykämie (Blutzuckerkonzentration 80 – 120 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

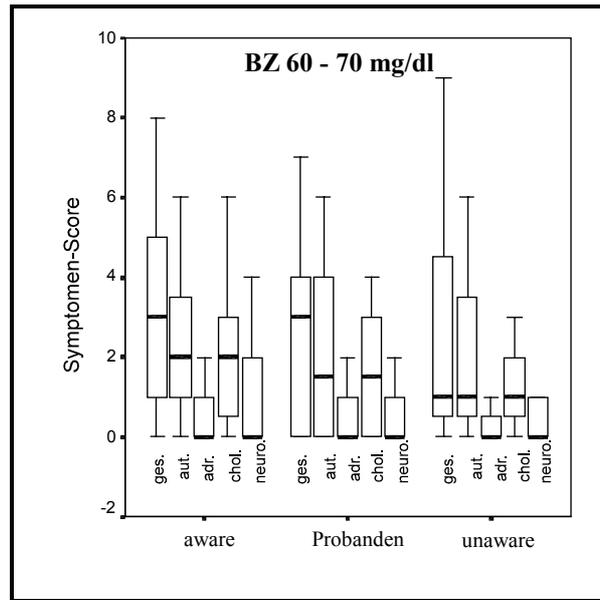


Abb. 3.16: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der Diabetiker ohne (aware) und mit objektivierbarer Wahrnehmungsstörung (unaware) während der ersten hypoglykämischen Phase (Blutzuckerkonzentration 60–70 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

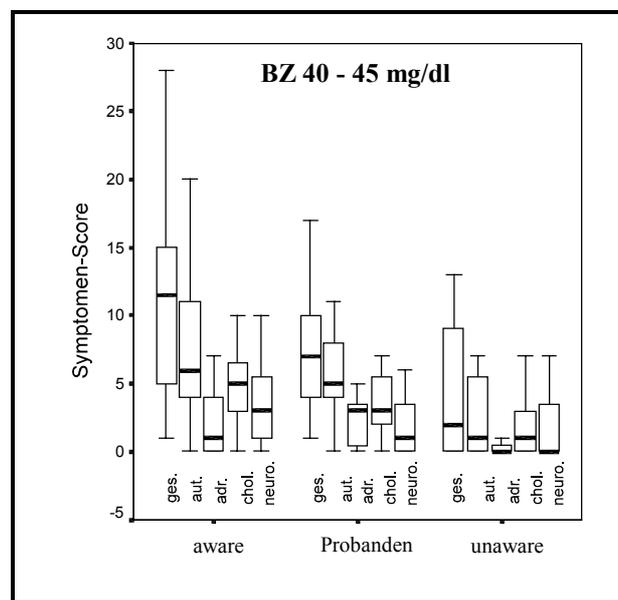


Abb. 3.17: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der Diabetiker ohne (aware) und mit objektivierbarer Wahrnehmungsstörung (unaware) während der zweiten hypoglykämischen Phase (Blutzuckerkonzentration 40–45 mg/dl), ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

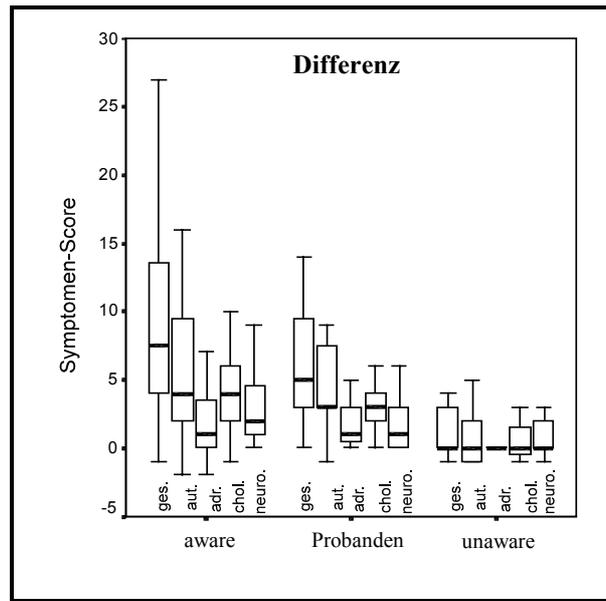


Abb. 3.18: subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der Diabetiker ohne (aware) und mit objektivierbarer Wahrnehmungsstörung (unaware), Differenz der jeweiligen Symptomen-Scores während Euglykämie und zweiter hypoglykämischer Phase, ges. = gesamt, aut. = autonom, adr. = adrenerg, chol. = cholinerg, neuro. = neuroglykopenisch

Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich im Rahmen des Kruskal-Wallis-Testes für alle Symptomgruppierungen außer dem adrenergen Score während des niedrigsten Blutzuckerplateaus und für die entsprechenden Differenz-Scores zwischen Euglykämie und der zweiten hypoglykämischen Phase. Die mittleren Rangzahlen waren hierbei in der Gruppe der „unaware“ jeweils am niedrigsten und unter den „aware“ noch höher als in der Kontrollgruppe.

Im Rahmen der Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman wurden diejenigen Patienten unter den sog. „aware“ als gesonderte Gruppe („subjektiv unaware“) betrachtet, die über wiederholte hypoglykämische Ereignisse, die sich aber nicht im Sinne einer schweren Hypoglykämie objektivieren ließen, berichtet hatten. Die Kontrollgruppe wurde nicht miteinbezogen. Hierbei ergaben sich außer in den oben genannten Bereichen auch für den adrenergen Score statistisch signifikante Unterschiede zwischen den drei Gruppen während der Phase der tiefsten Hypoglykämie zugunsten eines höheren Scores bei den „aware“ gefolgt von den „subjektiv unaware“.

3.4 Konzentrationstest

Unter den gesunden Probanden fiel insgesamt eine sehr geringe Beeinträchtigung bzgl. des Niederschreibens der Zahlenreihe auf. Nur eine Probandin benötigte eine deutlich längere Zeitspanne schon während der ersten hypoglykämischen Testphase und etwa genauso lange für den dritten Test. Bei einem Probanden tauchten in der dritten Zahlenreihe einige Fehler auf, bei zweien wurde die Schrift zittrig. Abb. 3.19 zeigt die Zeitdifferenz zwischen der Dauer für das Schreiben der Zahlenreihe während einer Blutzuckerkonzentration von 40 – 45 mg/dl und 60 – 70 mg/dl. Die Darstellungsweise erfolgt analog zu der der Symptomwahrnehmung mittels Quartilen. Die gesunden Probanden sind hier zunächst der Gesamtheit der diabetischen Testpersonen gegenübergestellt. Letztere waren meist im zweiten Test sogar schneller als im ersten, brauchten dann aber für den dritten Test in der Regel wieder deutlich länger. Der Median der Zeitdifferenz zwischen zweitem und drittem Test lag unter den Diabetikern bei 31,5 Sekunden, das Minimum bei –65 Sekunden, die größte Differenz betrug 125 Sekunden (Kontrollkollektiv –3 s, -10 s, 13 s).

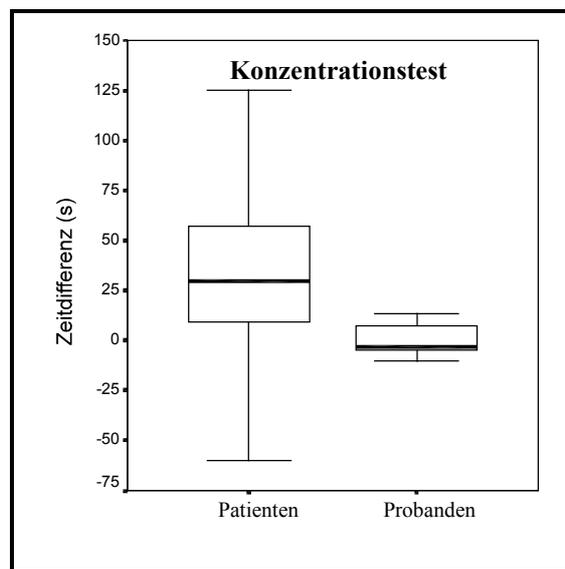


Abb. 3.19: Differenz der für den Konzentrationstest benötigten Zeit während erster und zweiter hypoglykämischer Phase unter den gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker (Patienten)

In der Gruppe der Diabetiker mit noch residualer endogener C-Peptid-Konzentration war ein Proband überhaupt nicht zum Schreiben der Zahlenreihe in der Lage, eine Probandin musste beim dritten Test nach 130 Sekunden abbrechen und eine weitere konnte in der letzten Testphase gar nicht mehr mit dem Schreiben beginnen. Der

Median der Zeitdifferenz betrug 30 Sekunden, der größte Unterschied 125 Sekunden, ein Clamp-Teilnehmer war im dritten Test 60 Sekunden schneller als im zweiten.

Unter den C-Peptid-negativen Diabetikern mussten vier den Konzentrationstest während der Testphase mit der angestrebten Blutzuckerkonzentration von 40 - 45 mg/dl abbrechen (nach 60, 70 , 75 bzw. 390 Sekunden). Vier andere waren schneller als während der zweiten Testphase. Die größte Zeitdifferenz betrug 121 Sekunden, der Median lag bei 32,5 Sekunden.

Der Kruskal-Wallis-Test wies einen signifikanten Unterschied zwischen den drei Gruppen CPN, CPP und gesunde Probanden nach. Die mittleren Rangzahlen betragen 31, 30 und 15. Mit Hilfe der Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman konnten bzgl. der Konzentration des stimulierten C-Peptids unter Ausschluss der Kontrollgruppe keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden.

Abb. 3.20 stellt die gesunden Probanden den beiden Gruppen CPP (Diabetiker mit noch stimulierbarem C-Peptid) und CPN (C-Peptid-negative Diabetiker) gegenüber.

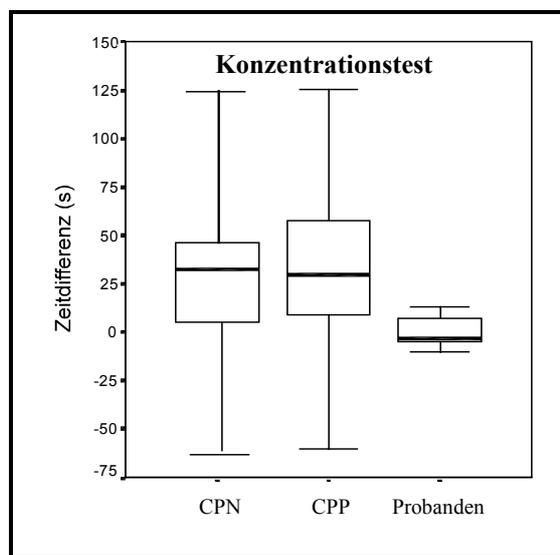


Abb. 3.20: Differenz der für den Konzentrationstest benötigten Zeit während erster und zweiter hypoglykämischer Phase unter den gesunden Probanden, den C-Peptid-positiven (CPP) und C-Peptid-negativen Diabetikern (CPN)

In der nächsten Abbildung (Abb. 3.21) erfolgt nun wieder eine Gegenüberstellung der Diabetiker mit (unaware) und ohne (aware) Vorgeschichte schwerer Hypoglykämien. Das 50 %-Quartil der „unaware“ (33 - 89 s) liegt deutlich über dem der „aware“ (7 - 41 s), das der Nicht-Diabetiker (-5 - 7,5 s) noch unter dem der

„aware“. Auch hier ergab der Gruppenvergleich (gesunde Probanden, „aware“ und „unaware“) mittels Kruskal-Wallis-Test einen statistisch signifikanten Unterschied (mittlere Rangzahlen 13, 30 und 33), die Berechnung des Rangkorrelationskoeffizienten mit der Wertung „aware* – subjektiv unaware – unaware“ allerdings keinen.

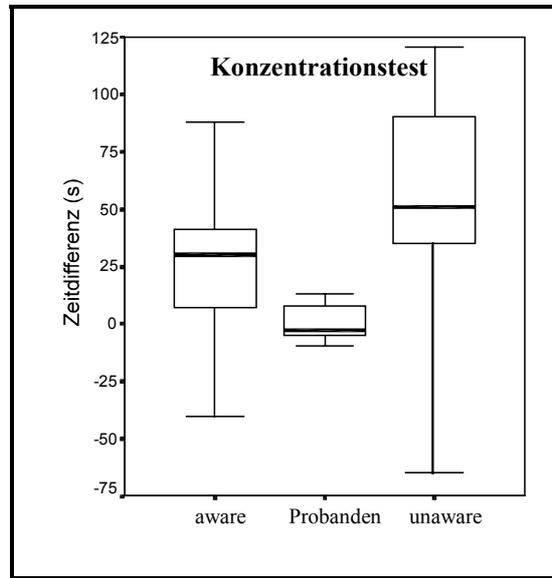


Abb. 3.21: Differenz der für den Konzentrationstest benötigten Zeit während erster und zweiter hypoglykämischer Phase unter den gesunden Probanden, den Diabetikern mit (unaware) und ohne (aware) objektivierbare Wahrnehmungsstörung

4. Diskussion

4.1 Angewandte Methodik

4.1.1 Kollektiv

Als zu untersuchendes Kollektiv diente eine Gruppe von 43 Typ-1-Diabetikern, die sich zum Zeitpunkt der Durchführung des Clamps in ambulanter oder stationärer Behandlung in der Medizinischen Klinik III und Medizinischen Poliklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen befanden und der Untersuchung zugestimmt hatten. Bei einem Teil bestanden schon Anfangsstadien diabetischer Folgeerkrankungen oder auch andere Begleiterkrankungen. Das Vorliegen einer autonomen Neuropathie wurde bei allen ausgeschlossen. Dies wurde auch in den meisten Studien mit Durchführung hypoglykämischer Clamps vorausgesetzt (14, 25, 40, 53, 58, 82, 83, 100), oder die Studienteilnehmer wurden entsprechend diesem Kriterium in verschiedene Gruppen aufgeteilt (19, 64, 95, 114). Bezüglich gleichzeitig bestehender Folge- bzw. Begleiterkrankungen neben einer autonomen Neuropathie finden sich in der Literatur unterschiedliche, zum Teil auch keine Angaben, (14, 19, 21, 46, 64) bzw. nur die Information, dass die Probanden keine Medikamente außer Insulin (82) oder zusätzlich noch L-Thyroxin (56) einnahmen. Die meisten konkreten Ausschlusskriterien finden sich in einer Studie von *Dagogo-Jack et al.* (40): Nephropathie, unbehandelte proliferative Retinopathie, KHK, Hypertonus. *Howorka et al.* sorgten dagegen lediglich dafür, dass in den zu vergleichenden Gruppen die Häufigkeit und Art von Komplikationen vergleichbar war (4). Bei manchen ist jegliche Art von mikroangiopathischen bzw. nicht näher beschriebenen diabetischen Folgeerkrankungen ein Ausschlusskriterium (42, 58, 70), andere formulieren lediglich das Nichtvorliegen einer (nicht näher beschriebenen) Neuropathie (2, 25), einer Nieren- bzw. Leberfunktionsstörung (72) oder einer proliferativen Neuropathie und die Voraussetzung einer normalen Nierenfunktion (definiert über die Serum-Creatininkonzentration) (1), ohne auf weitere Einzelheiten einzugehen. In einer Studie von *Fanelli et al.* lag bei einem Teil der Probanden eine Retinopathie (Schweregrad nicht beschrieben) vor, sonst aber keine Komplikationen (53). In unserem Kollektiv bestand bei vier Personen eine leichte Nephropathie mit

persistierender Mikroalbuminurie aber ohne Einschränkung des Glomerulumfiltrates, bei zweien eine periphere Neuropathie und bei dreien eine leichte (nicht-proliferative) Retinopathie. Über das gleichzeitige Bestehen bzw. Nicht-Vorliegen von anderen Erkrankungen gibt es in nur wenigen Studienprotokollen überhaupt Aussagen. *Jones et al.* (72) erwähnen das Vorliegen akuter Erkrankungen als Ausschlusskriterium, in zwei anderen Studien (83, 102) wird der Ausschluss anderer Erkrankungen beschrieben, in vielen das Fehlen einer anderen Medikation außer Insulin. Unter den Diabetikern dieser Studie lag bei dreien ein arterieller Hypertonus vor, bei zweien eine Hyperlipoproteinämie, bei einer eine Thyreoiditis und bei einem ein IgG-Mangel. Dementsprechend war unter der Medikation außer Insulin die Einnahme von L-Thyroxin, eines ACE-Hemmers, eines Calcium-Antagonisten und eines Statins sowie eines pflanzlichen Immunstimulans zu verzeichnen. Die Einnahme von L-Thyroxin bzw. ACE-Hemmern ist auch in anderen Studien beschrieben (29, 56). Insgesamt wurde darauf geachtet, dass es sich ausschließlich um Medikamente handelte, die dem gegenwärtigen Wissensstand entsprechend keinen Einfluss auf das autonome Nervensystem haben. Bezüglich der Einnahme von ACE-Hemmern bleibt zu erwähnen, dass von *Pedersen-Bjergaard et al.* in einer neueren Studie eine positive Korrelation zwischen der Höhe der ACE-Aktivität im Serum und der Häufigkeit von schweren Hypoglykämien beschrieben wird (102). Einige Frauen sowohl aus dem Kollektiv der Diabetiker wie auch aus dem Kontrollkollektiv nahmen ein orales Kontrazeptivum ein. Da unter Östrogenapplikation die Konzentration von Cortisol-bindendem Globulin (CBG) erhöht ist und Cortisol zu 75 % an CBG gebunden vorliegt (98), führte dies zu einer zwei- bis dreifach erhöhten Ausgangskonzentration von Cortisol im Serum und damit zum Teil zu Problemen bei der Auswertung der Cortisol-Antwort bei prolongierter Suppression durch die Insulinzufuhr. In der entsprechenden Literatur findet die Einnahme von Kontrazeptiva keine gesonderte Erwähnung.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde nicht zwischen ICT und CT unterschieden, da nur ein sehr geringer Anteil der Probanden konventionell behandelt wurde und dies nur solche mit noch residualer endogener Insulinsekretion waren, die auch unter diesem Therapieregime eine gute metabolische Kontrolle erreichen konnten. Andererseits fanden sich unter den vielen Patienten unter ICT auch einzelne mit HbA1c-Werten > 9%. Es wurde ferner davon ausgegangen, dass die Qualität der

