

# **Diabetes mellitus** **und** **die Diffusionskapazität der Lunge**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Humanmedizin

der Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von Marcus Michael Ziegler

aus Krefeld

Gießen 2009

Aus dem Medizinischen Zentrum für Innere Medizin, Medizinische Klinik III und  
Poliklinik des Universitätsklinikums Gießen und Marburg GmbH, Standort Gießen  
Leiter: Prof. Dr. med. Reinhard G. Bretzel

1. Gutachter: Prof. em. Dr. Drs. h.c. Konrad Federlin

2. Gutachter: Prof. Dr. Jürgen Homann

Tag der Disputation: 06.11.2009

*In Dankbarkeit meiner Ehefrau Christine*

*und meiner Mutter*

*gewidmet*



# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1. ALLGEMEINES .....	1
1.2. ZUSAMMENFASSUNG WICHTIGER FRÜHERER VERÖFFENTLICHUNGEN.....	3
1.3. ZIELSETZUNG .....	11
1.4. THEORETISCHE GRUNDLAGEN ZUR TRANSFERFAKTOR-MESSUNG .....	14
<b>2. UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODIK.....</b>	<b>18</b>
2.1. KLASSIFIKATION DER KOLLEKTIVE .....	18
2.1.1. Diabetiker.....	18
2.1.2. Kontrollgruppe .....	23
2.2. MESSMETHODEN .....	26
2.2.1. Standardlungenfunktion .....	26
2.2.2. Diffusionskapazität.....	26
2.2.3. Sollwerte.....	29
2.2.4. Neuropathie-Untersuchung.....	30
2.2.5. Allgemeines .....	31
2.3. TIEREXPERIMENT.....	32
2.3.1. Kollektivbeschreibung .....	32
2.3.2. Lungenpräparation.....	33
2.3.3. Ausschlußkriterien.....	36
2.3.4. Transmissions-Elektronenmikroskopie.....	37
2.3.5. Grundlagen der Morphometrie .....	45
2.4. STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	46
<b>3. ERGEBNISSE .....</b>	<b>47</b>
3.1. STANDARDLUNGENFUNKTION .....	47
3.1.1. Methodenvergleich.....	48
3.1.2. Statische Lungenvolumina.....	48
3.1.3. Dynamische Parameter .....	50
3.1.4. Atemwegswiderstand.....	50
3.2. DIFFUSIONSKAPAZITÄT .....	51
3.2.1. Einfluß der Standardlungenfunktionsparameter auf die Diffusionskapazität .....	54
3.3. EINFLUSS DIABETESSPEZIFISCHER PARAMETER AUF DIE LUNGENFUNKTION..	55
3.3.1. Diffusionskapazität und Diabetes.....	55
3.3.2. Diabetische Sekundärerkrankungen.....	55
3.3.2.1. Sekundärerkrankungen und Diffusionskapazität.....	56

3.3.2.2. Sekundärerkrankungen und Residualvolumen.....	58
3.3.2.3. Sekundärerkrankungen und obstruktive Parameter .....	60
3.3.2.4. Sekundärerkrankungen und Rauchverhalten .....	61
<b>3.4. HISTOMORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG AN RATTENLUNGEN .....</b>	<b>62</b>
3.4.1. <i>Gesamtkollektiv</i> .....	62
3.4.2. <i>Diabeteskollektiv</i> .....	65
3.4.3. <i>Vergleichskollektiv</i> .....	66
<b>4. DISKUSSION.....</b>	<b>67</b>
4.1. LUNGENFUNKTION.....	67
4.1.1. <i>Standardlungenfunktion</i> .....	67
4.1.2. <i>Diffusionskapazität</i> .....	70
4.2. HISTOMORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.....	71
4.3. SCHLUSSFOLGERUNGEN.....	75
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>77</b>
<b>6. SUMMARY .....</b>	<b>79</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>81</b>
<b>8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>94</b>
<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>96</b>

# 1. EINLEITUNG

## 1.1. ALLGEMEINES

Der Diabetes mellitus ist eine weit verbreitete und in den Industrienationen weiter zunehmende Stoffwechselerkrankung. Lag der Anteil manifester Diabetiker an der Gesamtbevölkerung in Deutschland vor 20 Jahren noch bei etwa 2-3 %<sup>71</sup>, so beträgt er heute schon über 5%. Im Jahre 1980 wurde durch die WHO eine neue Einteilung in zwei Haupttypen geschaffen, den insulinabhängigen Typ-I-Diabetes, im anglikanischen Sprachraum auch IDDM (= insulin-dependent diabetes mellitus) genannt, sowie den insulinunabhängigen Typ-II-Diabetes oder NIDDM (= non-insulin-dependent diabetes mellitus). Diese Systematik wurde 1999 im Zuge der Anpassung an den aktuellen Wissensstand durch die derzeit gültige ADA-Klassifikation<sup>i 1</sup> abgelöst. Die neue Nomenklatur unterscheidet folgende Diabetestypen:

- I. Typ 1-Diabetes
- II. Typ 2-Diabetes (man beachte die arabischen anstelle römischer Ziffern!)
- III. Andere spezifische Typen
- IV. Gestationsdiabetes

Die Prognose der Erkrankung sowie die Lebenserwartung der Diabetiker werden durch diverse, zum Teil interagierende Faktoren bestimmt. Der Ausbildung diabetischer Sekundärkomplikationen, welche zudem entscheidenden Einfluß auf die Lebensqualität der Patienten nehmen, kommt dabei eine zentrale Bedeutung zu. Neben der beim Typ-2-Diabetes dominanten Makroangiopathie sind mikrovaskuläre Läsionen in den unterschiedlichsten Körperregionen nachweisbar. Im Vordergrund stehen hier insbesondere Nieren<sup>2;13;141;158;197</sup>, Nervensystem und Retina. Untersuchungen in den letzten Jahren lassen jedoch pathomorphologische Veränderungen besonders der Mikrozirkulation in nahezu allen Organen vermuten<sup>96</sup>. In neuerer Zeit wurden z.B. die Begriffe „diabetische Kardiopathie“<sup>154</sup> und „diabetische Gastropathie“ (letztere wird heute der autonomen Neuropathie zugeordnet) geprägt. Weitere klinisch bedeutsame Sekundärkomplikationen des Diabetes sind die überwiegend,

---

<sup>i</sup> ADA = American Diabetes Association

jedoch nicht ausschließlich, bei Kindern und jugendlichen Patienten vorkommenden periartikulären Bindegewebsveränderungen (sogenannte „Limited joint mobility“ oder LJM<sup>i</sup>)<sup>9;14;15;21;32;155-157;172;177</sup> - nach neueren Untersuchungen häufig assoziiert mit einer Retinopathie<sup>168</sup> - sowie eine erhöhte Neigung zu Infektionskrankheiten.

Von einigen Autoren wird auch eine Manifestation des Diabetes an der Lunge vermutet, die diabetische Pneumopathie, welcher das Interesse dieser Arbeit gilt. So konnten zum Beispiel KODOLOVA et al.<sup>102;103</sup> mit menschlichen Autopsiestudien sowie aufgrund morphometrischer und biochemischer Analysen an diabetischen Ratten den Nachweis pulmonaler mikroangiopathischer und emphysematischer Veränderungen erbringen. Es sind u.a. Modifikationen im Metabolismus des Lungenbindegewebes<sup>92;116</sup> und der Surfactant-produzierenden Typ-II-Pneumozyten<sup>113;192-194</sup> bekannt. Außerdem liegen viele signifikante Spirometriebefunde vor. Viele Untersucher berichten insbesondere über verminderte Vital- und Totalkapazität<sup>9;48</sup> bzw. Verschlechterung der forcierten Expiration<sup>4;44</sup> und des alveolo-kapillären Gasaustausches<sup>33;136</sup> bzw. der Diffusionskapazität<sup>4;126</sup>. Andere Autoren beschreiben jedoch völlig unauffällige Lungenfunktionsuntersuchungen<sup>16;122</sup>. Besonders kontrovers stellen sich die Ergebnisse bei der Lungenelastizität dar: Während bei SCHUYLER et al.<sup>173</sup> und SANDLER et al.<sup>164-167</sup> die Elastizität vermindert war, konnten MACCIONI und COLEBATCH<sup>114</sup> sowie SCHERNTHANER et al.<sup>170</sup> keine pathologischen Befunde erheben. Nicht zuletzt ergeben sich jedoch aus der klinischen Erfahrung deutliche Anzeichen für eine Beteiligung der Lunge am Gesamtkomplex diabetesspezifischer Folgeschäden. Besonders zu erwähnen sind hier häufig beschriebene respiratorische Insuffizienz Zustände im Zusammenhang mit ketoazidotischen Stoffwechsellagen<sup>28</sup>, eine erhöhte Inzidenz häufig schwer therapierbarer pulmonaler Infektionen<sup>79;91</sup> und die intensivmedizinische Beobachtung protrahierter Krankheitsverläufe unter Respiratortherapie<sup>44</sup>. Für eine ausführliche Zusammenfassung der bisherigen Publikationen zum Thema „Diabetes und Lunge“ sei auf Kapitel 1.2 verwiesen.

---

<sup>i</sup> Oft, die Sachlage nur unvollständig wiedergebend, als Cheiroarthropathie oder Cheiropathie bezeichnet<sup>9;10;21</sup>

## **1.2. ZUSAMMENFASSUNG WICHTIGER FRÜHERER VERÖFFENTLICHUNGEN**

Zum Thema „Diabetes und Lunge“ läßt sich eine Vielzahl von Beobachtungen und Befunden aus organisierten human- und tierexperimentellen Studien sowie aus der täglichen Praxis zusammentragen. Nachfolgend soll ein Überblick über die wichtigsten bisher publizierten Ergebnisse und Beobachtungen gegeben werden. Zur besseren Übersicht erfolgt eine Aufteilung in acht Bereiche:

1. Lungenfunktionsprüfungen
2. Histologische und biochemische Befunde (Humanstudien)
3. Tierexperiment
4. Infektionen des unteren Respirationstraktes
5. Pulmonale Komplikationen in Verbindung mit Ketoazidose
6. Andere nicht-infektiöse Komplikationen
7. Pneumogene Mortalität
8. Sonstiges

Insbesondere unter die Punkte 4, 5 und 7 fallen natürlich auch solche pulmonale Manifestationen, welche unter Umständen lediglich sekundär-respiratorische Symptome diabetischer Extremsituationen (Ketoazidose) oder aber Folgeerscheinungen solcher Erkrankungen darstellen, für die der Diabetes als prädisponierendes pathophysiologisches Moment fungiert (Infektionen). Andere wiederum scheinen auf dem Hintergrund bereits bekannter diabetischer Spätfolgen (z.B. Neuropathie) erklärbar. Die Mehrheit der hier zusammengetragenen Befunde bietet jedoch eindeutige Hinweise auf primäre, d.h. unmittelbar auf den Diabetes zurückzuführende Lungenveränderungen.

Es kann nicht das Ziel einer solchen Übersicht sein, jeden einzelnen Befund zu kommentieren und nach seiner individuellen Bedeutung im Gesamtbild zu beurteilen. Vielmehr soll so die Gelegenheit gegeben werden, einen möglichst umfassenden Eindruck vom momentanen Stand der Forschung zu gewinnen und die klinische Relevanz derselben auf diesem Gebiet zu ermessen.

**ad 1: Lungenfunktionsprüfungen**

In der folgenden *Tab. 1.1* sind die bisher gefundenen statistisch signifikanten Ergebnisse in chronologischer Reihenfolge aufgeführt. Dabei wurden nur diejenigen Studien berücksichtigt, aus welchen sich eine Aussage über die hier im Mittelpunkt des Interesses stehenden Lungendiffusionsparameter ableiten läßt.

Autor/en	Befund
SUGAHARA et al., 1979 <sup>184</sup>	$D_{L,CO}$ , $pO_2$ ↓
OULHEN et al., 1982 <sup>136</sup>	verschiedene Parameter des CO-Transfers ↓
ASANUMA et al., 1985 <sup>4</sup>	$D_{L,CO}$ , $D_L/V_A$ , FVC, FEV, MEF <sub>50</sub> , MEF <sub>25</sub> ↓ (Typ 1- und Typ 2-Diabetiker)
SANDLER et al., 1986 <sup>165</sup>	$D_{L,CO}/V_A$ , $Q_C/V_A$ ↓
SANDLER et al., 1987 <sup>166</sup>	$D_{L,CO}/V_A$ , $Q_C/V_A$ ↓
BELL et al., 1988 <sup>9</sup>	$D_{L,CO}$ , TLC, VC, FRC, RV, FEV <sub>1</sub> ↓
WEIR et al., 1988 <sup>208</sup>	$K_{CO}$ ↓ (Diabetiker mit Retinopathie im Vergleich zu solchen ohne Retinopathie)
COOPER et al., 1990 <sup>33</sup>	$T_{CO}$ , TLC, $D_{L,CO}$ ↓ (Patienten > 35 Jahre), $D_{L,CO}/V_A$ ↑ (Patienten < 35 Jahre)
DISCHER et al., 1990 <sup>44</sup>	VC und TLC ↓, RV%/TLC ↑
TAN et al., 1990 <sup>187</sup>	Typ 1: $D_{L,CO}$ , FEV <sub>1</sub> , MEF <sub>50</sub> , MEF <sub>25</sub> , $pO_2$ , $pCO_2$ ↓ Typ 2: $D_{L,CO}$ , MEF <sub>50</sub> , MEF <sub>25</sub> , $pO_2$ ↓
MATSUBARA et al., 1991 <sup>120</sup>	$D_{L,CO}$ , TLC, VC, RV, MEF <sub>25</sub> , $pO_2$ ↓
RAMIREZ et al., 1991 <sup>149</sup>	$D_{L,CO}$ , FVC ↓ (Diabetiker mit konventioneller Insulintherapie in Relation zu intensiviert Therapierten)

Autor/en	Befund
STROJEK et al., 1992 <sup>179</sup>	$D_{L,CO}$ , $D_{L,CO}/V_A$ , $C_{dyn}$ ↓ (Diabetiker mit Sekundärerkrankungen)
SCHNACK et al., 1996 <sup>171</sup>	$D_{L,CO}$ , TLC, VC, FEV <sub>1</sub> , R <sub>aw</sub> ↓ (Diabetiker mit und ohne Nephropathie)
FUSO et al., 1996 <sup>59</sup>	$D_{L,CO}$ ↓ (nur in Rückenlage bei diabetischen Patienten)
ISOTANI et al., 1999 <sup>90</sup>	$D_{L,CO}/V_A$ ↓ (Diabetiker mit proliferativer Retinopathie im Vergleich zu solchen mit einfacher bzw. ohne Retinopathie)

Tab. 1.1: Signifikante Ergebnisse aus 16 Lungenfunktionsstudien

Die folgenden Autoren konnten trotz einer mitunter großen Anzahl an untersuchten Probanden und Lungenfunktionsparametern keine signifikanten Abweichungen feststellen:

- SCHERNTHANER et al., 1977<sup>170</sup>
- BRITTON et al., 1988<sup>16</sup>
- MACCIONI und COLEBATCH, 1991<sup>114</sup>
- MINETTE et al., 1999<sup>122</sup>

## ***ad 2: Histologische und biochemische Befunde (Humanstudien)***

Im Rahmen autoptischer Untersuchungen an Diabetikern konnten folgende histologische Veränderungen festgestellt werden:

- Pulmonale diabetische Makro-<sup>112</sup> und Mikroangiopathie<sup>102;103;112;120</sup>
- Zentrilobuläres Lungenemphysem<sup>102</sup>
- Verfettung von Typ-II-Pneumozyten und Alveolarmakrophagen<sup>112</sup>
- Verdickung der epithelialen und kapillären Basalmembranen<sup>201</sup>
- Beschleunigte Alterung von Kollagen<sup>78;104;125;173</sup>

Außerdem existieren widersprüchliche Berichte über  $\alpha_1$ -Antitrypsin, dessen genetisch bedingtes Mangelsyndrom zu einem obstruktiven Lungenemphysem führt: Sowohl Herabsetzung von Konzentration und totaler Aktivität als auch Konzentrati-

onserhöhungen konnten im Serum von Diabetikern gemessen werden<sup>46;60;189</sup>. Allerdings wurden in diesen Untersuchungen unterschiedliche Meßmethoden angewandt.

### ***ad 3: Tierexperiment<sup>i</sup>***

Für die Untersuchung des Diabetes mellitus sind kleine Säugetiere wie Mäuse und Ratten als Tiermodelle sehr gut geeignet. Dabei werden entweder spontan-diabetische Züchtungen wie z.B. Bio-Breeding/Worcester-Ratten verwendet oder Tiere, bei welchen mittels Injektion von inselzell-toxischen Substanzen (Streptozotocin oder Alloxan) ein artifizieller Diabetes herbeigeführt wurde. Aus der Literatur über den Einfluß des tierexperimentellen Diabetes mellitus auf die Lunge seien die folgenden Befunde angeführt<sup>ii</sup>:

- Zunahme der Alveolenwandstärke<sup>95;132</sup> bei Verdickung der kapillären<sup>183</sup> und epithelialen<sup>95</sup> Basalmembranen
- Erhöhte Zahl an Alveolen bei gleichzeitiger Abnahme ihrer Größe<sup>95;132</sup>
- Untersuchungen der Lungenelastizität ergaben sowohl erhöhte<sup>95</sup> als auch erniedrigte<sup>162</sup> Werte für die spezifische statische Compliance bei wachsenden Ratten sowie eine erhöhte Lungenelastizität bei ausgewachsenen, aber insulinbehandelten Tieren<sup>161</sup>
- Verminderte alveoläre Oberflächenspannung, d.h. Elastizitätsverlust der Lunge (bei Kaninchen)<sup>61</sup>
- Modifikation von Struktur<sup>143;183</sup> und Metabolismus der Surfactant-produzierenden Typ-II-Pneumozyten:
  1. Deutlich reduzierte Aktivität des für die Synthese von Surfactant notwendigen Enzyms Adenylatcyclase<sup>17</sup>
  2. Verminderung wesentlicher Bestandteile des Surfactant<sup>181;192</sup>

---

<sup>i</sup> Aufgrund der gehäuft auftretenden pulmonalen Infekte war die Krankheitsdauer der in den verschiedenen Studien verwendeten Tiere mitunter sehr kurz. Diese Tatsache ist insbesondere bei der Interpretation solcher Untersuchungen zu berücksichtigen, bei denen sich kein signifikanter Unterschied zwischen den diabetischen und nicht-diabetischen Kollektiven ergab und die aus diesem Grund hier nicht aufgeführt wurden.

<sup>ii</sup> Es handelt sich hierbei, wenn nicht anders vermerkt, um diabetische Ratten.

3. Veränderte Gewichtung einzelner Komponenten des Surfactant (Zunahme von Glycerol bzw. Abnahme von Glucose)<sup>129;192-194</sup>
  4. Abnahme der Anzahl Surfactant-speichernder Zellorganellen<sup>113;183</sup>
  5. Anzeichen für verminderte Sekretion von Surfactant<sup>18;143</sup>
- Der Nachweis von Insulin-Rezeptoren in der Lunge<sup>127;128</sup> (unter anderem auf den Typ-II-Pneumozyten<sup>12;182</sup>) und die Fähigkeit von Insulin, in vitro die Synthese bestimmter Proteine in der Lunge zu stimulieren, deuten auf einen Einfluß dieses Hormons auf die Surfactant-Produktion<sup>129</sup> und damit auch auf die Lungenfunktion<sup>127</sup> hin
  - Anstieg des Kollagen- und Elastinanteils im Lungengewebe<sup>95;132;161</sup>, evtl. verursacht durch verminderten Abbau<sup>133</sup> aufgrund einer vermehrten Aktivität der Lysyl-Oxidase, welche die Ausbildung intra- und intermolekularer Brückenbindungen, sog. „cross-links“, katalysiert<sup>116</sup>
  - Zunahme von Histamin<sup>66;67</sup> und Fibroblasten-Wachstumsfaktor-mRNA<sup>92</sup> als fakultativer Beitrag zur Pathogenese (mikro-)vaskulärer Läsionen der Lunge
  - Hinweise für allgemeine Veränderungen im Lungenstoffwechsel:
    1. Gehalt an Protein und Phosphatidylcholin vermindert<sup>50;161</sup>
    2. Glucoseoxidation und Einbau von Aminosäuren in Lungenproteine reduziert<sup>127</sup>
    3. DNA- und RNA-Gehalt des Lungengewebes herabgesetzt<sup>132;161;162</sup>
  - Strukturelle und funktionelle Insuffizienz des phagozytierenden Systems der Lunge (bestehend aus Alveolarmakrophagen und polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten)<sup>113;123</sup>, aber andererseits auch Nachweis einer erhöhten Konzentration an Angiotensin-converting-enzyme<sup>89</sup> (ACE, Marker der Aktivität der Alveolarmakrophagen<sup>84</sup>)
  - Veränderung der zur Phagocytose befähigten Epithel-(Clara-)Zellen der terminalen Bronchioli im Sinne einer Reduktion ihrer Syntheseaktivität<sup>144</sup>
  - Retardierte Lungenreife bei Feten diabetischer Kaninchen inklusive funktionellem Surfactantmangel<sup>175</sup>, möglicherweise hervorgerufen durch eine bei

Rattenfeten entdeckte Syntheseverzögerung verschiedener Surfactant-Komponenten (Protein A, B und C)<sup>73;74</sup>

In vielen Studien wurden Insulin-substituierte Tiere mit solchen ohne Behandlung verglichen. Dabei war ein Großteil der beobachteten Veränderungen unter Insulintherapie reversibel<sup>17;18;127;129;132;192;194</sup>.

#### ***ad 4: Infektionen des unteren Respirationstraktes***

Bei verschiedenen Autoren wird ein grundsätzlich erhöhtes Risiko für Diabetiker beschrieben, an pulmonalen Infekten zu erkranken<sup>22;91;214</sup>; dieses gilt insbesondere für ältere Patienten<sup>39</sup>. Eine erhöhte Inzidenz wurde speziell bei den folgenden Infektionen beobachtet:

- Pulmonale Tuberkulose<sup>50;82;85;86;91;118</sup>; nach ZACK et al.<sup>215</sup> beträgt die Erkrankungshäufigkeit bei Diabetikern das drei- bis vierfache verglichen mit Stoffwechselgesunden
- Pulmonale Verlaufsform der Mucor-Mykose<sup>i 11;45;57;91;108;109;118</sup>
- Pneumokokkenpneumonie<sup>6;91;130</sup>
- Influenzapneumonie<sup>91</sup>
- Besiedelung mit Staphylokokkus aureus<sup>91</sup>

Darüber hinaus sind aus Fallstudien relativ ausgefallene Pneumonien wie die durch Paecilomyces varioti<sup>27</sup> bzw. solche mit multiplem Erregernachweis (z.B. Candida, Rhizopus arrhizus)<sup>140</sup> bekannt.

---

<sup>i</sup> Seltene opportunistische Schimmelpilzinfektion; im angelsächsischen Raum unter „zygomycosis“ bekannt

### ***ad 5: Pulmonale Komplikationen in Verbindung mit Ketoazidose***

Die diabetische Ketoazidose scheint ein auslösender Faktor oder gar die kausale Grundlage für diverse respiratorische Komplikationen zu sein:

- Lungenödem<sup>20;145</sup>, möglicherweise durch eine erhöhte alveolo-kapilläre Permeabilität bedingt<sup>55;176</sup>
- Hyperventilation und ungewöhnlich hohe O<sub>2</sub>-Partialdrücke
- akute respiratorische Insuffizienz (ARDS, bei Ketoazidose und hyperosmolarem Coma diabeticum)<sup>28;142</sup>, eventuell auf die Infusionstherapie zurückzuführen<sup>110</sup>
- Pneumomediastinum und Hautemphysem<sup>25;69;159;188</sup>
- Aspergillose<sup>72</sup>
- schleimbedingte bronchiale Obstruktion

### ***ad 6: Andere nicht-infektiöse Komplikationen***

- Atmungsunregelmäßigkeiten im Schlaf bis hin zur Schlafapnoe; wahrscheinlich, jedoch nicht sicher, mit autonomer Neuropathie assoziiert<sup>29;124;150</sup>
- Gehäuftes Auftreten des ARDS (= acute respiratory distress syndrome) bei neugeborenen Kinder diabetischer Mütter<sup>64;88;152;180</sup>, möglicherweise aufgrund verminderter pulmonaler Durchblutung<sup>43</sup>
- „sudden death“ wegen Hemmung des cardiorespiratorischen Systems (zwei Drittel der Fälle sind auf eine autonome diabetische Neuropathie zurückzuführen, ein Drittel bleibt jedoch ätiologisch unklar)<sup>53;137</sup>
- Lungenfibrose als Folge eines nicht cardiogenen Ödems<sup>83</sup>
- Perivaskuläre Xanthogranulomatose der Lunge<sup>151</sup>
- Pneumothorax<sup>79</sup>

### ***ad 7: Pneumogene Mortalität***

Obwohl sich durch die Einführung des Insulins in die Therapie im Jahre 1922 die durchschnittliche Lebenserwartung der Diabetiker entscheidend verbesserte, ist diese im Vergleich mit der Gesamtbevölkerung immer noch vermindert<sup>139;172</sup>. Mortalitätsstatistiken zeigen neben der häufigsten Todesursache des diabetischen Patienten, der sekundären Nierenschädigung<sup>42;98;211</sup>, eine nicht zu übersehende Anzahl letal endender respiratorischer Erkrankungen. Nach TUNBRIDGE<sup>190</sup> verstarben über 5% von 448 in einer Studie zusammengefaßten Diabetikern unter 50 Jahren an pulmonalen Komplikationen wie Pneumonie, Bronchitis und Bronchiektasie oder auch Mukoviszidose und Emphysem. ELFORD et al.<sup>49</sup> sehen eine wesentliche Bedeutung in Atemwegserkrankungen vor allem infektiöser Genese innerhalb der Gesamtmortalität junger Diabetiker (< 45 Jahre). Im Rahmen einer japanischen Autopsiestudie<sup>70</sup> an 3151 Diabetikern wurden 14% aller Todesfälle auf pulmonale Erkrankungen im weitesten Sinne zurückgeführt; darunter fielen u.a. letal verlaufende Bronchopneumonien in 5,5% der Fälle. Durch verbesserte Therapieoptionen konnte jedoch in den letzten Jahren die Letalität der pulmonalen Infektionen deutlich gesenkt werden.

### ***ad 8: Sonstiges***

Neben dem bisher aufgeführten sind letztendlich noch drei Beobachtungen in Zusammenhang mit Diabetes mellitus erwähnenswert:

- Geringere Inzidenz an allergischem Asthma bronchiale trotz gehäufter Anzahl Asthmakrankter bei Blutsverwandten<sup>81;185;198</sup>
- Ausgeprägte Perfusionsdefekte im Ventilations-Perfusions-Szintigramm als weiterer Hinweis auf eine Angiopathie der Lunge, zusätzlich szintigraphische Aufdeckung von Ventilationsinhomogenitäten<sup>191</sup>
- In einer Studie über Röntgenaufnahmen des Thorax konnten zwar relativ häufig Herzvergrößerungen bzw. Anomalien der Aorta thoracalis, jedoch keine radiographisch erfaßbaren diabetesspezifischen Veränderungen der Lunge gefunden werden<sup>77</sup>.

## 1.3. ZIELSETZUNG

Bei einer generalisierten Stoffwechselerkrankung war nicht anzunehmen, daß die Lunge von den Folgen der chronischen Hyperglykämie ausgespart würde.

In bisher veröffentlichten Untersuchungen waren Veränderungen, welche bei den Funktionsuntersuchungen an Patienten mit Diabetes mellitus durchgeführt wurden, nicht überzeugend und teilweise widersprüchlich.

Einige Veröffentlichungen über Korrelationen zwischen Lungenfunktionsstörungen und LJM<sup>115;172</sup> sowie tierexperimentelle Studien<sup>92;116</sup> legen den Gedanken an Veränderungen des Lungenbindegewebes als mögliches morphologisches Korrelat der diabetischen Lungenerkrankung nahe. In dieser Hinsicht sollten durch die Bestimmung der Serumspiegel von Hyaluronsäure und Prokollagen-III-Peptid, beides wesentliche Marker der Fibroblastenaktivität im Bindegewebe, weitere Informationen erhalten werden.

Die an Lungen diabetischer Ratten gewonnenen Resultate waren bezüglich der Manifestation glukotoxischer Spätschäden wenig hilfreich, da diese Untersuchungen einerseits an heranwachsenden Tieren vorgenommen wurden oder andererseits die Versuchsdauer zur Objektivierung der Folgeschäden mit maximal 8 Wochen eindeutig zu knapp bemessen war.

Eine zentrale Aufgabe der Lunge ist der Gasaustausch. Die Diffusion der Gase ist abhängig von der Stratifikation, der Breite der alveolo-kapillären Membran und der Gefäßversorgung. Die Analyse des Transferfaktors ( $T_{CO}$ ) stellt somit eine geeignete Verknüpfung zwischen Ventilation und Perfusion dar (siehe Kapitel 1.4.).

Nach Voruntersuchungen von HAFER<sup>75</sup> waren gleichsinnige Veränderungen der Lungenelastizität bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 (durchschnittliche Diabetesdauer 11 Jahre) und bei reifen Lungen adulter Ratten nach 6-monatiger Diabetesdauer nachzuweisen.

Als fundamentelle strukturelle Veränderung der diabetischen Folgeerkrankungen gilt die generalisierte Verbreiterung der Basalmembran.

Mittels Bestimmung des CO-Transferfaktors in einem Kollektiv von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 sollte der Gasaustausch in Abhängigkeit von der Diabetesdauer, Stoffwechseleinstellung und anerkannten diabetischen Sekundärkomplikationen im Vergleich zu einem kompatiblen Kollektiv gesunder Probanden beurteilt werden.

An den Lungen erwachsener Ratten sollte mittels elektronenmikroskopischer und morphometrischer Untersuchung der Einfluß eines manifesten Diabetes mellitus nach 6 Monaten untersucht werden. Unter der Annahme einer diffusen Verbreiterung der Basalmembran war zu erwarten:

1. Eine signifikante Reduktion des CO-Transfers bei Patienten mit diabetischen Folgeerkrankungen
2. Eine signifikante Zunahme der alveolo-kapillären Membran in den Lungen diabetischer Ratten. Das diesbezügliche Korrelat war die Bestimmung der harmonischen mittleren Dicke  $\tau$  in TEM-Schnitten nach GEHR und WEIBEL.

Ein besonderes Interesse galt auch der Analyse möglicher Beziehungen zwischen Lungenfunktionsveränderungen einerseits sowie Diabetesdauer, Qualität der Stoffwechseleinstellung ( $HbA_{1c}$ ) sowie bereits bestehenden Sekundärerkrankungen andererseits. Dazu wurde aufgrund einfacher Untersuchungsmöglichkeiten und zunehmender Diagnosenstellung auch bei Erwachsenen<sup>47;58;94</sup> neben den drei „klassischen“ Sekundärkomplikationen Neuro- und Nephro- sowie Retinopathie auch die LJM berücksichtigt.

Ein letztes und nicht minder wichtiges Anliegen dieser Arbeit bestand in der Verbindung tierexperimenteller Ansätze mit den aus der Humanstudie gewonnenen Ergebnissen. Bisher sind beide grundsätzlich isoliert voneinander betrachtet worden. Außerdem liegen bisher keine Studien an nicht insulinbehandelten Tieren mit abgeschlossener Lungenreife vor. Aus diesem Grund wurden morphometrische Untersuchungen mittels transmissionselektronenmikroskopischer Photographien aus Lungenpräparaten von acht Monate alten diabetischen Ratten (Diabetesinduktion mittels Streptozotocin im Alter von zwölf Wochen) mit denen gleichaltriger gesunder Kontrolltiere verglichen und eine Transformation auf die Ergebnisse des Typ-1-Diabetikerkollektivs versucht.

