

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin IV

Ärztlicher Direktor : Professor Dr. H.-U. Häring

**Assoziationen zwischen endothelialer Dysfunktion und
Adhäsionsmolekülen,
sowie molekularen Markern der Entzündung
bei Nachkommen von Typ-2-Diabetikern**

INAUGURAL -DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der Medizin

der

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der Eberhard-Karls-Universität

zu Tübingen

vorgelegt von

PATRICK ANDREAS BECKMANN

aus

Frankfurt am Main

2005

Dekan: Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter: Professor Dr. K. Rett

2. Berichterstatter: Professor Dr. A. Nieß

Abstract

Ziele: Die Atherosklerose korreliert eng mit dem Diabetes mellitus Typ 2.

Als Grundlage vieler kardiovaskulärer Erkrankungen wird sie heute als eine chronische subklinische Entzündungsreaktion gesehen. Ein früher Marker in der Entwicklung der Atherosklerose ist die mittels hochauflösendem Ultraschall zu messende endotheliale Dysfunktion. Es wäre durchaus nützlich, einfache Verfahren zu finden, die eine Risikoabschätzung bezüglich der Diabetes- bzw. Atheroskleroseentwicklung ermöglichen. Daher bestimmten wir biochemische und molekulare Entzündungsmarker in vivo und suchten nach Korrelationen zwischen Insulinresistenz, endothelialer Dysfunktion und diversen Entzündungsparametern.

Probanden und Methodik: Wir untersuchten 94 normotensive und normoglykämische erstgradige Verwandten von Typ-2-Diabetikern (31 Männer, 31 Frauen, Alter: $32,4 \pm 0,86$ Jahre, BMI: $25 \pm 0,44$ kg/m², HbA1c: $5,1 \pm 0,038$ %). Die Flow-Associated-(Vaso-)Dilation (FAD%), als ein Parameter für die Endothelfunktion, wurde mittels eines hochauflösenden Ultraschallsystems (13,0 MHz) gemessen. Die Insulinsensitivität, ausgedrückt in der Metabolic Clearance Rate (MCR), wurde durch einen euglykämischen Clamp ermittelt. Das soluble intercellular adhesion molecule 1 (sICAM-1) wurde mit einem chromogenen Substrattest gemessen. Das c-reaktive Protein (CRP) wurde durch die turbidimetrische, das hochsensitive CRP (CRP_HS) durch die nephelometrische Methode bestimmt. Die Werte wurden als Mittelwerte \pm Standardfehler der Mittelwerte (means \pm SEM) mit Hilfe eines Spearman Correlation Test angegeben.

Ergebnisse: FAD% korreliert positiv mit MCR ($R = 0,31$, $p = 0,0025$). Es besteht ein Trend zu einer negativen Korrelation zwischen sICAM-1 und MCR ($R = -0,25$, $p = 0,085$). MCR korreliert nicht mit CRP ($p = 0,61$), aber dafür eindeutig negativ mit CRP_HS ($R = -0,34$, $p = 0,001$).

Schlußfolgerung: Die vorliegenden Daten belegen eine Korrelation zwischen der endothelialen Dysfunktion und CRP_HS und wahrscheinlich auch sICAM-1. Da die Probanden noch gesunde Nachkommen von Typ 2 Diabetikern sind, können die einfach zu bestimmenden Parameter als Frühmarker einer beginnenden Atherosklerose gewertet und in entsprechenden Risikogruppen schnell und effizient eingesetzt werden.