Stoffwechseleinstellung im HbA1c-Wert ausreichend repräsentiert ist. Vielfach findet sich in der Literatur die Aussage, dass unter ICT das Risiko der Entwicklung schwerer Hypoglykämien deutlich größer sei als unter CT (1, 108, 119, 122, 129) bzw. intermittierende leichte Hypoglykämien zu einer gestörten Gegenregulation und damit einem erhöhten Risiko für schwere Hypoglykämien führen (29, 39, 82, 106, 130). Dabei bleibt zu bedenken, dass der HbA1c-Wert dabei in der intensiviert behandelten Gruppe in der Regel deutlich geringer war. Im DCCT lag der HbA1c-Anteil zu Studienbeginn in beiden Gruppen bei ca. 9 %. Im weiteren Verlauf kam es zu einer deutlichen Reduktion desselben unter ICT, nicht aber unter CT. Es fiel auf, dass der prozentuale Risikoanstieg für eine Reduktion des HbA1c-Anteils um 10% in der intensiviert behandelten Gruppe deutlich geringer war als unter den konventionell Behandelten und in beiden Gruppen wiederum die Höhe dieses Risikoanstieg mit der aktuellen Höhe des HbA1c-Anteiles fiel (vgl. auch Punkt 1.1.4.5). Für etwa 60 % der zwei- bis dreifach erhöhten Inzidenz schwerer Hypoglykämien unter intensiviert behandelten Diabetikern ließen sich Unterschiede in den HbA1c-Werten als wahrscheinliche Ursache eruieren (120, 121).

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung war bemerkenswerterweise der Median des HbA1c-Wertes bei Einteilung der Diabetiker anhand der Hypoglykämie-vorgeschichte in der Gruppe der „aware*“ am niedrigsten (7 %) und am höchsten unter den als „subjektiv unaware“ Bezeichneten (8,4 %). Eine vorhandene residuale endogene Insulinsekretion war tendenziell mit einer besseren Diabeteseinstellung verbunden im Sinne eines höheren Median-Wertes für den prozentualen HbA1c-Anteil in der Gruppe der CPN gegenüber den CPP (7,6 vs. 6,7 %). Diese Gruppenunterschiede erreichten aber, wahrscheinlich infolge der recht hohen interindividuellen Variabilität innerhalb der einzelnen Gruppen, keine statistische Signifikanz. Eine gesonderte statistische Auswertung zur möglichen Elimination eines eigenständigen Einflusses der Diabetesdauer auf die Güte der Diabeteseinstellung erfolgte nicht.

Die hier verwendete Einteilung der Diabetiker bzgl. der Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit anhand der Hypoglykämievorgeschichte ist sicherlich nicht ganz unproblematisch – insb. was die Gruppe der „subjektiv unaware“ betrifft. Die Definition für diese Gruppe entbehrt zum einen wirklich „harter“ Kriterien, da die Zuverlässigkeit der häuslichen Blutzuckermessung nicht als absolut angesehen

werden kann, zum anderen werden die so bezeichneten Diabetiker bei den Auswertungen, die nur zwischen „aware“ und „unaware“ unterscheiden, den „aware“ zugeordnet, so dass sich gewisse Überschneidungen ergeben. Zunächst sollte nur zwischen „aware“ und „unaware“ unterschieden werden, wobei die „unaware“ das „harte“ Kriterium von mindestens einer schweren Hypoglykämie innerhalb des letzten Jahres erfüllen mussten. Angesichts von einigen Patienten, die über rezidivierende Blutzuckerkonzentrationen von < 50 mg/dl berichteten, sollte diese Tatsache jedoch nicht völlig unberücksichtigt bleiben – insb. unter der Annahme, dass bei entsprechender Häufung solcher Messungen nicht allein von Fehlbestimmungen auszugehen sein dürfte. Einzelne Messungen von Blutzuckerkonzentrationen < 50 mg/dl wurden dagegen nicht berücksichtigt. Die statistischen Auswertungen wurden schließlich zum einen anhand der mit objektivierbaren Kriterien erfolgten Gruppeneinteilung „gesunde Probanden“, „aware“ und „unaware“ und zusätzlich anhand der etwas differenzierteren, aber nicht gänzlich objektivierbaren Einteilung „aware*“, „subjektiv unaware“ und „unaware“ durchgeführt.

4.1.2 Untersuchungsmethode

Intravenöse Insulininfusionstests bei Diabetikern und gesunden Probanden werden schon lange in Studien genutzt, um die hormonelle Gegenregulation und Symptomwahrnehmung während hypoglykämischer Episoden beurteilen zu können – u. a. mit dem Ziel, Patienten mit einem erhöhten Risiko für Hypoglykämien unter intensivierter Insulintherapie zu identifizieren (129). Anfangs wurde nur Insulin kontinuierlich in einer festgelegten Geschwindigkeit über einen bestimmten Zeitraum infundiert und dann u. a. der niedrigste erreichte Blutzuckerwert registriert (12, 13, 26, 46, 129). Später wurden immer häufiger hypoglykämische Clamps durchgeführt, bei denen die Plasmaglukosekonzentration mittels konstanter Insulin- und variabler Glucoseinfusionsrate gezielt in mehreren Schritten abgesenkt wird (1, 2, 53, 54, 72, 130). Während bei den reinen Insulininfusionstests die Insulininfusionsrate in der zweiten Testhälfte in der Regel halbiert wird, um zu schwere Hypoglykämien zu vermeiden, wird sie bei den Untersuchungen mit gleichzeitiger Glucoseinfusion verdoppelt, um der normalerweise einsetzenden hormonellen Gegenregulation Rechnung zu tragen.

In einer Studie von *Bolli et al.* (13) erwies sich ein solcher Test als sehr gut reproduzierbar mit Variationskoeffizienten von durchschnittlich $< 8\%$ für die gegenregulatorischen Hormonantworten während drei im Abstand von drei bis vier Wochen aufeinanderfolgender Untersuchungen an jeweils demselben Kollektiv (Typ-1-Diabetiker ohne Insulinreserve und gesunde Probanden).

White et al. konnten eine gestörte hormonelle Gegenregulation während ihres Insulininfusionstestes deutlich mit dem Risiko der Entwicklung schwerer Hypoglykämien unter intensiver Insulintherapie korrelieren, während sich für das Vorliegen einer peripheren oder autonomen Neuropathie oder einer Vorgeschichte von schweren Hypoglykämien unter konventioneller Insulintherapie keine Korrelationen ergaben (129). Auch in einer Studie von *Schneider et al.* erwies sich der hyperinsulinämisch-hypoglykämische Clamp als wesentlich zuverlässiger in der Beurteilung der Hypoglykämiegefährdung und der Erfassung einer gestörten hormonellen Gegenregulation als die alleinige Erhebung der Hypoglykämieanamnese (110).

Andererseits finden sich zwischen den verschiedenen Studien bzgl. der Ergebnisse im Detail (insbesondere Schwellenwerte für hormonelle Gegenregulation und Hypoglykämiewahrnehmung) zum Teil nicht unerhebliche Unterschiede. Diese lassen sich auch nur teilweise durch die ebenfalls bestehenden Unterschiede in den Studienprotokollen wie Definition von Patientenkollektiv (Ein- und Ausschlusskriterien) und Signifikanz eines Befundes (insbesondere bzgl. des Anstiegs der Serumkonzentration eines gegenregulatorischen Hormons), Ablauf der Untersuchung (Geschwindigkeit des Blutzuckerabfalls, Dauer der Hypoglykämie, Insulin- und Glucoseinfusionsrate) und Messmethoden (arterialisiertes vs. venöses Blut, Häufigkeit der Blutentnahmen für die Hormonbestimmung, Art und Weise und Häufigkeit der Erfassung der Hypoglykämiewahrnehmung) erklären.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurde ein vereinfachtes Studienprotokoll zur problemlosen ambulanten Durchführung verwendet. Bei den meisten Studienteilnehmern wurde der hypoglykämische Clamp auch tatsächlich ambulant durchgeführt, so dass sich diese nicht schon am Vortag in stationäre Behandlung begeben mussten. Auch konnten die Probanden nach Stabilisierung der Blutzuckerkonzentration noch am selben Tag wieder entlassen werden. Bei keinem

traten nach der Entlassung Probleme auf, insbesondere keine protrahierten Hypoglykämien.

Die Größe der Insulinfusionsrate wird in den meisten Studien in Korrelation zur Körperoberfläche oder zum Körpergewicht des Probanden gesetzt. Hier erfolgte die Berechnung der individuellen Insulinfusionsrate über den Body-Mass-Index (BMI) der einzelnen Versuchspersonen, um so die unterschiedliche Verstoffwechslung von Insulin in den verschiedenen Geweben des Körpers berücksichtigen zu können. *Kahn et al.* fanden beim Menschen eine negative Korrelation zwischen der Expression von GLUT4-Glucosetransportern und dem BMI und zwischen dem prozentualen Fettanteil und dem Anteil an Typ-I-Muskelfasern. An Ratten konnten sie nachweisen, dass die GLUT4-Expression in Typ-I-Muskelfasern am höchsten ist (22).

Andererseits erhielten so aber z. T. Personen, die sich bzgl. des Körpergewichtes und der Körpergröße deutlich unterschieden aufgrund eines übereinstimmenden BMI dieselbe Menge Insulin. Bei den später gemessenen Plasmainsulinkonzentrationen fanden sich auch zum Teil interindividuell recht große Unterschiede, die sich aber zumindest nicht allein hierauf zurückführen ließen.

Im Rahmen vieler dieser hypoglykämischen Clamps wurden auch die Schwellenwerte der Blutzuckerkonzentration für die Auslösung der verschiedenen hormonellen gegenregulatorischen Antworten und der Symptomwahrnehmung bestimmt. Um arterialisiertes Blut zu gewinnen (durchschnittliche Differenz der Plasmaglukosekonzentration zwischen arteriellem und arterialisiertem venösen Blut ca. 0,1 mmol/l bzw. 1,8 mg/dl, zwischen arteriellem und venösem ca. 0,2 mmol/l bzw. 3,6 mg/dl, (125)), wurde deshalb in der Regel eine Handrückenvene retrograd cannuliert und die Hand für die Dauer des Tests in eine Wärmebox gelegt. Nichtsdestotrotz ergaben sich in den einzelnen Studien zum Teil sehr deutliche Unterschiede im Hinblick auf die glykämischen Schwellen für die verschiedenen Hormone und Symptome (1, 2, 47, 53, 54, 72, 100, 130). Dies könnte zum einen an der unterschiedlichen Geschwindigkeit der Absenkung der Blutzuckerkonzentration liegen (wobei sich allerdings in einer Studie von *Amiel et al.* (2) keine Korrelation zwischen Geschwindigkeit des Abfalls der Glucosekonzentration und den glykämischen Schwellen zeigte), zum anderen an den nicht einheitlichen Definitionen, was als Schwellenwert zu betrachten ist. Weiterhin kommt hierbei

sicherlich eine hohe interindividuelle Variabilität zum Tragen, die sich auch unter Gesunden beobachten lässt (1, 2) und auch im Rahmen dieser Untersuchung auffiel.

In der vorliegenden Studie wurde auf die Schwellenwertbestimmung verzichtet und stattdessen der Schwerpunkt auf die Ermittlung der Stärke der hormonellen Gegenregulation gelegt. Somit wurde auch auf die Verwendung arterialisierten Blutes für die laborchemischen Untersuchungen verzichtet, so dass an beiden Armen - wahrscheinlich weniger schmerzhaft - eine Unterarmvene antegrad punktiert werden konnte.

Um während des Clamps schneller auf abfallende Blutzuckerkonzentrationen reagieren zu können, erfolgte die fünfminütliche Bestimmung derselben mittels Glucose-Dehydrogenase-Technik aus venösem Vollblut. Weiterhin ist dieses Vorgehen bedingt durch den Wegfall des Zentrifugierens und Pipettierens jeder einzelnen Blutprobe während des Clamps auch mit einem geringeren personellen Aufwand verbunden. Anhand der 15minütigen größeren Blutentnahmen wurden im Anschluss an die Untersuchung die Plasmaglukosekonzentrationen mittels Glucose-Oxidase-Technik bestimmt. Nur diese Werte gingen in die Auswertung ein. In dieser Art und Weise gingen zum Beispiel auch *Havel* und *Ahren* und *Hepburn et al.* in ihren Studien vor, die ebenfalls nicht auf die Bestimmung von glykämischen Schwellen abzielten (63, 66).

Aufgrund des höheren prozentualen Wasseranteils von Plasma bzw. Serum gegenüber Vollblut ist davon auszugehen, dass die in Vollblut gemessene Glukosekonzentration ca. 12 % größer ist. Da zu starke Hypoglykämien während der Untersuchung vermieden werden sollten und während des Clamps die Bestimmung der Glukosekonzentration ja aus Vollblut erfolgte, liegen daher bei den meisten Probanden die später bestimmten, in die Auswertung eingehenden Plasmaglukosekonzentrationen insbesondere in der letzten Testphase tendenziell eher im oberen angestrebten Bereich oder etwas darüber. Andererseits entsprechen die während der Untersuchung zur Einschätzung der Ausprägung der Hypoglykämie berücksichtigten Glukosekonzentrationen in Vollblut eher den Gegebenheiten im alltäglichen Leben eines Diabetikers (66).

Zur Einschätzung der Konzentrationsfähigkeit der Testpersonen im Rahmen der Entwicklung einer Hypoglykämie wurde der in Kapitel 2.2.1 beschriebene Zahlentest

verwendet. Dieser konnte einfach, schnell und ohne größeren personellen und materiellen Aufwand durchgeführt werden. Allerdings stellte sich heraus, dass sich das Niederschreiben der Zahlenreihe für Personen, die den Umgang mit Zahlen nicht gewohnt waren, sehr schwierig gestaltete (eine Person war sogar überhaupt nicht dazu in der Lage), andere dies aber scheinbar tun konnten, ohne überhaupt darüber nachdenken zu müssen. In der zuerst genannten Personengruppe reduzierte sich die zum Schreiben der Zahlenreihe benötigte Zeitspanne zumeist von der euglykämischen zur ersten hypoglykämischen Testphase. Dies dürfte wohl auf einen Übungseffekt zurückzuführen sein. Um diesen Effekt verbunden mit der sehr unterschiedlichen „Ausgangsschnelligkeit“ der einzelnen Probanden zu reduzieren, gingen in die statistische Auswertung jeweils nur die Differenzen der benötigten Zeit für die Durchführung des Zahlentestes in der ersten und zweiten hypoglykämischen Testphase ein.

Die Beurteilung der Wahrnehmungsfähigkeit von hypoglykämieanzeigenden Symptomen erfolgte in den einzelnen Phasen der Untersuchung jeweils anhand des unter Punkt 2.2.1 beschriebenen Fragebogens. Dieser wurde unter Berücksichtigung der Studienergebnisse von *Towler et al.* (123) erstellt. Dies erfolgte auch in vielen anderen Studien in sehr ähnlicher Art und Weise (z. B. 40, 70). *Hepburn et al.* ermittelten und unterteilten mit Hilfe einer Faktoranalyse hypoglykämieanzeigende Symptome. Sie empfahlen daraufhin die Verwendung eines insgesamt 28 Symptome (inkl. zehn „dummy questions“) mit einer Abstufung von 1 (nicht vorhanden) bis 7 (maximal vorhanden) enthaltenden Fragebogens (66). Bezüglich der Einordnung der Symptome kamen sie zu etwas anderen Ergebnissen. Insbesondere die Wahrnehmung Hunger konnte nicht eindeutig nur der autonomen Gruppe zugeordnet werden. Das Symptom „warmness“, welches von *Towler et al.* als neuroglykopenischer Genese eingestuft wurde, fiel dagegen in dieser Studie in die Gruppe der autonomen Symptome. In unseren Fragebogen wurde es daher und aufgrund der etwas problematischen Definition nicht aufgenommen. Inwieweit die Verwendung von sog. „dummy questions“ zur Aufdeckung einer nachlassenden Ernsthaftigkeit der Studienteilnehmer bei der Beantwortung der Fragen notwendig ist, oder ob nicht gerade eine so große Zahl von Fragen der Compliance eher abträglich ist, sei dahingestellt.