Die Messung des Transferfaktors kann nur einen Überblick über die gesamte Diffusionsstrecke geben. Die Diffusion ist jedoch von verschiedenen Faktoren abhängig, wie z.B. vom Alveolarvolumen, und somit stark abhängig von intrapulmonalen Verteilungsstörungen. Durch die morphometrische Auswertung von Rattenlungen mittels Transmissionselektronenmikroskop war es möglich, die Dicke der Gewebsschranke direkt auszumessen und so eine genauere kausale Differenzierung hinsichtlich der Ursache der vermuteten Diffusionsstörung vorzunehmen.

## 1.4. THEORETISCHE GRUNDLAGEN ZUR TRANSFERFAKTOR-MESSUNG<sup>i</sup>

Die Diffusion beschreibt den Sauerstofftransport aus allen belüfteten Lungenbereichen vom Alveolarraum bis zum Hämoglobin des Erythrozyten. An der Diffusionskapazität der Lunge sind verschiedene Faktoren beteiligt, so daß man heute eher vom Transferfaktor spricht.

Die Diffusionsstrecke setzt sich zusammen aus:

- Alveolarraum → Diffusion in der Gasphase (= Stratifikation)
- Alveolo-kapilläre Membran (= Gewebsschranke)
  - Surfactant
  - Alveolarendothel + Basalmembran
  - Interstitium
  - Kapillarendothel + Basalmembran
- Kapillarraum (= Blutschranke)
  - Blutplasma
  - Erythrozytenmembran
  - Erythrozytenstroma
  - Hämoglobinmolekül

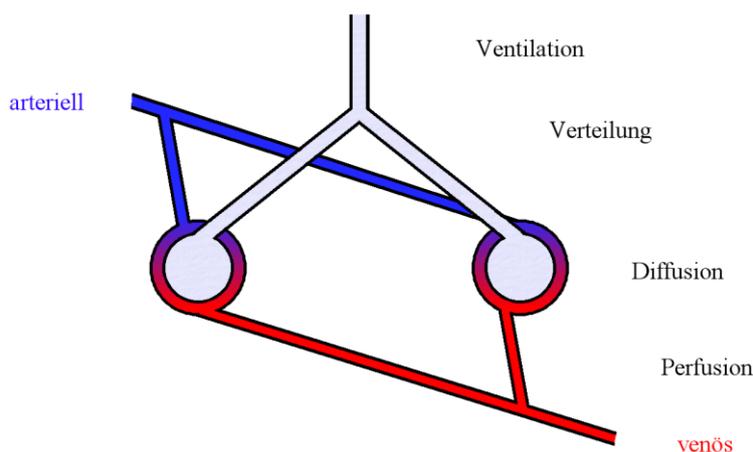


Abb. 1.1: Schemazeichnung des alveolo-kapillären Übergangs

<sup>i</sup> Das folgende Kapitel beschränkt sich auf das Wesentliche. Für detailliertere Ausführungen sei auf die gängigen Lehrbücher der Physiologie und Pneumologie verwiesen.

Eine Störung jedes einzelnen Abschnittes der Diffusionsstrecke hat eine Verminderung der Diffusionskapazität zur Folge.

Bei der Bestimmung des Transferfaktors wird die Menge eines Gases gemessen, welche pro Zeiteinheit vom Alveolarraum in das Blut gelangt und chemisch an das Hämoglobin gebunden wird. Dabei müssen die Gewebsschranke und die Blutschranke überwunden werden. Die diffundierende Gasmenge ist abhängig von der Partialdruckdifferenz zwischen Alveolen und Kapillaren, der Gewebsdicke und den spezifischen Eigenschaften des Gases, der für die Diffusion verfügbaren Oberfläche, der Anzahl der Erythrozyten, der chemischen Bindungsgeschwindigkeit und der Kontaktzeit.

Das zur Messung verwendete Gas muß die Fähigkeit besitzen, sich chemisch an das Hämoglobin zu binden, wobei die Bindungskapazität des Hämoglobins für dieses Gas ausreichend groß sein muß, daß sich die Perfusion nicht als limitierender Faktor auswirkt. Diese Voraussetzungen werden durch Sauerstoff und Kohlenmonoxid erfüllt. Die Diffusion wird nur durch die Gewebs- und Blutschranke limitiert. Die Bindungsaffinität des Kohlenmonoxids zum Hämoglobin ist etwa 230 mal höher als die des Sauerstoffs<sup>186</sup>. Eine vollständige Sättigung ist bereits bei einem CO-Partialdruck unter 0,07 kPa erreicht<sup>196</sup>. Normalerweise enthält das Blut nur minimale Mengen an Kohlenmonoxid ( $Hb_{CO} < 1\%$ , bei Gewohnheitsrauchern  $10\% Hb_{CO}$ <sup>24</sup>), das venöse Blut der Pulmonalarterie jedoch noch viel Sauerstoff. Da die O<sub>2</sub>-Diffusion aber abhängig ist von der O<sub>2</sub>-Partialdruckdifferenz zwischen venösem Kapillarblut und Alveole und mit zunehmendem Druckausgleich exponentiell abnimmt, wäre eine genaue Kenntnis der pO<sub>2</sub>-Änderung notwendig, um Sauerstoff zur Diffusionsmessung zu benutzen. Bei Verwendung von Kohlenmonoxid wird nur die CO-Aufnahme als Maß für die Diffusion benutzt, da durch die fast vollständige Bindung an das Hämoglobin der pCO vernachlässigbar gering ist. Daher eignet sich dieses Gas besser für die Messung des Transferfaktors als Sauerstoff.

Der Transferfaktor für Kohlenmonoxid wird berechnet aus dem Quotienten der CO-Aufnahme und der alveolo-kapillären CO-Partialdruckdifferenz:

$$T_{L,CO} = \frac{V_{CO}}{p_{A-c,CO}} \text{ mmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{kPa}^{-1} \text{ (früher } \text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mmHg}^{-1} \text{)}^{111}$$

Der CO-Partialdruck im kapillären Blut ist vernachlässigbar klein, so daß sich die Berechnung vereinfacht. Es wurden zwei Verfahren zur Bestimmung des  $T_{L,CO}$  entwickelt:

1. Die *Steady-State-Methode*, bei welcher der Proband über mehrere Minuten ein Luftgemisch mit etwa 0,1% Kohlenmonoxid einatmen muß.
2. Die *Single-Breath-Methode*, bei welcher die CO-Diffusion während einer Apnoephase von 10 Sekunden nach maximaler Inspiration erfolgt (OGILVIE et al. 1957<sup>135</sup> und OGILVIE 1983<sup>134</sup>).

Die nachfolgenden Ausführungen beziehen sich ausschließlich auf die für diese Untersuchung verwendete Single-Breath-Methode. Als Maß für den Kohlenmonoxid-Transfer wird hierbei die CO-Konzentrationsdifferenz herangezogen. Für die Berechnung benötigt man noch das Alveolarvolumen während der Apnoephase sowie die inspiratorische Verdünnung des Kohlenmonoxids. Zur Bestimmung dieser Größen ist dem Gasgemisch eine bestimmte Menge Helium als inertes Vergleichsgas zugesetzt. Das Meßgas enthält bis zu 1% Kohlenmonoxid und 12% Helium<sup>56</sup>.

Wegen des etwas komplizierten Untersuchungsablaufs, in *Abb. 1.2* dargestellt, ist eine vorhergehende Einweisung des Probanden sowie mindestens ein Leerversuch unerlässlich. Danach erfolgt die Bereitstellung des Gasgemischs. Im Anschluß daran führt der Patient eine maximale Expiration aus, woraufhin elektromagnetisch oder manuell in das geschlossene System umgeschaltet wird. Dann erfolgt eine langsame maximale Inspiration, welche der inspiratorischen Vitalkapazität ( $VC_{in}$ ) entspricht. Am Ende der Inspirationsphase wird durch eine Verschlussklappe eine 10 Sekunden andauernde Apnoe eingeleitet, während der die Diffusion des Gasgemisches erfolgt. Anschließend wird langsam und vollständig ausgeatmet, wobei die ersten 750 ml aus dem Totraum verworfen werden. Der Rest wird gesammelt und analysiert. Es sind mindestens zwei Messungen erforderlich.

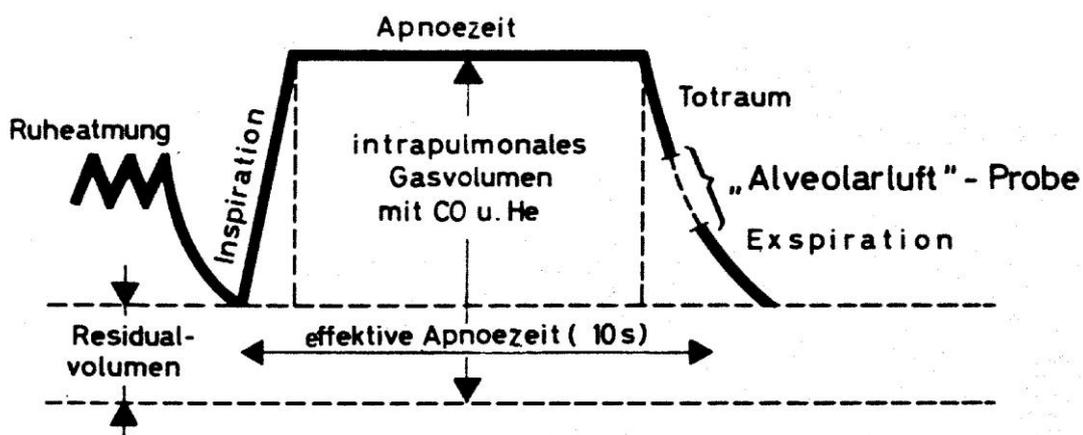


Abb. 1.2: Prinzip der  $D_{L,CO}$ -Bestimmung mit Single-breath-Methode<sup>196</sup>

Der Transferfaktor wird bei der Single-Breath-Methode nach folgender Formel berechnet<sup>56</sup>:

$$T_{L, CO, sb} = \frac{V_A(STPD) \cdot 60}{p_B - p_{H_2O} \cdot t} \ln \frac{F_{I, CO}}{F_{A, CO}} \text{ ml} \cdot \text{mmHg/min}$$

Die alveolare Kohlenmonoxidkonzentration berechnet man hierbei aus der Heliumverteilung:

$$F_{A, CO} = F_{I, CO} \cdot \frac{F_{E, He}}{F_{I, He}}$$

Das Alveolarvolumen berechnet sich aus Heliumverteilung und Vitalkapazität wie folgt:

$$V_A = VC(STPD) \cdot \frac{F_{E, He}}{F_{I, He}} - V_D$$

Die Diffusionskapazität für Sauerstoff läßt sich aus der Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid nach den Gesetzen von HENRY und GRAHAMS berechnen, wobei sich die Diffusionsgeschwindigkeiten zweier durch eine Flüssigkeitsphase diffundierender Gase direkt proportional ihrer Löslichkeit  $\alpha$  und umgekehrt proportional zur Quadratwurzel ihrer Molekulargewichte verhalten<sup>111;196</sup>:

$$\frac{D_{L, O_2}}{D_{L, CO}} = \frac{\alpha_{O_2}}{\alpha_{CO}} \cdot \sqrt{\frac{\text{Mol.-Gew. CO}}{\text{Mol.-Gew. O}_2}} = \frac{0,0244}{0,0188} \cdot \sqrt{\frac{28}{32}} = 1,23$$

## 2. UNTERSUCHUNGSGUT UND METHODIK

### 2.1. KLASSIFIKATION DER KOLLEKTIVE

In allen bisherigen Studien wurden, bis auf wenige Ausnahmen<sup>126;187</sup>, insulinpflichtige juvenile Diabetiker den Lungenfunktionsuntersuchungen unterzogen. Aus Gründen der Kompatibilität erfolgten daher alle genannten Untersuchungen an einem mit 52 Patienten vergleichsweise großen Kollektiv von Typ-1-Diabetikern bei relativ langer Krankheitsdauer von im Mittel 14 Jahren. Die Kontrollgruppe aus 38 stoffwechselgesunden Probanden wies eine ähnliche Alters-, Geschlechts- und Gewichtsverteilung sowie einen vergleichbaren Tabakkonsum auf.

#### 2.1.1. *Diabetiker*

Das Diabeteskollektiv war zusammengesetzt aus 52 Typ-1-Diabetikern im Alter zwischen 15 und 55 Jahren (minderjährige Probanden nur mit Einverständnis der Erziehungsberechtigten), sämtlich Patienten der Medizinischen Klinik III und Poliklinik des Klinikums der Justus-Liebig-Universität in Gießen. Folgende Kriterien wurden von uns zur Teilnahme an der Studie vorausgesetzt:

- Abwesenheit bekannter obstruktiver, restriktiver oder sonstiger Lungenerkrankungen (nach der Anamnese, im Zweifelsfall Röntgenuntersuchung des Thorax)
- Ausschluß von möglichen, eventuell die Meßergebnisse beeinflussenden Infekten insbesondere der Atemwege durch Auskultation, Bestimmung des CRP (im Normbereich  $< 5$  mg/l) und Ausschluß einer Leukozytose am Tag der Untersuchung
- Altersentsprechende körperliche Belastbarkeit (kardiale und andere, die körperliche Belastungsfähigkeit beeinträchtigende Grunderkrankungen stellten Ausschlußkriterien dar)
- Abwesenheit neuromuskulärer Vorerkrankungen
- Keine Kollagenosen

- Ausschluß maligner Grunderkrankungen
- Am Tage der Untersuchung keine extreme diabetische Stoffwechsellage (Hyper- oder Hypoglykämie)
- Keine Schwangerschaft

Die Einschlußkriterien für das Typ-1-Diabetiker-Kollektiv wurden folgendermaßen festgelegt:

- Insulinbedürftigkeit (lebensnotwendig)
- Alter bei Diabetesmanifestation < 30 Jahre und Normalgewicht
- Diabetesmanifestation mit einer Ketoazidose
- Anamnestisch keine akute oder chronische Pankreatitis

Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 31,7 Jahre (Spanne von 16 bis 55 Jahren), die mittlere Dauer seit Entdeckung des Diabetes 13,7 Jahre (minimal 1 Monat, maximal 45 Jahre). Die genaue Verteilung der Diabetesdauer im Kollektiv ist aus *Tab. 2.1* zu ersehen:

Diabetesdauer [Jahre]	n (%)	Gruppenmittelwert ± SD
Gesamtkollektiv	52	13,7 ± 10,3
≤ 5	10 (19,2%)	1,8 ± 1,6
5 < DD ≤ 10	14 (26,9%)	7,6 ± 1,7
10 < DD ≤ 20	17 (32,7%)	15,8 ± 3,1
> 20	11 (21,2%)	29,1 ± 7,8

Tab. 2.1: Einteilung der Diabetiker in verschiedene Klassen nach Diabetesdauer

Alle Diabetiker wurden hinsichtlich diabetischer Sekundärmanifestationen einem eingehenden Screeningprogramm unterzogen, welches folgende Untersuchungen umfaßte: Fundusskopie, neurologische Untersuchung<sup>i</sup>, Bestimmung der Albuminausscheidung im 24-h-Sammelurin und der LJM-Test nach ROSENBLOOM et al.<sup>157ii</sup>. Von den Diabetikern litten 23 an diabetischer Retinopathie (proliferative und/oder nicht-proliferative Retinopathie), 16 Patienten an einer diabetischen Neuropathie (autonome und/oder periphere Polyneuropathie).

13 Diabetiker wiesen Zeichen für eine Limited Joint Mobility (Stadium 2, 3 oder 4) auf und in 11 Fällen ließ sich eine pathologische Albuminurie (> 30 mg/l) als Hinweis auf eine diabetische Nephropathie nachweisen (siehe *Tab. 2.2*).

Sekundärmanifestation	n
Retinopathie	23
Neuropathie	16
Nephropathie	11
LJM	13

Tab. 2.2: Absolute Häufigkeit der verschiedenen Sekundärmanifestationen

**Anmerkung:**

Eine weitere Aufgliederung der einzelnen Sekundärerkrankungen in Untergruppen wie autonome/periphere Neuropathie oder proliferative/nicht-proliferative Retinopathie bzw. in Stadien (bei LJM und Nephropathie) war wegen der dann zu geringen Gruppengrößen für die statistische Auswertung nicht sinnvoll.

Von allen Patienten hatten insgesamt 17 keinerlei diabetische Sekundärerkrankungen, bei 35 Diabetikern hingegen wurden Folgeschäden diagnostiziert (davon litten 18 Diabetiker an einer, 10 an zwei, 3 Patienten an drei und 4 sogar an allen vier der untersuchten Sekundärmanifestationen, wie sich aus *Abb. 2.1* und *Tab. 2.3* ersehen läßt).

<sup>i</sup>Die Neuropathie-Untersuchung (siehe *S. 30, Kapitel 2.2.4*) beinhaltete die Prüfung von Vibrationsempfinden (Biothesiometer), Temperaturdiskrimination und Nervenleitgeschwindigkeit zur Messung der *peripheren Neuropathie* sowie eine computergesteuerte EKG-Diagnostik mittels ProSciCard 2.1 der Firma Pro Science, Linden incl. Ruhe-EKG, Valsalva-Test, Expirations-Inspirations-Test und Ewing-Test<sup>52</sup> (mit Schellong-Manöver) zur Exploration der *autonomen Neuropathie*.

<sup>ii</sup>Hierbei wird die Beweglichkeit sämtlicher Fingergelenke sowie die der Hand-, Ellenbogen- und Sprunggelenke beidseitig untersucht. Außerdem erfolgt eine Prüfung der Wirbelsäulenmotilität. Je nach den möglichen Gelenkexkursionen ergibt sich die Klassifikation in die Stadien 1, 2, 3 oder 4, wobei Stadium 1 den Normalzustand darstellt.

Anzahl der SM pro Patient	n
0	17
1	18
2	10
3	3
4	4

Tab. 2.3: Absolute Häufigkeit der bei den einzelnen Diabetikern vorhandenen Sekundärmanifestationen

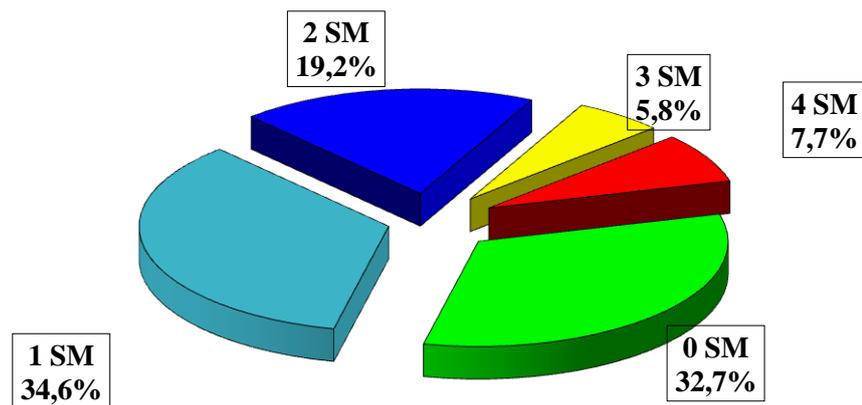


Abb. 2.1: Aufteilung der Diabetiker nach der Anzahl der jeweils nachgewiesenen Spätschäden (SM = Sekundärmanifestationen)

- 0 = keine SM nachweisbar
- 1 = Retinopathie, Neuropathie, Nephropathie oder LJM vorliegend
- 2 = zwei der vier SM nachgewiesen
- 3 = drei der vier SM vorliegend
- 4 = alle vier der untersuchten SM vorhanden

Angegeben sind absolute (Tab. 2.3) bzw. relative (Diagramm Abb. 2.1) Häufigkeiten im Kollektiv.

Zur Beschreibung der diabetischen Stoffwechselsituation dienten einerseits die Bestimmung des aktuellen Glucosespiegels sowie des HbA<sub>1c</sub>-Wertes<sup>i</sup>. Um eine bessere Aussage hinsichtlich der längerfristigen Blutzuckereinstellung machen zu können, wurde eine zusätzliche Größe herangezogen: der sogenannte HbA<sub>1c</sub>-

<sup>i</sup> Wenngleich sich in letzter Zeit die Bestimmung der HbA<sub>1c</sub>-Unterfraktion wegen der höheren Korrelation mit der Blutglucosekonzentration durchgesetzt hat, beschränkten wir uns hier auf die Angabe der Gesamt-HbA<sub>1c</sub>-Werte, da sich hierdurch eine direkte Vergleichbarkeit mit den Labordaten der letzten 5 Jahre ergibt.

Bei der HbA<sub>1c</sub>-Bestimmung mit der Mikrosäulenmethode werden sowohl die stabile Ketoaminform als auch die labile Aldiminform erfaßt. Da ausgesprochene Blutglucoseschwankungen im Vorfeld der Untersuchungen ein Ausschlußkriterium waren, wurden die HbA<sub>1c</sub>-Werte bis maximal 10% zu hoch bestimmt.

Mittelwert. Dieser wurde durch den arithmetischen Mittelwert sämtlicher verfügbarer HbA<sub>1</sub>-Werte der letzten fünf Jahre dargestellt, sofern zumindest 5 Einzelwerte vorlagen. Im Durchschnitt konnte dabei auf 11 Messungen (minimal 5 Werte, maximal 26) zurückgegriffen werden. Die Aussagekraft dieses Wertes ist natürlich gegenüber einem exakten HbA<sub>1</sub>-Profil eingeschränkt, jedoch dürfte dadurch die langfristige Stoffwechselsituation des einzelnen Diabetikers besser dargestellt werden als durch eine Einzelmessung. Die aktuellen HbA<sub>1</sub>-Werte betragen im Mittel 10,1% (Spannweite 6,7 bis 15,8%), die berechneten HbA<sub>1</sub>-Mittelwerte lagen durchschnittlich bei 9,6% (zwischen 7,1 und 11,8%). Die genauere Aufteilung der HbA<sub>1</sub>-Werte ist aus den folgenden Tabellen *Tab. 2.4* und *Tab. 2.5* zu ersehen:

HbA <sub>1</sub> aktuell [%]	n (%)	Gruppenmittelwert ± SD
Gesamtkollektiv	50	10,1 ± 1,9
≤ 8	7 (14,0%)	7,1 ± 0,2
8 < HbA <sub>1</sub> ≤ 9	7 (14,0%)	8,7 ± 0,3
9 < HbA <sub>1</sub> ≤ 10	12 (24,0%)	9,5 ± 0,3
10 < HbA <sub>1</sub> ≤ 11	8 (16,0%)	10,5 ± 0,3
> 11	16 (32,0%)	12,1 ± 1,1

Tab. 2.4: HbA<sub>1</sub> aktuell (aktueller HbA<sub>1</sub>-Wert am Untersuchungstag)

HbA <sub>1</sub> - Mittelwert [%]	n (%)	Gruppenmittelwert ± SD
Gesamtkollektiv	44	9,6 ± 1,3
≤ 8	7 (15,9%)	7,5 ± 0,3
8 < HbA <sub>1</sub> ≤ 9	6 (13,6%)	8,4 ± 0,3
9 < HbA <sub>1</sub> ≤ 10	10 (22,7%)	9,4 ± 0,3
10 < HbA <sub>1</sub> ≤ 11	15 (34,1%)	10,4 ± 0,2
> 11	6 (13,6%)	11,4 ± 0,3

Tab. 2.5: HbA<sub>1</sub>-Mittelwert (arithmetischer Mittelwert aller HbA<sub>1</sub>-Messungen der letzten 5 Jahre)

*Tab. 2.4* und *Tab. 2.5*:

Einteilung der Diabetiker in verschiedene Klassen der Blutzuckereinstellung

Anmerkung: Laborbedingt konnten aktuelle HbA<sub>1</sub>-Werte nur bei 50 der 52 Patienten ermittelt werden. HbA<sub>1</sub>-Mittelwerte ließen sich lediglich bei 44 Diabetikern errechnen.

## 2.1.2. Kontrollgruppe

Das Vergleichskollektiv setzte sich aus 38 stoffwechselgesunden Probanden zusammen und entsprach in Bezug auf Altersstruktur, Tabakkonsum, Geschlechtsverteilung und Body-Mass-Index (BMI) weitgehend der Diabetikergruppe (siehe *Tab. 2.5, Tab. 2.6* und *Tab. 2.7* sowie *Abb. 2.2* und *Abb. 2.3*).

Alter [Jahre]	Diabetiker	Kontrollgruppe
15 - 24	15	10
25 - 34	20	16
35 - 44	11	9
45 - 54	4	3
> 54	2	0

Tab. 2.6

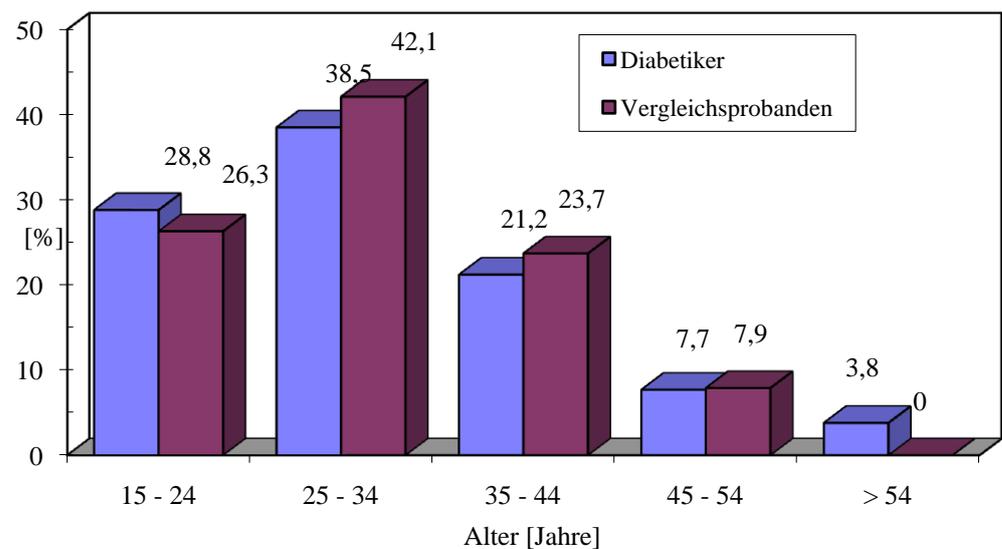


Abb. 2.2

*Tab. 2.6* und *Abb. 2.2*:

Altersverteilung im Diabetiker- und Vergleichskollektiv

Darstellung der absoluten (*Tab.*) und relativen (*Säulendiagramm*) Aufteilung in verschiedene Altersgruppen.

	Diabetiker	Vergleichspersonen	Statistik
n	52	38	-
Alter [Jahre] ± SD (min. - max.)	31,7 ± 10,2 (15 - 55)	31,6 ± 8,7 (17 - 54)	ns (p = 0,97)
BMI [kg/m <sup>2</sup> ] (min. - max.)	23,6 ± 2,7 (16,7 - 29,3)	23,8 ± 4,0 (18,4 - 35,1)	ns (p = 0,74)
Nikotin (%)	8 Raucher (15,4%)	6 Raucher (15,8%)	ns (p = 0,80)

Tab. 2.7: Gruppenvergleich Diabetiker - Vergleichspersonen

BMI = Body-Mass-Index (Körpergewicht [kg] / (Körpergröße [m])<sup>2</sup>)

Nikotin: Als Raucher zählten alle Personen mit regelmäßigem Nikotingenuß während des letzten Jahres vor der Lungenfunktionsuntersuchung.

Bei Alter und BMI sind die jeweiligen arithmetischen Mittelwerte ± 1 Standardabweichung (in Klammern die Spannweite der Meßwerte im Kollektiv) sowie bei Nikotin die absolute bzw. - in Klammern - relative Zahl der Raucher.

ns = kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen

Geschlecht	Diabetiker	Vergleichsgruppe
männlich	30	23
weiblich	22	15

Tab. 2.8

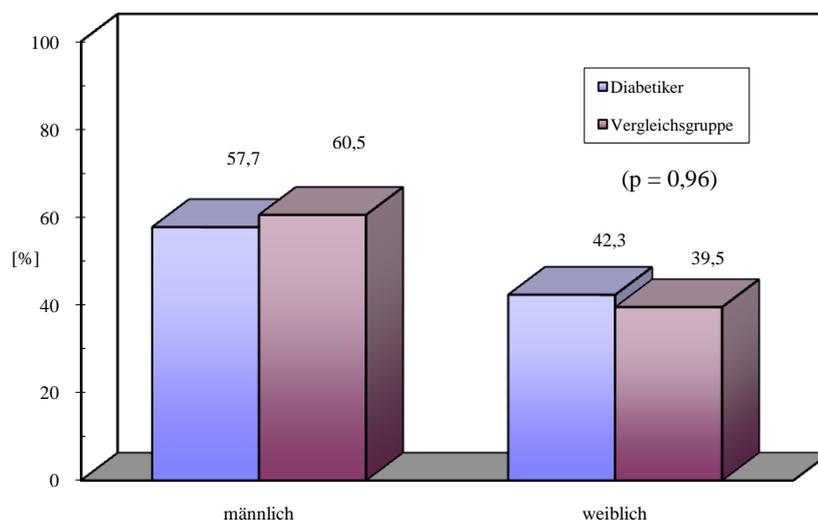


Abb. 2.3

**Tab. 2.8 und Abb. 2.3:  
Geschlechterverteilung in den beiden Kollektiven**

Darstellung der absoluten (Tab.) und relativen (Säulendiagramm) Häufigkeiten.

Anmerkung:

Im Chi<sup>2</sup>-Test ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven (Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art p = 0,96).

Neben den oben aufgeführten Aufnahmekriterien (unauffällige pneumologische Anamnese, C-reaktives Protein < 5 mg/l Serum, normale cardio-pulmonale Belastbarkeit) und einem selbstverständlich physiologischen Serumglucosespiegel (alle Vergleichsprobanden waren normoglykämisch) wurde auch eine unauffällige Routinelungenfunktion zur Aufnahme in die Studie vorausgesetzt. Diese Standardlungenfunktion setzte sich aus Spirometrie, Fluß-Volumen-Test und Bodyplethysmographie zusammen.

Bei den Probanden des Vergleichskollektivs handelte es sich um gesunde erwachsene Kliniksangestellte, Kommilitonen sowie deren Verwandte und Freunde.

Alle an der Studie beteiligten Patienten und Vergleichspersonen sowie bei Minderjährigen die Erziehungsberechtigten wurden über die Ziele und Durchführung der Untersuchung informiert und gaben ihr freiwilliges Einverständnis.

## 2.2. MESSMETHODEN

### 2.2.1. Standardlungenfunktion

Zu Beginn jeder Untersuchung erfolgte die Durchführung einer Routinelungenfunktion, welche sich aus Spirometrie, Fluß-Volumen-Test und Bodyplethysmographie zusammensetzte. Dabei wurde das intrathorakale Gasvolumen (ITGV) per Bodyplethysmographie dreimal bestimmt und der arithmetische Mittelwert für die weitere Auswertung verwendet. Die totale Lungenkapazität (TLC) setzte sich additiv zusammen aus einer durch computergesteuerte Optimalwertberechnung ermittelten inspiratorischen Vitalkapazität ( $VC_{in}$ ) und dem bodyplethysmographisch gemessenen Residualvolumen (RV), welches ebenfalls dreifach gemessen und arithmetisch gemittelt wurde. Der maximale expiratorische Fluß bei 50% der Vitalkapazität ( $MEF_{50}$ ) und  $VC_{in}$  wurden jeweils einfach bestimmt. Der Wert des totalen Atemwegswiderstandes ( $R_{aw}$ ) stellt wiederum den arithmetischen Mittelwert aus drei aufeinanderfolgenden Messungen dar.