1. Inhaltsverzeichnis

2. Einleitung

-- 2.1. Diabetes und Folgeerkrankungen.....	1
-- 2.1.1. Diabetes und Atherosklerose.....	1
-- 2.1.2. Diabetes und Nephropathie.....	1
-- 2.2. Endotheliale Dysfunktion.....	2
-- 2.3. Atherosklerose.....	4
-- 2.3.1. Allgemeines zu Atherosklerose	4
-- 2.3.2. Atherosklerose, eine chronische Entzündungsreaktion.....	8
-- 2.3.2.1. CRP.....	8
-- 2.3.2.2. ICAM-1.....	9
-- 2.4. Typ-2-Diabetes.....	11
-- 2.5. Insulinresistenz als frühe bzw. früheste auftretende Störung in der Entwicklung zum Typ-2-Diabetes.....	13
-- 2.6. Insulinresistenz und Prädiabetes.....	14
-- 2.7. Ziel der Arbeit.....	15

3. Methodik

-- 3.1. Probanden.....	16
-- 3.2. Euglykämischer Clamp.....	17
-- 3.2.1. Hintergrund.....	17
-- 3.2.2. Durchführung.....	17
-- 3.3. Messung der peripheren Endothelfunktion.....	19
-- 3.3.1. Theoretischer Hintergrund.....	19
-- 3.3.2. Meßprinzip.....	20
-- 3.3.3. Durchführung.....	22
-- 3.4. Labortechnisch erhobene Werte.....	24
-- 3.4.1. CRP.....	24
-- 3.4.2. CRP_HS.....	25
-- 3.4.3. sICAM-1.....	26

-- 3.4.4. Weitere Parameter.....	30
----------------------------------	----

4. Ergebnisse

-- 4.1. Statistisches Verfahren.....	31
-- 4.2. Probanden.....	32
-- 4.2.1. Alter.....	32
-- 4.2.2. Body-Mass-Index.....	33
-- 4.2.3. Blutdruckmessung über 24 Stunden.....	34
-- 4.2.4. Blutzucker.....	35
-- 4.2.5. HbA _{1c}	36
-- 4.2.6. Cholesterin.....	37
-- 4.2.7. Triglyceride.....	38
-- 4.2.8. HDL.....	39
-- 4.2.9. LDL.....	40
-- 4.3. Sonographische Ergebnisse.....	41
-- 4.3.1. Lumendiameter in Ruhe.....	41
-- 4.3.2. Fluß-assozierte Dilatation (FAD%).....	42
-- 4.3.3. Dilatation nach Gabe von Glyceroltrinitrat (GTN%).....	43
-- 4.4. Entzündungsparameter.....	44
-- 4.4.1. CRP.....	44
-- 4.4.2. CRP_HS.....	45
-- 4.4.3. sICAM-1.....	47
-- 4.5. Ergebnis der Clamp-Untersuchung.....	47
-- 4.5.1. Metabolic Clearance Rate (MCR).....	47
-- 4.6. Korrelationen.....	48
-- 4.6.1. FAD% zu MCR.....	48
-- 4.6.2. sICAM-1 zu MCR.....	49
-- 4.6.3. CRP zu MCR.....	50
-- 4.6.4. CRP_HS zu MCR.....	51

5. Diskussion	
-- 5.1. Überblick.....	52
-- 5.2. Vorgehensweise und Ziel unserer Arbeit.....	53
-- 5.3. Probanden.....	54
-- 5.4. Korrelation zwischen MCR und der Endothelfunktion.....	55
-- 5.5. Korrelation zwischen MCR und molekularen Entzündungsmarkern.....	57
-- 5.6. Kritikpunkte.....	61
6. Zusammenfassung.....	62
7. Ausblick.....	64
8. Literatur.....	65

2. Einleitung

2.1. Diabetes und Folgeerkrankungen

2.1.1. Diabetes und Atherosklerose

Der Typ-2-Diabetes mellitus (D.m.) ist eine der häufigsten internistischen Erkrankungen mit einer Prävalenz von ca. 5-6% bei weiter steigender Tendenz [1]. D.m. ist obligat mit der Atherosklerose verbunden [2,4]. Oft wird die Diagnose Diabetes erst durch die klinische Manifestation von Gefäßkomplikationen z.B. einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) gestellt.

Seit langem ist bekannt, daß Apoplexe bei Diabetikern signifikant häufiger auftreten als bei Nicht-Diabetikern [8].

Die Patienten sterben nicht an Diabetes selbst, sondern an den sich daraus entwickelnden Makroangiopathien. Männliche Diabetiker erkranken viermal häufiger an einem akuten Myokardinfarkt als Nicht-Diabetiker, weibliche Diabetiker siebenmal so oft [5].