4.1.3 Auswertung

Bei den in der vorliegenden Untersuchung gewonnenen Daten bzgl. der hormonellen Gegenregulation handelt es sich um serielle Messungen mit Abhängigkeit der einzelnen Werte einer Messreihe voneinander. *Matthews et al.* beschreiben als statistisch gültige und adäquate Methode zur Analyse solcher Daten die Bestimmung der jeweiligen Flächen unter den einzelnen Kurven (AUC - area under the curve) mit anschließendem Vergleich der so gewonnenen Zahlenwerte (92). So wurde auch hier vorgegangen. Da biologische Variablen aber in der Regel nicht normalverteilt sind, wurden die berechneten AUC-Werte vor dem Vergleich untereinander log-transformiert (vgl. auch 64).

Mit der Auswahl des Parameters AUC als Indikator für die Stärke der hormonellen Gegenregulation wurde auch der hohen interindividuellen Variabilität im Verlauf der hormonellen Antworten dahingehend Rechnung getragen, dass sowohl Dauer als auch Höhe des Anstiegs der jeweiligen Hormonkonzentrationen im Serum in die Auswertung miteingingen. Durch das Einbeziehen des Zeitfaktors erfolgte indirekt auch eine Berücksichtigung der Schwelle für den Beginn einer signifikanten hormonellen Gegenregulation. Auch in verschiedenen anderen Studien zur Hypoglykämie-Gegenregulation wurde dieser Parameter zur Darstellung und zum Vergleich der Hormonantworten verwendet (14, 29, 63, 77, 81, 87).

Zusätzlich erfolgte eine statistische Auswertung bzgl. des zeitlichen Beginns der gegenregulatorischen Hormonsekretion. Dies erschien angesichts einer jeweils nicht exakt nach Protokoll kontinuierlich fallenden bzw. konstant bleibenden Blutzuckerkonzentration angemessener als der Vergleich der jeweils gerade zum Zeitpunkt des Beginns der Gegenregulation gemessenen Plasmaglukosekonzentration.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 hormonelle Gegenregulation

Wie schon unter Punkt 2.3.3 beschrieben erfolgte die Auswertung bezüglich einer möglichen Korrelation zwischen Höhe der residualen endogenen Insulinsekretion und Stärke der hormonellen Gegenregulation über statistische Testverfahren, die die enge Korrelation zwischen Diabetesdauer und Konzentration des stimulierten C-Peptids berücksichtigten im Sinne einer Elimination des Einflusses der

Diabetesdauer. Betrachtet man die rohen Rangkorrelationskoeffizienten, so liegen diese für alle Hormone bis auf STH ($r = 0,16$ bzw. $r = -0,29$) zwischen $0,5$ und $0,7$ (C-Peptid) bzw. $-0,5$ und $-0,6$ (Diabetesdauer) und lassen so eine deutliche Korrelation vermuten. Auch im Rahmen der multiplen Regressionsanalyse gehen die Irrtumswahrscheinlichkeiten für eine Korrelation zwischen Stärke der hormonellen Gegenregulation und dem gemeinsamen Einfluss von C-Peptid und Diabetesdauer für alle Hormone außer STH gegen Null. Diese Betrachtungsweise lässt aber die enge Korrelation zwischen Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration und der Diabetesdauer ($r = -0,85$, bei alleiniger Betrachtung der C-Peptid-positiven Diabetiker $r = -0,4$) außer Acht. Daher wurde zusätzlich der partielle Rangkorrelationskoeffizient bzw. im Rahmen der multiplen Regressionsanalyse die Irrtumswahrscheinlichkeiten für den jeweils alleinigen Einfluss von C-Peptid und Diabetesdauer berechnet. Ohne dieses weitere Verfahren lässt sich jedoch letztendlich schon folgern, dass die Kombination aus zunehmender Diabetesdauer und abnehmender endogener Insulinreserve deutlich mit einer abnehmenden Stärke der hormonellen Gegenregulation korreliert ist. Ebenso ließ sich mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Testes anhand der mittleren Rangzahlen eine deutliche Tendenz zu einem späteren zeitlichen Beginn der Gegenregulation in der Gruppe der C-Peptid-negativen Diabetiker für alle Hormone außer STH zeigen (am deutlichsten für Adrenalin mit $p = 0,0011$). Erfolgte die statistische Auswertung unter dem Gesichtspunkt einer möglichen Beziehung zwischen Schwere der Hypoglykämieanamnese (keine / rezidivierende leichte / schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte) und Stärke der hormonellen Gegenregulation, so ergaben sich für alle Hormone klar signifikante Ergebnisse sowohl im Rahmen des gerichteten Vergleichs (aware* / subjektiv unaware / unaware) als auch des ungerichteten Vergleichs (gesunde Probanden / aware / unaware) im Sinne einer negativen Korrelation. Dies korreliert mit der Annahme, dass eine gestörte hormonelle Gegenregulation das Risiko für (schwere) Hypoglykämien erhöht oder auch umgekehrt wiederholte Hypoglykämien die Stärke der gegenregulatorischen Hormonantworten negativ beeinflussen.

4.2.1.1 Glukagon

Betrachtet man die graphische Darstellung der Beziehung zwischen Höhe der C-Peptid-Konzentration und Stärke der hormonellen Gegenregulation, so scheinen die

höheren AUC-Werte für Glukagon tendenziell schon weiter rechts, also bei höheren C-Peptid-Konzentrationen, zu liegen – ein Eindruck der sich im Rahmen der statistischen Auswertung bestätigte. Unter den Patienten mit schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte (unaware) gab es keinen mit einer noch signifikanten gegenregulatorischen Glukagonsekretion. Unter den übrigen waren jedoch sogar noch einzelne ohne noch stimulierbare C-Peptid-Konzentration, die noch eine gewisse Glukagonausschüttung als Reaktion auf die Hypoglykämie aufwiesen. Andererseits erreichte bei zwei gesunden Kontrollpersonen die Glukagonsekretion keine signifikante Höhe, und der Median der AUC lag in der Kontrollgruppe insgesamt deutlich unter dem der C-Peptid-positiven Diabetiker.

Im Verlauf des Clamps war bei allen Studienteilnehmern zunächst eine – durch die exogene Insulinzufuhr bedingte – Suppression der Glukagonsekretion zu verzeichnen, so dass es meist erst spät (wenn vorhanden) zu einem Wiederanstieg kam. Es scheint sinnvoll, zu bedenken, ob der Reiz hierfür nicht nur die Tiefe der Hypoglykämie sondern auch die Dauer derselben (und der exogenen Insulinzufuhr) sein könnten. Diese Hypothese ergibt sich zum Teil auch aus den differierenden Ergebnissen anderer Studien mit unterschiedlichen Studienprotokollen wie schon unter Punkt 4.1.2 beschrieben. In diesem Sinne könnten den Diabetikern, die mit einer deutlich erhöhten Blutzuckerkonzentration zu der Untersuchung kamen, die Vorlaufphase mit Insulinzufuhr sozusagen einen „Vorteil“ verschafft haben. Die gesunden Probanden dagegen kamen alle mit einer Blutzuckerkonzentration kleiner als 120 mg/dl zur Untersuchung und erreichten zusätzlich in der letzten Testphase keine so niedrige Plasmaglukosekonzentration wie die Diabetiker. Insbesondere bei den beiden Kontrollpersonen ohne signifikante gegenregulatorische Glukagonsekretion hatte die Blutzuckerkonzentration nicht unter 50 mg/dl gesenkt werden können. Was den zeitlichen Beginn der Gegenregulation betrifft, so lagen die gesunden Probanden aber tendenziell noch vor den C-Peptid-positiven Diabetikern (kleinere mittlere Rangzahl beim Kruskal-Wallis-Test).

In die statistische Auswertung bzgl. der Stärke der hormonellen Gegenregulation in Relation zur stimulierten C-Peptid-Konzentration gingen schließlich nur die Daten der Diabetiker ein. Der oben beschriebene graphische Eindruck einer positiven Korrelation zwischen Höhe der residualen endogenen Insulinsekretion und Stärke der Glukagon-Antwort bestätigte sich im Rahmen der multiplen Regressionsanalyse mit

einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 %. Über die Berechnung des partiellen Rangkorrelationskoeffizienten war aber nach Elimination des Einflusses der Diabetesdauer kein statistisch signifikanter Zusammenhang mehr nachweisbar. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass die multiple Regressionsanalyse gegenüber der Rangkorrelationsanalyse, die die ursprünglichen Zahlenwerte durch Ränge ersetzt und somit nur noch die Rangfolge, nicht aber die Größe der Unterschiede zwischen den einzelnen Zahlenwerten berücksichtigt, das sensiblere Verfahren ist. Es lässt sich mutmaßen, dass auch die Rangkorrelationsanalyse bei einem größeren Kollektiv mit insbesondere einem größeren „Mittelfeld“ bzgl. der C-Peptid-Konzentration (d. h. Werte zwischen ca. 3 ng/ml und der Nachweisgrenze) und der Diabetesdauer (d. h. zwischen ca. einem Jahr und fünf Jahren) ein signifikantes Ergebnis erbracht hätte, zumal der Korrelationskoeffizient für die Beziehung zwischen Höhe der C-Peptid-Konzentration und der Diabetesdauer bei alleiniger Betrachtung der C-Peptid-positiven Diabetiker im Rahmen dieser Untersuchung schon deutlich geringer war als bei Zusammenfassung von CPP und CPN ($r = -0,45$ vs. $r = -0,85$). In diesem Zusammenhang sei auch darauf hingewiesen, dass die multiple Regressionsanalyse für die alleinige Korrelation zwischen Diabetesdauer und Glukagon-Antwort nach Elimination des Einflusses der residualen Insulinsekretion kein signifikantes Ergebnis erbrachte ($p = 0,54$). Dies könnte ein zusätzlicher Hinweis darauf sein, dass der vielfach beschriebene Verlust der Glukagon-Antwort in den ersten Jahren eines „Diabetikerlebens“ (vgl. auch Punkt 1.3.1) tatsächlich eher direkt auf den Verlust der endogenen sekretorischen β -Zellfunktion zurückzuführen ist als auf die zeitliche Dauer des Diabetikerdaseins.

Bereits 1983 beobachteten *Madsbad et al.* im Rahmen einer Studie an C-Peptid-positiven und C-Peptid-negativen Diabetikern sowie gesunden Kontrollpersonen, dass die Glukagon-Antwort auf einen hypoglykämischen Reiz hin bei den Diabetikern mit residualer β -Zellfunktion nicht wesentlich niedriger war als die der gesunden Probanden, die der Diabetiker ohne endogene Insulinreserve aber deutlich geringer ausgeprägt war (87). *Bolli et al.* hingegen fanden im selben Jahr im Rahmen ihrer hypoglykämischen Clamp-Untersuchung zwar eine sehr enge negative Korrelation zwischen der Diabetesdauer und der Stärke der gegenregulatorischen Glukagonsekretion aber keinen Zusammenhang von letzterer mit der Konzentration des C-Peptids nach Stimulation (12).

Fukuda et al. beobachteten wenige Jahre später wiederum eine enge positive Korrelation zwischen residualer β -Zellfunktion und Reaktionsfähigkeit der α -Zellen auf eine hypoglykämische Situation hin und stellten die Hypothese auf, dass die im Verlauf schwindende gegenregulatorische Glukagon-Antwort auf einen zunehmenden Verlust der hypoglykämieinduzierten Hemmung der endogenen Insulinsekretion (bei zunehmendem Funktionsverlust der β -Zellen) zurückzuführen sein könnte (57). Dies geschah unter Bezugnahme auf eine tierexperimentelle Studie im Rahmen derer sich am Rattenpankreas nach Perfusion mit Anti-Insulin-Serum unter Euglykämie ein deutlicher Anstieg der Glukagonsekretion zeigen ließ (90).

Taborsky et al. konnten nachweisen, dass die sekretorische Aktivität der α -Zellen selbst im Rahmen des β -Zellverlustes aber erhalten bleibt (uneingeschränkte Glukagonfreisetzung als Reaktion auf die Gabe von Arginin) und ergänzten die obengenannte Hypothese um die Theorie einer erhöhten Sensibilität der α -Zellen gegenüber dem hemmenden Einfluss des exogenen Insulins mit Abnahme der endogenen Insulinfreisetzung (114).

Weiterhin lassen sich Hinweise dafür finden, dass die β -Zellen einen wichtigen Beitrag zur Innervation der Inselzellen liefern (Insulin, C-Peptid, Inselzell-Amyloid und GABA als mögliche neurotrophe Faktoren bzw. Produktion von anderen, bisher noch nicht bekannten neurotrophen Faktoren durch die β -Zellen) und somit deren Verlust auch ein direkter Verlust an Stimuli für die Glukagonfreisetzung aus den α -Zellen bedeuten könnte (97). Insgesamt ist bei der Betrachtung der Stärke der gegenregulatorischen Glukagonsekretion auch zu bedenken, dass die Plasmainsulinkonzentrationen während solcher Untersuchungen sicher deutlich über denen im Rahmen einer Behandlung mit regelmäßigen s. c. Injektionen von Insulin liegen und so die Fähigkeit zur gegenregulatorischen Glukagonsekretion auf Grund des stärkeren hemmenden Einflusses des exogenen Insulins unter Umständen unterschätzt wird. So beschrieben zum Beispiel *Kerr et al.* und *Liu et al.* deutlich reduzierte Glukagon-Antworten nach Verdreifachung der Insulindosis und ansonsten unverändertem Studienprotokoll bei der Durchführung von hypoglykämischen Clamps bei Typ-1-Diabetikern (77, 87).

4.2.1.2 Adrenalin

Die gegenregulatorische Adrenalinsekretion auf einen hypoglykämischen Reiz hin geht wie schon beschrieben (Punkt 1.3.1) nach Literaturangaben bei Diabetikern

meist einige Jahre nach der Glukagon-Antwort verloren bzw. ist dann deutlich reduziert. Auch im Rahmen dieser Studie fanden sich bei den meisten Probanden mit einer Diabetesdauer von mehr als fünf Jahren nur noch Adrenalin-Antworten mit einer AUC maximal im vierstelligen Bereich. Es gab jedoch einzelne, die auch bei sehr langer Diabetesdauer noch eine ausgeprägte gegenregulatorische Adrenalinsekretion zeigten. Eine statistisch signifikante Korrelation diesbezüglich oder bezüglich von Stärke der Adrenalin-Antwort und Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration ließ sich nicht nachweisen, sofern man nicht den gemeinsamen Effekt von Diabetesdauer und Stärke der residualen sekretorischen β -Zellkapazität auf die gegenregulatorische Hormonausschüttung betrachtete. Dieser war jedoch statistisch klar signifikant.

Im Rahmen dieser Untersuchung wurden Diabetiker mit mindestens einer schweren Hypoglykämie im vorausgegangenen Jahr als „unaware“ bezeichnet. Im Sinne des von *Cryer* vielfach beschriebenen „hypoglycemia-associated autonomic failure“ müsste gleichzeitig eine gestörte hormonelle Gegenregulation (insb. bzgl. des Adrenalins) vorliegen. Tatsächlich waren die Adrenalin-Antworten bei den als „unaware“ bezeichneten Probanden durchweg nur noch sehr gering oder nicht mehr vorhanden. Andererseits fiel aber auch auf, dass es Diabetiker gab, bei denen sich im Rahmen der Untersuchung keine Glukagon-Antwort und nur noch eine sehr geringe Adrenalin-Antwort nachweisen ließ, die aber trotzdem noch nie eine schwere Hypoglykämie erlebt hatten. Dies waren zumeist Personen, die aber zumindest über eine „subjektive unawareness“ mit rezidivierenden leichten Hypoglykämien in der Vorgeschichte berichtet hatten. Von den als „subjektiv unaware“ bezeichneten Probanden hatte nur eine (14 %) einen AUC-Wert bzgl. des Adrenalins im fünfstelligen Bereich, unter denen ohne jegliche anamnestiche Wahrnehmungsstörung gab es dagegen nur vier (19 %) mit nur vierstelligen Werten. Weiterhin fand sich sogar bei einer gesunden Kontrollperson eine fehlende Adrenalin-Antwort.