### 2.2.2. Diffusionskapazität

Anschließend an die Standardlungenfunktion wurde die Messung der Lungendiffusionskapazität vorgenommen. Diese erfolgte mittels der von OGILVIE et al. 1957<sup>135</sup> entwickelten Single-Breath-Methode an einem Gerät der Firma JAEGER, Würzburg. Hierbei wird die Diffusionskapazität für Kohlenmonoxid gemessen, welche sich folgendermaßen errechnet<sup>56</sup>:

$$D_{L,CO, sb} = \frac{V_A (STPD) \cdot 60}{(p_B - p_{H_2O}) \cdot t} \ln \frac{F_{I,CO}}{F_{A,CO}}$$

$F_{I,CO}$  = inspiratorische CO-Konzentration

$F_{A,CO}$  = expiratorische CO-Konzentration

Die Single-Breath-Methode oder auch Einatemzug-Technik beruht auf der CO-Diffusion während einer Apnoephase von 10 Sekunden nach maximaler Inspiration eines standardisierten CO-haltigen Meßgases, in diesem Fall ein Fertiggas der Firma JAEGER bestehend aus synthetischer Luft mit einem Anteil von 0,28% CO sowie 9,5% Helium als inertes Vergleichs-Meßgas.

Zur Bestimmung des Transferkoeffizienten  $D_{L,CO}/V_A$ , auch Krogh-Faktor  $K$  genannt, wurde das Alveolarvolumen herangezogen. Dieser Wert wurde durch folgende Formel berechnet:

$$V_A = k \cdot \frac{F_{I,He}}{F_{A,He}} \cdot (V_{in} - (V_{DA} + V_{AT})) \quad [1]$$

$F_{I,He}$  = inspiratorische He-Konzentration  
 $F_{A,He}$  = expiratorische He-Konzentration  
 $V_{in}$  = inspiratorisches Volumen (BTPS-korrigiert)  
 $V_{DA}$  = anatomischer Totraum (0,15 l)  
 $V_{AT}$  = apparativer Totraum (0,15 l)

Der Korrekturfaktor  $k$  wird einerseits durch gasspezifische Eigenschaften, andererseits durch den Totraum bestimmt. Er errechnet sich nach folgender Formel:

$$k = 1 - F_{I,CO} \cdot SV + \frac{VD}{SV}$$

$k$  = errechneter Korrekturfaktor aus  $CO_2$ - und Totraumeinstellung (durch  $CO_2$ -Einfluß auf den Helium-Analysator muß nach ATS-Richtlinien  $F_{A,He}$  um 5% verkleinert werden)  
 $SV$  = Sammelvolumen  
 $VD$  = Totraumvolumen des Heliumanschlußstutzens (25 ml)

Aus der Differenz der inspiratorischen und expiratorischen Kohlenmonoxid-Partialdrücke ließ sich die Diffusionskapazität messen. Da Helium als chemisch inertes Gas nicht in den Alveolarkapillaren an Hämoglobin gebunden wird und die Lunge unverändert wieder verläßt, kann aus der Differenz der  $CO$ - und  $He$ -Partialdrücke durch Umverteilung in der Lunge das Residualvolumen berechnet werden.

Zu beachten war bei Rauchern eine mindestens 4-stündige Nikotinkarenz, um eine Beeinflussung der Bindung des Kohlenmonoxid-Meßgases an das Hämoglobin des Probanden durch den  $CO$ -Gehalt des Zigarettenrauchs auszuschließen.

Einmal täglich wurde eine Gaseichung und vor jeder Untersuchung eine Volumeneichung der Meßapparatur durchgeführt. Vor Beginn jeder Messung des  $CO$ -Transferfaktors ( $T_{L,CO}$ ) mußte der Proband dreimal tief ein- und ausatmen, um einerseits die basalen Alveolenbereiche vollständig zu belüften und eventuell vorhandene Atelektasen zu öffnen sowie andererseits eine einheitliche Volumenvorgeschichte zu gewährleisten<sup>34;148</sup>. Anschließend erfolgten, nach Verschuß der Nase mittels einer

Nasenklemme, einige ruhige submaximale Atemexkursionen, gefolgt von einer maximalen Expiration und einer maximalen Inspiration des Meßgases, auf die durch eine computergesteuerte Verschußklappe eine Apnoephase von 10 Sekunden folgte. Während einer anschließenden langsamen Expirationsphase wurde die Ausatemluft des Probanden in einem gesonderten Beutel gesammelt, wobei automatisch die ersten 750 ml Totraumvolumen verworfen wurden. Der Transferfaktor berechnete sich aus der daraus ermittelten Differenz des inspiratorischen und expiratorischen CO-Anteils nach vorheriger Normwertkorrektur nach Alter, Größe, Gewicht und Hämoglobinspiegel<sup>i</sup>. Jeder Patient wurde drei aufeinanderfolgenden Messungen unterzogen, aus welchen dann die arithmetischen Mittelwerte gebildet wurden. Dabei wurde ein Mindestabstand von 5 Minuten eingehalten, um bei jeder Messung eine identische Ausgangssituation bezüglich der CO-Konzentration im Blut der Probanden zu garantieren.

---

<sup>i</sup> Da die  $D_{L,CO\ sb}$  auch von der Hämoglobinkonzentration abhängig ist, muß vor einer Single-breath-Diffusionsmessung der Hb-Wert gemessen werden. Die gebräuchliche Korrekturformel lautet:

$$D_{L,CO\ Hb} = [1 - 0,065 * (Hb_{Soll} - Hb_{Ist})] * D_{L,CO}$$

Sie wird, wie auch bei unseren Messungen, von den meisten Geräten heute automatisch durchgeführt. Es war lediglich bei einigen Messungen eine manuelle Korrektur notwendig, wenn bei der Diffusionsmessung das Laborergebnis noch nicht vorlag.

### 2.2.3. Sollwerte

Parameter	Alter [Jahre]	Sollwertformel	Autor/en
TLC [l]	≤ 15	$\log x = -5,0019 + 2,5698 \log H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	16 – 24	$\log x = -5,0378 + 2,5755 \log H$ $-8,762 + 0,0989 A + 0,073 H$ $-6,322 + 0,0949 A + 0,057 H$	KNUDSON <sup>99;100</sup> + KELLER-HERZOG <sup>93</sup>
	≥ 25	$0,0799 H - 7,08$ $0,0660 H - 5,79$	EGKS <sup>35;148</sup>
ITGV [l]	≤ 15	$\log x = -5,4915 + 2,6523 \log H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	16 – 24	$\log x = -5,4314 + 2,6149 \log H$ $-1,36 + 0,009 A + 0,030 H + 0,016 G$ $-0,57 + 0,007 A + 0,024 H + 0,015 G$	ULMER <sup>195</sup>
	≥ 25	$0,009 A + 0,0234 H - 1,09$ $0,001 A + 0,0240 H - 1,00$	EGKS <sup>148</sup>
VC <sub>in</sub> [l]	≤ 15	$\log x = -5,5768 + 2,7799 \log H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	16 – 24	$\log x = -5,2970 + 2,6361 \log H$ $-6,8865 + 0,0739 A + 0,0590 H$ $-4,4470 + 0,0699 A + 0,0416 H$	KNUDSON <sup>99;100</sup>
	≥ 25	$-0,028 A + 0,0610 H - 4,65$ $-0,024 A + 0,0466 H - 3,28$	EGKS <sup>148</sup>
RV [l]	≤ 15	$\log x = -4,6765 + 2,1315 \log H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	16 – 24	$-1,875 + 0,025 A + 0,015 H$	KELLER-HERZOG <sup>93</sup>
	≥ 25	$0,022 A + 0,0131 H - 1,23$ $0,016 A + 0,0181 H - 2,00$	EGKS <sup>148</sup>
RV/TLC [l]	≤ 15	$34,6549 - 0,0673 H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	16 – 24	RV/TLC x 100	KELLER-HERZOG <sup>93</sup>
	≥ 25	$0,39 A + 13,96$ $0,34 A + 18,96$	EGKS <sup>148</sup>
R <sub>aw</sub> [kPa/l/s]	≤ 15	$\log x = 5,226 - 2,6584 \log H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	> 15	< 0,3	EGKS <sup>148</sup>
MEF <sub>50</sub> [l/s]	≤ 15	$\log x = -4,2168 + 2,1772 \log H$	ZAPLETAL et al. <sup>216</sup>
	16 – 24	$-6,3851 + 0,1150 A + 0,0543 H$ $-2,3040 + 0,1111 A + 0,0288 H$	KNUDSON <sup>99;100</sup>
	≥ 25	$-0,031 A + 0,0379 H - 0,35$ $-0,025 A + 0,0245 H + 1,16$	EGKS <sup>148</sup>
C <sub>stat</sub> [l/kPa]	≥ 25	$(0,0240 H - 2,124) / (0,9 - 0,005 A)$ $(0,0198 H - 1,737) / (0,9 - 0,005 A)$	EGKS <sup>174</sup>
	alle	$3,067 - 0,0182 A$	GILISSEN et al. <sup>68</sup>

$T_{L,CO, sb}$ [mmol/min/kPa]	$\geq 25$	0,1111 H – 0,066 A – 6,03 ± 2,32 0,0818 H – 0,049 A – 2,74 ± 1,92	EGKS <sup>35;148</sup>
$T_{L,CO, sb}$ [mmol/min/kPa]	Kinder	0,1111 H – 0,066 A – 6,03 ± 1,41 0,0818 H – 0,049 A – 2,74 ± 1,17	TAMMELING et al. <sup>186</sup>
	alle	0,1373 H – 0,075 A – 9,34 0,0948 H – 0,053 A – 3,67	CRAPO et al. <sup>37i</sup>
$K_{CO}$ [mmol/min/kPa/l]	alle	2,43 – 0,011 A ± 0,27 2,24 – 0,004 A ± 0,49	CRAPO et al. <sup>37i</sup>

Tab. 2.9: Sollwerte

Bei zwei pro Altersstufe angegebenen Formeln gilt die obere für Männer, die untere für Frauen.  
A = Alter [Jahre]; H = Körpergröße [cm]; G = Körpergewicht [kg]

Die Berechnung der sollwertbezogenen prozentualen Werte orientierte sich an den von den Geräten vorgegebenen Sollwertformeln, welche in *Tab. 2.9* aufgeführt sind. Für den Kohlenmonoxid-Transferfaktor fand die im Computer integrierte EGKS-Sollwertformel nach QUANJER<sup>35;148</sup> Verwendung.

## 2.2.4. Neuropathie-Untersuchung

Zur Untersuchung der diabetischen Polyneuropathie<sup>119;147</sup> wurden folgende Untersuchungen durchgeführt:

- Elektroneurographie zur Messung der peripheren Nervenleitgeschwindigkeit
  - N. peroneus motorisch
  - N. suralis sensibel
  - N. medianus motorisch
  - N. medianus sensibel
- Biothesiometrie zur Messung des Vibrationsempfindens an den Extremitäten
  - Palmarseite des distalen Glieds des Zeigefingers
  - Mitte des Os metacarpale II
  - Radiuskante 10 cm proximal vom Handgelenk
  - Plantarseite des Großzehenendgliedes
  - Dorsalseite der Basis des Os metatarsale I
  - Mitte der medialen Schienbeinfläche

<sup>i</sup> Diese Werte werden von der ATS (American Thoracic Society) empfohlen.

- Temperaturdiskriminationsmessung an den Extremitäten<sup>3</sup>
  - Palmarseite des distalen Unterarmes
  - Fußrücken
- Computerunterstütztes EKG mit Pro Sci Card-Analyzer (Fa. Pro Science, Linden) zur Untersuchung der autonomen Neuropathie<sup>51;54;160</sup>
  - Blutdruckdifferenz im Stehen bzw. Liegen
  - 5-minütiges Ruhe-EKG
  - Exspirations-Inspirations-EKG
  - Ewing-Test (EKG mit Schellong-Manöver)
  - Valsalva-Manöver (15 Sekunden bei 40 mmHg)

### ***2.2.5. Allgemeines***

Alle Lungenfunktionsuntersuchungen wurden durch den gleichen Untersucher und in zufälliger und gemischter Reihenfolge von Diabetikern und gesunden Vergleichsprobanden vorgenommen, die Routinelungenfunktion mit statischer Compliance im Lungenfunktionslabor der Medizinischen Klinik III und Poliklinik des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen unter Verwendung desselben Gerätes (Bodyscreen BYS II/0 der Firma Erich JAEGER, Würzburg), die Messungen der Diffusionskapazität im Lungenfunktionslabor der Klinik Seltersberg der LVA Hessen, Fachkrankenhaus für Lungen- und Bronchialheilkunde in Gießen mittels des Diffusionsmeßplatzes Masterlab der Firma JAEGER.

Die Untersuchung der diabetischen Polyneuropathie fand im Neuropathielabor der Medizinischen Klinik III und Poliklinik des Klinikums der Justus-Liebig-Universität Gießen an den an der Studie teilnehmenden Diabetikern statt. Die Auswertung des Neuropathie-EKG geschah mittels ProSciCard 2.1 der Firma Pro Science Private Research Institute GmbH Medizinische Forschung und Entwicklung, Linden.

## 2.3. TIEREXPERIMENT

### 2.3.1. Kollektivbeschreibung

Die Tierkollektive bestanden aus weiblichen Wistar-Ratten, welche in Gruppen von drei bis vier Tieren in Polycarbonatkäfigen (Makrolon) auf staubfreiem Weichholzgranulat (Altromin®) bei konstanten Umweltbedingungen (Raumtemperatur 20°C, relative Luftfeuchtigkeit 50%, Belichtung von 7.<sup>00</sup> - 19.<sup>00</sup> Uhr) gehalten wurden. Die Ernährung der Tiere erfolgte mittels Leitungswasser über handelsübliche Tränkeflaschen sowie kontinuierlicher Fütterung mit keimarmer Alleinnahrung (Altromin® 1324 AL).

Sieben der insgesamt zehn Ratten<sup>i</sup> erhielten nach Abschluß der Lungenreife im Alter von 12 Wochen eine Injektion mit Streptozotocin (55 mg/kg Körpergewicht) zur Diabetesinduktion durch selektive Nekrose der  $\beta$ -Zellen in den Langerhans-Inseln. Die drei übrigen gleichaltrigen Tiere bildeten die Kontrollgruppe.

Nach weiteren 6 Monaten wurden die Lungen der Tiere präpariert. Sowohl die diabetischen Ratten als auch die gesunden Vergleichstiere waren bei Entnahme der Lunge also ca. 9 Monate alt. In *Tab. 2.10* werden beide Kollektive hinsichtlich Körpergewicht, Körperlänge und dem direkt vor der Präparation gemessenen Blutzuckerspiegel verglichen:

	n	Körpergewicht [g]		KRL [cm]	Blutzucker [mg/dl]
		Ausgangs-	End-		
Diabetes	7	234,3 ± 30,5	218,2 ± 18,4	20,7 ± 0,6	457,1 ± 60,8
Vergleich	3	258,7 ± 25,1	275,1 ± 3,0	22,0 ± 0,5	133,3 ± 11,6
Statistik		ns	p < 0,001	p < 0,01	p < 0,00001

Tab. 2.10: Tierexperiment-Gruppenvergleich

KRL = Kopf-Rumpf-Länge (gemessen von Nasenspitze bis Schwanzansatz)

Ausgangsgewicht = Gewicht im Alter von 12 Wochen / Endgewicht = Gewicht bei Untersuchung

Die gemessenen durchschnittlichen Ausgangsgewichte beider Kollektive unterschieden sich nur geringfügig voneinander (234,3g bzw. 258,7g). Bei fortschrei-

<sup>i</sup> Die Anzahl der Tiere war wegen in einigen Fällen aufgetretener pulmonaler Infekte, welche ein Ausschlusskriterium darstellten, sowie technischer Schwierigkeiten (Leakage innerhalb der Versuchsanordnung) limitiert.

tender Erkrankung nahm das Körpergewicht der diabetischen Tiere jedoch deutlich ab (minus 6,9%), während die gesunden Ratten sogar noch etwas an Gewicht gewannen (plus 6,3%). Erstere waren außerdem kleiner (KRL 20,7 cm gegenüber 22,0 cm). Erwartungsgemäß lag der aktuelle Blutzuckerspiegel bei den diabetischen Tieren signifikant über jenem der gesunden Tiere (457,1 mg/dl im Vergleich zu 133,3 mg/dl). Zum Zeitpunkt der Untersuchung wiesen alle diabetischen Tiere eine diabetische Katarakt auf.

### **2.3.2. Lungenpräparation**

Zunächst wurde bei jedem Tier der Blutglucosespiegel bestimmt. Nach Betäubung mit 1,0 ml Nembutal sowie einer Prämedikation mit 2500 IE Heparin zur Antikoagulation und 0,4 ml Nipruss<sup>®</sup> zur Gefäßdilatation erfolgte die Messung von Kopf-Schwanz-Länge sowie Scheitel-Steiß-Länge und Körpergewicht. Anschließend wurde die Trachea freipräpariert und mittels Tracheotomie ein englumiger Katheter eingeführt<sup>63;138</sup>, über den die Lunge mit Hilfe einer von VALERIUS<sup>i</sup> entwickelten Apparatur (siehe *Abb. 2.4*) mit Luft gebläht wurde.

Durch eine dreimalige Blähung der Lunge auf einen Druck von 24 cmH<sub>2</sub>O sollten zunächst einmal atelektatische Alveolarbereiche eröffnet werden. Anschließend wurde der pulmonale Druck auf 8 cmH<sub>2</sub>O reduziert, was nach HAFFER<sup>75</sup> der Atemmittellage<sup>ii</sup> entspricht.

Dann wurden die Thoraxorgane freigelegt und über eine Incision in der Herzspitze und nach Einlegen eines Katheters in den rechten Ventrikel der Lungenkreislauf mit gleichbleibendem Druck von 24 cmH<sub>2</sub>O zunächst mit Phosphatpuffer (0,1 mmol/l), hergestellt aus physiologischer NaCl-Lösung mit Saccharose (40 g/l) und Dextran T70 (30 g/l) mit einer Osmolarität von 360 mosmol, perfundiert, bis das Lungengewebe vollständig anämisch war. Nach Umschalten mittels eines Dreiwegehahnes erfolgte anschließend eine 10-minütige Perfusionsfixierung der Lunge mit einer auf pH 7,4 phosphatgepufferten 2,5%igen Glutardialdehyd-Lösung<sup>63;153;204</sup>, welche ebenfalls mit Saccharose und Dextran auf eine Osmolarität von 540 mosmol

---

<sup>i</sup> VALERIUS-KP; Institut für Anatomie und Zytobiologie der Justus-Liebig-Universität Gießen

<sup>ii</sup> Bei der menschlichen Lungenfunktion setzt sich die Atemmittellage zusammen aus ITGV und AV.

gebracht wurde.<sup>1</sup> Die Lösungen wurden jeweils vor Gebrauch frisch hergestellt und durch ein Bakterienfilter gereinigt, um eine bakterielle Kontamination bei der Perfusion zu minimieren.

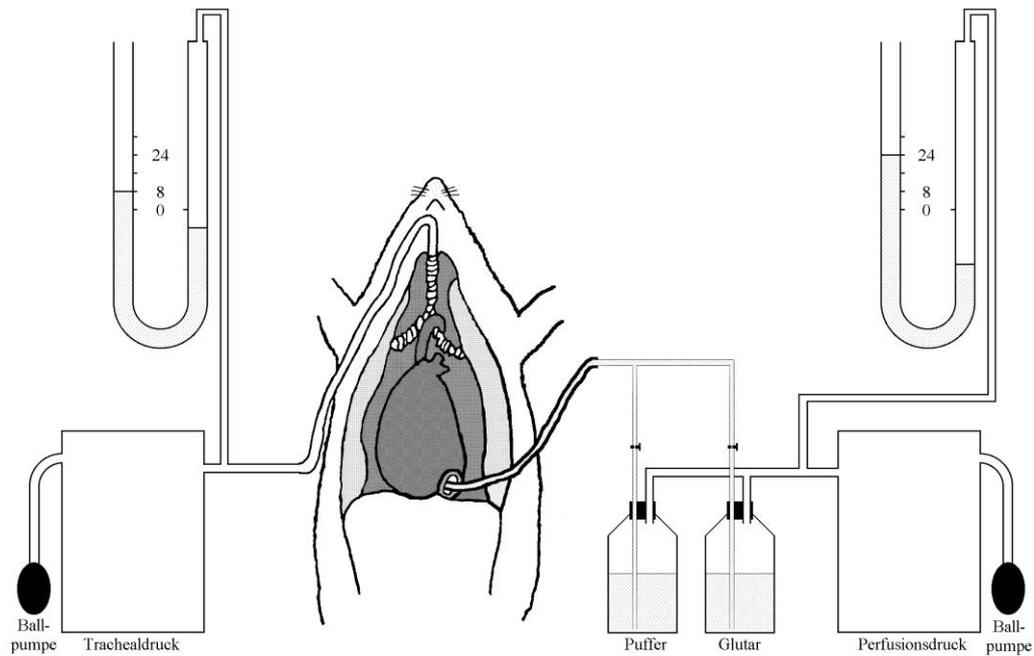


Abb. 2.4: Versuchsaufbau der Lungenperfusion

Nach sorgfältiger Kompression der Trachea mit einer Arterienklemme und Ligatur mit einem Bindfaden wurde zuletzt die Lunge entnommen und über Nacht in einer 2,5%igen Glutardialdehyd-Lösung durchfixiert.

<sup>1</sup> Nach BACHOFEN et al.<sup>8</sup> kommt es bei isoosmolaren Lösungen durch Verbrauch des Glutardialdehyd bei der Fixation zu einem durch Abfall der Osmolarität bedingten Zellödem. Die beste Vergleichbarkeit zu Gefrierschnitten zeigt sich bei einer Osmolarität von 540 mosmol.

Am nächsten Tag wurde die so vorbereitete Lunge sorgfältig von den Mediastinalorganen befreit und das Volumen des Organs bestimmt. Hierzu wurde die Lunge mit Hilfe einer Drahtschlinge vollständig in einem mit physiologischer Kochsalzlösung gefüllten Becherglas untergetaucht und die Gewichts­differenz mittels einer Waage gemessen<sup>169</sup>. Das Volumen berechnet sich folgendermaßen:

$$\text{Volumen [ml]} = \frac{\Delta\text{Gewicht [g]}}{G_F}$$

$G_F$  = Spezifisches Gewicht der Flüssigkeit, bei NaCl 0,9% = 1,0048 g/ml

Anschließend wurden die drei Lappen der rechten Lunge mittels „random sampling“<sup>63;131;205</sup> zum Zwecke der Weiterverarbeitung für die Transmissions­Elektronenmikroskopie in Würfel mit einer Kantenlänge von ca. 1-2 mm aufgeteilt. Die Aufteilung erfolgte dabei nach 3 verschiedenen Regionen (ventral und dorsal - jeweils subpleural - sowie zentral), wobei jede Region in 6 Würfel aus jeweils 2 verschiedenen Stellen aufgegliedert wurde. Es fielen somit 36 Proben je Lunge an, welche auf 6 Gläschen mit jeweils 6 Proben verteilt wurden. Aus jedem Glas wurden 4 Lungenstückchen für die Elektronenmikroskopie entnommen. Die linke Lunge wurde parallel dazu zu Paraffinschnitten für die Lichtmikroskopie weiterverarbeitet.

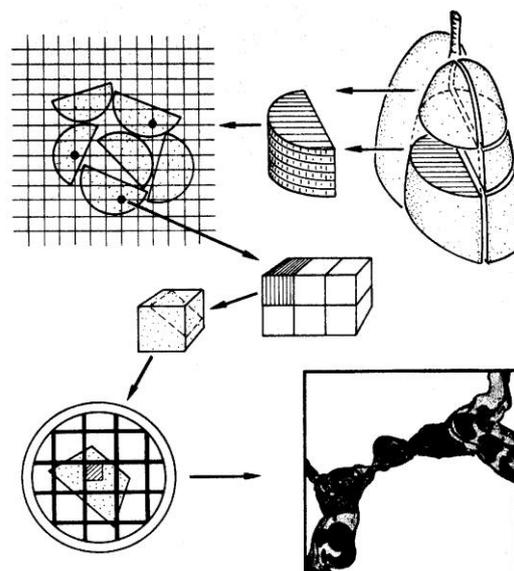


Abb. 2.5: Schematische Darstellung der Probengewinnung<sup>131</sup>

### ***2.3.3. Ausschlußkriterien***

Zur Beurteilung der Verwendbarkeit der Lungen für die statistische Auswertung wurde zunächst mittels Lichtmikroskopie eine Qualitätskontrolle durchgeführt. Dazu wurden von jeder Lunge jeweils 4 Schnitte aus unterschiedlichen Regionen nach folgenden Kriterien untersucht:

- Qualität der Morphologie
- Menge der Erythrozyten in den Kapillaren (Qualität der Perfusion bzw. Fixation)
- Anzahl der Entzündungszellen

Von den ursprünglich 14 diabetischen Tieren wurden insgesamt 7 Tiere von der Auswertung ausgeschlossen: vier Ratten wegen Entzündungszeichen, eine Ratte aufgrund eines schlechten Strukturerhalts sowie jeweils ein Tier wegen unzureichender Perfusion und mangelnder Lungenblähung.

Von zunächst 8 Vergleichstieren mußten 5 Tiere aus der Auswertung genommen werden: ein Tier wegen mangelhafter Perfusion, eines aufgrund von Entzündungszeichen, zwei Ratten wegen schlechter Lungenmorphologie sowie eine weitere wegen Leakage bei der Ventilation.

### 2.3.4. *Transmissions-Elektronenmikroskopie*

Um die Gewebeprobe für die Transmissions-Elektronenmikroskopie (TEM) vorzubereiten, war zunächst das Ausspülen der Glutardialdehyd-Lösung mittels 0.1M-Phosphatpuffer notwendig. Anschließend erfolgte die Kontrastierung mit 1%igem Osmiumtetroxid ( $\text{OsO}_4$ ) für 2 Stunden, welches daraufhin ebenfalls mit Phosphatpuffer ausgespült wurde<sup>153</sup>. Danach wurden die Proben in einer aufsteigenden Äthanol-Reihe entwässert. Im Anschluß daran wurde die Einbettung der einzelnen Proben mit Hilfe spezieller Gußformen aus Gummi in ein niedervisköses Epoxidharz, das *Spurr-Medium*<sup>153</sup>, vorgenommen. Die Polymerisation geschah bei einer Temperatur von 60°C über 48 Stunden.

Die so gewonnenen Blöckchen wurden dann mittels einer Mikrofräse an dem das Gewebestückchen enthaltenden Ende dergestalt spitzwinklig zugetrimmt, daß sich eine Schnittfläche von etwa 1 mm<sup>2</sup> ergab. Aus jeder der 3 Regionen wurden dann nach dem Zufallsprinzip 2 Blöckchen entnommen.

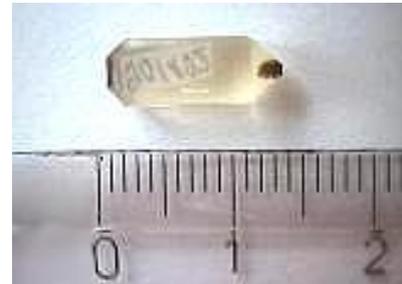


Abb. 2.6: Getrimmtes Blöckchen mit Lungengewebe

Um mittels Lichtmikroskop eine Begutachtung des Lungengewebes vornehmen zu können, wurden hiervon Semidünnschnitte hergestellt, welche mit einem feinen Pinsel auf Objektträger aufgebracht, auf einem Strecktisch ge- glättet, mittels Bunsenbrenner fixiert und mit Hilfe der *Laczko-Färbung* gefärbt wurden:

1. Farblösungen:
  - a) 1 Teil Azur II 1% + 1 Teil Methylenblau 1% + 2 Teile  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1%
  - b) basisches Fuchsin 0,5%
2. Vorgehen:
  - a) 45 Minuten Farblösung 1
    - 1 x Spülen mit  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0,5%
    - 2 x Spülen mit Aqua dest.
  - b) 5 Minuten Farblösung 2
    - 3 x Spülen mit Aqua dest.