2.1.2. Diabetes und Nephropathie

Der D.m. wird außerdem für ca. 35% aller Fälle einer terminalen Niereninsuffizienz verantwortlich gemacht. Mit jährlichen Behandlungskosten pro Fall von ca. 50000 € sind diese diabetischen Folgeerkrankungen eine erhebliche Belastung des Gesundheitshaushaltes. Die Fünfjahresüberlebensrate in Europa bei Diabetikern mit terminaler Niereninsuffizienz beträgt nur 31%.

Bei Nicht-Diabetikern sind dies immerhin 55% [7].

2.2. Endotheliale Dysfunktion

Als ein sehr früher Schritt in der Entstehung der Atherosklerose gilt heute die Funktionsstörung des Endothels [3,70]. Diese, vom Patienten noch unbemerkte sogenannte "endotheliale Dysfunktion", geht den morphologischen Veränderungen, die für die klinische Manifestation verantwortlich sind, voraus. Man kann die endotheliale Dysfunktion als einen der frühesten quantifizierbaren Parameter einer beginnenden Atherosklerose bezeichnen [6]. Während man sich vor ein paar Jahren in erster Linie auf die morphologischen Veränderungen an den Gefäßwänden konzentrierte, geht man heute einen Schritt weiter und sucht nach funktionellen Störungen. Nicht zuletzt deshalb, weil die funktionellen den morphologischen Veränderungen vorausgehen und im Gegensatz zu diesen reversibel sind [3]. Dies bietet einen Ansatzpunkt für eine echte Primärprävention der Atherosklerose. Mittlerweile spricht man bei der Atherosklerose von einer systemischen, eher chronisch als akut verlaufenden Entzündungsreaktion. Der eigentlichen Verletzung des Endothels geht die Dysfunktion desselben voraus [4].

Durch die Störung der physiologischen Endothelfunktion kommt es zu Interaktionen zwischen der glatten Gefäßmuskulatur in der Gefäßwand und korpuskulären Blutbestandteilen, die schließlich die thromboembolischen Komplikationen der Atherosklerose auslösen [13]. Das beeinträchtigte Endothel produziert nur noch vermindert Prostazykline (Prostazykline besitzen eine vasodilatative, thrombozytenaggregationshemmende Wirkung); das von den Thrombozyten sezernierte Thromboxan A₂ gerät somit ins Übergewicht und löst durch seine vasokonstriktive und aggregationsfördernde Wirkung, in Verbindung mit einer Lipideinlagerung in die Plaques, den circulus vitiosus der Plaquentstehung aus [9,10].

Lange bevor man morphologische Veränderungen oder eine klinische Symptomatik bei den Betroffenen entdecken kann, ist es möglich, diese frühfunktionelle Störung mit Hilfe einer hochauflösenden Ultraschallmethode sichtbar zu machen [4,11,12,].

Auf entsprechende Reize, die eine Vasodilatation notwendig machen, sezerniert das Endothel physiologischerweise **Endothelium Derived Relaxing Factor (EDRF)** [21]. Diese Substanz konnte als Stickstoff-Monoxid (NO) identifiziert werden [14,15].

Störungen dieses physiologischen Regelkreises lassen sich mit Hilfe des hochauflösenden Ultraschalls als fehlende Zunahme des Lumendiameters nachweisen [11,16]. Hierbei handelt es sich um den Durchmesser einer Arterie (in diesem Fall standardisiert um den Durchmesser der rechten Arteria brachialis), der erst als Ausgangswert in Ruhe (LD_rest) und nach Öffnen eines Stauschlauches, nach einer vierminütigen Stauung des rechten Unterarmes, gemessen wird. Bei letzterem spricht man von der **Flow-Associated- (Vaso-)Dilation (FAD)**. Infolge dieser Stauung kommt es zu einer Minderperfusion des distal der Manschette liegenden Areal. Wird die Manschette nach vier Minuten wieder geöffnet, treten durch die kompensatorische Mehrdurchblutung Scherkräfte am Endothel der A.brachialis, proximal der Stauung auf. Diese Scherkräfte bewirken beim Gesunden eine lokale Mehrausschüttung von NO im Gefäßendothel; es resultiert eine Vasodilatation [11,17,18].