Schneider et al. berichten, dass im Rahmen ihrer Studie nur in 40 % aus der Hypoglykämieanamnese (keine / leichte / schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte) ein Rückschluss auf die Stärke der Adrenalin-Antwort möglich war und folgern daraus, dass die alleinige anamnestiche Erfassung von Hypoglykämieereignissen nicht ausreichend ist, die tatsächliche Hypoglykämiegefährdung zu

beurteilen (110). Dies setzt voraus, dass, wie in der Literatur beschrieben (39), eine fehlende bzw. deutlich reduzierte Adrenalin-Antwort sicher mit einem deutlich erhöhten Hypoglykämierisiko verbunden ist. Da die entsprechenden Erkenntnisse diesbezüglich aber immer aus der Zusammenfassung von vielen Patientendaten hervorgehen, muss auch die Möglichkeit bedacht werden, dass die entsprechenden Probanden, die im Rahmen von hypoglykämischen Clamps eine gestörte Gegenregulation bzgl. Glukagon und Adrenalin zeigen, aber (noch) eine leere Anamnese bzgl. (schwerer) Hypoglykämien haben, vielleicht über diesem Problem entgegenwirkende Schutzfaktoren verfügen bzw. weitere begleitende Risikofaktoren nicht haben. So ist zum Beispiel bereits eine positive Korrelation zwischen Höhe der ACE-Aktivität im Serum und der Häufigkeit schwerer Hypoglykämien beschrieben worden, wobei diese Korrelation gerade bei C-Peptid-negativen Diabetikern mit gestörter Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung am deutlichsten ausgeprägt war (102).

Die Betrachtung des zeitlichen Beginns der gegenregulatorischen Adrenalin-ausschüttung ergab statistisch deutlich signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen, die anhand der mittleren Rangzahlen eine Deutung im Sinne eines ähnlichen Beginns bei den C-peptid-positiven Diabetikern und den gesunden Kontrollpersonen, aber eines viel späteren Einsetzens der Gegenregulation bei den C-Peptid-Negativen sowie einer Korrelation zwischen späterem Beginn der Adrenalinausschüttung und Ausprägungsgrad von stattgehabten Hypoglykämien (keine / leichte / schwere) erlaubten. Dies unterstützt die Annahme, dass ein spätes bzw. fehlendes Einsetzen der gegenregulatorischen Adrenalinsekretion das Auftreten von (schweren) Hypoglykämien begünstigt.

Eine klinisch manifeste konventionelle diabetische autonome Neuropathie lag bei keinem der Diabetiker vor, so dass die defekten Adrenalin-Antworten im Rahmen der Diskussion um einen Zusammenhang zwischen gestörter gegenregulatorischer Adrenalinsekretion und DAN (vgl. Punkt 1.3.1.1) allenfalls als eine subklinische – funktionelle – Form (63, 114) der diabetischen autonomen Neuropathie interpretiert werden könnten.

4.2.1.3 Noradrenalin

Im Rahmen der Betrachtung der gegenregulatorischen Noradrenalinsekretion fielen neben interindividuellen Schwankungen innerhalb der einzelnen Gruppen bzgl. der

AUC auch deutliche Schwankungen innerhalb des Verlaufs der einzelnen Clamps auf, die sich nicht über Schwankungen der Blutzuckerkonzentrationen erklären ließen und die Berechnung der AUC zum Teil erschwerten. In diesem Zusammenhang muss u. a. bedacht werden, dass die Einschätzung der Stärke der gegenregulatorischen Noradrenalinsekretion über die Plasmakonzentration dadurch erschwert wird, dass ein signifikanter Anteil des lokal freigesetzten Noradrenalins durch einen effektiven lokalen Re-Uptake-Mechanismus und enzymatischen Abbau gar nicht erst ins Blut gelangt (16, 89).

Bottini et al. konnten im Rahmen ihres hypoglykämischen Clamps (Reduktion der Blutzuckerkonzentration auf 40 mg/dl innerhalb von sechs Stunden) bei den Nicht-Diabetikern nur einen geringen, aber nicht signifikanten Anstieg der Noradrenalin-konzentration nachweisen und bei den Diabetikern überhaupt keinen (19). Die vorliegende Studie erbrachte für die meisten Probanden noch eine gewisse, wenn auch häufig eher geringe gegenregulatorische Noradrenalin-Antwort. Insbesondere fiel auf, dass der größte Teil der Diabetiker mit noch residualer endogener Insulinsekretion eine ausgeprägtere gegenregulatorische Noradrenalin-ausschüttung zeigte als die gesunden Probanden. Auch der zeitliche Beginn lag – gemessen an den mittleren Rangzahlen im Kruskal-Wallis-Test – bei den C-Peptid-positiven Diabetikern tendenziell (ohne statistische Signifikanz) vor dem in der Kontrollgruppe ($p = 0,15$).

4.2.1.4 Cortisol

Die Auswertung der gegenregulatorischen Cortisolsekretion wurde unter anderem dadurch erschwert, dass sich die anfängliche, durch die Insulinzufuhr bedingte Suppression der Cortisolkonzentration im Serum um so ausgeprägter bzw. langfristiger zu vollziehen schien, je größer die Ausgangskonzentration des Cortisols war. Bei den Probandinnen, die ein orales Kontrazeptivum einnahmen und dadurch eine sehr hohe Ausgangskonzentration von Cortisol hatten, führte dies dazu, dass entweder nur noch ein sehr später oder überhaupt kein gegenregulatorischer Anstieg mehr zu verzeichnen war. Auch bei einer männlichen Kontrollperson betrug die Cortisolkonzentration zu Beginn der Untersuchung um 40 µg/dl. Weiterhin war der Anteil der Probanden mit einem erhöhten Ausgangswert für Cortisol in den einzelnen Gruppen recht unterschiedlich (45 % in der Kontrollgruppe, 4 % bei den C-Peptid-

positiven, 15 % bei den C-peptid-negativen Diabetikern, 33 % bei den „subjektiv unaware“, 7 % bei den „aware*“ und 0 % bei den „unaware“).

In die statistische Auswertung bzgl. einer Korrelation zwischen Höhe der residualen endogenen Insulinreserve und der Stärke der gegenregulatorischen Cortisolsekretion ging die Kontrollgruppe mit dem hohen Anteil an Probanden mit einer hohen Ausgangskonzentration von Cortisol nicht mit ein.

In der Gruppe der Patienten mit stattgehabten schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte („unaware“) war die mittlere Rangzahl im Kruskal-Wallis-Test mit deutlichem Abstand am niedrigsten, obwohl gerade unter diesen Probanden keine(r) einen erhöhten Ausgangswert für Cortisol hatte. Der Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen (gesunde Probanden, Diabetiker mit und ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte) war statistisch signifikant. Die im Vergleich zu den Diabetikern ohne stattgehabte schwere Hypoglykämien in der Kontrollgruppe niedrigere mittlere Rangzahl dürfte auf den hohen Anteil von Probanden mit einer hohen Ausgangskonzentration von Cortisol zurückzuführen sein.

Da auch die Rangkorrelationsanalyse nach Spearman bezogen auf die Vorgeschichte an hypoglykämischen Ereignissen (keine, rezidivierend leichte, mindestens eine schwere Hypoglykämie bzw. aware*, subjektiv unaware, unaware) ein statistisch signifikantes Ergebnis erbrachte, könnte hieraus geschlossen werden, dass auch eine gestörte Cortisol-Antwort einen Risikofaktor für die Entwicklung von Hypoglykämien darstellt. Andererseits ergaben sich bezüglich der Glukagon- und Catecholamin-Antworten korrelierende Ergebnisse im Rahmen der statistischen Auswertung, so dass die gestörte gegenregulatorische Cortisolsekretion im Rahmen einer Vorgeschichte von rezidivierenden leichten bzw. schweren Hypoglykämien mit einer defekten Glukagon- und Adrenalin-Antwort verbunden sein dürfte und somit kaum als eigenständiger Risikofaktor interpretiert werden kann. Dies ist auch insofern anzunehmen, als dass im allgemeinen davon ausgegangen wird, dass zunächst die gegenregulatorische Glukagon- und dann auch die Adrenalinsekretion schwindet und selbst eine intakte Cortisol-Antwort den Verlust der Glukagon- und Adrenalin-Antwort nicht kompensieren kann (vgl. auch Punkt 1.2.1 und 1.3.1).

Über die multiple Regressionsanalyse ergab sich eine statistisch signifikante Korrelation zwischen Höhe der residualen endogenen Insulinreserve und der Stärke der gegenregulatorischen Cortisol-Antwort. Eine direkte Erklärung hierfür ist in der

vorliegenden Literatur nicht zu finden. Ansatzpunkte ergeben sich aus den bisher beschriebenen Effekten von C-Peptid im Organismus. *Wahren et al.* und *Johansson et al.* konnten zeigen, dass durch die Substitution von C-Peptid u. a. eine Verbesserung des renalen Blutflusses und der Funktion von autonomem und sensiblem Nervensystem erzielt werden kann – über eine Aktivierung der NO-Synthase (vaskuläre Effekte) und der Na-/K-ATPase (neuronale Effekte) durch C-Peptid (70, 71, 126, 127, 128). So könnte das Vorhandensein von C-Peptid über eine verbesserte Nebennierendurchblutung zu einer ausgeprägteren Cortisol-Antwort auf einen hypoglykämischen Reiz hin beitragen. Eine Normalisierung bzw. Verbesserung einer gestörten Na-/K-ATPase-Aktivität von Neuronen könnte auf hypothalamischer Ebene im Rahmen der CRH-Freisetzung eine Rolle spielen.

4.2.1.5 STH

Zwar war bei fast allen Probanden eine anfängliche Suppression der STH-Konzentration im Blut zu verzeichnen, bei den meisten begann aber innerhalb von einer Stunde ein signifikanter Anstieg. Danach kam es – unabhängig von der weiter fallenden Blutzuckerkonzentration – meist noch einmal zu einer Reduktion der Serumkonzentration (jedoch nicht unter den Nadir). Nur bei zwei Studienteilnehmern (C-Peptid-negative Diabetiker mit subjektiv gestörter Wahrnehmungsfähigkeit für Hypoglykämien) blieb ein signifikanter Anstieg der STH-Konzentration auf den hypoglykämischen Reiz hin völlig aus. Statistisch signifikante Zusammenhänge mit der Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration oder der anamnestischen Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit bzw. schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte ließen sich nicht nachweisen. In den meisten Studien wird auch keine Beeinträchtigung der STH-Antwort durch vorausgegangene Hypoglykämien oder eine DAN beschrieben und auch im Rahmen des von *Cryer* definierten „hypoglycemia-associated autonomic failure“ (vgl. Punkt 1.1.4.3) findet das STH kaum Erwähnung. Unter Umständen wird die Betrachtung der gegenregulatorischen STH-Antwort auch dadurch erschwert, dass die STH-Sekretion schon unter physiologischen Bedingungen episodenhaft erfolgt und es außerdem auch ohne einen bekannten adäquaten Reiz zu einer zusätzlichen STH-Ausschüttung kommen kann (123).

In einer Studie von *Boyle* und *Cryer* (20) ließ sich eine Funktion des STH nur im Rahmen der Bekämpfung prolongierter Hypoglykämien nachweisen, auch wenn der

Anstieg, wie beschrieben, schon relativ früh erfolgt. Eine Kompensation einer defekten Glukagon- und Adrenalin-Antwort war akut nicht möglich. Dies könnte sich dadurch erklären lassen, dass sich nach exogener Zufuhr von STH infolge der insulinähnlichen Wirkung von Somatomedin C zunächst ein Abfall der Blutzuckerkonzentration beobachten lässt und erst nach ca. einer Stunde ein Wiederanstieg durch die dann einsetzende Verstoffwechslung von Glykogen und Fett (133).

4.2.1.6 Glucoseinfusionsrate

Die notwendige Menge an exogen zuzuführender Glucose kann als indirekter Parameter der Stärke der hormonellen Gegenregulation im Sinne einer umgekehrten Korrelation betrachtet werden, da durch die gegenregulatorischen Hormone eine Mobilisation endogener Glucose erfolgt. Im Rahmen der Auswertung ließen sich bzgl. Mittelwert und Median auch zum Teil deutliche Unterschiede in den einzelnen Gruppen erkennen. So waren Mittelwert und Median der Glucoseinfusionsraten während der Anfangsphase des Clamps (Minute 0 - 25, Absenken der Blutzuckerkonzentration auf 60 – 70 mg/dl) in allen Diabetikergruppen ungefähr gleich, in der Kontrollgruppe aber nur etwa halb so groß. Dies ist unter Umständen darauf zurückzuführen, dass ein großer Anteil der Diabetiker mit einer erhöhten Glucosekonzentration zur Untersuchung kam und schon vor dem eigentlichen Beginn Insulin injiziert bekam, so dass die Insulinkonzentration im Serum bei Minute 0 meist deutlich über der der gesunden Probanden lag. Die übrigen Ergebnisse im Sinne eines durchschnittlich geringeren Glucosebedarfs während der Hypoglykämie unter den C-Peptid-positiven gegenüber den C-Peptid-negativen Diabetikern und eines darüber hinaus besonders großen Bedarfes an exogener Glucose unter den Patienten mit schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte (unaware) passen zu der Vorstellung einer umgekehrt abgestuften Stärke der hormonellen Gegenregulation. Als statistisch signifikant ließen sich die beschriebenen Beobachtungen aber nicht nachweisen. Dies dürfte auf die hohe interindividuelle Variabilität innerhalb der einzelnen zu vergleichenden Gruppen zurückzuführen sein. Diese wiederum wurde unter Umständen auch durch die interindividuell zum Teil deutlicher variierenden Insulinkonzentrationen im Serum mitverursacht. Diese Thematik wurde bereits unter Punkt 4.1.2 erläutert. Andererseits ergab aber auch die Auswertung bzgl. der Differenz der Glucoseinfusionsraten während erster und

zweiter hypoglykämischer Phase, im Rahmen derer sich dieses Problem minimieren müsste, kein statistisch signifikantes Ergebnis. Der durchschnittliche Glucosebedarf während niedriger Blutzuckerkonzentrationen war unter den gesunden Probanden deutlich höher als unter den C-Peptid-positiven Diabetiker. Die Kontrollgruppe war aber die einzige, in der Mittelwert und Median der Differenz deutlich positiv waren und damit der Bedarf an exogener Glucose während der tieferen Hypoglykämie geringer war als während der leichten Hypoglykämie.

4.2.2 Symptomwahrnehmung

Auffallend ist vor allem eine insgesamt sehr geringe subjektive Wahrnehmung von hypoglykämieanzeigenden Symptomen in der Gruppe der gesunden Kontrollpersonen. Selbst während des niedrigsten Blutzuckerplateaus blieb der Gesamtscore mit einem Median von 7 und einer Streubreite zwischen 1 und 16 relativ niedrig. Hierbei ist sicherlich zu berücksichtigen, dass es sich bei diesen Probanden hauptsächlich um im medizinischen Bereich tätige Personen handelte, die der Untersuchung sehr differenziert und weitgehend angstfrei gegenüberstanden und so die Situation wohl am „objektivsten“ beurteilen konnten, andererseits aber wahrscheinlich Symptome wie Angst und Nervosität in dem Wissen um die Sicherheit der Situation nicht so deutlich wahrnahmen. Es ist sicherlich hier wie auch in der Gruppe der Diabetiker nicht auszuschließen, dass dieselben Blutzuckerkonzentrationen in einer weniger kontrollierten Situation auch angesichts wahrscheinlich vieler nicht erfassbarer Einflussfaktoren von manchen subjektiv anders wahrgenommen worden wären.

Weiterhin ist bei der Interpretation der Ergebnisse bzgl. der Symptomwahrnehmung in den verschiedenen Gruppen zu berücksichtigen, dass die durchschnittliche Blutzuckerkonzentration während der euglykämischen Phase des Clamps unter den Diabetikern (in der Gesamtgruppe wie auch in den einzelnen Untergruppen) deutlich über der in der Kontrollgruppe lag und ein großer Teil der Diabetiker mit einem noch höheren Blutzuckerwert zu der Untersuchung gekommen war.

Im Sinne der Theorie der cerebralen Adaptation an eine langfristig erhöhte bzw. erniedrigte Blutzuckerkonzentration könnten demnach die „normalen“ Serumwerte für Glucose für die an höhere Werte „gewöhnten“ Diabetiker bereits eine „relative

Hypoglykämie“ bedeutet haben und die hypoglykämischen Phasen einen relativ noch stärkeren hypoglykämischen Reiz. Analog dazu sollte dann bei solchen Patienten, die unter rezidivierenden Hypoglykämien leiden (und somit niedrige Blutzuckerkonzentrationen „gewohnt“ sind), eine geringere subjektive Wahrnehmung von Symptomen zu verzeichnen sein.

Allerdings waren im Rahmen dieser Untersuchung Median und Mittelwert des prozentualen HbA1c-Anteils in der Gruppe der „aware“ und der „unaware“ sehr ähnlich (Median 7 vs. 7,2 % und Mittelwert 7,3 vs. 7,2 %), unter den als „subjektiv unaware“ Bezeichneten aber höher (Median und Mittelwert 8,4 %). Statistisch signifikant waren diese Gruppenunterschiede jedoch nicht. Sie können aber als deutlicher Hinweis darauf gewertet werden, dass eine gute Diabeteseinstellung im Sinne eines niedrigen prozentualen HbA1c-Anteiles nicht mit rezidivierenden und / oder schweren Hypoglykämien verbunden sein muss und auch kein direkter Rückschluss vom HbA1c-Wert auf die Hypoglykämieanamnese möglich ist. Werden vom Diabetiker dagegen subjektiv häufig Hypoglykämien erlebt, so kann die Angst vor (weiteren) Hypoglykämien auch dazu führen, dass dieser tendenziell höhere Blutzuckerkonzentrationen zulässt, um hypoglykämische Ereignisse zu vermeiden (vgl. höherer HbA1c-Anteil unter den als „subjektiv unaware“ bezeichneten Diabetikern). Auf die in der Literatur beschriebene Morbidität infolge von Hypoglykämien wurde bereits unter Punkt 1.1.2 eingegangen.