Zur Herstellung der Semidünnschnitte wurde ein Ultramikrotom (Ultratome III der Firma LKB) verwandt (siehe *Abb. 2.10* und *Abb. 2.13*). Die zum Schneiden benötigten Glasmesser (siehe *Abb. 2.8*) wurden mit dem „Knifemaker“ der Firma LKB (siehe *Abb. 2.9*) aus speziellen Glasstreifen (siehe *Abb. 2.7*) gebrochen.<sup>97</sup>

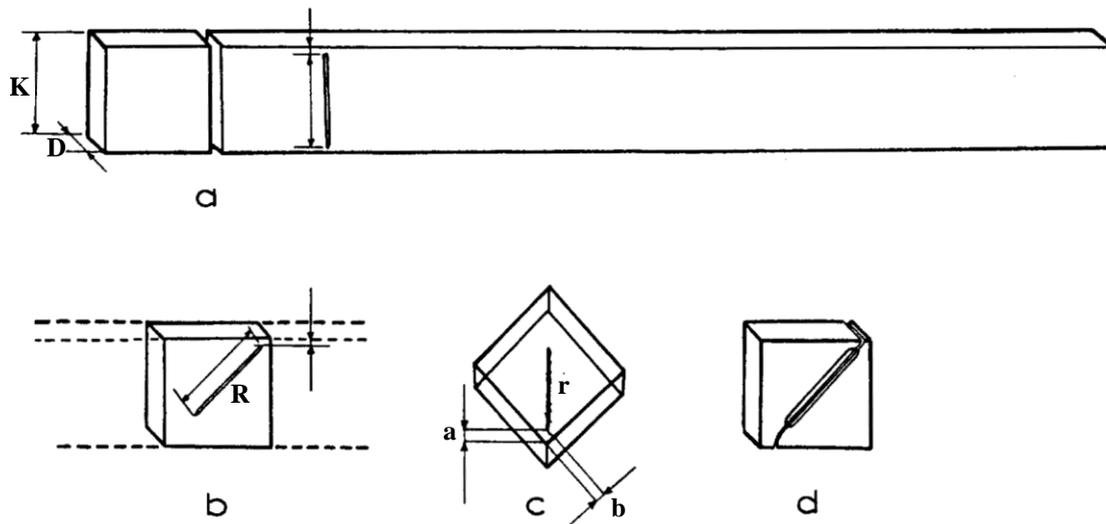


Abb. 2.7: Herstellungsgang für Glasmesser für Semidünnschnitt- und Ultradünnschnitttechnik: a) aus einem langen Glasstreifen mit einer Dicke von  $D$  5-6 mm werden Quadrate mit einer Kantenlänge von  $K = 25-30$  mm ausgebrochen; b) danach werden die Quadrate um  $1-2^\circ$  von der Diagonalen abweichend mit einem Diamanten eingeritzt, und zwar so, daß die Ritzspur  $R$  weder Vorderkante noch Hinterkante des Glasquadrates berühren, damit die Glasspannung beim Brechen möglichst hoch an den Messerkanten ist. c) dasselbe noch einmal in der Aufsicht  $r$  Ritzspur,  $a$  Abstand zur Vorderecke,  $b$  Abstand zur Vorderkante; d) nach dem Bruch entstehen Messerkanten an den beiden Glasdreiecken<sup>97</sup>

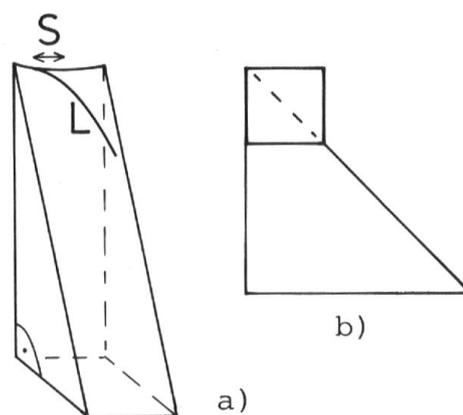


Abb. 2.8: Glasmesser: a) Glasmesser ohne Trog.  $L$  = Streblinie auf der Bruchfläche, welche die günstigste Partie der Schneidkante ( $S$ ) auffinden hilft; b) Seitenansicht eines Glasmessers mit Trog<sup>107</sup>

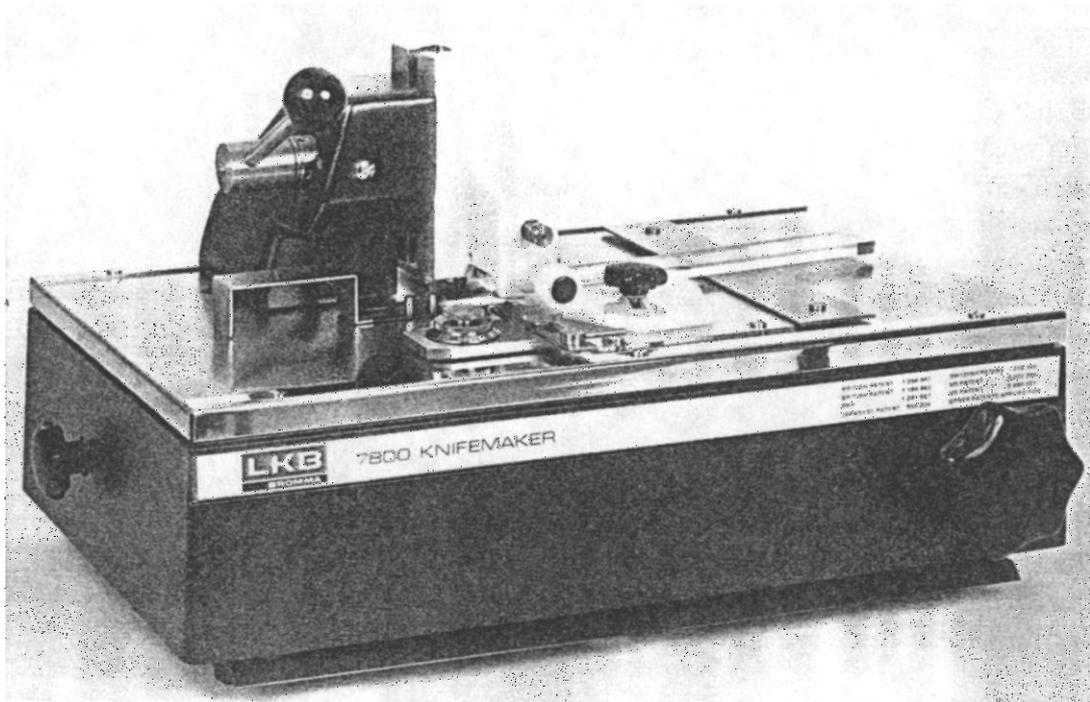


Abb. 2.9: Halbautomatisch arbeitendes Gerät zur Herstellung von Glasmessern der Fa. LKB<sup>97</sup>

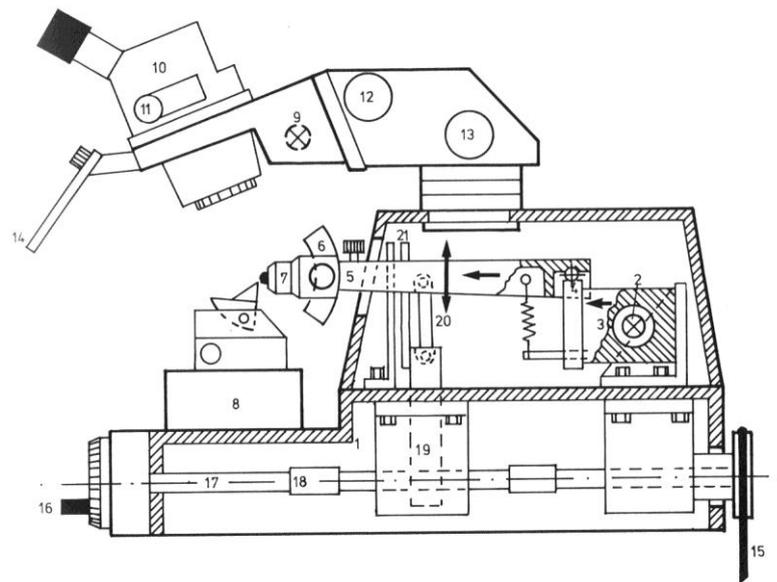


Abb. 2.10: Beispiel für Ultramikrotom mit thermischem Vorschub nach H. Sitte, Homburg. 1 = Gerätesockel (Gußteil); 2 = Glühlämpchen zur Beheizung des Thermoblocks (3), wodurch der thermische Vorschub erzeugt wird; 4 = Lagerkugel der Präzisionskardanaufhängung des Präparatträgerarmes (5); 6 = Kreis-segmentbogen, in dessen Zentrum etwa das Präparat liegt, zur Veränderung der Neigung der Schnittfläche; 7 = Präparathalter; 8 = Kreuzsupport für Messerhalterung; 9 = Kaltlichtquelle zur Betrachtung des Präparats und Messers im reflektierten Licht durch das Stereomikroskop (10) mit Zoom (11); 12 und 13 = Triebknöpfe zur Höhen- und Horizontalverstellung des Stereomikroskops; 14 = Hauchschirm (zur Vermeidung von Luftströmung und Erwärmung des Präparats durch die Atemluft); 15 = Antriebsriemen, vom separat befestigten Motor herkommend; 16 = Handantrieb; 17 = Antriebswelle mit flexiblen Kupplungen (18); 19 = Excenterantrieb für den Präparatträgerarm (5); 20 = Kugelstab zur Übertragung der Bewegung auf den Objektträgerarm (Ultramikrotom OmU2, C. Reichert AG., Wien). Die Schneid-bewegung ist die Abwärtsbewegung des Präparatträgerarmes; bei der Rückführbewegung (Aufwärts-bewegung) wird das Präparat in diesem Falle am Messer vorbeigeführt (Zeichnungen nach Vorlagen von Prof. Dr. H. Sitte, Homburg)<sup>107</sup>

Anhand der Semidünnschnitte wurden die für die TEM am besten geeigneten Blöckchen ausgewählt, so daß aus jeder Lunge pro Region (subpleural ventral und

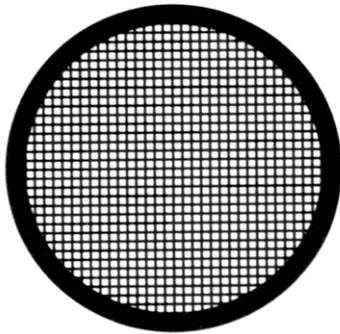


Abb. 2.11: Objektträgernetzchen (Standardtyp)<sup>107</sup>

dorsal bzw. aus den zentralen Abschnitten der Lunge) jeweils eines, insgesamt also drei Blöckchen je Tier verwendet wurden. Diese Blöckchen wurden nochmals getrimmt und davon ebenfalls mittels des „Ultratome III“ unter Verwendung von Glasmessern (siehe *Abb. 2.8*) Ultradünnschnitte hergestellt, wobei eine silberne Interferenzfarbe der Schnitte als Indikator für die optimale Schnittdicke zwischen 60 und 90 Nanometern diente<sup>204</sup>. Es wurden je Blöckchen jeweils zwei Schnitte angefertigt

und auf Kupfernetzchen (100-mesh-grids der Firma PLANO W. Plannet GmbH, Marburg) aufgetragen (siehe *Abb. 2.11* und *Abb. 2.14*), welche zuvor mit Formvarträgerfolie befilmt worden waren (siehe *Abb. 2.12*), um eine bessere Haltbarkeit der Schnitte und einen höheren Kontrast bei der TEM zu erzielen<sup>97</sup>. Von diesen zwei Schnitten je Blöckchen wurde dann jeweils einer in die Auswertung übernommen.

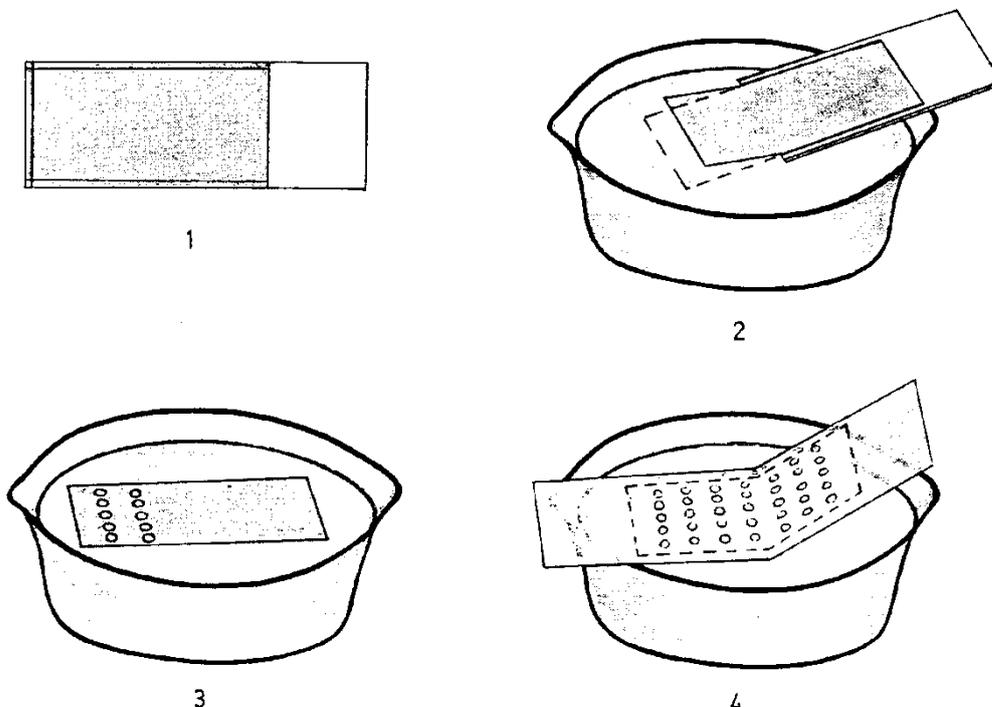


Abb. 2.12: Befilmen der Grids mit Formvarträgerfolien: 1. Einritzen der Folie auf dem Objektträger mit Rasierklinge; 2. Ablösen der Folie auf Aqua dest.; 3. Auflegen der Grids; 4. Abheben mit Filterpapier; Nach Trocknung werden die befilmten Kupfernetzchen mit einer Uhrmacherpinzette vom Untergrund abgenommen, wobei die Folie am Rand der Grids automatisch abreißt<sup>97</sup>

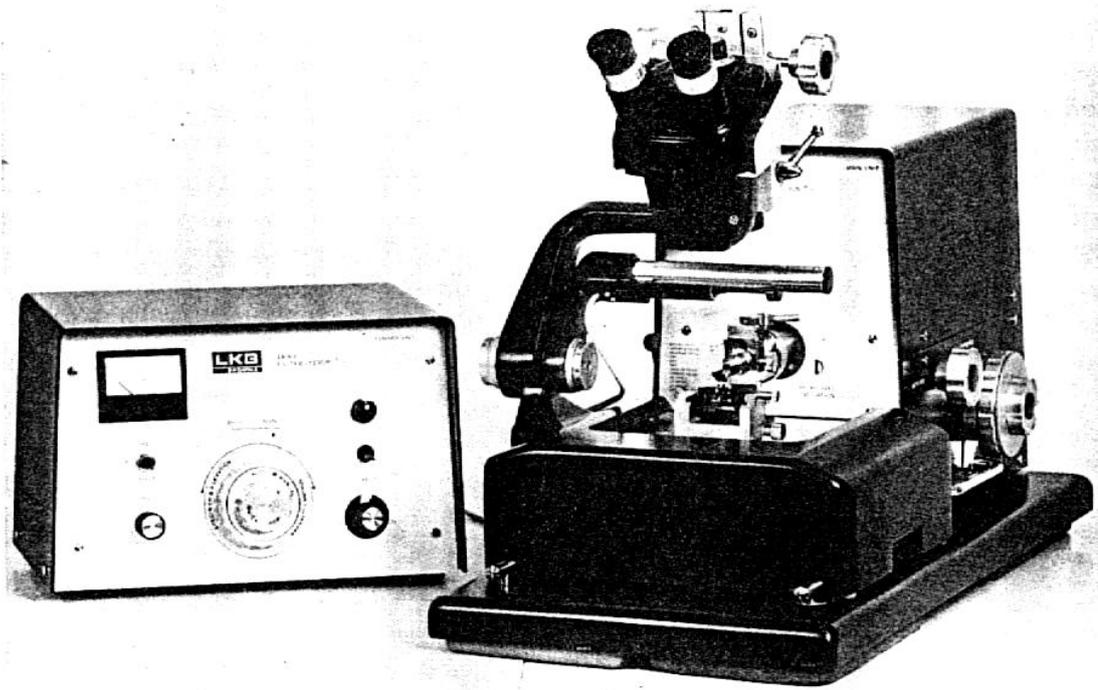


Abb. 2.13: Vollautomatisches Ultradünnschnittmikrotom Ultratome III der Fa. LKB<sup>97</sup>

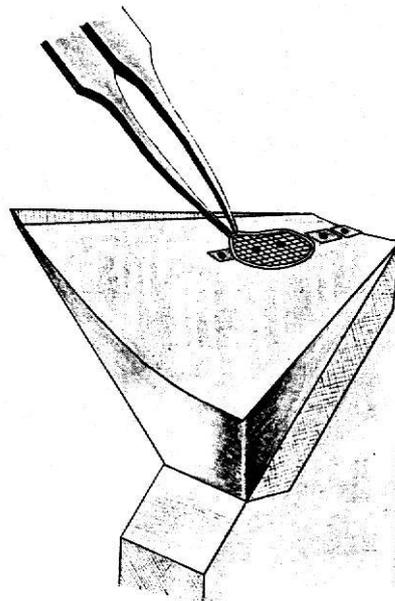


Abb. 2.14: Aufnehmen der Ultradünnschnitte auf Kupfernetze<sup>97</sup>

Anschließend erfolgte eine Nachkontrastierung über einen Zeitraum von 40 Minuten. Hierzu wurde als bewährte Methode die Doppelkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitratlösung nach *Reynolds* angewandt:

1. Lösungen:

- a) gesättigte Uranylacetat-Lösung (ca. pH 4): Ein Spatel auf ein Eppendorfhütchen mit Aqua bidest. (unter heißem Wasser lösen)
- b) etwa die gleiche Menge *Reynolds*-Reagenz in ein zweites Eppendorfhütchen füllen:
  - 1,33 g Bleinitrat [Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>]
  - 3,52 g tri-Natriumcitrat-2-Hydrat [Na<sub>3</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>) x 2 H<sub>2</sub>O]
  - 1 Minute stark schütteln, danach 30 Minuten in Intervallen, bis das Bleinitrat in Bleicitrat umgewandelt ist
  - mit 1 N-NaOH (ca. 8 ml) auf pH 12 titrieren
  - Aqua bidest. ad 50 ml

2. Durchführung:

Unerlässlich ist die Einhaltung einer CO<sub>2</sub>-armen Atmosphäre, um die Bildung von Bleicarbonat-Niederschlägen zu vermeiden. Hierzu wurde im Abzug unter einer Abdeckung mit einigen feuchten NaOH-Plätzchen gearbeitet:

- pro Grid wird 1 Tropfen Uranylacetat aufgebracht
- Kontrastierung über 40 Minuten (bei befilmten Grids)
- mittels Pipette 2 x mit Aqua bidest. spülen
- Reynolds-Reagenz über 3 Minuten
- Trocknen mit Filterpapier

Für die Elektronenmikroskopie wurde das Transmissionselektronenmikroskop EM 201 G der Firma Philips verwendet (siehe *Abb. 2.15*), sämtliche mit der Elektronenmikroskopie zusammenhängenden Arbeitsschritte fanden in den Räumen des Anatomischen Instituts der Justus-Liebig-Universität Gießen statt. Bei 8000facher Vergrößerung<sup>i</sup> wurden jeweils 5 Photos je Grid auf 35mm-Schwarzweiß-Negativ-Kleinbildfilm der Marke Kodak<sup>®</sup> belichtet. Vor jeder Arbeitssitzung wurden zunächst einige Bilder eines 3,5mm-Eichgitters der Firma PLANO

---

<sup>i</sup> Die am Gerät angezeigte Vergrößerung bezieht sich lediglich auf die Abbildungsgröße auf dem Beobachtungsbildschirm. Der Vergrößerungsfaktor auf dem Kleinbildfilm beträgt ca.  $\frac{1}{3}$  des angegebenen Wertes.

W. Plannet GmbH, Marburg (siehe Abb. 2.16) aufgenommen, mit deren Hilfe später der exakte Vergrößerungsfaktor der fertigen Photoabzüge bestimmt wurde<sup>205</sup>. Nach der Filmentwicklung wurden im Photolabor der Medizinischen Klinik III und Poliklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen Abzüge auf Photopapier der Marke ILFORD Ilfospeed RC de luxe glänzend vom Format 17,8 x 24 cm angefertigt.

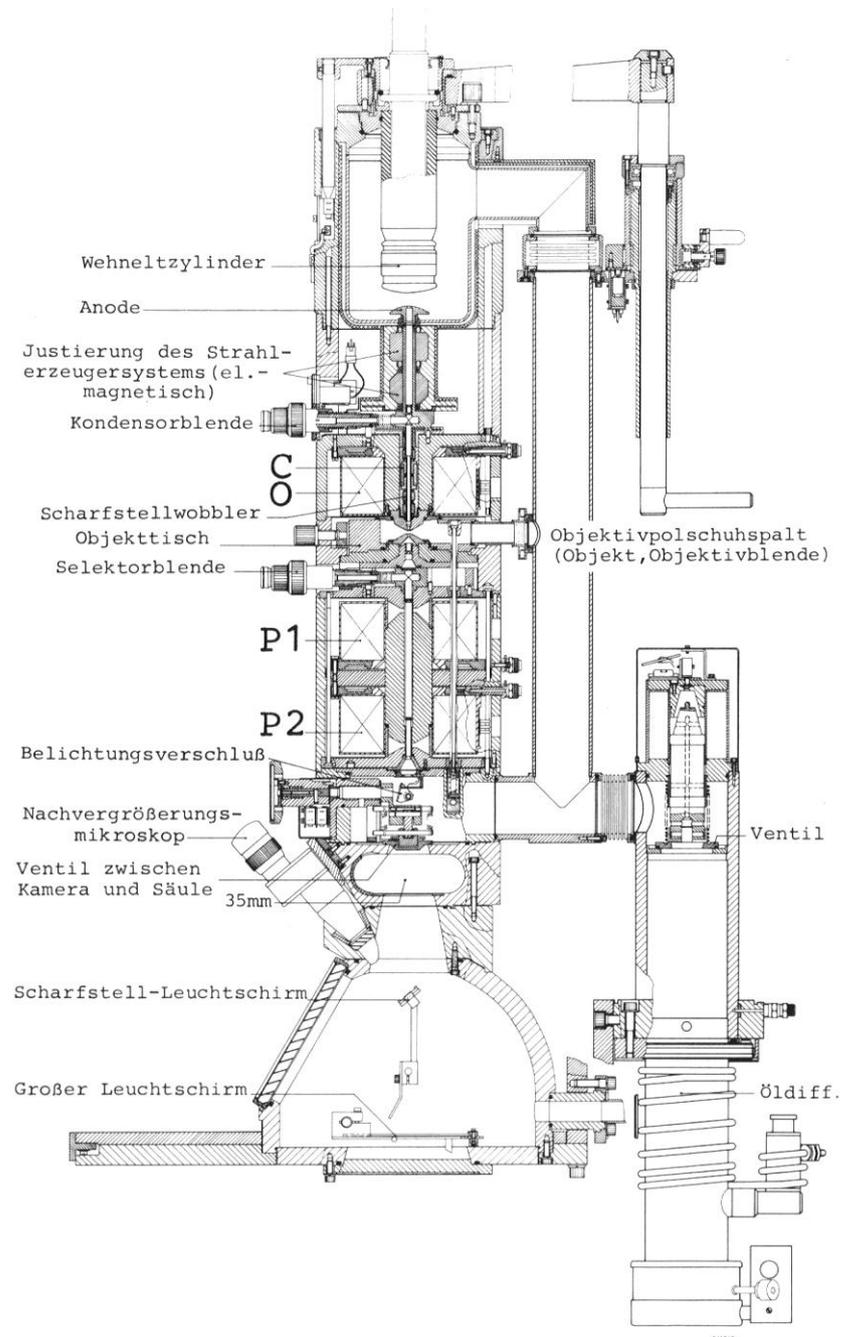


Abb. 2.15: Schnitt durch die Säule des Transmissions-Elektronenmikroskops EM 201 der Firma Philips. C = Kondensator, O = Objektiv, P = Projektive (Schnittzeichnung Firma Philips, Eindhoven)<sup>107</sup>

Um für die spätere morphometrische Auswertung den exakten Vergrößerungsfaktor der elektronenmikroskopischen Bilder zu bestimmen, wurden die jeweils zu einer Photoserie gehörigen Bilder der Eichgitter mit Hilfe eines Leuchtschirms ausgemessen. Dabei wurden in horizontaler sowie vertikaler Richtung jeweils dreimal 20 Kästchen ausgemessen (siehe *Abb. 2.16*) und aus der Gesamtstrecke das arithmetische Mittel gebildet. Bei einer definierten Gitterweite von  $463 \times 10^{-9}$  m ließen sich so die Vergrößerungsfaktoren der entsprechenden Bilder berechnen, welche in einem Intervall von 16936,65-fach bis 17962,56-fach lagen.

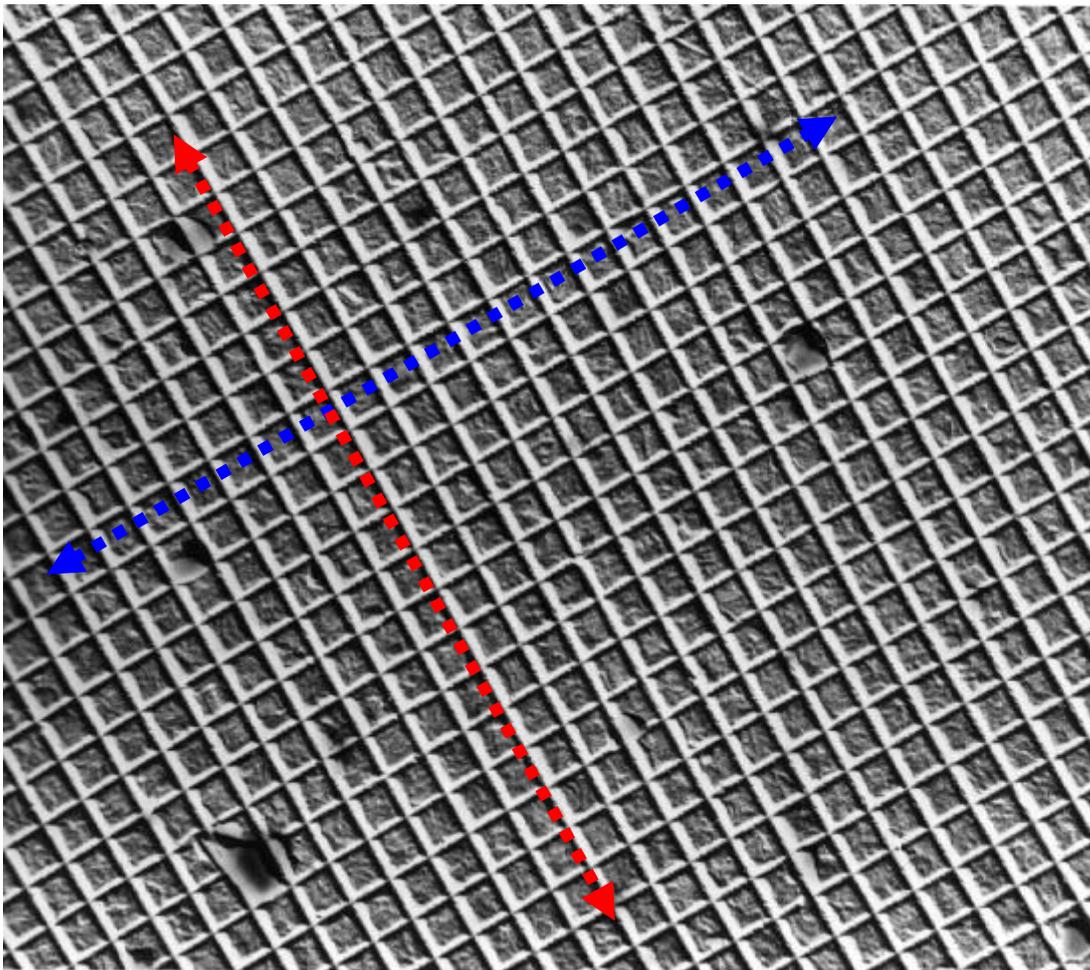


Abb. 2.16: TEM-Aufnahme eines Eichgitters (Vergrößerung x 17750)

### 2.3.5. Grundlagen der Morphometrie

Von jedem Grid wurden sechs Aufnahmen angefertigt, so daß bei drei Blöckchen pro Lunge und einem Ultradünnschnitt pro Blöckchen schließlich pro Tier 18 Aufnahmen vorlagen. Die Schwarzweißabzüge wurden mit einem Liniengitter nach WEIBEL<sup>204</sup> mit einer Gitterweite von 2 cm ausgewertet (siehe Abb. 2.17).

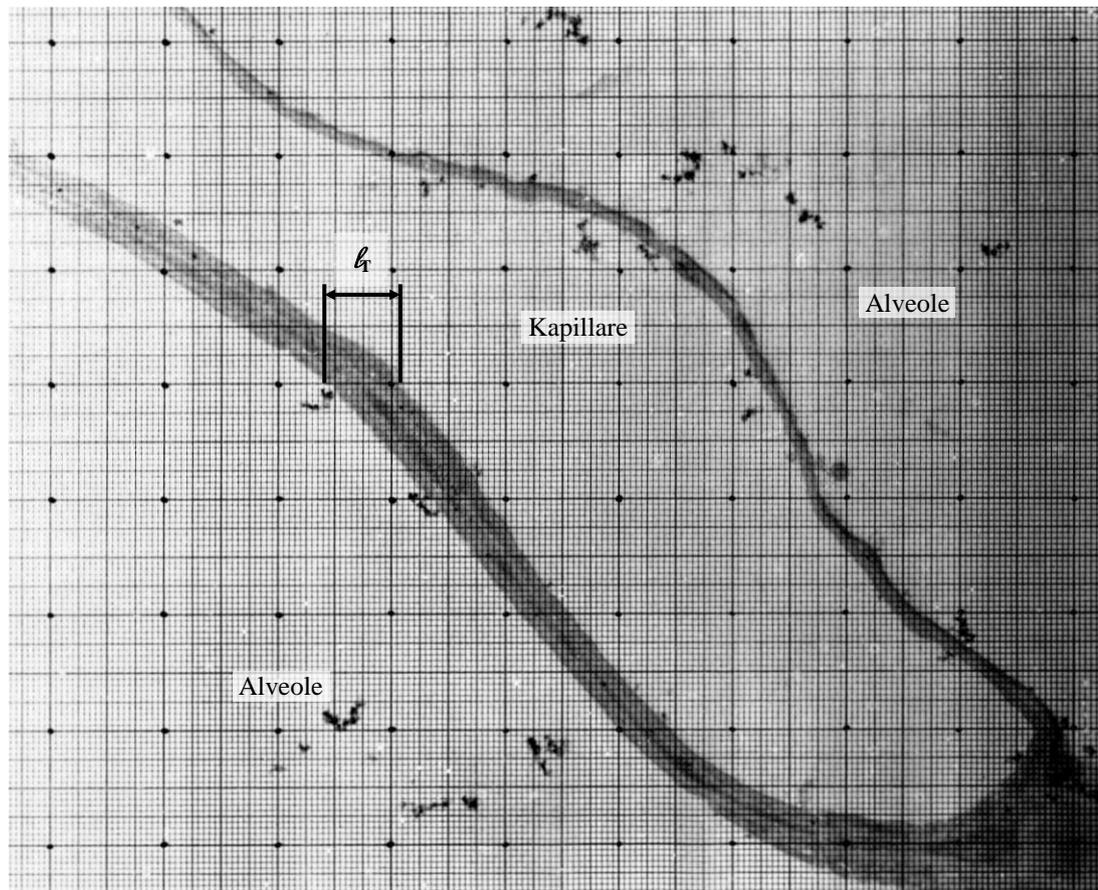


Abb. 2.17: TEM-Aufnahme einer Alveolarkapillare mit Liniengitter nach WEIBEL<sup>204</sup>

Die Meßgröße stellen jeweils die Schnittlängen  $l_i$  der Meßlinien mit dem Gewebe in horizontaler und vertikaler Richtung dar. Anhand der mit Hilfe des Eichgitters ermittelten Vergrößerungsfaktoren wurden die einzelnen Meßwerte in die tatsächliche Distanz umgerechnet und daraus der sogenannte harmonische Mittelwert  $\tau_h$ , welcher nach WEIBEL zur Schätzung der Gewebedicke herangezogen wurde, nach folgender Formel berechnet<sup>204</sup>:

$$\frac{1}{\tau_h} = \frac{3}{2} \cdot \frac{1}{l_h} = \frac{3}{2n} \cdot \sum_{i=1}^n \frac{1}{l_i}$$

$\tau_h$  = harmonische mittlere Gewebedicke

$l_h$  = harmonische mittlere Schnittlänge linearer Proben

## 2.4. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die gesammelten Daten wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Informatik der Justus-Liebig-Universität Gießen durch folgende statistische Verfahren ausgewertet:

- t-Test für unabhängige Stichproben
- t-Test für abhängige Stichproben
- $\chi^2$ -Test
- Exakter Fisher-Yates-Test
- 2I-Test
- Globale Korrelation
- Spearman-Rang-Korrelation
- Mann-Whitney-Test
- 2-faktorielle Varianzanalyse mit Meßwiederholungen auf einem Faktor
- Scheffe-Test
- Einfaktorielle Varianzanalyse
- Multiple Regression

Innerhalb von Tabellen wurden sämtliche Mittelwerte grundsätzlich angegeben in Form von „Mittelwert  $\pm$  1 SD (Standardabweichung der Stichprobe)“. Als statistisch signifikant werden vereinbarungsgemäß Ergebnisse mit einem sogenannten Fehler 1. Art  $\alpha$  (= Irrtumswahrscheinlichkeit) kleiner als 5% bezeichnet. Ergebnisse mit einem Fehler 1. Art  $\alpha > 0,05$  sind dementsprechend statistisch nicht signifikant (ns). Bei Irrtumswahrscheinlichkeiten unter 1% spricht man von hochsignifikanten Ergebnissen.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1. STANDARDLUNGENFUNKTION

Ergänzend zu den Untersuchungen der Diffusionskapazität wurden beide Kollektive, Diabetiker sowie Vergleichsgruppe, auch bezüglich der wichtigsten Standardlungenfunktionsparameter untersucht und die Mittelwerte mit Standardabweichung in *Tab. 3.1* dargestellt:

Lungenfunktionsparameter	Diabetiker (n=52)	Vergleichsgruppe (n=38)	Statistik (p)
TLC <sub>He</sub> [l]	5,844 ± 1,215	6,334 ± 1,445	ns
TLC <sub>He</sub> [% Sollwert]	91,35 ± 9,87	98,74 ± 12,70	< <b>0,003</b>
TLC <sub>Body</sub> [l]	6,515 ± 1,268	6,595 ± 1,545	ns
TLC <sub>Body</sub> [% Sollwert]	101,96 ± 13,85	102,73 ± 14,16	ns
ITGV [l]	3,353 ± 0,842	3,472 ± 0,752	ns
ITGV [% Sollwert]	109,0 ± 22,25	110,7 ± 18,95	ns
VC <sub>in, He</sub> [l]	4,558 ± 0,994	4,836 ± 1,170	ns
VC <sub>in, He</sub> [% Sollwert]	96,88 ± 11,71	102,78 ± 13,60	< <b>0,04</b>
VC <sub>in, Body</sub> [l]	4,614 ± 0,986	4,914 ± 1,284	ns
VC <sub>in, Body</sub> [% Sollwert]	98,5 ± 11,22	104,0 ± 14,67	< <b>0,05</b>
RV <sub>He</sub> [l]	1,329 ± 0,337	1,486 ± 0,382	< <b>0,05</b>
RV <sub>He</sub> [% Sollwert]	77,64 ± 13,89	87,60 ± 19,38	< <b>0,007</b>
RV <sub>Body</sub> [l]	1,895 ± 0,669	1,681 ± 0,422	= 0,08
RV <sub>Body</sub> [% Sollwert]	110,40 ± 34,49	99,83 ± 22,66	= 0,10
RV <sub>Body</sub> - RV <sub>He</sub> [l]	0,5597 ± 0,566	0,1946 ± 0,324	< <b>0,001</b>
RV% TLC <sub>He</sub> [%]	22,772 ± 4,150	23,716 ± 4,598	ns
RV% TLC <sub>He</sub> [% Sollwert]	81,896 ± 10,738	85,846 ± 14,267	ns
RV% TLC <sub>Body</sub> [%]	32,446 ± 10,945	25,890 ± 5,096	< <b>0,0007</b>
RV% TLC <sub>Body</sub> [% Sollwert]	114,155 ± 29,331	93,761 ± 15,889	< <b>0,0003</b>
FEV <sub>1</sub> [l]	3,684 ± 0,863	4,066 ± 0,910	= <b>0,05</b>
FEV <sub>1</sub> [% Sollwert]	95,36 ± 12,17	106,02 ± 14,75	< <b>0,0003</b>
MEF <sub>50</sub> [l/s]	4,630 ± 1,492	4,681 ± 1,257	ns
MEF <sub>50</sub> [% Sollwert]	89,19 ± 22,62	93,70 ± 26,27	ns
R <sub>aw</sub> [kPa/l/s]	0,2010 ± 0,099	0,2590 ± 0,083	< <b>0,006</b>
R <sub>aw</sub> [% Sollwert]	67,53 ± 34,97	87,51 ± 28,44	< <b>0,007</b>

Tab. 3.1: Standardlungenfunktion

Aufgeführt sind absolute und relative, also auf den jeweiligen Sollwert bezogene Meßwerte. Signifikante Ergebnisse sind mit **Fettdruck** hervorgehoben. Die bei der Diffusionsmessung mit Hilfe von Helium ermittelten Parameter wurden mit „He“, diejenigen bei der Bodyplethysmographie gemessenen Werte mit „Body“ gekennzeichnet. Die nicht ausdrücklich markierten Größen wurden bodyplethysmographisch untersucht. Im Diabeteskollektiv ist  $VC_{in, Body} + RV_{Body} \neq TLC_{Body}$ . Dieses resultiert daraus, daß bei einem Patienten bei der Untersuchung zwar der Wert für die TLC, jedoch nicht für das RV ausgedruckt wurde.