Als Kontrollmessung wird anschließend die endothelunabhängige Vasodilatation bestimmt, indem man 4 min. nach sublingualer Gabe von 400µg (= 1 Hub Nitrospray) **Glyceroltrinitrat (GTN)** erneut den Lumendiameter ausmisst.

2.3. Atherosklerose

2.3.1. Allgemeines:

Risikofaktoren für die Atherosklerose sind Rauchen, Übergewicht, Hypertonie, Hyperurikämie, Hyperlipidämie, Bewegungsmangel, Streß und Diabetes mellitus [19,23]. Letzterer vervierfacht das Risiko, an einer peripher-arteriellen Verschlusskrankheit zu erkranken [20]. Liegt eine Kombination der genannten Risikofaktoren vor, potenziert sich die Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung entsprechend [25]. Die pathophysiologischen Vorgänge in der Atheroskleroseentstehung werden zunehmend besser verstanden.

Die Ätiologie entspricht einem komplexen, multifaktoriellen Geschehen, auf dessen Einzelheiten hier nur sehr vereinfacht eingegangen werden soll. Sicher ist, daß früh in der Pathogenese die Endothelfunktion durch die erwähnten Risikofaktoren gestört wird [3,6,22].

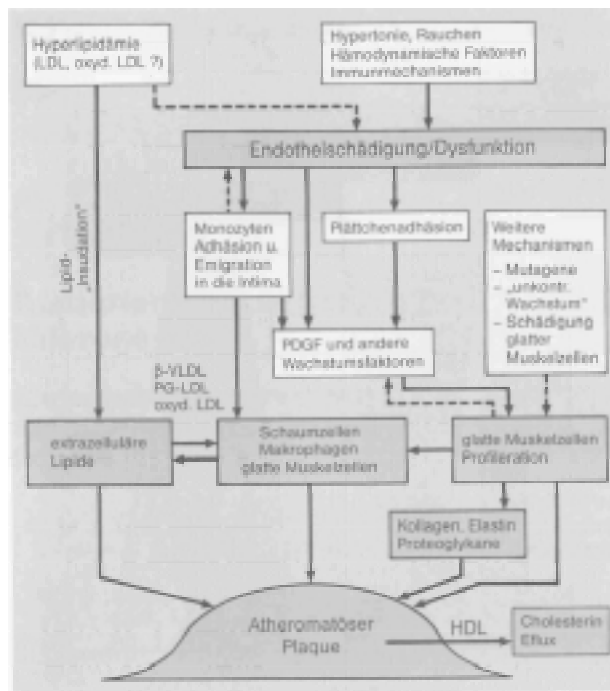


Abb. 1: Pathogenese der Atherosklerose-Entstehung / Endothelfunktionsstörung (Siegenthaler W, Kaufmann W, Hornbostel H, Waller HD. Lehrbuch der Inneren Medizin; Tieme Verl. 1992)

Schließlich kommt es zu einer morphologischen Schädigung des Endothels, gefolgt von einer Wandadhäsion von Makrophagen und Thrombozyten [13].