Bei Unterteilung der Diabetiker in drei Gruppen anhand der Hypoglykämieanamnese (keine / leichte / schwere vorausgegangene Hypoglykämien bzw. „aware*“ / „subjektiv unaware“ / „unaware“) und anschließender statistischer Auswertung mit Hilfe der Rangkorrelationsanalyse nach Spearman ergab sich eine signifikante Korrelation zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit und Ausprägung der Symptomwahrnehmung während der Untersuchung für das niedrigste Blutzuckerplateau und die Differenz der Symptomen-Scores während der ersten und zweiten hypoglykämischen Testphase (bei den neuroglykopenischen Symptomen nur für die Differenz).

Eine solcher Zusammenhang bestand auch für alle gegenregulatorischen Hormonantworten. Somit ergibt sich diesbezüglich insgesamt eine gute Korrelation zwischen den klinisch-anamnestischen Gegebenheiten und der Testsituation.

Weiterhin fiel auf, dass dort, wo sich im Rahmen des Kruskal-Wallis-Testes zwischen den gesunden Probanden und den Diabetikern mit und ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte statistisch signifikante Unterschiede nachweisen ließen, die mittleren Rangzahlen bei den „unaware“ mit deutlichem Abstand am niedrigsten waren im Sinne eines durchschnittlich niedrigeren Symptomen-Scores. Unter den Nicht-Diabetikern waren wiederum die mittleren Rangzahlen tendenziell niedriger als unter den Diabetikern ohne stattgehabte schwere Hypoglykämien.

Frier beschreibt in diesem Zusammenhang gesunde Probanden, die im Bewusstsein der hypoglykämischen Situation von einer Blutzuckerkonzentration von 1 - 1,5 mmol/l (18 – 27 mg/dl) völlig unbeeinträchtigt schienen, adäquat kommunizieren konnten und für kognitive Tests nur unwesentlich mehr Zeit benötigten, die Diabetiker mit dem Syndrom der „unawareness“ aber schwer beeinträchtigt waren und die kognitiven Tests überhaupt nicht mehr durchführen konnten (55).

Die Feststellung, dass sich statistisch signifikante Zusammenhänge bzw. Unterschiede zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit und Symptom-wahrnehmung während der Untersuchung erst während des niedrigsten Blutzuckerplateaus zeigten, ließe sich damit erklären, dass erst im Bereich solcher Blutzuckerkonzentrationen Unterschiede in der Wahrnehmungsfähigkeit von hypoglykämieanzeigenden Symptomen deutlich manifest werden bzw. klinische Konsequenzen zeigen.

Wurden die statistischen Tests bzgl. der Symptomwahrnehmung während des Clamps dagegen anhand einer Einteilung bzgl. des Merkmals der Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration im Serum durchgeführt, so ergaben sich nur im Blutzuckerbereich von 60 – 70 mg/dl signifikante Unterschiede. Hier waren die mittleren Rangzahlen in der Gruppe der Diabetiker ohne residuale endogene Insulinsekretion mit deutlichem Abstand am größten. Dies wäre angesichts der Tatsache, dass diese zum einen mit einer durchschnittlich deutlich höheren Ausgangsblutzuckerkonzentration zu der Untersuchung kamen und zum anderen einen höheren mittleren HbA1c-Anteil hatten, mit der oben beschriebenen Hypothese der cerebralen Adaptation vereinbar. Dass dieser Unterschied für das niedrigste Blutzuckerplateau nicht mehr statistisch signifikant ist, könnte dadurch erklärt

werden, dass zum einen diese Blutzuckerkonzentrationen für alle ein ausreichender hypoglykämischer Reiz waren und zum anderen die Stärke der Symptomwahrnehmung nicht kontinuierlich mit der Intensität des hypoglykämischen Reizes zunehmen dürfte, sondern stattdessen irgendwann gewissermaßen eine „Sättigung“ erreicht.

Dagegen konnten zum Beispiel *Hepburn et al.* aus ihrer Studie gar keine Unterschiede in der Symptomwahrnehmung zwischen Nicht-Diabetikern, neudiagnostizierten und langjährigen Diabetikern ableiten (66). Insgesamt erscheint es problematisch eine standardisierte Möglichkeit zur Erfassung der tatsächlichen / für die Klinik relevanten Wahrnehmungsfähigkeit für Hypoglykämien zu finden.

4.2.3 Konzentrationstest

Vergleichbar mit den niedrigen Symptomen-Scores unter den gesunden Probanden fiel auch im Rahmen des Konzentrationstestes eine sehr geringe Beeinträchtigung durch die Hypoglykämie in dieser Gruppe auf. Dies war so deutlich, dass sich bei der statistischen Auswertung jeweils signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen nachweisen ließen, wenn eine der zu untersuchenden Gruppen die der gesunden Probanden war. Diese hatte dann jeweils eine deutlich niedrigere Rangzahl. Die Problematik bzgl. des verwendeten Zahlentestes zur Einschätzung der Konzentrationsfähigkeit der Studienteilnehmer im Rahmen der sich entwickelnden Hypoglykämie wurde bereits oben erwähnt. Bezugnehmend darauf muss erwähnt werden, dass sich die Gruppe der gesunden Probanden eben ausschließlich aus solchen Personen zusammensetzte, die den Umgang mit Zahlen gewohnt waren bzw. einen relativ hohen Bildungsgrad hatten. Dies war unter den Diabetikern nur teilweise der Fall.

5. Zusammenfassung

Der Diabetes mellitus gehört zu den häufigsten Stoffwechselkrankheiten weltweit und ist noch dazu mit einer stetig wachsenden Inzidenz behaftet. Nach Einführung der Insulinsubstitution 1922 sind viele Erfolge erzielt worden, um eine bessere Lebensqualität und höhere Lebenserwartung des Diabetikers zu erreichen. Heute gehört das Erreichen einer nahe-normoglykämischer Stoffwechseleinstellung zur Vermeidung von hyperglykämiebedingten Spätschäden zum Standard der Diabetesbehandlung. Damit ergibt sich vermehrt das Problem des häufigeren Auftretens von Hypoglykämien und dadurch bedingten Störungen. Somit ist die Hypoglykämie mittlerweile die einzige wichtige Komplikation im Rahmen der Diabetesbehandlung geworden.

Vor diesem Hintergrund wurden schon zahlreiche Studien zur Erforschung der Physiologie und Pathophysiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung durchgeführt. Als Standardverfahren in der klinischen Forschung wurde die hypoglykämische Clamp-Untersuchung mit kontinuierlicher Insulininfusion und variabler Glucoseinfusion entwickelt. Dabei findet eine schrittweise Reduktion der Blutzuckerkonzentration unter gleichzeitiger Messung der Konzentration gegenregulatorischer Hormone im Blut statt. Die Hypoglykämie-Wahrnehmung der Probanden bzw. deren cerebrale Beeinträchtigung durch die Hypoglykämie wird mittels standardisierter Verfahren dokumentiert.

Die vorliegende Untersuchung zeigte einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit gemessen an der Hypoglykämieanamnese (keine, rezidivierende leichte oder schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte) und der Symptomwahrnehmung wie auch der Stärke der hormonellen Gegenregulation während des Clamps. Damit ergab sich eine gute Korrelation zwischen der medizinischen Anamnese und der Testsituation. Weiterhin erwies sich das Studienprotokoll als gut reproduzierbar. Es war problemlos und mit relativ geringem personellen und materiellen Aufwand auch ambulant durchführbar. Einschränkungen der Beurteilbarkeit ergaben sich bei der Auswertung des verwendeten Konzentrationstestes auf Grund eines bei vielen Probanden zu beobachtenden Übungseffektes im Verlauf der Untersuchung sowie bei der Berechnung der individuellen Insulininfusionsrate über den BMI und dem nicht immer möglichen exakten Einhalten des vorgesehenen Blutzuckerverlaufs

insbesondere infolge einer Neigung zu frühzeitigen Hypoglykämien unter den gesunden Probanden.

Eine zentrale Fragestellung dieser Untersuchung war die Klärung möglicher Zusammenhänge zwischen der Ausprägung der residualen endogenen Insulinsekretion und der Stärke der hormonellen Gegenregulation wie auch der anamnestischen Häufigkeit von (schweren) Hypoglykämien.

Die Höhe der C-Peptid-Konzentration erlangte in der klinische Forschung zunächst insbesondere insofern Bedeutung, als dass eine noch vorhandene residuale endogene Insulinsekretion mit der Möglichkeit einer besseren Stoffwechselkontrolle verbunden wurde. Daher ist der Erhalt derselben über einen möglichst langen Zeitraum ein wichtiges Ziel im Rahmen der Diabetesbehandlung geworden. Schließlich gab und gibt es aber auch vermehrt Hinweise darauf, dass eine noch stimulierbare C-Peptid-Konzentration das Risiko einer Entwicklung schwerer Hypoglykämien reduziert.

Eine lange Diabetesdauer verbunden mit fehlender endogener Insulinreserve war im Rahmen dieser Untersuchung statistisch eindeutig ($p < 0,005$) korreliert mit einer gestörten Gegenregulation für alle untersuchten gegenregulatorischen Hormone außer STH (Glukagon, Adrenalin, Noradrenalin und Cortisol). Erfolgte dagegen eine statistische Betrachtung des jeweils alleinigen Einflusses der Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration auf die hormonelle Gegenregulation, so ergab sich eine signifikante Korrelation für die gegenregulatorische hormonelle Antwort insgesamt (Mittelwert der AUC aller Hormone, $p = 0,03$), im Einzelnen aber nur für die Glukagon- und Cortisol-Antwort ($p = 0,04$ bzw. $p = 0,01$). Der alleinige Einfluss der Diabetesdauer korrelierte dagegen mit keiner gegenregulatorischen Hormonantwort in signifikanter Weise. Dies kann als Hinweis darauf gewertet werden, dass die Bewahrung einer residualen β -Zellaktivität auch zu einem Erhalt der hormonellen Gegenregulation und damit zu einem reduzierten Risiko für die Entwicklung schwerer Hypoglykämie unabhängig von der Diabetesdauer beitragen kann. Hierzu wird es notwendig sein, mehr Diabetiker mit einer noch vorhandenen Restaktivität der β -Zellen bei schon längerer Diabetesdauer zu rekrutieren und zu untersuchen.

Weiterhin fielen im Rahmen dieser Untersuchung mehrere Diabetiker auf, die trotz fehlender bzw. nur noch minimaler gegenregulatorischer Glukagon- und Adrenalin-Antwort (noch) keine schweren Hypoglykämien erlitten hatten. Diesen ist zum einen nach dem bisherigen Wissensstand ein sehr hohes Risiko für die Entwicklung einer

schweren Hypoglykämie zu attestieren, um daraus ggf. Konsequenzen für die weitere Stoffwechselführung zu ziehen; zum anderen ist zu bedenken, ob möglicherweise andere Faktoren existieren, die diese Probanden bisher vor schweren Hypoglykämien schützten.

Wurde vielfach ein niedriger HbA1c-Anteil an sich als Risikofaktor bzw. Indikator für rezidivierende Hypoglykämien angesehen, so waren dagegen in der vorliegenden Untersuchung Mittelwert und Median des HbA1c-Anteils in der Gruppe der „aware“ und der „unaware“ sehr ähnlich (MW 7,2 vs. 7,3 %, Median 7 vs. 7,2 %) und unter den als „subjektiv unaware“ Bezeichneten sogar tendenziell am höchsten (MW und Median 8,4 %). Die Unterschiede waren statistisch nicht signifikant, sind aber Hinweis darauf, dass eine gute Diabeteseinstellung nicht zwingend mit rezidivierenden Hypoglykämien verbunden sein muss und umgekehrt von der Höhe des HbA1c-Anteiles kein direkter Rückschluss auf die Hypoglykämieanamnese möglich ist.

6. Literaturverzeichnis

1. *Amiel SA, Sherwin RS, Simonson DC, Tamborlane WV*: Effect Of Intensive Insulin Therapy on Glycemic Thresholds for Counterregulatory Hormone Release. *Diabetes* 37: 901-7, 1988
2. *Amiel SA, Simonson DC, Tamborlane WV, DeFronzo RA, Sherwin RS*: Rate of Glucose Fall Does Not Affect Counterregulatory Hormone Responses to Hypoglycemia in Normal and Diabetic Humans. *Diabetes* 36: 518-22, 1987
3. *Amiel SA, Tamborlane WV, Sherwin RS*: Insulin-induced hypoglycemia in insulin treated diabetes mellitus. In Federlin K, Keen H, Mehnert H (eds.): *Hypoglycemia and human insulin*. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York: 57-65, 1991
4. *Amiel SA*: Hypoglycaemia associated syndrome. *Acta Diabetol* 35: 226-31, 1998
5. *Anderten H*: Diabetes - die schleichende Explosion der Kosten. Mit oder an Leitlinien sparen? *Niedersächsisches Ärzteblatt* 73: 43-44, 2000
6. *Arkey RA*: Hypoglycemia. In: Cahill GF, Degroot LJ, Martini L, Nelson DH, Odell WD, Potts JT, Steinberger E, Winegard AJ (eds.): *Endocrinology*. Grune & Stratton New York San Francisco London, 1099-123, 1979
7. *Bell GI, Polonsky KS*: Diabetes mellitus and genetically programmed defects in β -cell function. *Nature* 414: 788-91
8. *Bellavere F, Bosello G, Fedele D, Cardone C, Ferri M*: Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 287: 61, 1983
9. *Bender R, Heinemann L*: Fitting Nonlinear Regression Models with Correlated Errors to Individual Pharmacodynamic Data Using SAS Software. *J Pharmacokin Biopharm* 23: 87-100, 1995
10. *Bennett PH*: Epidemiology of diabetes mellitus. In: Rifkin H, Porte D (eds.): *Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus. Theory and practice*. Fourth edition. Elsevier New York Amsterdam London: 357-77, 1990

11. *Bingley PJ, Gale EAM*: Rising Incidence of IDDM in Europe. *Diabetes Care* 12: 289-95, 1989
12. *Bolli G, De Feo P, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusanio 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* 32: 134-41, 1983
13. *Bolli GB, De Feo P, De Cosmo S, Perriello G, Ventura MM, Massi Benedetti M, Sateusanio F, Gerich JE, Brunetti P*: A Reliable and Reproducible Test for Adequate Glucose Counterregulation in Type I Diabetes Mellitus. *Diabetes* 33: 732-37, 1984
14. *Bolli GB, De Feo P, De Cosmo S, Perriello G, Ventura MR, Santeusanio F, Brunetti P, Gerich JE*: Effects of Long-Term Optimization and Short-Term Deterioration of Glycemic Control on Glucose Counterregulation in Type I Diabetes Mellitus. *Diabetes* 33: 394-400, 1984
15. *Bolli GB, Dimitriadis GD, Pehling GB, Baker BA, Haymond MW, Cryer PE, Gerich JE*: Abnormal glucose counterregulation after subcutaneous insulin in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 310: 1706-11, 1984
16. *Bolli GB*: Importance of catecholamines in defense against insulin hypoglycemia in humans. *Adv-Pharmacol.* 42: 627-30, 1998
17. *Bolli GB*: Prevention and treatment of hypoglycaemia unawareness in type 1 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 35: 183-93, 1998
18. *Borg MA, Borg WP, Tamborlane WV, Brines ML, Shulman GI, Sherwin RS*: Chronic Hypoglycemia and Diabetes Impair Counterregulation Induced by Localized 2-Deoxy-Glucose Perfusion of the Ventromedial Hypothalamus in Rats. *Diabetes* 48: 584-87, 1999
19. *Bottini P, Boschetti E, Pampanelli S, Ciofetta M, Del Sindaco P, Scionti L, Brunetti P, Bolli GB*: Contribution of Autonomic Neuropathy to Reduced Plasma Adrenaline Responses to Hypoglycemia in IDDM. Evidence for a Nonselective Defect. *Diabetes* 46: 814-23, 1997