### 3.1.1. Methodenvergleich

Auch die verschiedenen Meßmethoden, Bodyplethysmographie bzw. Heliumverdünnungsmessung (Heliumdilution), wurden hinsichtlich ihrer Vergleichbarkeit untersucht. Hierfür wurde die Vitalkapazität gewählt, da diese Größe bei beiden Verfahren direkt gemessen und daher vergleichbar ist.

Lungenfunktionsparameter	Body	Helium	Statistik
VC <sub>in</sub> [l]	4,742 ± 1,126 (n=90)	4,676 ± 1,074 (n=90)	ns
VC <sub>in</sub> [% Sollwert]	100,847 ± 13,023 (n=90)	99,430 ± 12,828 (n=90)	ns

Tab. 3.2: Vergleich der Meßmethoden

Aufgeführt sind die absoluten und relativen Meßwerte der Vitalkapazität. Als statistische Methode wurde die 2-faktorielle Varianzanalyse mit Meßwiederholung auf einem Faktor angewandt.

### 3.1.2. Statische Lungenvolumina

Die Absolutwerte der totalen Lungkapazität (TLC) waren bei der Heliumdilutionsmessung in der Gruppe der Diabetiker etwas niedriger als in der Vergleichsgruppe (5,844 Liter bzw. 6,334 Liter), jedoch nicht signifikant. Bei der Bodyplethysmographie lagen die Mittelwerte dicht zusammen (6,515 Liter bzw. 6,595 Liter). Bezüglich der vorgegebenen Sollwerte wiesen jedoch die Kollektive bei der Dilutionsmethode signifikante Differenzen auf. Die TLC war bei den Diabetikern auf 91,35% gegenüber 98,74% im Vergleichskollektiv reduziert, wohingegen die Werte bei der Bodyplethysmographie in etwa den vorgegebenen Sollwerten entsprachen (101,96% bzw. 102,73%).

Beim intrathorakalen Gasvolumen (ITGV) waren die Absolutwerte mit 3,353 Litern (D) bzw. 3,472 Litern (VG) nahezu identisch. Beide Kollektive lagen damit nur geringfügig über dem Sollwert (109,0% bzw. 110,7%).

Die inspiratorisch gemessene Vitalkapazität (VC<sub>in</sub>) ist bei beiden Meßverfahren - Heliummessung und Bodyplethysmographie - im Diabetikerkollektiv (96,88% bzw. 98,5%) gegenüber der Vergleichsgruppe (102,8% bzw. 104,0%) erniedrigt ( $p < 0,04$  bzw.  $p < 0,05$ ). Auch absolut gesehen liegen die Werte der Diabetiker (4,558 Liter bzw. 4,614 Liter) unter denen der Vergleichsprobanden (4,836 Liter bzw. 4,914 Liter), wobei hier der Unterschied nicht signifikant war. Hierbei muß erwähnt werden, daß bei beiden Untersuchungsmethoden, sowohl der Bodyplethysmographie als

auch der Heliumverdünnungsmessung, die Bestimmung der Vitalkapazität direkt spirometrisch abläuft, so daß ein Einfluß der unterschiedlichen Meßverfahren auf die differierenden Meßergebnisse in beiden Kollektiven eindeutig ausgeschlossen werden kann (siehe Tab. 3.2: Vergleich der Meßmethoden).

Deutliche Diskrepanzen der beiden Meßverfahren fanden sich beim Residualvolumen (RV): Während bei der Bodyplethysmographie die Diabetiker (1,895 Liter bzw. 110,40%) im Vergleich zu den Vergleichsprobanden (1,681 Liter bzw. 99,83%) mit – wegen großer Varianz der Meßwerte nicht signifikant - erhöhten Meßwerten auffielen, waren bei der Heliummethode die Verhältnisse umgekehrt. Es ergaben sich signifikante Unterschiede sowohl bei den Absolutwerten ( $p < 0,05$ ) als auch bei den Relativwerten ( $p < 0,007$ ), wobei hier jedoch die Residualvolumina der Diabetiker (1,329 Liter bzw. 77,64%) deutlich gegenüber jenen der Vergleichsgruppe (1,486 Liter bzw. 87,60%) reduziert waren (siehe auch Tab. 3.1). Folglich ist derselbe Unterschied auch bei dem dazu in Beziehung gesetzten Quotienten RV/TLC zu beobachten. Während bei der Heliumdilution beide Kollektive leicht erniedrigte Werte aufwiesen (Diabetiker 22,77% absolut bzw. 81,90% bezogen auf Sollwert, Gesunde 23,72% absolut bzw. 85,85% relativ), fanden sich bei der bodyplethysmographischen Messung signifikante Unterschiede (32,45% gegenüber 25,89% für RV/TLC  $\rightarrow p < 0,0007$  sowie 114,10% im Vergleich zu 93,76% bei RV/TLC [% Sollwert]  $\rightarrow p < 0,0003$ ). Abb. 3.1 zeigt die Relativwerte der fünf Parameter, aufgliedert in Heliummessung und Bodyplethysmographie:

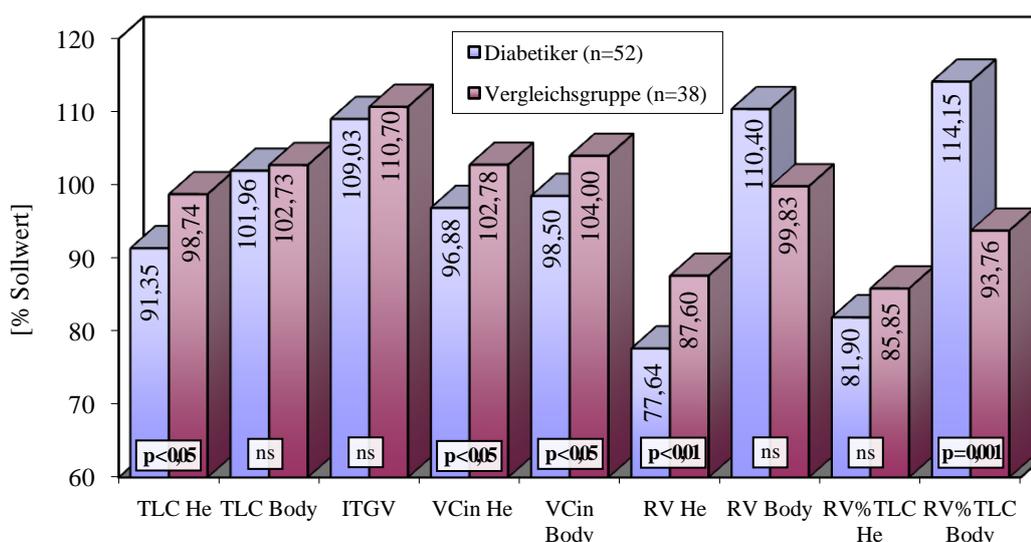


Abb. 3.1: Vergleich der sollwertbezogenen Relativwerte für die statischen Atemvolumina TLC, ITGV, VCin, RV und RV%TLC

### ***3.1.3. Dynamische Parameter***

Zur Beschreibung der Ausatemstromstärke wurde der maximale expiratorische Fluß bei 50% der totalen Lungenkapazität ( $MEF_{50}$ ) herangezogen, da dieser gegenüber der häufig verwendeten 1-Sekunden-Kapazität ( $FEV_1$ ) den mittleren, anstrengungsunabhängigen Teil der Expirationskurve widerspiegelt und unabhängiger von der Mitarbeit des Probanden ist<sup>148;186</sup>. Die beiden Kollektive unterscheiden sich sowohl bei den Absolutwerten als auch bei den sollwertbezogenen Werten nur minimal (4,630 l/s bzw. 89,19% bei den Diabetikern im Vergleich zu 4,681 l/s bzw. 93,70%).

### ***3.1.4. Atemwegswiderstand***

Der Atemwegswiderstand ( $R_{aw}$ ) war im Diabetikerkollektiv in Relation zur Vergleichsgruppe signifikant niedriger, sowohl die Absolutwerte (0,2010 kPa/l/s bei den Diabetikern bzw. 0,2590 kPa/l/s in der Vergleichsgruppe) als auch die sollwertbezogenen Relativwerte (67,53% bzw. 87,51%). Die niedrigen Relativwerte lassen sich aus der dieser Rechnung zugrundeliegenden Sollwertvorgabe erklären, wobei es sich hier, anders als bei den übrigen Ventilationsgrößen, nicht um eine Formel mit dem Ergebnis eines individuellen Sollwertes, sondern lediglich um die Angabe einer Obergrenze handelt, welche den Normalbereich ( $< 0,3$  kPa/l/s) nach oben zu höheren, pathologischen Werten hin abgrenzt (siehe *Tab. 2.9*).

## 3.2. Diffusionskapazität

Bei der Diffusionsmessung wurden die Diffusionskapazität  $D_{L,CO}$  (= Transferfaktor  $T_{L,CO}$ ) und der auf das Alveolarvolumen bezogene Transferkoeffizient  $D_{L,CO}/V_A$ , auch Krogh-Faktor  $K$  genannt, bestimmt. Die absoluten und sollwertbezogenen Meßwerte sind in *Tab. 3.3* aufgeführt:

	Diabetiker (n=52)	Vergleichsgruppe (n=38)	Statistik
$D_{L,CO}$ [mmol/min/kPa]	9,9685 ± 2,220	11,1489 ± 2,508	<b>p &lt; 0,05</b>
$D_{L,CO}$ [% Sollwert]	91,7124 ± 12,363	103,145 ± 14,035	<b>p &lt; 0,00005</b>
$D_{L,CO}/V_A$ [mmol/min/kPa/l]	1,7503 ± 0,216	1,8241 ± 0,242	ns
$D_{L,CO}/V_A$ [% Sollwert]	83,168 ± 9,968	86,526 ± 10,345	ns
$V_A$ [l]	5,7327 ± 1,2130	6,1808 ± 1,4458	ns
$V_A$ [% Sollwert]	110,72 ± 13,326	119,35 ± 17,488	<b>p &lt; 0,009</b>

Tab. 3.3: Diffusionskapazität: Absolute und volumenbezogene Werte

$D_{L,CO}$  ist im Diabeteskollektiv mit 9,9698 mmol/min/kPa gegenüber einem Wert von 11,150 mmol/min/kPa in der Vergleichsgruppe signifikant erniedrigt. In Bezug auf den Sollwert ist das Ergebnis mit 91,731% zu 103,16% sogar hochsignifikant ( $p < 0,00005$ ). Das Alveolarvolumen  $V_A$  ist bei den Diabetikern im Vergleich zu den Vergleichsprobanden ebenfalls erniedrigt, wenn auch beim Absolutwert nicht signifikant (5,7327 l bzw. 6,1808 l). Beim sollwertbezogenen Alveolarvolumen jedoch ist der Unterschied hochsignifikant ( $p < 0,009$ ). Der Wert beträgt im Diabeteskollektiv 110,72%, in der Gruppe der Vergleichsprobanden 119,35%.

Beim volumenbezogenen Transferkoeffizienten  $D_{L,CO}/V_A$  fand sich keine signifikante Abweichung der beiden Kollektive (1,7510 mmol/min/kPa/l bzw. 83,170% in der Diabetesgruppe und 1,8242 mmol/min/kPa/l bzw. 86,527% bei den Vergleichsprobanden). Dieses Ergebnis wird verursacht durch das signifikant niedrigere Alveolarvolumen  $V_A$ .

Wie bereits in Kapitel 2.2.2 beschrieben wird das Alveolarvolumen berechnet nach der Formel:

$$V_A = k \cdot \frac{F_{I,He}}{F_{A,He}} \cdot (V_{in} - (V_{DA} + V_{AT})) \quad [I]$$

Dabei werden die inspiratorische ( $F_{I,He}$ ) und expiratorische ( $F_{A,He}$ ) Heliumkonzentration sowie das Einatemvolumen ( $V_{in}$ ) gemessen, vorgegeben und konstant sind der anatomische ( $V_{DA}$ ) und der apparative ( $V_{AT}$ ) Totraum sowie der Totraum des Heliumanschlußstutzens ( $V_D$ ) und das Sammelvolumen (SV), welche im Korrekturfaktor  $k$  enthalten sind.

Es verhält sich nun so, daß bei Ventilationsinhomogenitäten aufgrund des reduzierten Verteilungsvolumens das effektive Alveolarvolumen  $V_A$  zu niedrig bestimmt wird. Zu niedrig vorgegebene Werte erhöhen aber das absolute Alveolarvolumen und somit auch den prozentualen Erwartungswert. Das bedeutet jedoch, daß bei relativ zu hoch bestimmtem  $V_A\%$  auch die auf  $V_A\%$  bezogene  $D_{L,CO}$  ( $D_{L,CO}/V_A\%$ ) zu niedrig erscheint. Die Ergebnisse in beiden Kollektiven unterscheiden sich jedoch nicht signifikant voneinander. Jedoch lag die  $D_{L,CO}$  bei den Diabetikern mit 91,731% vom Erwartungswert deutlich reduziert, obwohl das sollwertbezogene Alveolarvolumen  $V_A\%$  mit 110,72% zu hoch bestimmt wurde. Daraus kann geschlossen werden, daß die  $D_{L,CO}$  eher noch niedriger anzusetzen ist.

Das Alveolarvolumen  $V_A$ , welches die effektive Ventilation widerspiegelt, wurde beim Diabetikerkollektiv signifikant niedriger bestimmt (110,72% versus 119,35%). Korrespondierende Meßgrößen sind hierbei das durch Heliumdilutionsmessung bestimmte Residualvolumen ( $RV_{He}$ ) sowie die Differenz der beiden unterschiedlich gemessenen Residualvolumina ( $RV_{Body} - RV_{He}$ , siehe *Tab. 3.1: Standardlungfunktion* und *Tab. 3.2: Vergleich der Meßmethoden*) bei einem vergleichbaren Transferfaktor.

Die folgende Abb. 3.2 zeigt zur Verdeutlichung die sollwertbezogenen Relativwerte der drei Parameter, aufgliedert in Diabetiker und Vergleichsgruppe:

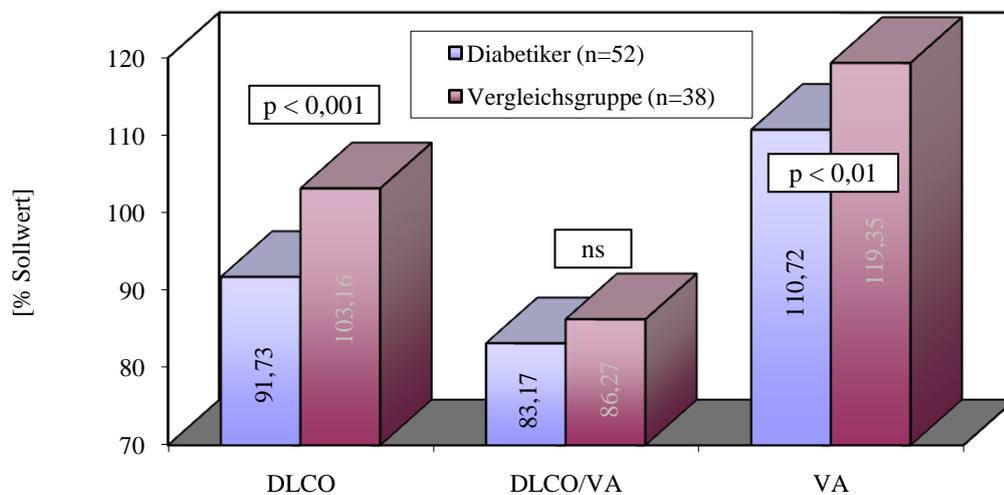


Abb. 3.2: Vergleich der sollwertbezogenen Relativwerte für  $D_{L,CO}$ ,  $D_{L,CO}/V_A$  und  $V_A$

### 3.2.1. Einfluß der Standardlungenfunktionsparameter auf die Diffusionskapazität

In beiden Kollektiven war erwartungsgemäß ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der  $D_{L,CO}$  und den Absolutwerten der Lungenvolumina und Lungenskapazitäten ( $VC_{in}$ , TLC und  $FEV_1$ ) nachzuweisen. Im Gegensatz zum Vergleichskollektiv war bei den Diabetikern auch eine deutliche Abnahme der  $D_{L,CO}$  bei Zunahme der peripheren Obstruktion, gemessen durch den  $MEF_{50}$ , zu verzeichnen. Die Gegenüberstellung der Parameter ist aus den folgenden Tabellen Tab. 3.4 und Tab. 3.5 zu ersehen:

Statistik	$D_{L,CO}$ [mmol/min/kPa]	
	r	p
$VC_{in}$ [l]	0,80	< 0,0001
$TLC_{Body}$ [l]	0,75	< 0,0001
$FEV_1$ [l]	0,75	< 0,0001
$MEF_{50}$ [l/s]	0,24	ns

Tab. 3.4: Einfluß der Lungenfunktionsparameter auf die Lungendiffusionskapazität im Vergleichskollektiv (r = Regression, p = Wahrscheinlichkeit für Fehler 1. Art, ns = nicht signifikant)

Statistik	$D_{L,CO}$ [mmol/min/kPa]	
	r	p
$VC_{in}$ [l]	0,85	< 0,0001
$TLC_{Body}$ [l]	0,68	< 0,0001
$FEV_1$ [l]	0,83	< 0,0001
$MEF_{50}$ [l/s]	0,60	< 0,0001

Tab. 3.5: Einfluß der Lungenfunktionsparameter auf die Lungendiffusionskapazität im Diabeteskollektiv

### 3.3. EINFLUSS DIABETES-SPEZIFISCHER PARAMETER AUF DIE LUNGENFUNKTION

#### 3.3.1. Diffusionskapazität und Diabetes

Die Abhängigkeit der Lungenfunktion von diversen Einflußfaktoren innerhalb des Diabeteskollektivs wurde einer eingehenden Betrachtung unterzogen. Die folgende *Tab. 3.6* zeigt den Einfluß der diabetesspezifischen Faktoren hinsichtlich der sollwertbezogenen Relativwerte der Diffusionskapazität  $D_{L,CO}$ , des Transferkoeffizienten  $D_{L,CO}/V_A$  sowie des Alveolarvolumens  $V_A$ .

Statistik	$D_{L,CO}$ %		$D_{L,CO}/V_A$ %		$V_A$ %	
	r	p	r	p	r	p
Diabetesdauer	0,06	ns	0,21	ns	-0,12	ns
HbA <sub>1</sub> aktuell	-0,17	ns	0,007	ns	-0,21	ns
HbA <sub>1</sub> -Mittelwert	-0,01	ns	0,06	ns	-0,12	ns

Tab. 3.6: Einfluß diabetesspezifischer Faktoren auf die Diffusionskapazität  
(r = Regression, p = Wahrscheinlichkeit für Fehler 1. Art, ns = nicht signifikant)

Eine Abhängigkeit der drei Diffusionsparameter ließ sich weder bezüglich der Diabetesdauer noch des aktuellen oder gemittelten HbA<sub>1</sub>-Wertes nachweisen.

#### 3.3.2. Diabetische Sekundärerkrankungen

Bei der Analyse der Interaktionen der Lungenfunktionsparameter mit den diabetischen Späterkrankungen wurden letztere sowohl allgemein zusammengefaßt betrachtet, d.h. Klassifikation der Diabetiker nach der Anzahl der Sekundärkomplikationen (0, 1, 2, 3 oder 4 SM, siehe Kapitel 2.1.1), als auch einzeln nach den vier aufgeführten Spätmanifestationen Retinopathie, Nephropathie, Neuropathie und LJM in die Berechnung einbezogen.

### 3.3.2.1. Sekundärerkrankungen und Diffusionskapazität

Die folgende Tab. 3.7 stellt die Zusammenhänge zwischen den diabetischen Spätkomplikationen und Diffusionskapazität, Transferkoeffizient und Alveolarvolumen.

Statistik	$D_{L,CO} \%$		$D_{L,CO}/V_A \%$		$V_A \%$	
	r	p	r	p	r	p
$\Sigma$ Sekundärerkrankungen	-0,32	< <b>0,005</b>	-0,08	ns	-0,27	< <b>0,01</b>
- Retinopathie	-0,24	< <b>0,05</b>	-0,01	ns	-0,24	< <b>0,05</b>
- Nephropathie	-0,27	< <b>0,01</b>	-0,16	ns	-0,13	ns
- Neuropathie	-0,29	< <b>0,01</b>	-0,09	ns	-0,24	< <b>0,05</b>
- Cheiropathie (LJM)	-0,18	ns	0,02	ns	-0,20	ns

Tab. 3.7: Einfluß der Sekundärmanifestationen auf die Diffusionsparameter

Ein deutlicher Zusammenhang zwischen den Sekundärerkrankungen Retinopathie, Nephropathie und Neuropathie mit der sollwertbezogenen Diffusionskapazität ( $D_{L,CO} \%$ ) ist zu erkennen. Mit der LJM zeigte sich jedoch keine signifikante Interaktion. Insbesondere besteht eine hochsignifikante negative Korrelation zwischen der Anzahl der Spätmanifestationen und der  $D_{L,CO}$ . Ein gemeinsames Auftreten von Sekundärmanifestationen des Diabetes und einer reduzierten Diffusionskapazität ist also wahrscheinlich.

Eine Korrelation zwischen dem Relativwert des Transferkoeffizienten ( $D_{L,CO}/V_A \%$ ) und Sekundärerkrankungen war nicht nachweisbar.

Außerdem konnte beim auf den Sollwert bezogenen Alveolarvolumen ( $V_A \%$ ) eine signifikante negative Korrelation mit Retinopathie und Neuropathie nachgewiesen werden. Ein besonders deutlicher Zusammenhang zeigte sich auch hier mit der Anzahl der Sekundärmanifestationen. Bei Nephropathie und Cheiropathie konnte keine signifikante Korrelation festgestellt werden. Die Verminderung der Diffusionskapazität bei der Nephropathie konnte somit nicht auf eine Reduktion des effektiven Atemvolumens zurückgeführt werden.

Bei Diabetikern ohne Nachweis von Sekundärerkrankungen konnte zwar eine reduzierte, aber nicht signifikant abweichende  $D_{L,CO}$  gefunden werden. Bei Aufgliederung in die einzelnen Spätmanifestationen fand sich jedoch bei jeder Sekundärerkrankung – abgesehen von der Cheiropathie – eine signifikant verringerte Diffusionskapazität.

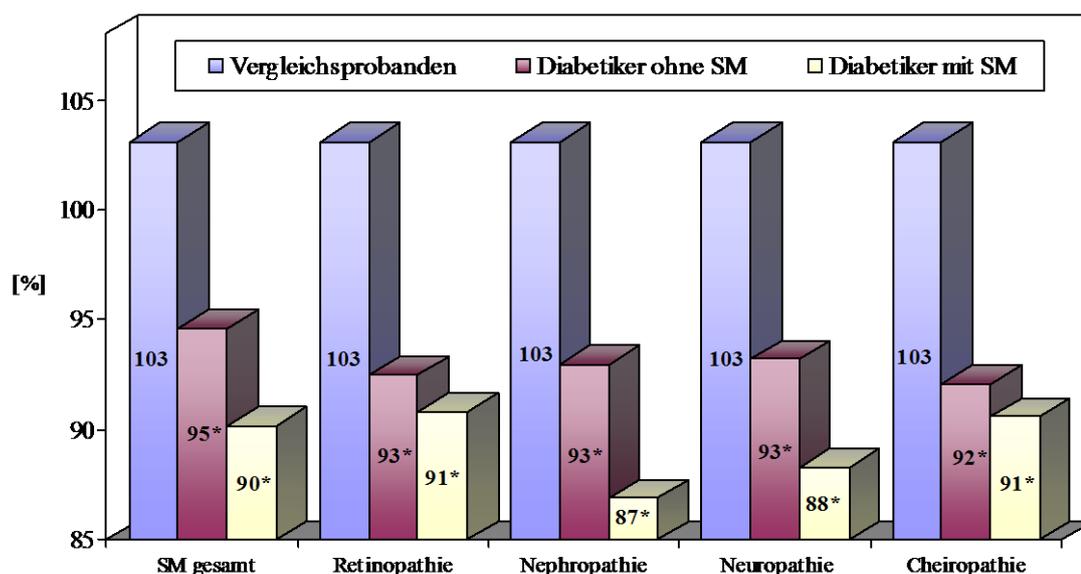


Abb. 3.3: Diffusionskapazität ( $D_{L,CO}$  %) in Relation zu diabetischen Sekundärmanifestationen (SM) (\* =  $p < 0,05$ )

In der folgenden *Tab. 3.8* werden die Gruppenunterschiede bezüglich der Diffusionskapazität sowie des Krogh-Faktors dargestellt:

	Diabetiker ohne SM	Diabetiker mit SM	Kontrollgruppe	Statistik
$D_{L,CO}$ [mmol/min/kPa]	10,390 ± 2,547	<b>9,764 ± 2,052</b>	<b>11,149 ± 2,508</b>	<b>p &lt; 0,05</b>
$D_{L,CO}$ [% Sollwert]	94,209 ± 15,346	<b>90,500 ± 10,668</b>	<b>103,145 ± 14,035</b>	<b>p = 0,0003</b>
$D_{L,CO}/V_A$ [mmol/min/kPa/l]	1,8179 ± 0,2329	1,7175 ± 0,2025	1,8241 ± 0,2425	ns
$D_{L,CO}/V_A$ [% Sollwert]	84,275 ± 10,6142	82,647 ± 9,770	86,526 ± 10,345	ns
$D_{L,CO}/TLC_{He}$ [mmol/min/kPa/l]	1,7878 ± 0,2133	1,6642 ± 0,1960	1,7771 ± 0,2332	p = 0,054
$D_{L,CO}/TLC_{Body}$ [mmol/min/kPa/l]	1,6423 ± 0,2709	<b>1,5006 ± 0,2461</b>	<b>1,7193 ± 0,2870</b>	<b>p = 0,004</b>

Tab. 3.8: Gruppenvergleich für Diffusionskapazität und Krogh-Faktor sowie dessen Pendant

Besonders auffallend ist die deutliche Abnahme sowohl der absoluten als auch insbesondere der sollwertbezogenen  $D_{L,CO}$  sowie des mit bodyplethysmographischem Meßverfahren ermittelten TLC berechneten Krogh-Index bei Diabetikern mit Sekundärkomplikationen.

### 3.3.2.2. Sekundärerkrankungen und Residualvolumen

In der folgenden *Tab. 3.9* sind die Interaktionen zwischen Sekundärerkrankungen und den sollwertbezogenen Werten der mittels Bodyplethysmographie bzw. Heliumdilution gemessenen Residualvolumina sowie der Differenz der beiden Absolutwerte aufgeführt.

Statistik	RV <sub>He</sub> %		RV <sub>Body</sub> %		RV <sub>Body</sub> - RV <sub>He</sub>	
	r	p	r	p	r	p
Σ Sekundärerkrankungen	-0,28	< 0,01	0,08	ns	0,29	< 0,01

Tab. 3.9: Einfluß der Sekundärmanifestationen auf das Residualvolumen

Beim bodyplethysmographisch bestimmten sollwertbezogenen Residualvolumen RV<sub>Body</sub> % ließ sich keine signifikante Abhängigkeit vom Auftreten der einzelnen diabetischen Sekundärerkrankungen oder von deren Summe nachweisen.