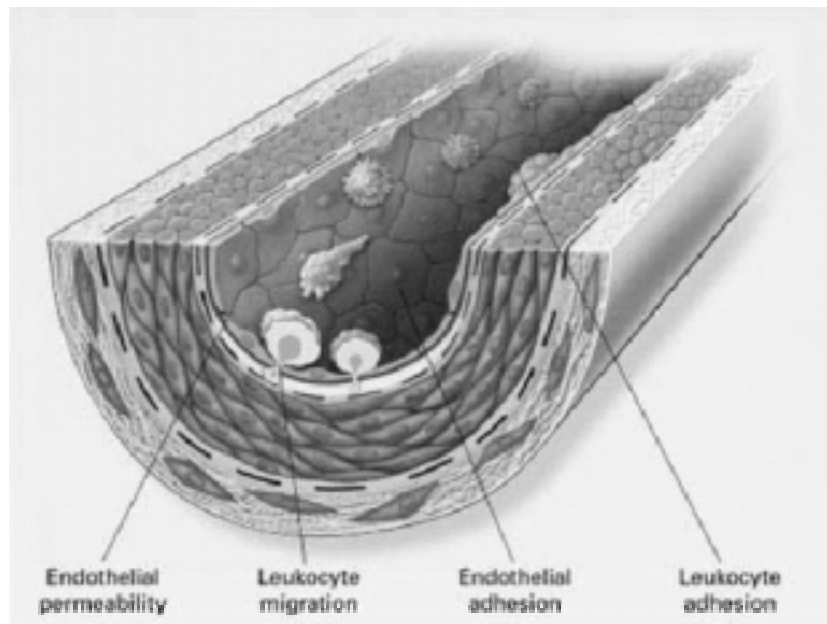


Abb. 2: Pathogenese der Atherosklerose-Entstehung / Frühstadium der Plaquentstehung (Ross R Atherosclerosis - an inflammatory disease N Engl J Med 1999)

Hierdurch freigesetzte Wachstumsfaktoren, wie z.B. **Platelet Derived Growth Factor (PDGF)**, induzieren eine Proliferation und Immigration glatter Muskelzellen der Media in die Intima. Dies führt schlußendlich zu einer Verdickung der inneren zwei Gefäßwandschichten, die man als **Intima-Media-Dicke (Intima-Media-Thickness)** messen kann [24,26].

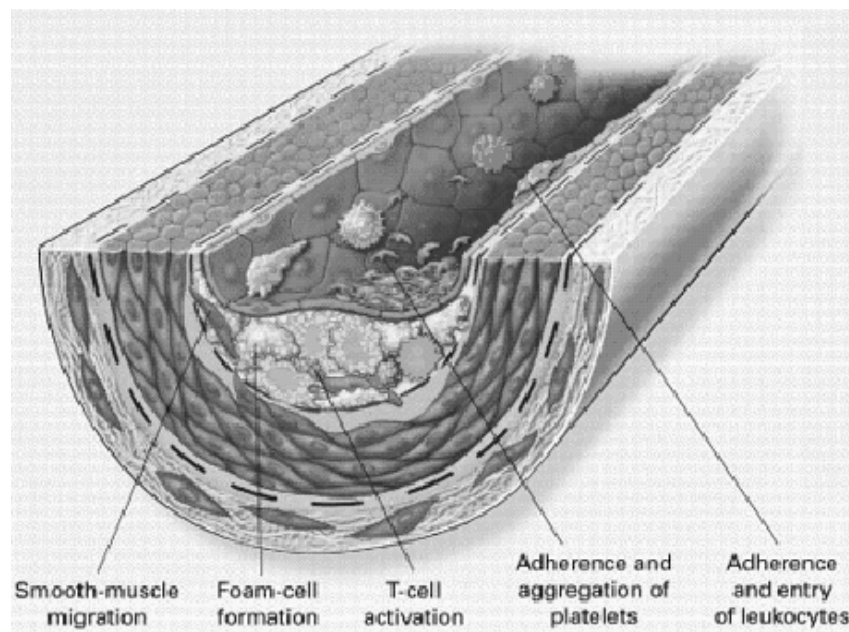


Abb. 3: Pathogenese der Atherosklerose-Entstehung / Spätstadium der Plaquentstehung (Ross R Atherosclerosis - an inflammatory disease N Engl J Med 1999)

Atheromatöse Plaques bestehen typischerweise aus Kollagen, Elastin und Proteoglykanen. Diese Bestandteile werden in großen Mengen von besagten Muskelzellen produziert. In den Plaques werden die eingewanderten glatten Muskelzellen, sowie die Monozyten und Makrophagen zu Schaumzellen umgewandelt. Vermutlich durch ein Ungleichgewicht zwischen Ein- und Ausfluß des Cholesterins bei der Gefäßwandperfusion kommt es zu einer Cholesterinspeicherung in den Plaques. Die protektive Wirkung des HDL kommt durch einen begünstigten Cholesterinausfluß zustande [9].