20. *Boyle PJ, Cryer PE*: Growth hormone, cortisol, or both are involved in defense against, but are not critical to recovery from, hypoglycemia. *Am J Physiol* 260: E395-402, 1991
21. *Boyle PJ, Kempers SF, O'Connor AM, Nagy RJ*: Brain glucose uptake and awareness of hypoglycemia in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 333: 1726-31, 1995
22. *Caprio S, Napoli R, Sacca L, Tamborlane WV, Sherwin RS*: Impaired stimulation of gluconeogenesis during prolonged hypoglycemia in intensively treated insulin-dependent diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 75: 1076-80, 1992
23. *Cerosimo E, Molina PE, Abumrad NN*: Renal Lactate Metabolism and Gluconeogenesis During Insulin-Induced Hypoglycemia. *Diabetes* 47: 1101-6, 1998
24. *Chaillous L, Lefèvre H, Thivolet C, Boitard C, Lahlou N, Atlan-Gepner C, Bouhanick B, Mogenet A, Nicolino M, Carel JC, Lecomte P, Maréchaud R, Bougnères P, Charbonnel B, Sai P*: Oral insulin administration and residual β -cell function in recent-onset type 1 diabetes: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 356: 545-49, 2000
25. *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* 40: 680-85, 1991
26. *Clausen Sjöbom N, Adamson U, Lins P-E*: The prevalence of impaired glucose counter-regulation during an insulin-infusion test in insulin-treated diabetic patients prone to severe hypoglycaemia. *Diabetologia* 32: 818-25, 1989
27. *Connolly CC, Myers SR, Neal DW, Hastings JR, Cherrington AD*: In the Absence of Counterregulatory Hormones, the Increase In Hepatic Glucose Production During Insulin-Induced Hypoglycemia in the Dog is Initiated in the Liver Rather Than the Brain. *Diabetes* 45: 1805-13, 1996

28. Cox DJ, Gonder-Frederick L, Pohl S, Pennebaker JW: Reliability of Symptom-Blood Glucose Relationships Among Insulin-Dependent Adult Diabetics. *Psychosomatic Medicine* 4: 357-60, 1983
29. Cranston I, Lomas J, Maran A, Macdonald I, Amiel SA: Restoration of hypoglycaemia awareness in patients with long-duration insulin-dependent diabetes. *Lancet* 344: 283-87, 1994
30. Cryer PE *Hypoglycemia: The Limiting Factor in the Management of IDDM*. *Diabetes* 43: 1378-89, 1994
31. Cryer PE, Binder C, Bolli GB, Cherrington AD, Gale EAM, Gerich JE, Sherwin RS: Hypoglycemia in IDDM. Conference Summary. *Diabetes* 38: 1193-99, 1989
32. Cryer PE, Gerich JE: Glucose counterregulation, hypoglycemia, and intensive insulin therapy in diabetes mellitus. *N Engl J Med* 313: 232-41, 1985
33. Cryer PE, Gerich JE: Hypoglycemia in insulin dependent diabetes mellitus: Insulin excess and defective counterregulation. In: Rifkin H, Porte D (eds.): *Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus. Theory and practice*. Fourth edition. Elsevier New York Amsterdam London: 526-46, 1990
34. Cryer PE: Decreased Sympathochromaffin Activity in IDDM. *Diabetes* 38: 405-9, 1989
35. Cryer PE: Hierarchy of physiological responses to hypoglycemia: relevance to clinical hypoglycemia in type I (insulin dependent) diabetes mellitus. *Horm Metabol Res* 29(3): 92-96, 1997
36. Cryer PE: Hypoglycemia risk reduction in type 1 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 109 (Suppl 2): S421-23, 2001
37. Cryer PE: Hypoglycemia Unawareness in IDDM. *Diabetes Care* 16: 40-47, 1993
38. Cryer PE: Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Adv-Pharmacol.* 42: 620-22, 1998

39. *Cryer PE*: Iatrogenic Hypoglycemia as a Cause of Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure in IDDM. A Vicious Circle. *Diabetes* 41: 255-60; 1992
40. *Dagogo-Jack S, Rattarasarn C, Cryer PE*: Reversal of Hypoglycemia Unawareness, But Not Defective Glucose Counterregulation, in IDDM. *Diabetes* 43: 1426-34, 1994
41. *Davis SN, Cherrington AD*: The hormonal and metabolic responses to prolonged hypoglycemia. *J Lab Clin Med* 121: 21-31, 1993
42. *Davis SN, Fowler S, Costa F*: Hypoglycemic Counterregulatory Responses Differ Between Men and Women With Type 1 Diabetes. *Diabetes* 49: 65-72, 2000
43. *Davis SN, Shavers C, Costa F, Mosqueda-Garcia R*: Role of cortisol in the pathogenesis of deficient counterregulation and antecedent hypoglycemia in normal humans. *J Clin Invest* 98: 680-91, 1996
44. *Davis SN, Shavers C, Costa F*: Gender-Related Differences in Counterregulatory Responses to Antecedent Hypoglycemia in Normal Humans. *J Clin Endocrinol Metab* 85: 2148-57, 2000
45. *Davis SN, Shavers C, Davis B, Costa F*: Prevention of an Increase in Plasma Cortisol During Hypoglycemia Preserves Subsequent Counterregulatory Responses. *J Clin Invest* 100: 429-38, 1997
46. *De Feo P, Bolli G, Perriello G, De Cosmo S, Compagnucci P, Angeletti G, Santeusanio F, Gerich JE, Motolese M, Brunetti P*: The Adrenergic Contribution to Glucose Counterregulation in Type I Diabetes Mellitus. Dependency on A-Cell Function and Mediation Through Beta2-Adrenergic Receptors. *Diabetes* 32: 887-93, 1983
47. *De Feo P, Gallai V, Mazzotta G, Crispino G, Torione E, Perriello G, Ventura MM, Santeusanio F, Brunetti P, Bolli GB*: Modest Decrements in Plasma Glucose Concentration Cause Early Impairment in Cognitive Function and Later Activation of Glucose Counterregulation in the Absence of Hypoglycemic Symptoms in Normal Man. *J Clin Invest* 82: 436-44, 1988

48. *De Feo P, Perriello G, Torlone E, Fanelli C, Ventura MM, Santeusanio F, Brunetti P, Gerich JE, Bolli GB*: Evidence against important catecholamine compensation for absent glucagon counterregulation. *Am J Physiol* 260: E203-12, 1991
49. *EURODIAB ACE Study Group*: Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. *Lancet* 355: 873-76, 2000
50. *Evans ML, Matyka K, Lomas J, Pernet A, Cranston CP, MacDonald I, Amiel SA*: Reduced Counterregulation during Hypoglycemia with Raised Circulating Nonglucose Lipid Substrates: Evidence for Regional Differences in Metabolic Capacity in the Human Brain? *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2952-59, 1998
51. *Ewing DJ, Bellavere F, Espi F, McKibben BM, Buchanan KD, Riemersma RA, Clarke BF*: Correlation of Cardiovascular and Neuroendocrine Tests of Autonomic Function in Diabetes. *Metabolism* 35: 349-53, 1986
52. *Ewing DJ, Clarke BF*: Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br Med J* 285: 916-18, 1982
53. *Fanelli C, Pampanelli S, Epifano L, Rambotti AM, Di Vincenzo A, Modarelli E, Ciofetta M, Lepore M, Annibale B, Torlone E, Perriello G, De Feo P, Santeusanio F, Brunetti P, Bolli GB*: Long-term recovery from unawareness, deficient counterregulation and lack of cognitive dysfunction during hypoglycaemia, following institution of rational, intensive insulin therapy in IDDM. *Diabetologia* 37: 1265-76, 1994
54. *Fanelli C, Pampanelli S, Lalli C, Del Sindaco P, Ciofetta M, Lepore M, Porcelatti F, Bottini P, Di Vincenzo A, Brunetti P, Bolli GB*: Long-Term Intensive Insulin Therapy of IDDM Patients With Clinically Overt Autonomic Neuropathy. Effects on Hypoglycemia Awareness and Counterregulation. *Diabetes* 46: 1172-81, 1997
55. *Frier BM, Hepburn DA*: Unawareness of hypoglycemia in diabetic patients with and without autonomic neuropathy. In: Federlin K, Keen H, Mehnert H: *Hypoglycemia and human insulin*. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, 1991

56. *Fritsche A, Stumvoll M, Grüb M, Sieslack S, Renn W, Schülling R-M, Häring H-U, Gerich JE*: Effect of Hypoglycemia on β -Adrenergic Sensitivity in Normal and Type 1 Diabetic Subjects. *Diabetes Care* 21: 1505-10, 1998
57. *Fukuda M, Tanaka A, Tahara Y, Ikegami H, Yamamoto Y, Kumahara Y, Shima K*: Correlation Between Minimal Secretory Capacity of Pancreatic β -Cells and Stability of Diabetic Control. *Diabetes* 37: 81-88, 1988
58. *George E, Marques JL, Harris ND, Macdonald IA, Hardisty CA, Heller SR*: Preservation of Physiological Responses to Hypoglycemia 2 Days After Antecedent Hypoglycemia in Patients With IDDM. *Diabetes Care* 20: 1293-98, 1997
59. *Gold AE, MacLeod KM, Frier BM*: Frequency of Severe Hypoglycemia in Patients With Type I Diabetes With Impaired Awareness of Hypoglycemia. *Diabetes Care* 17: 697-703, 1994
60. *Golden MP, Ingersoll GM, Brack CJ, Russell BA, Wright JC, Huberty TJ*: Longitudinal Relationship of Asymptomatic Hypoglycemia to Cognitive Function in IDDM. *Diabetes Care* 12: 89-93, 1989
61. *Gulan M, Perlman K, Sole M, Albisser AM, Zinman B*: Counterregulatory Hormone Responses Preserved After Long-Term Intravenous Insulin Infusion Compared to Continuous Subcutaneous Insulin Infusion. *Diabetes* 37: 526-31, 1988
62. *Hauner H, von Ferber L, Köster I*: Schätzung der Diabeteshäufigkeit in der Bundesrepublik Deutschland anhand von Krankenkassendaten. Sekundäranalyse einer repräsentativen Stichprobe AOK-Versicherter der Stadt Dortmund. *Dtsch med Wschr* 117: 645-50, 1992
63. *Havel PJ, Ahren B*: Activation of Autonomic Nerves and the Adrenal Medulla Contributes to Increased Glucagon Secretion During Moderate Insulin-Induced Hypoglycemia in Women. *Diabetes* 46: 801-7. 1997
64. *Heinemann L, Weyer C, Rauhaus M, Heinrichs S, Heise T*: Variability of the Metabolic Effect of Soluble Insulin and Rapid-Acting Insulin Analog Insulin Aspart. *Diabetes Care* 21: 1910-14, 1998

65. *Hendriksen C, Faber OK, Drejer J, Binder C*: Prevalence of residual B-cell function in insulin-treated diabetics evaluated by the plasma C-peptide response to intravenous glucagon. *Diabetologia* 13(6): 615-19, 1977
66. *Hepburn DA, Deary IJ, Frier BM, Patrick AW, Quinn JD, Miles Fisher B*: Symptoms of Acute Insulin-Induced Hypoglycemia in Humans with and without IDDM. *Diabetes Care* 14: 949-57, 1991
67. *Hepburn DA, Steel JM, Frier BM*: Hypoglycemic Convulsions Cause Serious Musculoskeletal Injuries in Patients With IDDM. *Diabetes Care* 12: 32-34, 1989
68. *Howorka K, Heger G, Schabmann A, Skrabal S, Pumplra J*: Weak relationship between symptom perception and objective hypoglycaemia-induced changes of autonomic function in hypoglycaemia unawareness in diabetes. *Acta Diabetol* 35: 1-8, 1998
69. *Howorka K*: Funktionelle Insulintherapie. 4. Auflage 1996, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo
70. *Johansson B-L, Borg K, Fernqvist-Forbes E, Odergren T, Remahl S, Wahren J*: C-peptide improves autonomic nerve function in IDDM patients. *Diabetologia* 39: 687-95, 1996
71. *Johansson BL, Borg K, Frenquist-Forbes E, Kernell A, Odergren T, Wahren J*: Beneficial effects of C-Peptide on incipient nephropathy and neuropathy in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine* 17: 181-89, 2000
72. *Jones TW, Borg WP, Borg MA, Boulware SD, McCarthy G, Silver D, Tamborlane WV, Sherwin RS*: Resistance to Neuroglycopenia: an Adaptive Response During Intensive Insulin Treatment of Diabetes. *J Clin Endocrinol Metabol* 82: 1713-18, 1997
73. *Juhrsch K*: Psychologische Konzepte zur Verbesserung der Hypoglykämiewahrnehmung und Reduktion von Hypoglykämieängsten. *Z Gastroenterol* 40: 33-34, 2002
74. *Jürgens V, Grüßler M*: Diabetes in der Praxis. 3. neu bearbeitete Auflage 1996, Deutscher Ärzte-Verlag

75. *Kahn BB, Rosen AS, Bak JF, Andersen PH, Damsbo P, Lund S, Pedersen O*: Expression of GLUT1 and GLUT4 Glucose Transporters in Skeletal Muscle of Humans with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: Regulatory Effects of Metabolic Factors. *J Clin Endocrinol Metabol* 74: 1101-9, 1992
76. *Kerr D, Diamond MP, Tamborlane WV, Kerr S, Sherwin*: Influence of counterregulatory hormones of hypoglycaemia on cognitive function, warning symptoms and glucose kinetics. *Clinical Science* 85: 197-202, 1993
77. *Kerr D, Reza M, Smith N, Leatherdale BA*: Importance of Insulin in Subjective, Cognitive, and Hormonal Responses to Hypoglycemia in Patients With IDDM. *Diabetes* 40: 1057-60, 1991
78. *Kumagai AK, Kang Y-S, Boado RJ, Pardrige WM*: Upregulation of Blood-Brain Barrier GLUT1 Glucose Transporter Protein and mRNA in Experimental Chronic Hypoglycemia. *Diabetes* 44: 1399-1404, 1995
79. *Langan SJ, Deary IJ, Hepburn DA, Frier BM*: Cumulative cognitive impairment following recurrent severe hypoglycaemia in adult patients with insulin-treated diabetes mellitus. *Diabetologia* 34: 337-44, 1991
80. *Lefebvre PJ, Scheen AJ*: Hypoglycemia. In: Rifkin H, Porte D (eds.): *Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus. Theory and practice. Fourth edition.* Elsevier New York Amsterdam London: 896-910, 1990
81. *Limbert C, Schwingshandl J, Haas J, Roth R, Borkenstein M*: Severe hypoglycemia in children and adolescents with IDDM: frequency and associated factors. *J Diabetes Complications* 7(4): 216-20, 1993
82. *Lingenfelter T, Buettner U, Martin J, Tobis M, Renn W, Kaschel R, Jakober B*: Improvement of Impaired Counterregulatory Hormone Response and Symptom Perception by Short-Term Avoidance of Hypoglycemia in IDDM. *Diabetes Care* 18: 321-24, 1995
83. *Lingenfelter T, Renn W, Sommerwerck U, Jung MF, Buettner UW, Zaiser-Kaschel H, Kaschel R, Eggstein M, Jakober B*: Compromised Hormonal Counterregulation, Symptom Awareness, and Neurophysiological Function

- After Recurrent Short-Term Episodes of Insulin-Induced Hypoglycemia in IDDM Patients. *Diabetes* 42: 610-18, 1993
84. *Linn T, Ebener K, Raptis G, Laube H, Federlin K*: Natural Course of Insulin Sensitivity and Insulin Reserve in Early Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Metabolism* 44: 617-23, 1995
85. *Linn T, Ortac K, Laube H, Federlin K*: Intensive Therapy in Adult Insulin-Dependent Diabetes Mellitus Is Associated With Improved Insulin Sensitivity and Reserve: A Randomized, Controlled, Prospective Study Over 5 Years in Newly Diagnosed Patients. *Metabolism* 45: 1508-13, 1996
86. *Linn T, Santosa B, Schäfer J, Bretzel RG*: Sustained hormonal response to hypoglycaemia in type 1 diabetes is associated with residual c-peptide. *Diabetologia* 44 (Suppl. 1): A219:840, 2001
87. *Liu D, Moberg E, Kollind M, Lins P-E, Adamson U, MacDonald IA*: Arterial, arterialized venous, venous and capillary blood glucose measurements in normal man during hyperinsulinaemic euglycaemia and hypoglycaemia. *Diabetologia* 35: 287-90, 1992
88. *Liu DT, Adamson UC, Lins PE, Kollind ME, Moberg AE, Andreasson K*: Inhibitory Effect of Circulating Insulin on Glucagon Secretion During Hypoglycemia in Type I Diabetic Patients. *Diabetes Care* 15: 59-65, 1992
89. *Madsbad S, Hilsted J, Krarup T, Sestoft L, Christensen NJ, Faber OK, Tronier B*: Hormonal, metabolic and cardiovascular responses to hypoglycaemia in Type 1 (insulin-dependent) diabetes with and without residual B cell function. *Diabetologia* 23: 499-503, 1982
90. *Maggs DG, Sherwin RS*: Mechanisms of the Sympathoadrenal Response to Hypoglycemia. *Adv-Pharmacol.*42: 622-26, 1998
91. *Maruyama H, Hisatomi A, Orci L, Grodsky GM, Unger RH*: Insulin within islets is a physiologic glucagon release inhibitor. *J Clin Invest* 74: 2296-99, 1984
92. *Mathis D, Vence L, Benoist C*: β -Cell death during progression to diabetes. *Nature* 414: 792-98