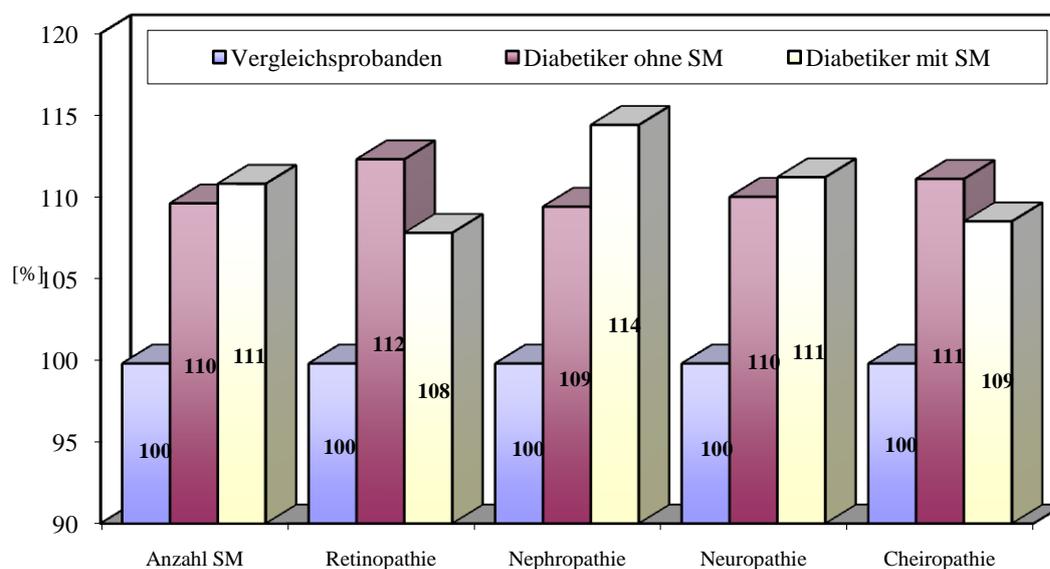


Abb. 3.4: Bodyplethysmographisches Residualvolumen (RV<sub>Body</sub> %) in Relation zu diabetischen Sekundärmanifestationen (SM)

Dahingegen zeigte sich eine stärkere negative Korrelation des mit der Heliumdilution bestimmten Residualvolumens RV<sub>He</sub> % mit dem Auftreten von Neuropathie und Cheiropathie sowie der Anzahl der Sekundärmanifestationen (siehe *Tab. 3.9*). Bezüglich Retinopathie und Nephropathie konnte hier keine signifikante Bezie-

hung beobachtet werden. Dasselbe Ergebnis trat auch bei der Differenz der mit den beiden Verfahren bestimmten Residualvolumina ( $RV_{\text{Body}} - RV_{\text{He}}$ ) auf.

Ein Gruppenvergleich zwischen Diabetikern mit und ohne diabetische Sekundärerkrankungen sowie der Kontrollgruppe mit Hilfe der einfaktoriellen Varianzanalyse ergibt folgendes Bild:

	<b>Diabetiker ohne SM</b>	<b>Diabetiker mit SM</b>	<b>Kontrollgruppe</b>	<b>Statistik</b>
<b><math>RV_{\text{Body}} - RV_{\text{He}}</math> [l]</b>	0,4278 ± 0,6742	<b>0,6236 ± 0,5048</b>	<b>0,1946 ± 0,3238</b>	<b>p = 0,001</b>

Tab. 3.10: Gruppenvergleich der RV-Differenz zwischen beiden Meßverfahren

Die gefundenen Differenzen zwischen den beiden Meßverfahren sind Zeichen für eine Ventilationsinhomogenität.

Beim Nachweis von diabetischen Sekundärmanifestationen zeigt sich also keine Änderung des Residualvolumens. Gleichwohl ist aber eine deutliche Zunahme der Verteilungsstörung zu beobachten.

### 3.3.2.3. Sekundärerkrankungen und obstruktive Parameter

Neben den statischen wurden auch die dynamischen Lungenfunktionsparameter ermittelt (siehe auch Tab. 3.1: Standardlungenfunktion auf Seite 47). In der folgenden Tab. 3.11 werden nun die Gruppen bezüglich des Tiffeneau-Wertes gegenübergestellt:

	<b>Diabetiker ohne SM</b>	<b>Diabetiker mit SM</b>	<b>Kontrollgruppe</b>	<b>Statistik</b>
<b>FEV<sub>1</sub>%VC [%]</b>	81,942 ± 6,030	79,786 ± 7,028	84,291 ± 14,555	ns

Tab. 3.11: Gruppenvergleich für Einsekundenkapazität in Prozent der Vitalkapazität

Es ergeben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Diabetikern und Vergleichsprobanden, auch bezüglich des Vorkommens von diabetischen Sekundärerkrankungen zeigt sich kein Einfluß auf den Tiffeneau-Wert. So ist die signifikante Reduktion der Einsekundenkapazität (FEV<sub>1</sub>) bei nicht signifikant verändertem mittlerem expiratorischen Fluß (MEF<sub>50</sub>) eine Folge der signifikant niedrigeren Vitalkapazität (VC) bei den Diabetikern und daher nicht als Folge einer Obstruktion zu werten.

Unter Berücksichtigung dieser Befunde ist somit eine obstruktive Ventilationsstörung auszuschließen.

### 3.3.2.4. Sekundärerkrankungen und Rauchverhalten

Wie aus Tab. 2.7 auf Seite 24 ersichtlich besteht in beiden Kollektiven ein gleichmäßiger Anteil an Rauchern von etwa 15 %. Bei genauerer Betrachtung ergibt sich auch bezüglich der diabetischen Sekundärerkrankungen ein einheitliches Rauchverhalten.

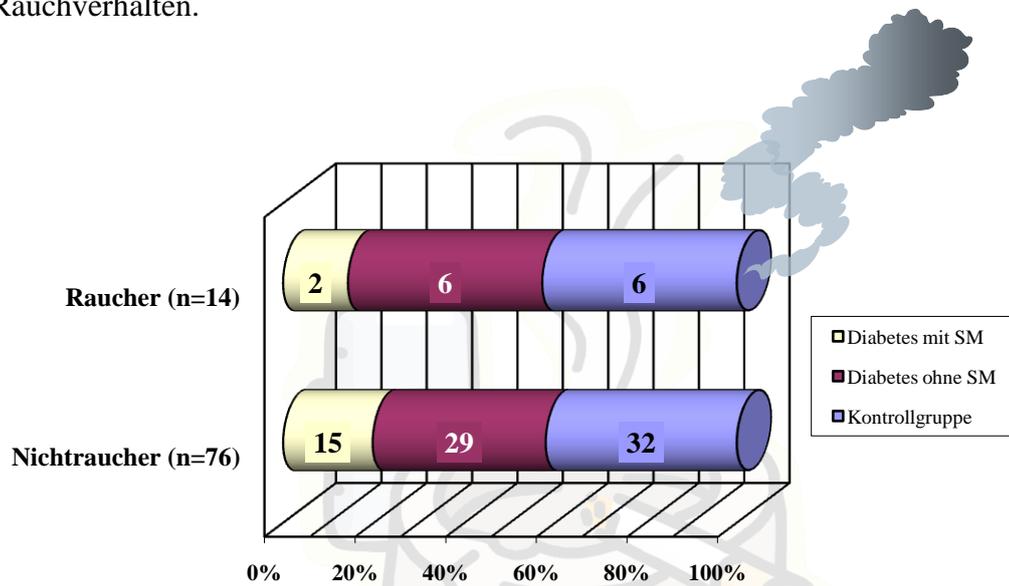


Abb. 3.5: Anzahl von Rauchern bzw. Nichtrauchern in Relation zu Sekundärmanifestationen des Diabetes

### 3.4. HISTOMORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG AN RATTENLUNGEN

#### 3.4.1. Gesamtkollektiv

In der folgenden Tab. 3.12 werden die Lungenparameter der beiden Tierkollektive gegenübergestellt.

	Diabetische Tiere (n=7)	Vergleichstiere (n=3)	Statistik
Lungenvolumen [ml]	8,96 ± 0,63	9,81 ± 0,50	<b>p = 0,067</b>
Spezifisches Lungenvolumen [ml/kg KG]	41,17 ± 2,16	35,65 ± 2,00	<b>p = 0,017</b>
Kehrwert der Schnittlängen $\frac{1}{l_i}$ [1/nm]	0,0030 ± 0,0006	0,0034 ± 0,0002	p = 0,267
Summe der Kehrwerte $\sum_{i=1}^n \frac{1}{l_i}$	0,7934 ± 0,1725	1,0335 ± 0,3435	p = 0,517
Harmonische mittlere Dicke $\tau_h$ [nm]	231,931 ± 59,303	196,223 ± 17,089	p = 0,267
Dicke-Volumen-Quotient <sup>i</sup> [nm/ml]	26,317 ± 8,548	19,994 ± 0,992	<b>p = 0,067</b>
gewichtsspezifischer Dicke-Volumen-Quotient <sup>ii</sup> [nm/ml/kg]	0,124 ± 0,052	0,073 ± 0,003	<b>p = 0,017</b>

Tab. 3.12: Lungenparameter beider Rattenkollektive (Statistisches Verfahren: Mann-Whitney-Test)

Das Lungenvolumen wurde an den fixierten Lungen gemessen (siehe Abschnitt 2.3.2.). In der Literatur wird das fixierte Lungenvolumen 8-9% (MAZZONE<sup>121</sup>) bzw. 15% (GARDNER<sup>62</sup>) geringer als das ursprüngliche Lungenvolumen angegeben. Da die Lungenvolumina beider Kollektive nahezu identisch sind, erklärt sich das signifikant höhere gewichtsbezogene Lungenvolumen beim Diabeteskollektiv durch die unterschiedliche Gewichtsentwicklung. Diese Beobachtung deckt sich mit jenen

<sup>i</sup> Dicke-Volumen-Quotient = Harmonische mittlere Dicke  $\tau_h$  / Lungenvolumen

<sup>ii</sup> gewichtsspezifischer Dicke-Volumen-Quotient = Dicke-Volumen-Quotient / Körpergewicht

von SAHEBJAMI und DENHOLM<sup>162</sup>. Die diabetischen Tiere wiesen einen leichten Gewichtsverlust auf, wohingegen die gesunden Vergleichstiere noch an Körpergewicht zunahmen. Dabei ist zu beachten, daß bei Ratten die Lungenreifung etwa im Alter von drei Monaten abgeschlossen ist, also bereits vor der Diabetesinduktion. Unter der Voraussetzung einer ausgereiften Lunge bei adulten Tieren, die noch eine leichte Gewichtszunahme zeigten, ist deshalb der Bezug auf das Körpergewicht nicht ganz korrekt, da die Veränderungen des Körpergewichts hauptsächlich auf einer Änderung des Körperfettanteils basierten.

Das Diabeteskollektiv wies zwar gegenüber den gesunden Tieren eine leichte Verdickung der Gewebsschranke auf (231,931 bzw. 196,223 nm), jedoch war diese Zunahme statistisch nicht signifikant. Bei den volumenkorrigierten Werten zeigte sich jedoch im Diabeteskollektiv eine grenzwertig signifikante Zunahme der Gewebsdicke (26,317 bzw. 19,994 nm/ml). Jedoch zeichnete sich beim auf das Körpergewicht bezogenen spezifischen Dicke-Volumen-Quotienten eine hochsignifikante Differenz beider Kollektive ab (0,124 bzw. 0,073 nm/ml/kg KG).

Die folgende *Tab. 3.13* zeigt die Zusammenhänge diverser Körperparameter im Gesamtkollektiv der Ratten:

	Lungenvolumen (LV) [ml]		Spezifisches LV [ml/kg KG]		Kopf-Rumpf-Länge [cm]		Kopf-Schwanz-Länge [cm]	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Blutzucker [ng/dl]	-0,803	<b>0,005</b>	0,571	0,085	-0,722	<b>0,018</b>	-0,537	0,110
Gewicht [g]	0,636	<b>0,048</b>	-0,758	<b>0,011</b>	0,833	<b>0,003</b>	0,587	0,075
Kopf-Schwanz-Länge [cm]	0,482	0,159	-0,556	0,095	0,887	<b>0,001</b>		
Kopf-Rumpf-Länge [cm]	0,599	0,067	-0,716	<b>0,020</b>				
Spezifisches LV [ml/kg KG]	-0,188	0,603						
	<b>Gewicht [g]</b>							
<b>Statistik</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
Blutzucker [ng/dl]	-0,847	<b>0,002</b>						

Tab. 3.14: Korrelation individueller Parameter im Gesamtkollektiv (Spearman-Rang-Korrelation)

In der folgenden *Tab. 3.15* sind die Interaktionen der Körperparameter mit den morphometrischen Meßgrößen aufgezeigt:

	Summe der Kehrwerte der Schnittlängen $\sum_{i=1}^n \frac{1}{l_i}$ [1/nm]		Harmonische mittlere Dicke $\tau_h$ [nm]		Dicke-Volumen-Quotient [nm/ml]		gewichtsspezifischer Dicke-Volumen-Quotient [nm/ml/kg KG]	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Blutzucker [ng/dl]	-0,383	0,275	-0,439	0,204	0,765	<b>0,010</b>	0,828	<b>0,003</b>
Gewicht [g]	0,358	0,310	-0,673	<b>0,033</b>	-0,794	<b>0,006</b>	-0,964	< <b>0,001</b>
Kopf-Schwanz-Länge [cm]	-0,105	0,773	-0,056	0,879	-0,383	0,275	-0,593	0,071
Kopf-Rumpf-Länge [cm]	0,025	0,946	-0,309	0,385	-0,556	0,095	-0,840	<b>0,002</b>
Lungenvolumen [ml]	0,527	0,117	-0,321	0,365	-0,661	<b>0,038</b>	-0,661	<b>0,038</b>
Spezifisches Lungenvolumen [ml/kg KG]	-0,103	0,777	0,527	0,117	0,564	0,090	0,758	<b>0,011</b>

Tab. 3.15: Korrelation individueller Parameter mit morphometrischen Meßgrößen im Gesamtkollektiv

Ein Einfluß auf die Dicke der Gewebsschranke, repräsentiert durch die harmonische mittlere Dicke  $\tau_h$ , ließ sich lediglich beim Körpergewicht feststellen. Hier bestand eine signifikante negative Korrelation. Außerdem bestand eine hochsignifikante negative Abhängigkeit des Dicke-Volumen-Quotienten vom Körpergewicht und dem Lungenvolumen. Auch der gewichtsspezifische Dicke-Volumen-Quotient zeigte eine deutliche Abhängigkeit vom Körpergewicht und der Kopf-Rumpf-Länge sowie vom Lungenvolumen.

Besonders hervorstechend ist jedoch die hochsignifikante positive Korrelation zwischen dem Blutzuckerspiegel und dem Dicke-Volumen-Quotienten, also der auf das Lungenvolumen bezogenen harmonischen mittlere Gewebssdicke  $\tau_h$  sowie insbesondere dem auf das Körpergewicht bezogenen Wert. In enger Übereinstimmung mit *Tab. 2.10* auf Seite 32 stellt sich auch in der obigen *Tab. 3.14* ein deutlicher Zusammenhang zwischen dem Anstieg des Blutzuckers und der Abnahme des Körpergewichts respektive der Kopf-Rumpf-Länge sowie einer hochsignifikanten Ab-

nahme des Lungenvolumens dar. Ein bedeutsamer Einfluß auf die Kopf-Schwanz-Länge war nicht erkennbar.

### 3.4.2. Diabeteskollektiv

In diesem Abschnitt werden die oben durchgeführten Untersuchungen für das Diabeteskollektiv gesondert aufgeführt. Die folgende *Tab. 3.16* zeigt zunächst wieder den Vergleich diverser Körperparameter:

Statistik	Lungenvolumen (LV) [ml]		Spezifisches LV [ml/kg KG]		Kopf-Rumpf-Länge [cm]		Kopf-Schwanz-Länge [cm]	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Gewicht [g]	0,429	0,337	-0,321	0,482	0,674	0,097	0,334	0,465
Kopf-Schwanz-Länge [cm]	0,037	0,937	-0,185	0,691	0,835	<b>0,019</b>		
Kopf-Rumpf-Länge [cm]	0,112	0,811	-0,356	0,434				
Spezifisches LV [ml/kg KG]	0,679	0,094						

Tab. 3.16: Korrelation individueller Parameter im Diabeteskollektiv

In der Diabetesgruppe zeigte sich lediglich eine signifikante Korrelation der Kopf-Rumpf-Länge mit der Kopf-Schwanz-Länge.

Ein Zusammenhang mit dem Lungenvolumen zeigte sich weder bei der Kopf-Schwanz-Länge noch bei der Kopf-Rumpf-Länge. Auffällig ist hier auch die fehlende Abhängigkeit der Länge vom Körpergewicht, welche im Gesamtkollektiv deutlich gegeben ist.

In der folgenden Tab. 3.17 sind die Beziehungen zwischen den individuellen Körperparametern und den morphometrischen Werten für das Diabeteskollektiv dargestellt:

Statistik	Summe der Kehrwerte der Schnittlängen $\sum_{i=1}^n \frac{1}{l_i}$ [1/nm]		Harmonische mittlere Dicke $\tau_h$ [nm]		Dicke-Volumen-Quotient [nm/ml]		gewichtsspezifischer Dicke-Volumen-Quotient [nm/ml/kg KG]	
	r	p	r	p	r	p	r	p
Gewicht [g]	0,393	0,383	-0,786	<b>0,036</b>	-0,75	<b>0,052</b>	-1	<b>0</b>
Kopf-Schwanz-Länge [cm]	-0,334	0,465	0,037	0,937	-0,185	0,691	-0,334	0,465
Kopf-Rumpf-Länge [cm]	-0,299	0,514	-0,187	0,688	-0,299	0,514	-0,674	0,097
Lungenvolumen [ml]	0,393	0,383	-0,357	0,432	-0,679	0,092	-0,429	0,337
Spezifisches Lungenvolumen [ml/kg KG]	0,286	0,535	0,357	0,432	-0,036	0,939	0,321	0,482

Tab. 3.17: Korrelation individueller Parameter mit morphometrischen Meßgrößen im Diabeteskollektiv

Es zeigt sich ein ähnliches Bild wie schon zuvor beim Gesamtkollektiv. Ein signifikanter Zusammenhang der harmonischen mittleren Gewebsdicke  $\tau_h$  läßt sich für das Körpergewicht nachweisen. Beim absoluten sowie gewichtsbezogenen Lungenvolumen besteht hier keine Korrelation mit der Dicke der Gewebsschranke.

Die morphometrischen Parameter lassen im Diabeteskollektiv abweichend vom Gesamtkollektiv keinen Zusammenhang mit Kopf-Schwanz-Länge und Kopf-Rumpf-Länge erkennen.

### 3.4.3. Vergleichskollektiv

Aufgrund der kleinen Vergleichsgruppe mit 3 Tieren wurde hier auf eine gesonderte statistische Aufarbeitung verzichtet.

## 4. DISKUSSION

### 4.1. LUNGENFUNKTION

#### 4.1.1. Standardlungenfunktion

Im Rahmen der spirometrischen Untersuchungen zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen Diabetikern und Vergleichsprobanden dahingehend, daß die inspiratorische Vitalkapazität  $VC_{in}$  und die mit Hämodilutionsverfahren gemessene totale Lungenskapazität TLC sowie die rechnerisch ermittelte relative Einsekundenkapazität  $FEV_1\%$  im Diabeteskollektiv reduziert waren. Es ergab sich außerdem im Diabeteskollektiv eine deutliche Divergenz des Residualvolumens bezüglich der beiden Meßmethoden, und zwar dergestalt, daß es bei der Heliumverdünnungsmethode zu niedrigeren Meßwerten, bei der Bodyplethysmographie jedoch zu einer Zunahme des Residualvolumens in Relation zu den gesunden Probanden kam. Dieselbe Tendenz zeigte sich erwartungsgemäß auch beim Quotienten  $RV/TLC$ . Das  $FEV_1$  war bei den Diabetikern signifikant niedriger als im Vergleichskollektiv, lag jedoch noch im Erwartungsbereich. Auch der signifikant niedrigere totale Atemwegswiderstand  $R_{aw}$  spricht gegen das Vorliegen einer relevanten Obstruktion. Die Fluß-Volumen-Kurve, repräsentiert durch den von der Mitarbeit des Probanden unabhängigeren  $MEF_{50}$ , war in beiden Kollektiven vergleichbar.

Wie schon in Kapitel 1.2 aufgezeigt sind die Ergebnisse von Diabetesstudien bezüglich der oben genannten Ventilationsgrößen deutlich divergent: Bei vielen Autoren finden sich völlig unauffällige spirometrische Daten<sup>16;114;136;165-167;170;208</sup>, andere Untersucher beschrieben jedoch eine Verminderung der totalen Lungenskapazität<sup>9;33;44;80;120;173;187;202</sup> oder der Vitalkapazität<sup>4;9;44;48;80;106;120;146;202</sup> oder erniedrigte Parameter der forcierten Ventilation<sup>4;9;44;106;187;202</sup>. Besondere Abweichungen der Studienergebnisse fallen bei den Messungen der Residualvolumina auf: Die Mehrzahl der Untersucher konnte keine Veränderung des Residualvolumens bei Diabetikern nachweisen, während drei Studien<sup>9;120;172</sup> eine Verringerung desselben beschreiben. Bei DISCHER et al.<sup>44</sup> und HAFER<sup>75</sup> fand sich allerdings eine Erhöhung von RV sowie  $RV/TLC$ , welche sich auch in der vorliegenden Arbeit andeutet, wenn auch beim Residualvolumen das Signifikanzniveau nicht erreicht wurde. Eine plausible

Erklärung für diese Abweichungen wäre die häufige Verwendung der Helium- oder Stickstoffdilutionsmethode, bei welchen im Gegensatz zu der in dieser Studie und von oben genannten Autoren<sup>44;75</sup> verwendeten Bodyplethysmographie besonders bei Ventilationsstörungen aufgrund der inhomogeneren Ventilation oft falsch niedrige Residualvolumina gemessen werden<sup>196</sup>, wie auch aus *Tab. 3.2* zu entnehmen ist. Inwiefern sich die kürzere durchschnittliche Diabetesdauer sowie die vergleichsweise kleineren Kollektive bezüglich der abweichenden Studienergebnisse kausal ausgewirkt haben, bleibt hypothetisch.

Die Erhöhung des Residualvolumens, insbesondere auf die totale Lungkapazität bezogen, läßt auf eine relative Überblähung der Lunge bei den Diabetikern schließen, wie sie bei einer obstruktiven Ventilationsstörung und beim Emphysem vorkommt. Gegen eine manifeste Obstruktion sprechen die in beiden Kollektiven vergleichbaren MEF<sub>50</sub>-Werte sowie ein normaler, im Diabeteskollektiv jedoch relativ zur Vergleichsgruppe reduzierter totaler Atemwegswiderstand  $R_{aw}$ . Eine reduzierte Vitalkapazität und eine verminderte Einsekundenkapazität sind somit nach Ausschluß einer Obstruktion als restriktive Ventilationsstörung zu interpretieren. Hier deutet sich also das Vorliegen eines Emphysems an, wobei nach MAILÄNDER<sup>117</sup> sowie WETTSTEIN und ULMER<sup>209</sup> das Residualvolumen bei der Emphysemdiagnostik ausschlaggebend ist. Eine Verminderung der forcierten Ventilation sowie der Vitalkapazität, wie sie bei der Emphysembronchitis praktisch immer auftritt, ist folglich zur Diagnose diskreter emphysematischer Lungenveränderungen nicht zwingend notwendig.

Die signifikant größere relative Überblähung bei den Diabetikern, bestimmt durch das relative Residualvolumen bezogen auf die totale Lungkapazität ( $RV/TLC_{Body} \%$ ) bei erhöhtem Residualvolumen und verminderter totaler Lungkapazität, wäre durchaus vereinbar mit einer echten restriktiven Ventilationsstörung, eventuell bedingt durch eine höhere Rigidität des Lungenparenchyms, nicht jedoch mit einer Restriktion bedingt durch Reduktion der Anzahl der Alveolen.

Eine wesentliche Obstruktion bei Ruheatmung kann ausgeschlossen werden, da sich bei in beiden Gruppen vergleichbarem Intrathorakalem Gasvolumen (ITGV) ein bei den Diabetikern vermindertes Expiratorisches Reservevolumen (ERV;  $ITGV=ERV+RV$ ) zeigte, was für eine bereits in Ruhe zur Expiration verschobene Atemmittellage spricht.

Es war ein leichtes, nicht obstruktives Emphysem mit Überblähung distal der terminalen Bronchien zu diskutieren sowie einem Verlust der Elastizität, erkennbar an einem erhöhten prozentualen Residualvolumen bezogen auf die Totale Lungkapazität ( $RV/TLC_{\text{Body}}\%$ ).

Aufgrund der Ergebnisse der Standardlungenfunktion war somit von einer leichten kombinierten Ventilationsstörung mit restriktiven Elementen und einer relativen Überblähung der Lunge auszugehen. Eine signifikant obstruktive Komponente war, möglicherweise durch Überlagerung bedingt, nicht nachzuweisen. Im Diabeteskollektiv zeigte sich eine Verminderung der Vitalkapazität bei fast identischer totaler Lungkapazität.

In der folgenden *Abb. 4.1* ist die Aufteilung der totalen Lungkapazität in Vitalkapazität und Residualvolumen in beiden Kollektiven dargestellt:

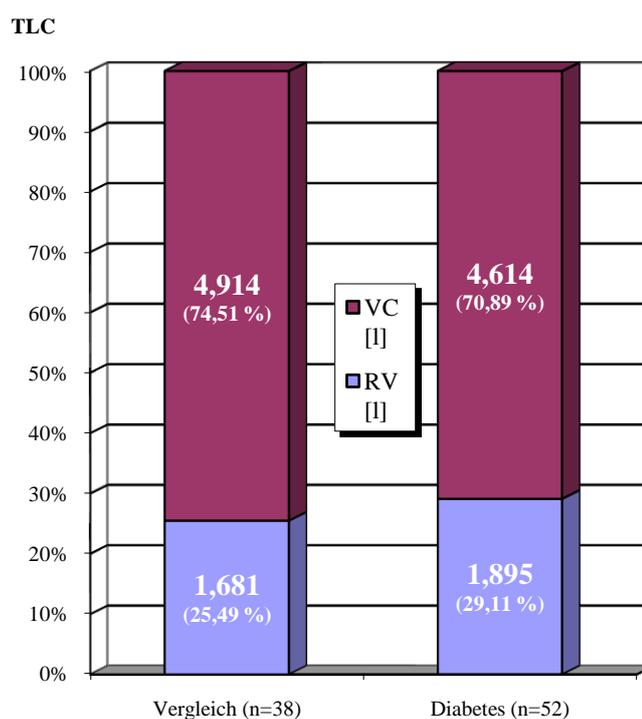


Abb. 4.1: Zusammensetzung der TLC (= 100%) in den beiden Kollektiven (Bodyplethysmographische Messung)

### 4.1.2. Diffusionskapazität

Ein wesentliches Interesse dieser Arbeit galt der Frage nach Veränderungen der Diffusionskapazität der Lunge in Abhängigkeit vom Vorliegen eines Diabetes als Ausdruck einer diabetischen Pneumopathie.

Hierzu nahmen wir Messungen der  $D_{L,CO}$  an Patienten mit Typ-1-Diabetes vor, welche wir mit gesunden Probanden verglichen. Es zeigte sich hierbei im Diabeteskollektiv eine signifikante Verschlechterung der  $D_{L,CO}$  und hier insbesondere des Erwartungswertes (siehe *Tab. 3.3*). Die Messung des auf das Alveolarvolumen bezogenen Krogh-Faktors ( $D_{L,CO}/V_A$ ) ließ nur leicht verminderte Werte bei den Diabetikern erkennen, wobei jedoch zu bedenken ist, daß der Erwartungswert von  $V_A$  bei den Diabetikern gegenüber der Vergleichsgruppe hochsignifikant vermindert war. Diese Reduktion des gemessenen Alveolarvolumens läßt zumindest auf die Mitbeteiligung einer pulmonalen Verteilungsstörung schließen, wobei die Single-Breath-Diffusionsmessung zu einer falsch niedrigen Bestimmung des effektiven Alveolarvolumens führt. Also ist effektiv von einer noch deutlicheren Reduktion der Diffusionskapazität bei Diabetikern auszugehen.

OGILVIE et al.<sup>135</sup> forderten daher in ihrer klassischen Beschreibung der Single-Breath-Methode eine getrennte Messung des Alveolarvolumens.

Nach CRAPO et al.<sup>36</sup> ist die Bestimmung des Alveolarvolumens durch Heliumverdünnungsmethode bei der Single-Breath-Methode ab einem Quotienten von relativer Einsekundenkapazität zu relativer Vitalkapazität  $>50\%$  (in dieser Studie ca.  $81\%$ ) zulässig und führt nicht zu einer falsch niedrigen Bestimmung der  $D_{L,CO}$  im Vergleich zur Bestimmung des Alveolarvolumens ( $V_A$ ) mittels Rückatemmethode.

Bei KNUDSON et al.<sup>101</sup> fand sich bei Probanden mit einem Emphysem und einem Quotienten von relativer Einsekundenkapazität und relativer Vitalkapazität  $>0,75$  eine erniedrigte  $D_{L,CO}$  bei normalem Krogh-Faktor ( $K_{CO}$ ), was sich nur über das effektive Alveolarvolumen erklären ließ. Diese Befunde korrelieren gut mit den hier vorliegenden Daten.

## 4.2. HISTOMORPHOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Mit Hilfe der Lungenfunktionsuntersuchung läßt sich zwar eine Aussage über die Diffusionskapazität als Ganzes treffen, jedoch ergeben sich hieraus keine weiteren Erkenntnisse über die genaue Lokalisation der Diffusionsstörung, also ob neben der Ventilationsinhomogenität auch noch eine Verdickung der alveolo-kapillären Membran vorliegt (siehe Kapitel 1.4). Um eine weitere Differenzierung der gefundenen Diffusionsstörung zu ermöglichen, wurde daher zusätzlich zu der spirometrischen Humanstudie eine tierexperimentelle Untersuchung an Lungen weiblicher Wistar-Ratten mittels Transmissions-Elektronenmikroskopie mit anschließender morphometrischer Auswertung nach WEIBEL<sup>203-205</sup> vorgenommen.

Als histologisches Korrelat zu den Messungen der Diffusionskapazität dienten uns Lungen weiblicher Wistar-Ratten, bei welchen im Alter von 12 Wochen, also nach Abschluß der Lungenreifung, nach HOLMES<sup>87</sup> sowie SAHEBJAMI und DENHOLM<sup>162</sup> gegen Ende der 10. Lebenswoche, durch Injektion von 55 mg Streptozotocin pro kg Körpergewicht ein Diabetes induziert wurde. Die Diabetesdauer der Tiere belief sich auf 6 Monate.

Da es sich bei der Lunge um ein außerordentlich labiles Organ handelt und der Strukturerehalt des Lungenparenchyms stark von der Vorgehensweise bei der Präparation abhängig ist, wurde die Verarbeitung des Gewebes mit größter Sorgfalt vorgenommen. Da unter physiologischen Bedingungen die Lunge nicht vollständig gebläht ist, wurde nach der Präparation die Lunge dreimal mit Luft bei einem Druck von 24 cmH<sub>2</sub>O gebläht, um atelektatische Alveolarbezirke zu eröffnen (siehe Abb. 2.4 auf Seite 34). Auch die meisten anderen Autoren verfahren auf ähnliche Weise: bei BACHOFEN et al.<sup>7</sup> wurden die Lungen dreimal bei 30 cmH<sub>2</sub>O gebläht, SAHEBJAMI UND DENHOLM<sup>162</sup> blähten zweimal bei 30 cmH<sub>2</sub>O.

Der anschließende Blähungsdruck wurde in Übereinstimmung mit der Literatur sowie nach Voruntersuchungen von HAFER<sup>75</sup> auf 8 cmH<sub>2</sub>O festgelegt, was in etwa dem Lungenvolumen bei Atemmittellage (ITGV + AV) entspricht. In diesem Bereich fand HAFER<sup>75</sup> bei seinen Compliance-Untersuchungen die größte Steigung der Druck-Volumen-Kurve, so daß hier die beste Reproduzierbarkeit bestand. WILSON et al.<sup>212;213</sup> kamen bei zwei verschiedenen Studien auf einen optimalen Insuffla-

tionsdruck von 8,0 bzw. 8,1 cmH<sub>2</sub>O, bei GIL UND WEIBEL<sup>65</sup> zeigten sich die am besten vergleichbaren Werte bei einem Druck von 9,3 cmH<sub>2</sub>O. Andere Autoren ermittelten etwas höhere Drücke: HAIES et al.<sup>76</sup> und WEIBEL et al.<sup>207</sup> gaben das Optimum mit jeweils 9,3 cm Wassersäule an, ASSIMACOPOULOS et al.<sup>5</sup> ermittelten Blähungsdrücke mit 10 bzw. 15 cmH<sub>2</sub>O.