93. *Matthews JNS, Altman DG, Campbell MJ, Royston P*: Analysis of serial measurements in medical research. *Br Med J* 300: 230-35, 1990
94. *McCall AL*: IDDM, Counterregulation, and the Brain. *Diabetes Care* 20: 1228-30, 1997
95. *McCall AL*: The Impact of Diabetes on the CNS. *Diabetes* 41: 557-70, 1992
96. *Meyer C, Großmann R, Mitrakou A, Mahler R, Veneman T, Gerich J, Bretzel RG*: Effects of Autonomic Neuropathy on Counterregulation and Awareness of Hypoglycemia in Type 1 Diabetic Patients. *Diabetes Care* 21: 1960-66, 1998
97. *Mühlhauser I, Overmann H, Bender R, Bott U, Berger M*: Risk factors of severe hypoglycaemia in adult patients with Type I diabetes – prospective population based study. *Diabetologia* 41, 1274-82, 1998
98. *Myrsén U, Keymeulen B, Pipeleers DG, Sandler F*: Beta cells are important for islet innervation: evidence from purified rat islet-cell grafts. *Diabetologia* 39: 54-59, 1996
99. *Neumann F, Schenck H, Schleusener H, Schweikert HU*: Endokrinpharmakologie. Pharmakotherapie mit Hormonen. In: Forth W, Henschler D, Rummel W, Starke K (Hrsg.): Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 7. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg, Berlin, Oxford. 581-637, 1996
100. *Onkamo P, Väänänen S, Karvonen M, Tuomilehto J*: Worldwide increase in incidence of Type I diabetes - the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia* 42: 1395-1403, 1999
101. *Pampanelli S, Fanelli C, Lalli C, Ciofetta M, Del Sindaco P, Lepore M, Modarelli F, Rambotti AM, Epifano L, Di Vincenzo A, Bartocci L, Annibale B, Brunetti P, Bolli GB*: Long-term intensive therapy in IDDM: effects on HbA1c, risk for severe and mild hypoglycaemia, status of counterregulation and awareness of hypoglycaemia. *Diabetologia* 39: 677-86, 1996
102. *Paramore DS, Fanelli CG, Shah SD, Cryer PE*: Hypoglycemia Per Se Stimulates Sympathetic Neural as Well as Adrenomedullary Activity, but,

- Unlike the Adrenomedullary Response, the Forearm Sympathetic Neural Response Is Not Reduced After Recent Hypoglycemia. *Diabetes* 48: 1429-36, 1999
103. *Pedersen-Bjergaard U, Agerholm-Larsen B, Pramming S, Hougaard P, Thorsteinsson B*: Activity of angiotensin-converting enzyme and risk of severe hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Lancet* 357: 1248-53, 2001
104. *Polinsky RJ, Kopin IJ, Ebert H, Weise V*: The Adrenal Medullary Response to Hypoglycemia in Patients with Orthostatic Hypotension. *J Clin Endocrinol Metab* 51: 1401-6, 1980
105. *Porcellati F, Fanelli C, Bottini P, Epifano L, Rambotti AM, Lalli C, Pampanelli S, Scionti L, Santeusanio F, Brunetti P, Hilsted J, Bolli GB*: Mechanisms of Arterial Hypotension After Therapeutic Doses of Subcutaneous Insulin in Diabetic Autonomic Neuropathy. *Diabetes* 42: 1055-64, 1993
106. *Porte D, Woods SC*: Neural regulation of islet hormones and its role in energy balance and stress hyperglycemia. In: Rifkin H, Porte D (eds.): *Ellenberg and Rifkin's Diabetes Mellitus. Theory and practice*. Fourth edition. Elsevier New York Amsterdam London: 175-97, 1990
107. *Powell AM, Sherwin RS, Shulman GI*: Impaired Hormonal Responses to Hypoglycemia in Spontaneously Diabetic and Recurrently Hypoglycemic Rats. *J Clin Invest* 92: 2667-74, 1993
108. *Ratzmann KP, Schimke E*: Inzidenz schwerer Hypoglykämien in Abhängigkeit von der Stoffwechselqualität und dem Patientenwissen. *Med Klin* 90: 557-61, 1995
109. *Santiago JV, White NH, Skor DA, Levandovski LA, Bier DM, Cryer PE*: Defective glucose counterregulation limits intensive therapy of diabetes mellitus. *Am J Physiol* 247: E215-20, 1984
110. *Santosa B, Schaefer J, Linn T*: Verminderung des Hypoglykämierisikos bei Typ-1-Diabetes mit Insulinreserve durch erhaltene Glukagon- und Cortisolreserve (NEUDIA-Studie). *Diabetes und Stoffwechsel* 8 (Suppl. 1): 77, 1999

111. *Schiffrin A, Suissa S, Weitzner G, Poussier P, Lalla D*: Factors Predicting Course of β -Cell Function in IDDM. *Diabetes Care* 15: 997-1001, 1992
112. *Schneider S, Beyer J, Sarnighausen HE, Burchert D, Kann P, Küstner E, Kunt T*: Vergleich des Hypoglykämieempfindens und der hormonellen Gegenregulation während einer kontrollierten Hypoglykämie. Ein Beitrag zur Diagnostik des Hypoglykämie-Unawareness-Syndroms bei Typ-1-Diabetikern. *Dtsch. med. Wschr.* 125: 177-81, 2000
113. *Snorgaard O, Lassen LH, Binder C*: Homogeneity in Pattern of Decline of β -Cell Function in IDDM. Prospective study of 204 consecutive cases followed for 7,4 yr. *Diabetes Care* 15: 1009-13, 1992
114. *Stephenson J, Fuller JH on behalf of the EURODIAB IDDM Complications Study Group*: Microvascular and acute complications in IDDM patients: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 37: 278-85, 1994
115. *Stephenson JM, Kempler P, Cavallo Perin P, Fuller JH, and the EURODIAB IDDM Complications Study Group*: Is autonomic neuropathy a risk factor for severe hypoglycaemia? The EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 39: 1372-76, 1996
116. *Taborsky Jr GJ, Ahren B, Havel PJ*: Autonomic Mediation of Glucagon Secretion During Hypoglycemia. Implications for Impaired α -Cell Responses in Type 1 Diabetes. *Diabetes* 47: 995-1005, 1998
117. *Tattersall R*: How common is death from insulin-induced hypoglycemia? In: Federlin K, Keen H, Mehnert H (eds.): *Hypoglycemia and human insulin*. Georg Thieme Verlag Stuttgart New York, 15-25, 1991
118. *Tesfaye S, Stevens LK, Stephenson JM, Fuller JH, Plater M, Ionescu-Tirgoviste C, Nuber A, Pozza G, Ward JD, and the EURODIAB IDDM Study Group*: Prevalence of diabetic peripheral neuropathy and its relation to glycaemic control and potential risk factors: the EURODIAB IDDM Complications Study. *Diabetologia* 39, 1377-84, 1996

-
119. *The DCCT Group*: Effect of Intensive Therapy on Residual β -Cell Function in Patients with Type 1 Diabetes in the Diabetes Control and Complications Trial. *Ann Intern Med* 128: 517-23, 1998
 120. *The DCCT Research Group*: Epidemiology of Severe Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Am J Med* 90: 450-59, 1991
 121. *The Diabetes Control and Complications Trial Research Group*: Adverse Events and Their Association With Treatment Regimens in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes Care* 18: 1415-27, 1995
 122. *The Diabetes Control and Complications Trial Research Group*: Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 46: 271-86, 1997
 123. *The Diabetes Control and Complications Trial Research Group*: The Absence of a Glycemic Threshold for the Development of Long-Term Complications: the Perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 45: 1289-98, 1996
 124. *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. *N Engl J Med* 329: 977-86, 1993
 125. *Towler DA, Havlin CE, Craft S, Cryer P*: Mechanisms of Awareness of Hypoglycemia. Perception of Neurogenic (Predominantly Cholinergic) Rather Than Neuroglycopenic Symptoms. *Diabetes* 42: 1791-98, 1993
 126. *Tyler FR, Jones EM, Davis SN, Biggers DW, Myers SR, Connolly CC, Neal DW, Jaspan JB, Cherrington AD*: Counterregulation During Hypoglycemia Is Directed by Widespread Brain Regions. *Diabetes* 42: 1253-61, 1993
 127. *Vea H, Jorde R, Sager G, Vaaler S, Sundsfjord J*: Reproducibility of glycaemic thresholds for activation of counterregulatory hormones and hypoglycaemic symptoms in healthy subjects. *Diabetologia* 35: 958-61, 1992

128. *Wahren J, Ekberg K, Johansson J, Henriksson M, Pramanik A, Johansson BL, Rigler R, Jörnvall H*: Role of C-Peptide in human physiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278: E759-68, 2000
129. *Wahren J, Johansson B-L, Wallberg-Henriksson H, Linde B, Fernqvist-Forbes E, Zierath JR*: C-peptide revisited - new physiological effects and therapeutic implications. *J Int Med* 240: 115-24, 1996
130. *Wahren J, Johansson B-L, Wallberg-Henriksson H*: Does C-peptide have a physiological role? *Diabetologia* 37 (Suppl 2): 99-107, 1994
131. *White NH, Donald AS, 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* 308: 485-91, 1983
132. *Widom B, Simonson DC*: Intermittent Hypoglycemia Impairs Glucose Counterregulation. *Diabetes* 41: 1597-1602, 1992
133. *Winkelmann W, Allolio B, Deuß U*: Endokrinium. In: Kaufmann W, Löhr GW (Hrsg.): *Pathophysiologie*. 4. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York. 530-66, 1991
134. *Wredling R, Levander S, Adamson U, Lins PE*: Permanent neuropsychological impairment after recurrent episodes of severe hypoglycaemia in man. *Diabetologia* 33: 152-57, 1990
135. *Wuttke W*: Endokrinologie. In: Schmidt RF, Thews G (Hrsg.): *Physiologie des Menschen*. 26. Auflage. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York. 370-407
136. *Zimmer P, Alberti KGMM, Shaw J*: Global and social implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414: 782-87, 2001

7. Anhang

7.1 weitere Tabellen und Abbildungen

Tabelle 7.1: Irrtumswahrscheinlichkeiten p für die Korrelation zwischen der Stärke der hormonellen Gegenregulation für die einzelnen Hormone (MW = Mittelwert aller Hormone) bzw. der Größe der nötigen Glucoseinfusionsrate (GIR 1 = Rate während Minute 0 – 25, GIR 3 = Rate während Minute 105 – 145, GIR (Diff.) = Differenz der Raten zwischen Minute 30 – 75 und Minute 105 – 145) und dem Einfluss der Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration für den gemeinsamen Einfluss = p (gesamt) und den jeweils alleinigen Einfluss von C-Peptid = p (C-Peptid) und Diabetesdauer = p (Diabetesdauer)

	p (gesamt)	p (C-Peptid)	p (Diabetesdauer)
Glukagon	0	0,01	0,54
Adrenalin	0,0006	0,25	0,16
Noradrenalin	0,0035	0,13	0,54
Cortisol	0,001	0,04	0,76
STH	0,19	0,77	0,12
GIR 1	0,72	0,46	0,69
GIR 3	0,01	0,33	0,35
GIR (Diff.)	0,43	0,85	0,54
MW (Hormone)	0	0,03	0,14

Tabelle 7.2: Irrtumswahrscheinlichkeiten ($p1$) und Korrelationskoeffizienten ($r1$) für eine Korrelation zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit gemessen an der Hypoglykämievorgeschichte und Stärke der hormonellen Gegenregulation sowie Irrtumswahrscheinlichkeiten ($p2$) und mittlere Rangzahlen für den ungerichteten Vergleich zwischen den Gruppen Gesunde, „aware“ und „unaware“

	$p1$	$r1$	$p2$	mittlere Rangzahlen		
				Gesunde	aware	unaware
Glukagon	0,002	-0,46	0,003	37,4	27,4	12,5
Adrenalin	0,0002	-0,54	0,005	32,5	29,4	9,8
Noradrenalin	0,0001	-0,56	0,002	29,8	30,6	7,7
Cortisol	0,0001	-0,56	0,003	24,2	21,8	10,4
STH	0,03	-0,33	0,46	29,3	28,7	18,6
GIR 1	0,5	0,1	0,13	20,3	28,2	35,4
GIR 3	0,006	0,41	0,008	30,7	23,1	42,1
GIR (Diff.)	0,14	-0,23	0,04	32,1	28,1	14

Tabelle 7.3: Irrtumswahrscheinlichkeiten p und mittlere Rangzahlen für den ungerichteten Vergleich der Gruppen Gesunde, C-peptid-positive Diabetiker (CPP) und C-Peptid-negative Diabetiker (CPN) bzgl. des zeitlichen Beginns der verschiedenen gegenregulatorischen Hormonantworten

	p (Beginn Gegenregulation)	mittlere Rangzahlen		
		CPP	CPN	Gesunde
Glukagon	0,15	16	21	12
Adrenalin	0,0011	21	37	22
Noradrenalin	0,152	20	29	24
Cortisol	0,085	18	27	26
STH	0,43	24	30	32

Tabelle 7.4: Irrtumswahrscheinlichkeiten ($p1$) und Korrelationskoeffizienten ($r1$) für eine Korrelation zwischen Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration und Ausprägung der Symptomwahrnehmung während der Untersuchung während einer Blutzuckerkonzentration von 60 – 70 mg/dl (BZ 60), 40 – 45 mg/dl (BZ 45) und der Differenz der Symptomen-Scores zu diesen Zeitpunkten (Diff.) jeweils für den Gesamt-Score (ges.), die autonomen (aut.), adrenergen (adr.), cholinergen (chol) und neuroglykopenischen (neur) Symptome gesondert sowie Irrtumswahrscheinlichkeiten ($p2$) und mittlere Rangzahlen für den ungerichteten Vergleich diesbzgl. zwischen den Gruppen Gesunde, CPP und CPN, Konz.test = Differenz der für den Konzentrationstest während erster und zweiter hypoglykämischer Testphase benötigten Zeit

	$p1$	$r1$	$p2$	mittlere Rangzahlen		
				Gesunde	CPP	CPN
BZ 60 (ges.)	0,01	-0,38	0,04	25	22	34
BZ 45 (ges.)	0,77	0,05	0,66	24	28	29
Diff. (ges.)	0,43	0,12	0,97	26	28	28
BZ 60 (aut.)	0,01	-0,38	0,05	26	22	33
BZ 45 (aut.)	0,56	0,09	0,96	27	27	28
Diff. (aut.)	0,23	0,19	0,95	28	28	27
BZ 60 (adr.)	0,87	-0,03	0,92	28	26	27
BZ 45 (adr.)	0,49	0,11	0,83	30	27	27
Diff. (adr.)	0,78	0,04	0,57	30	25	29
BZ 60 (chol)	0,001	-0,47	0,01	26	21	34
BZ 45 (chol)	0,9	0,02	0,38	22	27	31
Diff. (chol)	0,33	0,15	0,75	24	29	28
BZ 60 (neur)	0,16	-0,22	0,22	23	25	31
BZ 45 (neur)	1	0	0,28	21	29	30
Diff. (neur)	0,9	0,02	0,44	22	29	29
Konz.test	0,69	-0,06	0,004	15	30	31

Tabelle 7.5: Irrtumswahrscheinlichkeiten (p1) und Korrelationskoeffizienten (r1) für eine Korrelation zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit gemessen an der Hypoglykämievorgeschichte und Ausprägung der Symptomwahrnehmung während der Untersuchung während einer Blutzuckerkonzentration von 60 – 70 mg/dl (BZ 60), 40 – 45 mg/dl (BZ 45) und der Differenz der Symptomen-Scores zu diesen Zeitpunkten (Diff.) jeweils für den Gesamt-Score (ges.), die autonomen (aut.), adrenergen (adr.), cholinergen (chol) und neuroglykopenischen (neur) Symptome gesondert sowie Irrtumswahrscheinlichkeiten (p2) und mittlere Rangzahlen für den ungerichteten Vergleich diesbzgl. zwischen den Gruppen Gesunde, „aware“ und „unaware“, Konz.test = Differenz der für den Konzentrationstest während erster und zweiter hypoglykämischer Testphase benötigten Zeit

	p1	r1	p2	mittlere Rangzahlen		
				Gesunde	aware	unaware
BZ 60 (ges.)	0,77	0,05	0,7	25	28	23
BZ 45 (ges.)	0,02	-0,37	0,04	24	31	16
Diff. (ges.)	0,01	-0,41	0,02	26	31	13
BZ 60 (aut.)	0,72	0,06	0,85	26	28	25
BZ 45 (aut.)	0,02	-0,35	0,06	27	30	15
Diff. (aut.)	0,01	-0,41	0,03	28	30	13
BZ 60 (adr.)	0,88	-0,02	0,91	28	27	25
BZ 45 (adr.)	0,02	-0,35	0,16	30	29	17
Diff. (adr.)	0,1	-0,25	0,28	30	28	19
BZ 60 (chol)	0,7	0,06	0,87	26	28	25
BZ 45 (chol)	0,04	-0,31	0,01	22	32	14
Diff. (chol)	0,01	-0,41	0,02	24	31	13
BZ 60 (neur)	0,78	0,04	0,57	23	28	26
BZ 45 (neur)	0,07	-0,28	0,06	21	31	20
Diff. (neur)	0,05	-0,3	0,08	22	31	19
Konz.test	0,78	0,04	0,004	13	30	33

Tab. 7.6: Übersicht über die Situation vor Beginn der eigentlichen Testphase unter Berücksichtigung der Zeitdauer bis zum Testbeginn (Minuten bis Beginn), der Blutzuckerkonzentration bei der ersten Blutentnahme (Ausgangs-BZ), eines möglichen Beginns einer kontinuierlichen Insulininfusion (Perfusor ja/nein) bzw. von Insulinbolusgaben (Altinsulin) vor Minute 0 und dem Zeitpunkt der letzten Bolusgabe, Min. = Minute, ¹übliche morgendliche Dosis, ²1 – 2 Stunden zuvor eingenommene Mahlzeit, ³1,5 Stunden zuvor injizierte Altinsulindosis bei einer Blutzuckerkonzentration von 352 mg/dl

Pat.-ID	Min. bis Beginn	Ausgangs-BZ	Perfusor (ja/nein)	Altinsulin (IE)	Insulin zuletzt (Min.)	Bemerkungen
1*1	0	131	nein	0	#	Basalinsulin ¹
1*2	35	131	ja	0	#	#
1*3	0	98	nein	0	#	#
1*4	60	194	ja	0	#	#
1*5	0	124	nein	0	#	#
1*6	60	188	ja	3	-65	#
1*7	0	110	nein	0	#	#
1*8	40	147	ja	2	-50	#
1*9	0	101	nein	0	#	#
1*10	25	131	ja	0	#	#
1*11	60	155	ja	0	#	#
1*12	30	130	ja	0	#	#
1*13	30	146	ja	0	#	#
1*14	35	209	ja	4	-45	#
1*15	40	135	ja	0	#	#
1*16	10	142	ja	0	#	#
1*17	60	163	ja	0	#	#
1*18	50	292	ja	5	-50	#
1*19	0	117	nein	0	#	#
1*20	105	277	ja	15	-65	#
1*21	50	204	ja	4	-45	#
1*22	30	172	ja	0	#	#
1*23	35	191	ja	0	#	#
2*1	85	267	ja	15	-55	#
2*2	150	322	ja	0	#	#
2*3	50	247	ja	3	-65	#
2*4	25	220	Ja	6	-35	#
2*5	25	210	ja	6	-35	#
2*6	70	390	ja	33	-45	#
2*7	55	152	ja	0	#	#
2*8	50	312	ja	6	-60	2BE ² , Alt für 2BE, Basal ¹
2*9	0	99	nein	0	#	2BE
2*10	60	348	ja	20	-40	#
2*11	40	245	ja	3	-50	#
2*12	85	301	ja	18	-55	#
2*13	0	87	nein	0	#	#
2*14	55	213	ja	0	#	#
2*15	135	340	ja	0	#	#
2*16	135	275	ja	0	#	#
2*17	75	223	ja	4	-70	2BE ²
2*18	60	269	ja	3	-55	#
2*19	0	120	nein	0	#	#
2*20	30	216	ja	4	-40	14IE Alt ³

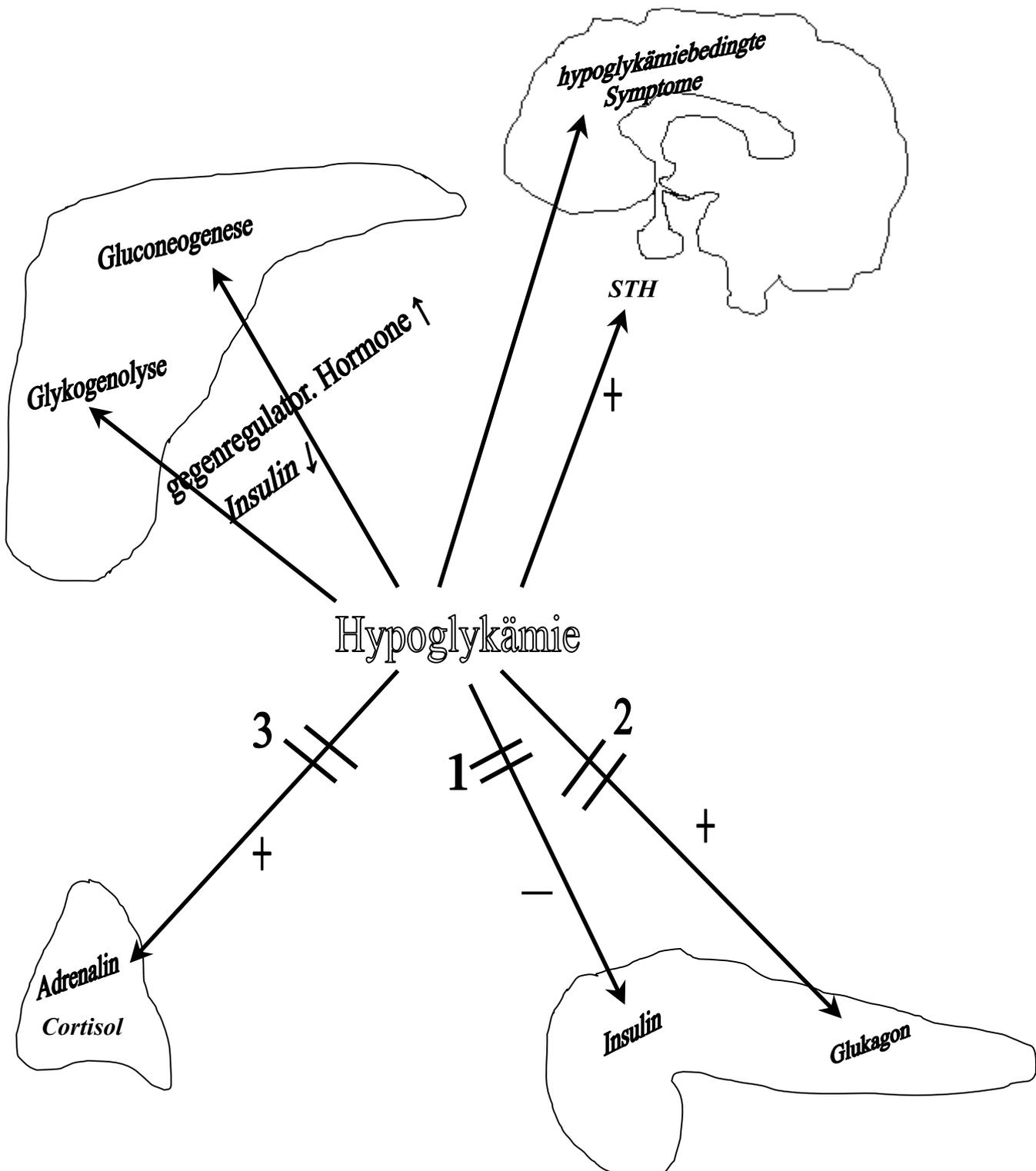
Tabelle 7.7: Übersicht über den jeweiligen prozentualen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Hormonantwort

	Glukagon	Adrenalin	Noradrenalin	Cortisol	STH
Kontrollgruppe	82	91	100	73	100
CPP	65	100	96	96	100
CPN	25	95	70	70	90
aware	53	97	94	89	94
unaware	0	100	43	57	100

Abb. 7.1: während der Untersuchung verwendeter Fragebogen zur Beurteilung der subjektiven Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit

Hypoglykämiesymptome						
Name:						
Minute:						
	0	1	2	3	4	5
Zittern						
Herzklopfen						
Nervosität						
Ängstlichkeit						
Schwitzen						
Hunger						
Kribbeln						
Konzentrationsschwäche						
Verschwommensehen						
Schwindel						
Abgeschlagenheit/Schwäche						

Abb. 7.2: Physiologie und Pathophysiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung



- 1) Mechanismus bei Diabetikern ohne residuale endogene Insulinsekretion (C-Peptid-Negativität) nicht mehr vorhanden
- 2) Verlust der Glukagon-Antwort meist in den ersten Jahren nach Diabetesmanifestation (eng korreliert mit C-Peptid-Negativität)
- 3) Verlust der Adrenalin-Antwort häufig einige Jahre nach der Glukagon-Antwort, dadurch dann stark gestörte Hypoglykämie-Gegenregulation (Wirkbeginn von Cortisol und STH zu spät für eine Kompensation)

7.2 Verzeichnis der Abbildungen

	Seite	
Abb. 2.1	schematischer Verlauf der Blutzuckerkonzentration	26
Abb. 3.1	mittlere Konzentrationen von Glucose und Insulin im Verlauf der Untersuchung	45
Abb. 3.2	Stärke der gegenregulatorischen Glukagonsekretion (als AUC)	49
Abb. 3.3	Stärke der gegenregulatorischen Adrenalinsekretion (als AUC)	51
Abb. 3.4	Stärke der gegenregulatorischen Noradrenalinsekretion (als AUC)	53
Abb. 3.5	Stärke der gegenregulatorischen Cortisolsekretion (als AUC)	55
Abb. 3.5	Stärke der gegenregulatorischen STH-Sekretion (als AUC)	58
Abb. 3.7	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker, während Euglykämie	60
Abb. 3.8	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker, BZ 60 – 70 mg/dl	61
Abb. 3.9	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker, BZ 40 – 45 mg/dl	61
Abb. 3.10	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden und der Gesamtheit der Diabetiker, Differenz zwischen Euglykämie und BZ 40 – 45 mg/dl	62
Abb. 3.11	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der CPP und CPN, Euglykämie	63
Abb. 3.12	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der CPP und CPN, BZ 60 – 70 mg/dl	63
Abb. 3.13	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der CPP und CPN, BZ 40 – 45 mg/dl	64

Abb. 3.14	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der CPP und CPN, Differenz zwischen Euglykämie und BZ 40 – 45 mg/dl	64
Abb. 3.15	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der „aware“ und der „unaware“, Euglykämie	65
Abb. 3.16	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der „aware“ und der „unaware“, BZ 60 - 70 mg/dl	66
Abb. 3.17	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der „aware“ und der „unaware“, BZ 40 - 45 mg/dl	66
Abb. 3.18	subjektive Symptomwahrnehmung der gesunden Probanden, der „aware“ und der „unaware“, Differenz zwischen Euglykämie und BZ 40 – 45 mg/dl	67
Abb. 3.19	Zeitdifferenz im Konzentrationstest, gesunde Probanden und Gesamtheit der Diabetiker	68
Abb. 3.20	Zeitdifferenz im Konzentrationstest, gesunde Probanden, CPP und CPN	69
Abb. 3.21	Zeitdifferenz im Konzentrationstest, gesunde Probanden, „aware“ und „unaware“	70
Abb. 7.1	während der Untersuchung verwendeter Fragebogen zur Beurteilung der subjektiven Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit	119
Abb. 7.2	Physiologie und Pathophysiologie der Hypoglykämie-Gegenregulation und -Wahrnehmung	120

7.3 Verzeichnis der Tabellen

	Seite
Tab. 2.1 Demographische Daten der C-Peptid-positiven Diabetiker	24a
Tab. 2.2 Demographische Daten der C-Peptid-negativen Diabetiker	24b
Tab. 2.3 Demographische Daten der Kontrollpersonen	25
Tab. 3.1 Übersicht über den jeweiligen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Glukagon-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert (MW) der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben	47
Tab. 3.2 Übersicht über die mittleren Blutzuckerkonzentrationen während der ersten und zweiten hypoglykämischen Testphase in den einzelnen Gruppen	47
Tab. 3.3 Übersicht über den jeweiligen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Adrenalin-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben	50
Tab. 3.4 Übersicht über den jeweiligen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Noradrenalin-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben	52
Tab. 3.5 Übersicht über den jeweiligen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Cortisol-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben	54
Tab. 3.6 Übersicht über den jeweiligen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer STH-Antwort, sowie jeweils Median und Mittelwert der Stärke der Gegenregulation (als AUC) und des zeitlichen Beginns derselben	57
Tab. 3.7 Glucoseinfusionsraten während der Untersuchung	59

Tab. 7.1	Irrtumswahrscheinlichkeiten für die Korrelation zwischen Stärke der hormonellen Gegenregulation und Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration und der Diabetesdauer	115
Tab. 7.2	Korrelation zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit und Stärke der hormonellen Gegenregulation (Irrtumswahrscheinlichkeiten, Korrelationskoeffizienten, mittlere Rangzahlen)	115
Tab. 7.3	Vergleich der Gruppen CPP, CPN und Kontrollpersonen bzgl. des zeitlichen Beginns der hormonellen Gegenregulation (Irrtumswahrscheinlichkeiten, mittlere Rangzahlen)	116
Tab. 7.4	Korrelation zwischen Höhe der stimulierten C-Peptid-Konzentration und Ausprägungsgrad der Symptomwahrnehmung während des Clamps (Irrtumswahrscheinlichkeiten, Korrelationskoeffizienten, mittlere Rangzahlen)	116
Tab. 7.5	Korrelation zwischen anamnestischer Hypoglykämie-Wahrnehmungsfähigkeit und Ausprägungsgrad der Symptomwahrnehmung während des Clamps (Irrtumswahrscheinlichkeiten, Korrelationskoeffizienten, mittlere Rangzahlen)	117
Tab. 7.6	Übersicht über die Situation vor Beginn der eigentlichen Testphase (Ausgangsbloodzuckerkonzentrationen, Zeitdauer bis zum Erreichen einer Blutzuckerkonzentration um 120 mg/dl, vorherige Insulininjektionen)	118
Tab. 7.7	Übersicht über den jeweiligen prozentualen Anteil an Probanden mit signifikanter gegenregulatorischer Hormonantwort	119

7.4 Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

AUC	area under the curve / Fläche unter der Kurve
aware	Diabetiker ohne schwere Hypoglykämien in der Vorgeschichte
aware*	als „aware“ bezeichnete Diabetiker mit Ausnahme derer mit rezidivierenden leichten Hypoglykämien in der Vorgeschichte
BE	Broteinheiten
BMI	body-mass-index
BZ	Blutzuckerkonzentration
CBG	Cortisol-bindendes Globulin
CPN	C-Peptid-negativ bzw. C-Peptid-negative Diabetiker
CPP	C-Peptid-positiv bzw. C-Peptid-positive Diabetiker
CT	conventional insulin therapy / konventionelle Insulintherapie
DAN	diabetische autonome Neuropathie
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
ICT	intensified conventional insulin therapy / intensiviert konventionelle Insulintherapie
MW	Mittelwert
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
r	Korrelationskoeffizient
R	Range / Spannweite (Maximum – Minimum)
SD	Standardabweichung
subjektiv unaware	Diabetiker mit rezidivierenden leichten Hypoglykämien in der Vorgeschichte
unaware	Diabetiker mit schweren Hypoglykämien in der Vorgeschichte

8. Danksagungen

DANKE

- Herrn PD Dr. med. Th. Linn für die Überlassung des Dissertationsthemas und die gute wissenschaftliche Betreuung über den gesamten Zeitraum der Arbeit sowie die ausführliche Diskussion des Manuskriptes
- Herrn Dr. med. B. Santosa für die gute Zusammenarbeit bei der Durchführung der hypoglykämischen Clamp-Untersuchungen und darüber hinaus
- allen Diabetikern und gesunden Kontrollpersonen, die sich dazu bereitklärten, an dieser Studie teilzunehmen
- Frau Heuser, Frau Müller, Frau Sitte und Frau Willems aus den Laboratorien der Med. Poliklinik und Med. Klinik III für die Durchführung bzw. stets hilfsbereite Unterstützung bei der Durchführung der Bestimmungen von HbA1c, Insulin, Plasmaglucose, Cortisol, STH und Glukagon sowie dem Team des HPLC-Labores der Kinderklinik für die Catecholamin-Bestimmungen
- Herrn PD Dr. rer. nat. K. Failing für die vielfältige Unterstützung im Rahmen der statistischen Auswertung der Ergebnisse
- vielen anderen für hilfreiche Ratschläge und vieles mehr
- und nicht zuletzt ganz besonders meinen Eltern, die mir das Studium und diese Arbeit überhaupt erst ermöglichten und mich auch stets darin unterstützten

9. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Jana Catarina Schäfer
Geburtsdatum	30. September 1975
Geburtsort	Wetzlar

Schulbildung

1981 – 1985	Grundschule Waldgirmes
1985 – 1994	Herderschule Gießen, schulformbezogene Gesamtschule mit gymnasialer Oberstufe Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium

1994 – 2000	Studium der Humanmedizin an der Justus-Liebig-Universität Gießen
09/1996	Ärztliche Vorprüfung
09/1997	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/1999	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/2000	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Beruf

11/00 – 04/02	Ärztin im Praktikum, Krankenhaus Johanneum Wildeshausen, Fachbereich Chirurgie
ab Mai 2002	Assistenzärztin, Krankenhaus Johanneum Wildeshausen, Fachbereich Chirurgie