Um eine gute Differenzierung des Lungengewebes, insbesondere der Gefäße, zu erreichen, wurden die Lungen vor der Fixation mit einer isoosmolaren Pufferlösung gespült, welche an jedem Versuchstag frisch angesetzt und vor Gebrauch mit einem Bakterienfilter gereinigt wurde, um die Wahrscheinlichkeit einer bakteriellen Kontamination zu minimieren.

In früheren Untersuchungen erwies sich ein Druckverhältnis von Lungenblähung zu Perfusion von 1:3 bis 1:4 als günstig sowohl für eine ausreichende Blähung der Alveolen als auch für die genügende Spülung und anschließende Fixierung des Lungengewebes über das Gefäßsystem, so daß in dieser Untersuchung die Lunge mit Luft bei einem Druck von 8 cmH<sub>2</sub>O gebläht und anschließend mit einem Druck von 24 cmH<sub>2</sub>O über das Gefäßsystem fixiert wurde, also mit einem Verhältnis von 1:3. Bei ASSIMACOPOULOS et al.<sup>5</sup> wurden Rattenlungen mit unterschiedlichen Blähungs- und Perfusionsdrücken untersucht, wobei eine plastische Verformbarkeit des Interstitiums mit bester Alveolar- und Kapillarentfaltung bei einem Verhältnis von 1:2,6 bis 1:3,9 beschrieben wird. Bei WEIBEL et al.<sup>206</sup> wird ein ideales Verhältnis von Blähung zu Perfusion von 1:3,6 beschrieben.

Die harmonische mittlere Dicke der alveolo-kapillären Membran war in der Gruppe der diabetischen verglichen mit den gesunden Tieren deutlich vermehrt, wobei jedoch die Differenz der beiden Kollektive aufgrund der höheren Streubreite im Diabeteskollektiv statistisch nicht signifikant war. Bei den nach Lungenvolumen und Körpergewicht bereinigten Werten (gewichtsspezifischer Dicke-Volumen-Quotient, siehe *Tab. 3.12*) läßt sich jedoch bei den diabetischen Ratten eine deutliche Verdickung der Gewebsschranke nachweisen, was einen Zusammenhang mit der bei der Diffusionsmessung gefundenen Verschlechterung bei Diabetespatienten nahelegt. Ein direkter Vergleich dieses Ergebnisses mit den Resultaten der Humanstudie ist jedoch nicht möglich, da in die Messung der Diffusionskapazität nicht nur die Dicke der Gewebsschranke (= alveolo-kapilläre Membran), zusammengesetzt aus Alveolarendothel, Interstitium und Kapillarendothel, sondern wie in Kapitel 1.4 dargestellt

auch noch die Stratifikation als erste Phase und die Blutschranke als Abschlußphase der Diffusion mit einfließen.

Als Ursache für die in unserer Untersuchung gefundene Verdickung der Gewebsschranke im Diabeteskollektiv wäre rein theoretisch auch durch eine schlechtere Blähung der Lungen während der Fixierung zu erklären. Diese Annahme kann aber ausgeschlossen werden, da das gewichtskorrigierte Lungenvolumen in der Gruppe der diabetischen Ratten signifikant größer ist als im Vergleichskollektiv, was eher für eine Überblähung als für einen zu geringen Insufflationsdruck spricht, so daß wir hier von einer echten Zunahme der Gewebedicke ausgehen können.

Auch HAFER<sup>75</sup> fand bei seinen Messungen an Patienten mit Typ-1-Diabetes eine Erhöhung der statischen Compliance als Anzeichen für einen emphysematischen Lungenumbau aufgrund einer Abnahme der Lungenelastizität bei Diabetikern. Diese Beobachtung deckt sich mit den in dieser Studie beobachteten Ergebnissen.

Der Vergleich mit anderen Publikationen ist problematisch, da sich Kollektive und/oder Methodik zum Teil beträchtlich voneinander unterscheiden. PLOPPER und MORISHIGE<sup>144</sup> führten im Jahr 1979 eine Studie an 10 ausgewachsenen männlichen Ratten durch, bei welchen mit Streptozotocin ein Diabetes induziert worden war. Als Kontrollgruppe zogen sie fünf nichtdiabetische Tiere heran, welchen Kochsalz injiziert wurde, sowie fünf Tiere, welche nach der Injektion von Streptozotocin eine Behandlung mit Protamin-Zink-Insulin (1 I.E./die) erhielten. Es zeigte sich im Diabeteskollektiv eine Abnahme von sekretorischen Granula in den Clara-Zellen der Bronchioli sowie ein Zuwachs an stabförmigen Granula. Jedoch ist zu dieser Studie kritisch anzumerken, daß die Diabetesdauer lediglich zwei Wochen betrug.

Im Jahr 1983 konnten KIDA et al.<sup>95</sup> bei diabetischen Ratten eine Zunahme der Alveolarwanddicke von 24% feststellen, welche auf einer Zunahme der Menge von Kollagen, Elastin und Basallaminae beruhte. Die Dimension der Gewebszunahme ist geringer als die Zunahme des Dicke-Volumen-Quotienten um 31,6% sowie des gewichtsspezifischen Dicke-Volumen-Quotienten (siehe *Tab. 3.12*) um 69,9 %. Die in dieser Studie verwendeten Tiere wurden allerdings bereits im Alter von 4 Wochen mittels Streptozotocin diabetisch gespritzt, also in einem Alter, in dem die Lunge noch in der Phase der Alveolarmultiplikation, also mitten im Wachstum begriffen ist, wie bei HOLMES und THURLBECK<sup>87</sup> beschrieben. Ihre endgültige Form, Größe und Gewebezusammensetzung erreichen Rattenlungen erst gegen Ende der 10. Woche

oder auch noch später<sup>162</sup>. Ob die im Wachstum befindliche Lunge eventuell ganz anders reagiert als ein bereits vollständig ausgereiftes Organ, kann an dieser Stelle nicht geklärt werden. Die prinzipielle Möglichkeit eines differierenden Effektes einer permanenten Hyperglykämie auf juvenile und adulte Lungen muß jedoch bedacht werden. KIDA et al.<sup>95</sup> führten ihre Untersuchungen nach einer im Vergleich kurzen Diabetesdauer von 4 Wochen durch; in dieser Studie wurden dagegen Ratten eingesetzt, welche sechs Monate lang an im Alter von 12 Wochen artifiziell induziertem Diabetes litten.

WEYNAND et al.<sup>210</sup> kommen zu einem vergleichbaren Ergebnis: Anhand von Autopsiematerial aus Lunge und Niere von 6 Diabetikern sowie 6 Kontrollpatienten, allesamt zeitlebens Nichtraucher, konnten sie mittels Elektronenmikroskopie in Alveolarepithelien und Kapillarendothelien der Lunge sowie analog in Glomerulumkapillaren der Niere und renalen Tubuli eine Verdickung der Basallaminae nachweisen. Bei KODOLOVA et al.<sup>103</sup> und VRACKO et al.<sup>201</sup> wird ebenfalls mittels humaner Autopsiestudien das Vorliegen einer Verdickung der pulmonalen Basallaminae bei Diabetes beschrieben. VRACKO fand einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Dicke sowohl der epithelialen als auch der kapillären Basalmembranen der Alveolen mit den Basallaminae in renalen Tubuli und Muskelkapillaren, wobei in letzteren Organen der gefundene Effekt fünf bis zehnmal stärker war als in der Lunge. Eine Korrelation der Zunahme der Basalmembrandicke der Lunge mit der Diabetesdauer konnte im Gegensatz zur Niere nicht nachgewiesen werden. Eine Zusammenfassung diverser Studien über die Lunge als Zielorgan des Diabetes findet sich zuletzt bei DALQUEN<sup>40</sup> im Jahr 1999. Er führt die bei VRACKO gefundene Diskrepanz zwischen Lunge und Niere auf funktionelle Unterschiede sowie die differierenden Gefäßdrücke beider Organe zurück.

Die in der vorliegenden Studie gewonnenen Daten der morphometrisch bestimmten Dicke der alveolo-kapillären Membran, welche erstmals an adulten, nicht insulinbehandelten Ratten mit ausreichender Krankheitsdauer untersucht wurde, korrelieren gut mit denen des schon vorgestellten Typ-1-Diabetikerkollektivs. Die im Tierexperiment gefundene Verdickung der pulmonalen Gewebsschranke kann als ein weiteres Indiz für das Vorliegen einer diabetisch bedingten echten Diffusionsstörung interpretiert werden. Dafür spricht auch die nachgewiesene positive Korrelation zwischen Blutzucker und Volumen-korrigierter Alveolo-kapillärer Membrandicke.

### 4.3. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Sowohl die Humanstudie (Reduktion der  $D_{L,CO}$ ) als auch das Tierexperiment (Dickenzunahme der Alveolarschranke) legen den Verdacht auf eine Diffusionsstörung nahe. Darüber hinaus ergeben sich Hinweise auf eine Verteilungsstörung (niedriges  $V_A$ ). Möglicherweise besteht hier ein kausaler Zusammenhang, wie in Kapitel 4.1.2 erläutert.

Die Pathogenese kann an dieser Stelle nicht abschließend erörtert werden, da sie nicht Gegenstand der Untersuchung war. Als wichtiger Faktor wäre hier die Reduktion der Alveolaroberfläche bei inadäquaten Reparaturmechanismen infolge von Malnutrition zu diskutieren (SAHEBJAMI et al.<sup>163</sup>) sowie die nichtenzymatische Glykosylierung von Proteaseinhibitoren wie auch ein Verlust von Alveolaroberfläche durch rezidivierende Infekte aufgrund einer gestörten Granulozytenfunktion. Hier sei auch auf die Bedeutung des Glutathionsystems verwiesen, welches als wichtigster physiologischer Radikalneutralisator eine vorrangige Stellung im „antioxidativen Schutzschild“ des Organismus einnimmt<sup>38</sup>. Die Schädigung des Glutathionsystems, etwa durch nichtenzymatische Glykosylierung<sup>19;199</sup>, könnte zu einer vermehrten Destruktion aufgrund mangelnder Inaktivierung oxidativ wirksamer Substanzen führen. Die nichtenzymatische Glykosylierung von Proteinen<sup>178</sup> ist ein bekannter Effekt kontinuierlicher Hyperglykämie und wurde bereits für eine Anzahl wichtiger Struktur- und Funktionsproteine nachgewiesen (u.a. Basalmembranen, Kollagen, Hämoglobin)<sup>26;30;31;104;105</sup>.

Von mehreren Autoren wurde bereits eine pulmonale Mikroangiopathie<sup>102;103;112;120</sup> nachgewiesen, welche mit einer Verdickung der endothelialen kapillären Basalmembranen sowie einer Sklerose und Hyalinose der Wände pulmonaler Kapillaren und Arteriolen einhergeht mit der Folge eines verminderten kapillären Blutvolumens. SANDLER et al.<sup>164-166</sup> betrachten diese Veränderungen als die wahrscheinlichste Ursache für die Abnahme der Diffusionskapazität sowie die Verminderung der Lungenelastizität. In anderen Veröffentlichungen werden vorzeitige Alterungsprozesse<sup>95;172</sup> für die Veränderung der Lungenfunktion verantwortlich gemacht, wofür die Entdeckung einer vorzeitigen Kollagenalterung<sup>78;104;125;173</sup> spricht. Auch hier wird von vielen Autoren ein Zusammenhang mit der oben erwähnten nichtenzymatischen Glykosylierung gesehen<sup>23;48;104</sup>. Das funktionierende Zu-

sammenspiel der verschiedenen Bestandteile der Lunge ist eine unerläßliche Bedingung für ihre Gesamtfunktion<sup>41</sup>. Der Nachweis für die verstärkte nichtenzymatische Glykosylierung von Lungenbindegewebe konnte bereits erbracht werden<sup>200</sup>, deren Relevanz für die Lungenfunktion sollte Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

Höchstwahrscheinlich handelt es sich bei der diabetischen Pneumopathie um ein multifaktorielles Geschehen mit unterschiedlicher Gewichtung verschiedener Vorgänge (nichtenzymatische Glykosylierung, Mikroangiopathie, Parenchymdestruktion sowie Bindegewebs- und Surfactantveränderungen). Aufgrund der hohen Anpassungsfähigkeit der Lunge sind im Alltag bei Diabetikern zwar keine Einschränkungen zu erwarten. In Grenzsituationen kann die Vorschädigung durch die Pneumopathie jedoch klinisch relevant werden, insbesondere in Kombination mit den anderen typischen Sekundärkomplikationen des Diabetes, wie prolongierte und rezidivierende pulmonale Infekte zeigen. Daher sind im klinischen Alltag beim diabetischen Patienten, insbesondere bei auffälligen Lungenfunktionsparametern, neben der möglichst optimalen Diabeteseinstellung auch Maßnahmen wie Impfprophylaxe gegen Influenza und Pneumokokken sowie Vermeidung und rasche Behandlung von pulmonalen Infekten dringend indiziert.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

An einem 52 Patienten umfassenden Kollektiv von Typ-1-Diabetikern mit einem Durchschnittsalter von 31,7 Jahren sowie einer durchschnittlichen Erkrankungsdauer von 13,7 Jahren wurden Lungenfunktionsuntersuchungen und Messungen der Lungendiffusionskapazität für Kohlenmonoxid durchgeführt und den Ergebnissen einer Gruppe aus 38 lungen- und stoffwechselgesunden, in allen anderen Parametern jedoch vergleichbaren Probanden gegenübergestellt. Die Untersuchungsergebnisse waren reproduzierbar und entsprachen im gesunden Vergleichskollektiv den Normwerten nach EGKS.

Die Lungenfunktionsanalysen mittels Spirometrie und Bodyplethysmographie ergaben im Diabeteskollektiv eine signifikante Verminderung der Vitalkapazität (VC) in Verbindung mit einem einerseits erhöhten Residualvolumen in der bodyplethysmographischen Messung ( $RV_{\text{Body}}$ ), andererseits mit einer Reduktion des Residualvolumens gemessen mit der Heliumverdünnungsmethode im Single-breath-Verfahren ( $RV_{\text{He}}$ ). Diese Ergebnisse deuten auf eine Ventilationsinhomogenität bei Diabetikern hin. Die Untersuchungen der Lungendiffusionskapazität für Kohlenmonoxid, gemessen mit dem Single-breath-Verfahren ( $D_{\text{L,CO sb}}$ ) zeigten eine hochsignifikante Verminderung des CO-Transfers bei diabetischen Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche sicherlich teilweise auf die Verteilungsstörung zurückzuführen ist.

Es fand sich weder eine Korrelation der beschriebenen Veränderungen mit der Erkrankungsdauer noch konnte eine Abhängigkeit vom aktuellen  $\text{HbA}_{1\text{-c}}$ -Wert oder dem Mittelwert der letzten 5 Jahre nachgewiesen werden. Jedoch fand sich eine deutliche Beziehung zu typischen diabetischen Sekundärerkrankungen, so daß auch an der Lunge diabetesassoziierte Veränderungen angenommen werden müssen.

Um einen genaueren Aufschluß über die Ursachen der Diffusionsstörung zu erlangen, wurden ergänzend morphometrische Untersuchungen an Lungen diabetischer Ratten und einem gesunden Vergleichskollektiv vorgenommen. Die Diabetesinduktion erfolgte nach abgeschlossener Körper- und Lungenreifung im Alter von 12 Wochen mittels einer intraperitonealen Injektion von Streptozotocin (55 mg/kg). Die

Untersuchung wurde 6 Monate nach Diabetesinduktion durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt bestand bei der Mehrheit der Tiere bereits eine diabetische Katarakt.

In der elektronenmikroskopischen Auswertung der Lungen ergab sich eine deutliche diabetesinduzierte Dickenzunahme der alveolaren Gewebsschranke, berechnet als gewichtsspezifischer Dicke-Volumen-Quotient (= Harmonische mittlere Dicke  $\tau_h$  / Körpergewicht). Diese Zunahme der Diffusionsstrecke ist eine weitere Erklärung für die in den Diffusionsmessungen gefundenen Veränderungen bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1.

Die hier dargestellten Ergebnisse in Verbindung mit früheren Publikationen sind ein weiterer deutlicher Hinweis auf die Existenz einer diabetischen Pneumopathie. Als pathologisches Korrelat konnte eine Zunahme der Gewebsschranke als wichtiger Teil der alveolaren Diffusionsstrecke in Zusammenhang mit einer Verteilungsstörung sowie emphysematischen Veränderungen ausgemacht werden. Bedingt durch die beträchtliche Kompensationsfähigkeit des Organs Lunge werden wohl unter Alltagsbedingungen relevante Einschränkungen überwiegend verhindert. Im Zusammentreffen mit anderen Erkrankungen unterliegen hier gleichwohl die Diabetiker einer höheren Gefährdung als Nichtdiabetiker, an pulmonalen Komplikationen zu erkranken, wie der klinische Alltag beweist. Ein Screening diabetischer Patienten auf pulmonale Veränderungen sowie prophylaktische Maßnahmen wie Schutzimpfungen gegen Influenza und Pneumokokken sind daher ebenso zu fordern wie eine möglichst optimale Stoffwechseleinstellung und regelmäßige Überwachung der übrigen diabetesassoziierten Folgeerkrankungen.

## 6. SUMMARY

At a collective of 52 patients with diabetes mellitus type 1 with an average age of 31.7 years as well as an average illness duration of 13.7 years were accomplished lung function investigations and measurements of the lung diffusion capacity for carbon monoxide and confronted to the results of a group of 38 lung and metabolic healthy test persons however comparable in all other parameters. The test results were reproducible and corresponded in the healthy comparison collective to the standard values according to EGKS.

The lung functional analyses by means of spirometry and body plethysmography resulted in the diabetes collective in a significant reduction of the vital capacity (VC) in connection with an increased residual volume in the body plethysmographic measurement ( $RV_{\text{Body}}$ ), on the one hand, on the other hand with a reduction of the residual volume measured with the helium dilution method in the single breath procedure ( $RV_{\text{He}}$ ). These results point to a ventilation inhomogeneity with diabetics. The examinations of the lung diffusion capacity for carbon monoxide, measured with the single breath procedure ( $D_{\text{L,CO sb}}$ ) showed a high-significant reduction of the CO transfer with diabetic patients in the comparison to the control group, which is to due partial certainly to the distribution disturbance.

Neither a correlation of the descriptive changes with the illness duration was found nor could a dependence on the current HbA<sub>1</sub> values or the average value of the last 5 years be proven. However a clear relationship with typical diabetic complications was found, so that also at the lung diabetes-associated changes must be assumed.

In order to attain a more accurate information about the causes of the diffusion disturbance, supplementing morphometric investigations in lungs of diabetic rats and a healthy comparison collective were made additionally. The diabetes induction took place after final body and lung maturing at the age of 12 weeks by means of an intraperitoneal injection of Streptozotocin (55 mg/kg). The investigation was accomplished 6 months after diabetes induction. At this time a diabetic cataract already existed with the majority of the animals.

In the electron microscopic evaluation of the lungs a clear diabetes-induced thickness increase of the alveolar tissue barrier resulted, calculated as weight-specific thickness volume quotient (= harmonic mean thickness  $\tau_h$  / body weight). This increase of the diffusion barrier is a further explanation for the changes found in the diffusion measurements with patients with diabetes mellitus type 1.

The results shown here, in connection with earlier publications, represented here, are a further clear reference on the existence of a diabetic pneumopathy. As pathological correlate an increase of the tissue barrier could be constituted as important part of the alveolar diffusion barrier in connection with a distribution disturbance as well as emphysematic changes. Due to the considerable compensation ability of the organ lung on everyday life conditions relevant restrictions are probably prevented predominantly. In coincidence with other illnesses here, nevertheless, the diabetics are subject to a higher endangerment than non-diabetics to get sick to pulmonary complications, as the clinical daily routine proves. A screening of diabetic patients on pulmonic changes as well as preventive measures, such as protective inoculations against influenza and pneumococcal vaccinations, are therefore likewise to be demanded as a preferably optimal metabolic attitude and a regular monitoring of the remaining diabetes-associated subsequent illnesses.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

1. American Diabetes Association: Clinical Practice Recommendations 1999. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 22 Supplement 1, S5-S19. 1999.
2. Andersen AR, Christiansen JS, Andersen JK, Kreiner S, Deckert T: Diabetic nephropathy in Type 1 (insulin-dependent) diabetes: an epidemiological study. *Diabetologia* 25:496-501, 1983
3. Arezzo JC, Schaumburg HH, Laudadio C: Thermal sensitivity tester. Device for quantitative assessment of thermal sense in diabetic neuropathy. *Diabetes* 35:590-592, 1986
4. Asanuma Y, Fujiya S, Ide H, Agishi Y: Characteristics of pulmonary function in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract.* 1:95-101, 1985
5. Assimacopoulos A, Guggenheim R, Kapanci Y: Changes in alveolar capillary configuration at different levels of lung inflation in the rat. An ultrastructural and morphometric study. *Lab Invest* 34:10-22, 1976
6. Austrian R, Gold J: Pneumococcal bacteremia with especial reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Am.Intern.Med.* 60:759, 1964
7. Bachofen H, Ammann A, Wangenstein D, Weibel ER: Perfusion fixation of lungs for structure-function analysis: credits and limitations. *J.Appl.Physiol* 53:528-533, 1982
8. Bachofen H, Wangenstein D, Weibel ER: Surfaces and volumes of alveolar tissue under zone II and zone III conditions. *J Appl.Physiol* 53:879-885, 1982
9. Bell D, Collier A, Matthews DM, Cooksey EJ, McHardy GJ, Clarke BF: Are reduced lung volumes in IDDM due to defect in connective tissue? *Diabetes* 37:829-831, 1988
10. Benedetti A, Noacco C: Juvenile diabetic cheiroarthropathy. *Acta Diabetol.Lat.* 13:54-67, 1976
11. Bigby TD, Serota ML, Tierney LM, Jr., Matthay MA: Clinical spectrum of pulmonary mucormycosis. *Chest* 89:435-439, 1986
12. Bonnevie-Nielsen V, Geppert EF: American Lung Association 78th annual meeting; American Thoracic Society 77th annual meeting; Congress of Lung Association Staff 70th annual meeting. May 15-18, 1982, Los Angeles, California. Abstracts. *Am.Rev.Respir.Dis.* 125:229, 1982
13. Borch-Johnsen K, Andersen PK, Deckert T: The effect of proteinuria on relative mortality in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 28:590-596, 1985
14. Brice JEH, Johnston DI, Noranha JL: Limited finger joint mobility in diabetes. *Arch Dis Child* 57:879-881, 1982
15. Brik R, Shehada N, Berant M, Vardi P: [Diabetic hand syndrome in juvenile diabetes]. *Harefuah.* 120:509-511, 1991

16. Britton J: Is the carbon monoxide transfer factor diminished in the presence of diabetic retinopathy in patients with insulin- dependent diabetes mellitus? *Eur.Respir.J* 1:403-406, 1988
17. Brown LA: Influence of streptozotocin-induced diabetes on adenylate cyclase activity in cultured type II pneumocytes. *Am.J Respir.Cell Mol.Biol.* 4:108-114, 1991
18. Brown LA, Longmore WJ: Altered phospholipid secretion in type II pneumocytes isolated from streptozotocin-diabetic rats. *Biochim.Biophys.Acta* 878:258-265, 1986
19. Brownlee M, Vlassara H, Cerami A: Nonenzymatic glycosylation and the pathogenesis of diabetic complications. *Ann.Intern.Med.* 101:527-537, 1984
20. Brun-Buisson CJ, Bonnet F, Bergeret S, Lemaire F, Rapin M: Recurrent high-permeability pulmonary edema associated with diabetic ketoacidosis. *Crit.Care Med.* 13:55-56, 1985
21. Bruscas C, Polo MA, Poirier JL, Simon L: [Diabetic cheiroarthropathy]. *An Med.Interna.* 13:295-298, 1996
22. Brussel T, Matthay MA, Chernow B: Pulmonary manifestations of endocrine and metabolic disorders. *Clin Chest Med.* 10:645-653, 1989
23. Buckingham BA, Uitto J, Sandborg C, Keens T, Roe T, Costin G, Kaufman F, Bernstein B, Landing B, Castellano A: Scleroderma-like changes in insulin-dependent diabetes mellitus: clinical and biochemical studies. *Diabetes Care* 7:163-169, 1984
24. Buddecke E: Blut. In *Grundriss der Biochemie.* 6 ed. Berlin, New York, Walter de Gruyter Verlag, 1980, p. 438
25. Bullaboy CA, Jennings RB, Jr., Johnson DH, Coulson JD, Young LW, Wood BP: Radiological case of the month. Pneumomediastinum and subcutaneous emphysema caused by diabetic hyperpnea. *Am.J Dis.Child* 143:93-94, 1989
26. Bunn HF: Nonenzymatic glycosylation of protein: relevance to diabetes. *Am.J.Med.* 70:325-330, 1981
27. Byrd RP, Jr., Roy TM, Fields CL, Lynch JA: *Paecilomyces varioti* pneumonia in a patient with diabetes mellitus. *J Diabetes Complications.* 6:150-153, 1992
28. Carroll P, Matz R: Adult respiratory distress syndrome complicating severely uncontrolled diabetes mellitus: report of nine cases and a review of the literature. *Diabetes Care* 5:574-580, 1982
29. Catterall JR, Calverley PM, Ewing DJ, Shapiro CM, Clarke BF, Douglas NJ: Breathing, sleep, and diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 33:1025-1027, 1984
30. Cerami A, Stevens VJ, Monnier VM: Role of nonenzymatic glycosylation in the development of the sequelae of diabetes mellitus. *Metabolism* 28:431-437, 1979
31. Cerami A, Vlassara H, Brownlee M: Protein glycosylation and the pathogenesis of atherosclerosis. *Metabolism* 34:37-42, 1985

32. Ceruso M, Lauri G, Bufalini C, Bartolozzi G, Bernardini S, Cinti S, Morroni M, Matucci-Cerinic M: Diabetic hand syndrome. *J Hand Surg.[Am]*. 13:765-770, 1988
33. Cooper BG, Taylor R, Alberti KG, Gibson GJ: Lung function in patients with diabetes mellitus. *Respir.Med.* 84:235-239, 1990
34. Cotes JE: Lung function - assessment and application in medicine. Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, Blackwell Scientific Publications, 1975
35. Cotes JE, Chinn DJ, Quanjer PH, Roca J, Yernault JC: Standardization of the measurement of transfer factor (diffusing capacity). Report Working Party Standardization of Lung Function Tests, European Community for Steel and Coal. Official Statement of the European Respiratory Society [see comments]. *Eur.Respir.J Suppl. Suppl.* 16:41-52, 1993
36. Crapo RO, Gardner RM: Single breath carbon monoxide diffusing capacity (transfer factor). Recommendations for a standard technique. Statement of the American Thoracic Society. *Am.Rev.Respir.Dis.* 136:1299-1307, 1987
37. Crapo RO, Morris AH: Standardized single breath normal values for carbon monoxide diffusing capacity. *Am.Rev.Respir.Dis.* 123:185-189, 1981
38. Crystal RG, Nolte D: Das Glutathionsystem und seine Bedeutung in der antioxidativen Abwehr. Amsterdam (u.a.), 1992
39. Cunha BA, Gingrich D, Rosenbaum GS: Pneumonia syndromes: a clinical approach in the elderly. *Geriatrics.* 45:49-52, 55, 1990
40. Dalquen P: The lung in diabetes mellitus [editorial; comment]. *Respiration* 66:12-13, 1999
41. Davidson JM: Biochemistry and turnover of lung interstitium. *Eur.Respir.J.* 3:1048-1063, 1990
42. Deckert T, Poulsen JE, Larsen M: The prognosis of insulin dependent diabetes mellitus and the importance of supervision. *Acta Med.Scand.Suppl.* 624:48-53, 1979
43. Dinwiddie R, Russell G: Pulmonary function in the infant of the diabetic mother. *Arch Dis.Child* 48:327, 1973
44. Discher T, Kretzschmar S, Velcovsky HG, Federlin K: Lungenfunktionsscharakteristika bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ I [Characteristics of lung function in patients with type I diabetes mellitus]. *Pneumologie.* 44 Suppl 1:538-539, 1990
45. Donner MW, McAfee JG: Roentgenographic manifestation of diabetes mellitus. *Ann.J.Med.Sci.* 239:622, 1960
46. Dornan TL, Rhymes IL, Cederholm-Williams SA, Rizza CR, Pepys MB, Bron AJ, Turner RC: Plasma haemostatic factors and diabetic retinopathy. *Eur.J Clin Invest.* 13:231-235, 1983
47. Duby, S. Limited joint mobility in an adult diabetic population. Proceedings of the VII. Pan-American Congress of Rheumatology. 1982. Washington DC.

48. Ducic V, Babovic-Vuksanovic D, Grujic E, Arifhodzic N, Dinarevic S: [Changes in the small joints, skin and lungs in children and adolescents with insulin-dependent diabetes]. *Med.Arh.* 43:3-7, 1989
49. Elford J, Goldblatt P, Fuller JH: Cancer, circulatory and respiratory disease mortality in diabetes. *Diabetologia* 19:559-560, 1980
50. Engle MJ, Perelman RH, McMahon KE, Langan SM, Farrell PM: Relationship between the severity of experimental diabetes and altered lung phospholipid metabolism. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 176:261-267, 1984
51. Ewing DJ: Which battery of cardiovascular autonomic function tests? - Comment. *Diabetologia* 33:180-181, 1990
52. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF: Assessment of cardiovascular effects in diabetic autonomic neuropathy and prognostic implications. *Ann.Intern.Med.* 92:308-311, 1980
53. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF: The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *Q.J Med.* 49:95-108, 1980
54. Ewing DJ, Clarke BF: Diagnosis and management of diabetic autonomic neuropathy. *Br.Med.J.(Clin.Res.Ed)* 285:916-918, 1982
55. Fein IA, Rachow EC, Sprung CL, Grodman R: Relation of colloid osmotic pressure to arterial hypoxemia and cerebral edema during crystalloid volume loading of patients with diabetic ketoacidosis. *Ann.Intern.Med.* 96:570-575, 1982
56. Ferlinz R: Diagnostik in der Pneumologie. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 1992
57. Fermanis GG, Matar KS, Steele R: Endobronchial zygomycosis. *Aust.N.Z.J Surg.* 61:391-393, 1991
58. Fitzcharles MA, Duby S, Waddell RW, Banks E, Karsh J: Limitation of joint mobility (cheiroarthropathy) in adult noninsulin- dependent diabetic patients. *Ann.Rheum.Dis.* 43:251-254, 1984
59. Fuso L, Cotroneo P, Basso S, De Rosa M, Manto A, Ghirlanda G, Pistelli R: Postural variations of pulmonary diffusing capacity in insulin- dependent diabetes mellitus. *Chest* 110:1009-1013, 1996
60. Ganrot PO, Gydell K, Ekelund H: Serum concentration of alpha-2-macroglobulin, haptoglobin and alpha-1- antitrypsin in diabetes mellitus. *Acta Endocrinol.(Copenh)* 55:537-544, 1967
61. Garbagni R, Cardellino G, Dalmaso F, Stratta Monga P: [Changes in alveolar surfactant in alloxan diabetes]. *Minerva.Med.* 66:2094-2097, 1975
62. Gardner DE, Crapo JD, Massaro EJ: Toxicology of the Lung. New York, Raven Press, 1988
63. Gehr P, Crapo JD: Morphometric analysis of the gas exchange region of the lung. In *Toxicology of the lung*. Gardner DE, Crapo JD, Massaro EJ, Eds. New York, Raven Press, 1988
64. Gellis SS, Hsiy DY: The infant of the diabetic mother. *Am.J Dis.Child* 97: 1959

65. Gil J, Weibel ER: Morphological study of pressure-volume hysteresis in rat lungs fixed by vascular perfusion. *Respir.Physiol* 15:190-213, 1972
66. Gill DS, Thompson CS, Dandona P: Increased histamine in plasma and tissues in diabetic rats. *Diabetes Res* 7:31-34, 1988
67. Gill DS, Thompson CS, Dandona P: Histamine synthesis and catabolism in various tissues in diabetic rats. *Metabolism* 39:815-818, 1990
68. Gillissen A, Holtmann B, Schott D, Ulmer WT: Static compliance in subjects with intact lungs. *Respiration* 55:176-180, 1989
69. Girard DE, Carlson V, Natelson EA, Fred HL: Pneumomediastinum in diabetic ketoacidosis: comments on mechanism, incidence, and management. *Chest* 60:455-459, 1971
70. Goto Y, Sato SI, Masuda M: Causes of death in 3151 diabetic autopsy cases. *Tohoku.J Exp.Med.* 112:339-353, 1974
71. Greten H, Sanwald R, Schlierf G, Seidel D, Wahl P: Stoffwechselkrankheiten. In *Innere Medizin - Ein kurzgefasstes Lehrbuch.* 7. ed. Schettler G, Ed. Stuttgart, New York, Thieme, 1987, p. 454-480
72. Grizzanti JN, Knapp A: Diabetic ketoacidosis and invasive aspergillosis. *Lung* 159:43-49, 1981
73. Guttentag SH, Phelps DS, Stenzel W, Warshaw JB, Floros J: Surfactant protein A expression is delayed in fetuses of streptozotocin-treated rats. *Am.J Physiol* 262:L489-94, 1992
74. Guttentag SH, Phelps DS, Warshaw JB, Floros J: Delayed hydrophobic surfactant protein (SP-B, SP-C) expression in fetuses of streptozotocin-treated rats. *Am.J Respir.Cell Mol.Biol.* 7:190-197, 1992
75. Hafer, J. Diabetes mellitus und die Elastizität der Lunge. 1993. Med. Poliklinik der Justus-Liebig-Universität Giessen.
76. Haies DM, Gil J, Weibel ER: Morphometric study of rat lung cells. I. Numerical and dimensional characteristics of parenchymal cell population. *Am.Rev.Respir.Dis.* 123:533-541, 1981
77. Hamed AD, Akinsola A: Diabetes mellitus. II: Routine chest radiography. *East.Afr.Med.J* 68:989-992, 1991
78. Hamlin CR, Kohn RR, Luschin JH: Apparent accelerated aging of human collagen in diabetes mellitus. *Diabetes* 24:902-904, 1975
79. Hansen LA, Prakash UB, Colby TV: Pulmonary complications in diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc.* 64:791-799, 1989
80. Heimer D, Brami J, Lieberman D, Bark H: Respiratory muscle performance in patients with type 1 diabetes. *Diabet.Med.* 7:434-437, 1990
81. Helander E: Asthma and diabetes. *Acta Med.Scand.* 162:165, 1958
82. Hendy M, Stableforth D: The effect of established diabetes mellitus on the presentation of infiltrative pulmonary tuberculosis in the immigrant Asian community of an inner city area of the United Kingdom. *Br.J Dis.Chest* 77:87-90, 1983

83. Hillerdal G, Wibell L: Adult respiratory distress syndrome and diabetes. *Acta Med.Scand.* 211:221-223, 1982
84. Hinman LM, Stevens C, Matthay RA, Bernard J, Gee L: Angiotensin convertase activities in human alveolar macrophages: effects of cigarette smoking and sarcoidosis. *Science* 205:202-203, 1979
85. Hiro Y: [Pulmonary tuberculosis and diabetes mellitus (author's transl)]. *Kekkaku.* 48:343-349, 1973
86. Holden HM, Hiltz JE: The tuberculous diabetic. *Can.Med.Assoc.J.* 87:797, 1962
87. Holmes C, Thurlbeck WM: Normal lung growth and response after pneumonectomy in rats at various ages. *Am.Rev.Respir.Dis.* 120:1125-1136, 1979
88. Hubbell JP, Muirhead jr. DM: The newborn infant of the diabetic mother. *Med.Clin.North.Am.* 49: 1965
89. Huskic J, Filipovic N: [Angiotensin converting enzyme in the blood and lungs in experimental diabetes]. *Med.Arh.* 43:41-43, 1989
90. Isotani H, Nakamura Y, Kameoka K, Tanaka K, Furukawa K, Kitaoka H, Ohsawa N: Pulmonary diffusing capacity, serum angiotensin-converting enzyme activity and the angiotensin-converting enzyme gene in Japanese non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Diabetes Res.Clin.Pract.* 43:173-177, 1999
91. Joshi N, Caputo GM, Weitekamp MR, Karchmer AW: Infections in patients with diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 341:1906-1912, 1999
92. Karpen CW, Spanheimer RG, Randolph AL, Lowe WL, Jr.: Tissue-specific regulation of basic fibroblast growth factor mRNA levels by diabetes. *Diabetes* 41:222-226, 1992
93. Keller-Herzog: [Reference values]. *Bull.Eur.Physiopathol.Respir.* 317, 1970
94. Kennedy L, Beacom R, Archer DB, Carson DJ, Campbell SL, Johnston PB, Maguire CJ: Limited joint mobility in Type I diabetes mellitus. *Postgrad.Med.J* 58:481-484, 1982
95. Kida K, Utsuyama M, Takizawa T, Thurlbeck WM: Changes in lung morphologic features and elasticity caused by streptozotocin-induced diabetes mellitus in growing rats. *Am.Rev.Respir.Dis.* 128:125-131, 1983
96. Knick B, Knick J: *Diabetologie für prakt. Ärzte u. Kliniker.* Stuttgart, Berlin, Köln, Mainz, Kohlhammer, 1986
97. Knoche H: *Leitfaden der histologischen Technik in der Licht- und Elektronenmikroskopie für medizinisch-technische Assistenten.* Stuttgart-New York, Gustav Fischer Verlag, 1979
98. Knowles HC, Jr.: Long-term juvenile diabetes treated with unmeasured diet. *Trans.Assoc.Am.Physicians.* 84:95-101, 1971
99. Knudson RJ: [Reference values]. *Am.Rev.Respir.Dis.* volume 113: 1976
100. Knudson RJ: [Reference values]. *Am.Rev.Respir.Dis.* volume 127: 1983

101. Knudson RJ, Kaltenborn WT, Burrows B: Single breath carbon monoxide transfer factor in different forms of chronic airflow obstruction in a general population sample. *Thorax* 45:514-519, 1990
102. Kodolova IM, Lysenko LV: [Morphological changes in the lung blood vessels in diabetes mellitus]. *Arkh.Patol.* 41:31-36, 1979
103. Kodolova IM, Lysenko LV, Saltykov BB: [Changes in the lungs in diabetes mellitus]. *Arkh.Patol.* 44:35-40, 1982
104. Kohn RR, Cerami A, Monnier VM: Collagen aging in vitro by nonenzymatic glycosylation and browning. *Diabetes* 33:57-59, 1984
105. Kohn RR, Schnider SL: Glucosylation of human collagen. *Diabetes* 31:47, 1982
106. Lange P, Groth S, Kastrup J, Mortensen J, Appleyard M, Nyboe J, Jensen G, Schnohr P: Diabetes mellitus, plasma glucose and lung function in a cross-sectional population study. *Eur.Respir.J.* 2:14-19, 1989
107. Lange RH, Blödorn J: *Das Elektronenmikroskop: TEM + REM; Leitfaden für Biologen und Mediziner.* Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 1981
108. Lee CH, Lee CJ, Hsueh C, Lee MC: Pulmonary mucormycosis: the first case with preoperative diagnosis and successful surgical treatment in Taiwan. *J Formos.Med.Assoc.* 89:1096-1098, 1990
109. Lehrer RI, Howard DH, Sypherd PS, Edwards JE, Segal GP, Winston DJ: Mucormycosis. *Ann.Intern.Med.* 93:93, 1980
110. Leonard RC, Asplin C, McCormick CV, Hockaday TD: Acute respiratory distress in diabetic ketoacidosis: possible contribution of low colloid osmotic pressure. *Br.Med.J (Clin.Res Ed).* 286:760-762, 1983
111. Löllgen H: *Kardiopulmonale Funktionsdiagnostik.* Wehr/Baden, Verlag der CIBA-Zeitschriften, 1992
112. Lysenko LV: [Diabetic macro- and microangiopathy of the lungs]. *Arkh.Patol.* 52:31-36, 1990
113. Lysenko LV, Lysenko AI, Kulik VP: [Ultrastructural and ultracytochemical changes in the lungs of rats with diabetes mellitus]. *Biull.Eksp.Biol.Med.* 109:75-78, 1990
114. Maccioni FJ, Colebatch HJ: Lung volume and distensibility in insulin-dependent diabetes mellitus. *Am.Rev.Respir.Dis.* 143:1253-1256, 1991
115. Madacsy L: Joint and pulmonary changes in diabetes [letter]. *Am.J Dis.Child* 141:244-245, 1987
116. Madia AM, Rozovski SJ, Kagan HM: Changes in lung lysyl oxidase activity in streptozotocin- diabetes and in starvation. *Biochim.Biophys.Acta* 585:481-487, 1979
117. Mailänder, A. *Emphysemdiagnostik.* *Verh Dtsch Ges Inn Med* (96). 1990.
118. Marvisi M, Marani G, Brianti M, Della PR: [Pulmonary complications in diabetes mellitus]. *Recenti Prog.Med* 87:623-627, 1996
119. Maser RE, Nielsen VK, Bass EB, Manjoo Q, Dorman JS, Kelsey SF, Becker DJ, Orchard TJ: Measuring diabetic neuropathy. Assessment and comparison

- of clinical examination and quantitative sensory testing. *Diabetes Care* 12:270-275, 1989
120. Matsubara T, Hara F: [The pulmonary function and histopathological studies of the lung in diabetes mellitus]. *Nippon.Ika.Daigaku.Zasshi.* 58:528-536, 1991
  121. Mazzone RW, Kornblau S, Durand CM: Shrinkage of lung after chemical fixation for analysis of pulmonary structure-function relations. *J Appl.Physiol* 48:382-385, 1980
  122. Minette P, Buysschaert M, Rahier J, Veriter C, Frans A: Pulmonary gas exchange in life-long nonsmoking patients with diabetes mellitus [see comments]. *Respiration* 66:20-24, 1999
  123. Mohsenin V, Latifpour J: Respiratory burst in alveolar macrophages of diabetic rats. *J Appl.Physiol* 68:2384-2390, 1990
  124. Mondini S, Guilleminault C: Abnormal breathing patterns during sleep in diabetes. *Ann.Neurol.* 17:391-395, 1985
  125. Monnier VM, Kohn RR, Cerami A: Accelerated age-related browning of human collagen in diabetes mellitus. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 81:583-587, 1984
  126. Mori H, Okubo M, Okamura M, Yamane K, Kado S, Egusa G, Hiramoto T, Hara H, Yamakido M: Abnormalities of pulmonary function in patients with non-insulin- dependent diabetes mellitus. *Intern.Med.* 31:189-193, 1992
  127. Morishige WK: Endocrine influences on aspects of lung biochemistry. *Ciba.Found.Symp.* 78:239-250, 1980
  128. Morishige WK, Uetake CA, Greenwood FC, Akaka J: Pulmonary insulin responsiveness: in vivo effects of insulin on the diabetic rat lung and specific insulin binding to lung receptors in normal rats. *Endocrinology* 100:1710-1722, 1977
  129. Moxley MA, Longmore WJ: Effect of experimental diabetes and insulin on lipid metabolism in the isolated perfused rat lung. *Biochim.Biophys.Acta* 488:218-224, 1977
  130. Mufson MA, Kruss DM, Wasil RE, Metzger WI: Capsular types and outcome of bacteremic pneumococcal disease in the antibiotic era. *Arch Intern.Med.* 134:505-510, 1974
  131. Muller AE, Cruz-Orive LM, Gehr P, Weibel ER: Comparison of two subsampling methods for electron microscopic morphometry. *J Microsc.* 123:35-49, 1981
  132. Ofulue AF, Kida K, Thurlbeck WM: Experimental Diabetes and the Lung. I. Changes in Growth, Morphometry and Biochemistry. *Am.Rev.Respir.Dis.* 137:162-166, 1988
  133. Ofulue AF, Thurlbeck WM: Experimental Diabetes and the Lung. II. In Vivo Connective Tissue Metabolism. *Am.Rev.Respir.Dis.* 138:284-289, 1988
  134. Ogilvie CM: The single-breath carbon monoxide transfer test 25 years on: a reappraisal. 2--Clinical considerations [editorial]. *Thorax* 38:5-9, 1983

135. Ogilvie CM, Forster RE, Blackmore WF, Morton JW: A standardized breath holding technique for the clinical measurement of diffusing capacity of the lung for carbon monoxide. *J Clin Invest* 36:1-17, 1956
136. Oulhen P, Barthelemy L, Bellet-Barthas M, Darragon T: [Respiratory function study on insulin-dependant diabetics (author's transl)]. *Rev.Fr.Mal.Respir.* 10:213-224, 1982
137. Page MM, Watkins PJ: Cardiorespiratory arrest and diabetic autonomic neuropathy. *Lancet* 1:14-16, 1978
138. Palecek F: Measurement of ventilatory mechanics in the rat. *J-Appl-Physiol.* 27:149-156, 1969
139. Panzram G, Zabel-Langhennig R: Epidemiologie und Prognose des Diabetes mellitus. In *Diabetes mellitus*. 3. Auflage ed. Bibergeil H, Ed. Wien, New York: Springer-Verlag; Jena: G. Fischer Verlag, 1989,
140. Papasian CJ, Zarabi CM, Dall LH, Stanford JF, Galant JM, Parker JR: Invasive polymycotic pneumonia in an uncontrolled diabetic. *Arch Pathol.Lab.Med.* 115:517-519, 1991
141. Parving HH, Hommel E: Prognosis in diabetic nephropathy [see comments]. *BMJ.* 299:230-233, 1989
142. Pleet AB: "Shock lung" syndrome following diabetic ketoacidosis; treatment with heparin. *Chest* 63:434-436, 1973
143. Plopper CG, Morishige WK: Alterations in granular (type II) pneumocyte ultrastructure by streptozotocin-induced diabetes in the rat. *Lab.Invest.* 38:143-148, 1978
144. Plopper CG, Morishige WK: Alterations in the ultrastructure of nonciliated bronchiolar epithelial (Clara) cells by streptozotocin-induced diabetes in rats. *Am.Rev.Respir.Dis.* 120:1137-1143, 1979
145. Powner D, Snyder JV, Grenvik A: Altered pulmonary capillary permeability complicating recovery from diabetic ketoacidosis. *Chest* 68:253-256, 1975
146. Primhak RA, Whincup G, Tsanakas JN, Milner RD: Reduced vital capacity in insulin-dependent diabetes. *Diabetes* 36:324-326, 1987
147. Proceedings: Proceedings of a Consensus Development Conference on Standardized Measures in Diabetic Neuropathy. *Diabetes Care* 15:1080-1103, 1992
148. Quanjer PH: Bulletin Européen de Physiopathologie Respiratoire; Clinical Respiratory Physiology; Standardized Lung Function Testing. *Journal de la Societas Europaea Physiologiae Clinicae Respiratoriae Suppl.* 5, Vol. 19: 1983
149. Ramirez LC, Dal-Nogare A, Hsia C, Arauz C, Butt I, Strowig SM, Schnurr-Breen L, Raskin P: Relationship between diabetes control and pulmonary function in insulin-dependant diabetes mellitus. *Am.J.Med.* 91:371, 1991
150. Rees PJ, Prior JG, Cochrane GM, Clark TJ: Sleep apnoea in diabetic patients with autonomic neuropathy. *J R.Soc.Med.* 74:192-195, 1981
151. Reinila A: Perivascular xanthogranulomatosis in the lungs of diabetic patients. *Arch Pathol.Lab.Med.* 100:542-543, 1976

152. Robert MF, Neff RK, Hubbell JP, Taeusch HW, Avery ME: Association between maternal diabetes and the respiratory- distress syndrome in the newborn. *N.Engl.J Med.* 294:357-360, 1976
153. Romeis B: *Mikroskopische Technik.* Urban & Schwarzenberg, 1988
154. Rosenbloom AL: Long-term complications of type I (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Paediatr Ann* 12:665-685, 1983
155. Rosenbloom AL: Limitation of finger joint mobility in diabetes mellitus. *J Diabet.Complications.* 3:77-87, 1989
156. Rosenbloom AL: Limited joint mobility in insulin dependent childhood diabetes. *Eur.J Pediatr.* 149:380-388, 1990
157. Rosenbloom AL, Silverstein JH, Lezotte DC, Richardson K, McCallum M: Limited joint mobility in childhood diabetes mellitus indicates increased risk for microvascular disease. *N.Engl.J Med.* 305:191-194, 1981
158. Rossing P, Rossing K, Jacobsen P, Parving HH: Unchanged incidence of diabetic nephropathy in IDDM patients. *Diabetes* 44:739-743, 1995
159. Ruttley M, Mills RA: Subcutaneous emphysema and pneumomediastinum in diabetic keto- acidosis. *Br.J Radiol.* 44:672-674, 1971
160. Ryder RE, Hardisty CA: Which battery of cardiovascular autonomic function tests? *Diabetologia* 33:177-179, 1990
161. Sahebajami H, Denholm D: Lung mechanics and connective tissue proteins in diabetic Bio- Breeding/Worcester Wistar rats. *J Appl.Physiol* 62:1430-1435, 1987
162. Sahebajami H, Denholm D: Effects of streptozotocin-induced diabetes on lung mechanics and biochemistry in rats. *J Appl.Physiol* 64:147-153, 1988
163. Sahebajami H, Wirman JA: Emphysema-like changes in the lungs of starved rats. *Am.Rev.Respir.Dis.* 124:619-624, 1981
164. Sandler M: Is the lung a 'target organ' in diabetes mellitus? *Arch.Intern.Med* 150:1385-1388, 1990
165. Sandler M, Bunn AE, Stewart RI: Pulmonary function in young insulin-dependent diabetic subjects [published erratum appears in *Chest* 1987 May;91(5):797]. *Chest* 90:670-675, 1986
166. Sandler M, Bunn AE, Stewart RI: Cross-section study of pulmonary function in patients with insulin- dependent diabetes mellitus [published erratum appears in *Am Rev Respir Dis* 1987 May;135(5):1223]. *Am.Rev.Respir.Dis.* 135:223-229, 1987
167. Sandler M, Stewart RI, Gemperli BM, Hanekom C, Kuhn SH: Serum alpha-1-protease inhibitor activity and pulmonary function in young insulin-dependent diabetic subjects. *Respiration* 52:281-289, 1987
168. Scherbaum WA, Koubik J, Winkler G, Pfeiffer EF: Klinische und laborchemische Untersuchungen zur Häufigkeit und Ausprägung der diabetischen Cheiropathie im Kindes- und Jugendalter. *Med Klin.* 84:1-4, 1989
169. Scherle W: A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie.* 26:57-60, 1970

170. Schernthaner G, Haber P, Kummer F, Ludwig H: Lung elasticity in juvenile-onset diabetes mellitus. *Am.Rev.Respir.Dis.* 116:544-546, 1977
171. Schnack C, Festa A, Schwarzmaier-D'Assie A, Haber P, Schernthaner G: Pulmonary dysfunction in type 1 diabetes in relation to metabolic long-term control and to incipient diabetic nephropathy. *Nephron* 74:395-400, 1996
172. Schnapf BM, Banks RA, Silverstein JH, Rosenbloom AL, Chesrown SE, Loughlin GM: Pulmonary function in insulin-dependent diabetes mellitus with limited joint mobility. *Am.Rev.Respir.Dis.* 130:930-932, 1984
173. Schuyler MR, Niewoehner DE, Inkley SR, Kohn R: Abnormal lung elasticity in juvenile diabetes mellitus. *Am.Rev.Respir.Dis.* 113:37-41, 1976
174. Sollwerte. Sollwerte für Lungencompliance nach EGKS-Definition. 190. Fa. E. Jaeger GmbH u. Co. KG, Höchberg.
175. Sosenko IR, Lawson EE, Demottaz V, Frantz ID3: Functional delay in lung maturation in fetuses of diabetic rabbits. *J Appl.Physiol* 48:643-647, 1980
176. Sprung CL, Rackow EC, Fein IA: Pulmonary edema; a complication of diabetic ketoacidosis. *Chest* 77:687-688, 1980
177. Starkman HS, Gleason RE, Rand LI, Miller DE, Soeldner JS: Limited joint mobility (LJM) of the hand in patients with diabetes mellitus: relation to chronic complications. *Ann.Rheum.Dis.* 45:130-135, 1986
178. Sternberg M, Cohen-Forterre L, Peyroux J: Connective tissue in diabetes mellitus: biochemical alterations of the intercellular matrix with special reference to proteoglycans, collagens and basement membranes. *Diabete Metab* 11:27-50, 1985
179. Strojek K, Ziora D, Sroczynski JW, Oklek K: Pulmonary complications of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients [see comments]. *Diabetologia* 35:1173-1176, 1992
180. Stubbs WA, Stubbs SM: Hyperinsulinism, diabetes mellitus, and respiratory distress of the newborn: A common link? *Lancet* 1:308-309, 1978
181. Sugahara K, Ezaki K, Kaneko T, Morioka T, Maeda H: Studies of the lungs in diabetes mellitus. II. Phospholipid analyses on the surfactant from broncho-alveolar lavage fluid of alloxan-induced diabetic rats. *Biochem.Biophys.Res Commun.* 98:163-168, 1981
182. Sugahara K, Freidenberg GR, Mason RJ: Insulin binding and effects on glucose and transepithelial transport by alveolar type II cells. *Am.J Physiol* 247:C472-7, 1984
183. Sugahara K, Ushijima K, Morioka T, Usuku G: Studies of the lung in diabetes mellitus. I. Ultrastructural studies of the lungs in alloxan-induced diabetic rats. *Virchows Arch [Pathol.Anat].* 390:313-324, 1981
184. Sugahara K, Ushizima K, Morioka T, Kato N, Kawaguchi K: [Diffusing capacity of the lung and low PaO<sub>2</sub> in diabetic patients (author's transl)]. *Masui.* 28:1722-1725, 1979
185. Szczeklik A, Pieton R, Sieradzki J: Alternation in both insulin release and its hypoglycemic effects in atopic bronchial asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 66:424-427, 1980

186. Tammeling GJ, Quanjer PH: Physiologie der Atmung. 1980
187. Tan MQ, Tan PQ, Xu FY: [Pulmonary function and artery blood analysis of diabetes mellitus]. *Chung Hua Nei ko Tsa Chih* 29:736-766, 1990
188. Toomey FB, Chinnock RF: Subcutaneous emphysema, pneumomediastinum, and pneumothorax in diabetic ketoacidosis. *Radiology* 116:543-545, 1975
189. Tsianos EB, Stathakis NE: Soluble fibrin complexes and fibrinogen heterogeneity in diabetes mellitus. *Thromb.Haemost.* 44:130-134, 1980
190. Tunbridge WM: Factors contributing to deaths of diabetics under fifty years of age. On behalf of the Medical Services Study Group and British Diabetic Association. *Lancet* 2:569-572, 1981
191. Uchida K, Takahashi K, Aoki R, Ashitaka T: Ventilation-perfusion scintigram in diabetics. *Ann.Nucl.Med.* 5:97-102, 1991
192. Uhal BD, Longmore WJ: Altered phospholipid biosynthesis in type II pneumocytes isolated from streptozotocin-diabetic rats. *Biochim.Biophys.Acta* 878:266-272, 1986
193. Uhal BD, Longmore WJ: Glycerol as a substrate for phospholipid biosynthesis in type II pneumocytes isolated from streptozotocin-diabetic rats. *Biochim.Biophys.Acta* 961:122-128, 1988
194. Uhal BD, Longmore WJ: Glycerol metabolism in type II pneumocytes isolated from streptozotocin-diabetic rats. *Biochim.Biophys.Acta* 958:279-288, 1988
195. Ulmer WT: Bronchitis, Asthma, Emphysem. Berlin, Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1979
196. Ulmer WT, Reichel G, Nolte D, Islam MS: Die Lungenfunktion: Physiologie und Pathophysiologie, Methodik. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag, 1991
197. Viberti GC, Hill RD, Jarrett RJ, Argyropoulos A, Mahmud U, Keen H: Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1:1430-1432, 1982
198. Villa MP, Cacciari E, Bernardi F, Cicognani A, Salardi S, Zapulla F: Bronchial reactivity in diabetic patients. Relationship to duration of diabetes and degree of glycemic control. *Am.J Dis.Child* 142:726-729, 1988
199. Vlassara H, Brownlee M, Cerami A: Nonenzymatic glycosylation: role in the pathogenesis of diabetic complications. *Clin.Chem.* 32:B37-B41, 1986
200. Vogt BW, Schleicher ED, Wieland OH: epsilon-Amino-lysine-bound glucose in human tissues obtained at autopsy. Increase in diabetes mellitus. *Diabetes* 31:1123-1127, 1982
201. Vracko R, Thorning D, Huang TW: Basal lamina of alveolar epithelium and capillaries: quantitative changes with aging and in diabetes mellitus. *Am.Rev.Respir.Dis.* 120:973-983, 1979
202. Wanke T, Formanek D, Auinger M, Popp W, Zwick H, Irsigler K: Inspiratory muscle performance and pulmonary function changes in insulin-dependent diabetes mellitus. *Am.Rev.Respir.Dis.* 143:97-100, 1991

203. Weibel ER: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int.Rev.Cytol.* 26:235-302, 1969
204. Weibel ER: Morphometric estimation of pulmonary diffusion capacity. I. Model and method. *Respir.Physiol* 11:54-75, 1970
205. Weibel ER, Kistler GS, Scherle WF: Practical stereological methods for morphometric cytology. *J Cell Biol.* 30:23-38, 1966
206. Weibel ER, Taylor CR, O'Neil JJ, Leith DE, Gehr P, Hoppeler H, Langman V, Baudinette RV: Maximal oxygen consumption and pulmonary diffusing capacity: a direct comparison of physiologic and morphometric measurements in canids. *Respir.Physiol* 54:173-188, 1983
207. Weibel ER, Untersee P, Gil J, Zulauf M: Morphometric estimation of pulmonary diffusion capacity. VI. Effect of varying positive pressure inflation of air spaces. *Respir.Physiol* 18:285-308, 1973
208. Weir DC, Jennings PE, Hendy MS, Barnett AH, Burge PS: Transfer factor for carbon monoxide in patients with diabetes with and without microangiopathy [see comments]. *Thorax* 43:725-726, 1988
209. Wettstein A, Ulmer WT: Lungenfunktionsdiagnostik bei Emphysem. *Pneumologie* 45:482-484, 1991
210. Weynand B, Jonckheere A, Frans A, Rahier J: Diabetes mellitus induces a thickening of the pulmonary basal lamina [see comments]. *Respiration* 66:14-19, 1999
211. White P: Natural course and prognosis of juvenile diabetes. *Diabetes* 5:445, 1956
212. Wilson TA: Relations among recoil pressure, surface area, and surface tension in the lung. *J.Appl.Physiol* 50:921-930, 1981
213. Wilson TA, Bachofen H: A model for mechanical structure of the alveolar duct. *J.Appl.Physiol* 52:1064-1070, 1982
214. Yernault JC: [Acute pneumopathies in the aged]. *Rev.Mal.Respir.* 9 Suppl 1:R57-59, 1992
215. Zack MB, Fulkerson LL, Stein E: Glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Am.Rev.Respir.Dis.* 108:1164-1169, 1973
216. Zapletal A, Paul T, Samanek M: Die Bedeutung heutiger Methoden der Lungenfunktionsdiagnostik zur Feststellung einer Obstruktion der Atemwege bei Kindern und Jugendlichen. *Z.Erkr.Atemungsorgane.* 149:343-371, 1977

## 8. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abb.	Abbildung
ARDS	acute respiratory distress syndrome
BMI	Body-Mass-Index (Körpergewicht / Körpergröße <sup>2</sup> ) [kg/m <sup>2</sup> ]
C <sub>dyn</sub>	dynamische Compliance
CO	Kohlenmonoxid
CRP	C-reaktives Protein
DD	Diabetesdauer
D <sub>L,CO</sub>	Diffusionskapazität (Transferfaktor) der Lunge für Kohlenmonoxid
D <sub>L</sub> /V <sub>A</sub> bzw. D <sub>L,CO</sub> /V <sub>A</sub>	D <sub>L,CO</sub> bezogen auf → V <sub>A</sub> (= Transferkoeffizient, Krogh-Faktor)
ERV	expiratorisches Reservevolumen (ITGV-RV)
FEV <sub>1</sub>	forciertes expiratorisches 1-Sekunden-Volumen
FRC	funktionelle Residualkapazität (=ITGV)
FVC	forcierte Vitalkapazität
g	Gramm
He	Helium
Hb	Hämoglobin
Hb <sub>A1</sub>	glykosyliertes Hämoglobin
Hb <sub>CO</sub>	CO-beladenes Hämoglobin
IDDM	insulin-dependent diabetes mellitus
ITGV	intrathorakales Gasvolumen (=FRC)
K <sub>CO</sub>	Transferkoeffizient für Kohlenmonoxid (Krogh-Faktor)
LJM	Limited Joint Mobility (= Cheiropathie)
MEF <sub>50 (25)</sub>	maximaler expiratorischer Fluß bei 50% (25%) der TLC
mg	Milligramm
min.	"Minute" oder "minimal" (je nach Zusammenhang)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol

mosmol	Milliosmol
NIDDM	non-insulin-dependent diabetes mellitus
ns	nicht signifikant
$P_{A-c,CO}$	alveolo-kapilläre CO-Partialdruckdifferenz
$pCO_2$	Kohlenmonoxidpartialdruck
$pO_2$	Sauerstoffpartialdruck
$Q_C/V_A$	Lungenkapillardurchblutung in Relation zum Alveolarvolumen
$R_{aw}$	$R_{tot}$ , totaler Atemwegswiderstand (Resistance)
RV	Residualvolumen
s	Sekunde
SD	Standardabweichung
SM	(diabetische) Sekundärmanifestationen
STPD	standard temperature and pressure, dry (Standardbedingungen von 0°C, 760 Torr, Trockenheit)
Tab.	Tabelle
$T_{CO}$	Transferfaktor für Kohlenmonoxid
TLC	totale Lungenkapazität (=VC+RV)
$V_A$	Alveolarvolumen
VC	Vitalkapazität
$VC_{in}$	inspiratorische Vitalkapazität
WHO	Weltgesundheitsorganisation

# DANKSAGUNG

Herrn Professor Federlin danke ich für die Überlassung des Themas für diese Promotionsarbeit und die Möglichkeit der Benutzung des Photolabors und des Neuropathielabors der Medizinischen Poliklinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Thomas Discher für seine Hilfestellung bei der histologischen Aufarbeitung der Tiere sowie seine Geduld bei allen sich ergebenden Fragen.

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Velcovsky für die Möglichkeit der Durchführung der Diffusionskapazitätsmessungen in seiner Klinik sowie Herrn Bernd Ruckerl, MTA des Lungenfunktionslabors der Klinik Seltersberg, für seine Einarbeitung in die Praxis der Single-breath-Messung.

Der überwiegende Teil der Histologie wurde im Anatomischen Institut der JLU durchgeführt. Mein Dank gilt hier besonders Herrn Professor Duncker sowie seinen Mitarbeitern.

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen worden sind, und allen Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“