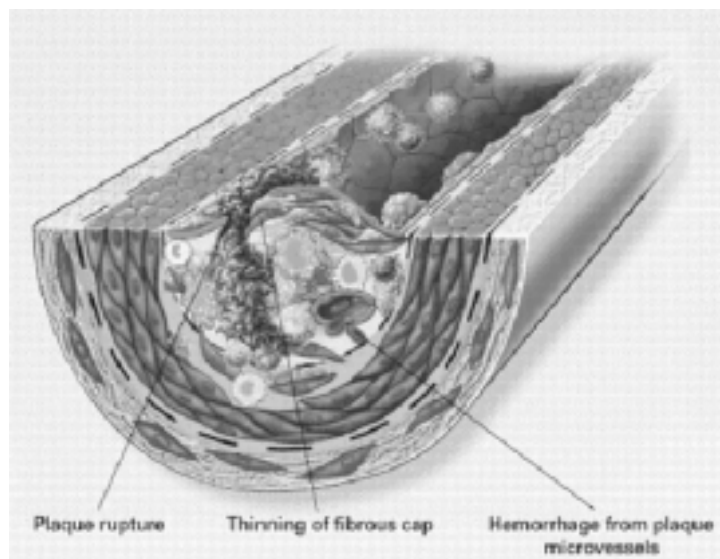


Abb. 4: Pathogenese der Atherosklerose-Entstehung / instabiler Plaque (Ross R Atherosclerosis - an inflammatory disease N Engl J Med 1999)

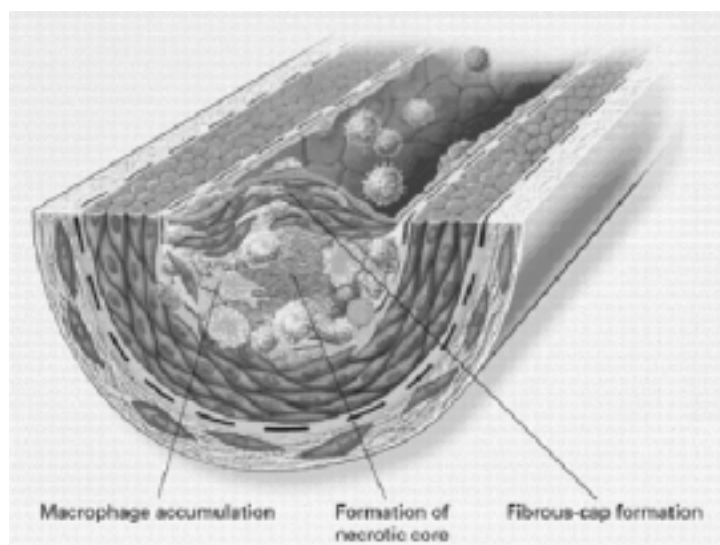


Abb. 5: Pathogenese der Atherosklerose-Entstehung / Plaqueruptur (Ross R Atherosclerosis - an inflammatory disease N Engl J Med 1999)

2.3.2. Atherosklerose als eine chronische Entzündungsreaktion:

Heute wird die Atherosklerose als eine chronische subklinische Entzündungsreaktion angesehen.

Es konnte gezeigt werden, daß das Vorliegen einer Atherosklerose eng vergesellschaftet ist mit einem Anstieg von Entzündungsparametern wie z.B. CRP oder ICAM-1 [27].

2.3.2.1. CRP:

CRP (**C**-reaktives **P**rotein) ist das klassische Akut-Phase-Protein, das auf eine entzündliche Reaktion hin vermehrt in der Leber synthetisiert wird. Es besteht aus fünf identischen Polypeptidketten in Form eines fünfgliedrigen Ringes mit einer Molekülmasse von 120000 Dalton. Ist das CRP erhöht, ist dies pathologisch und spricht für ein inflammatorisches Geschehen [29,30]. In der akuten Phase entzündlicher Prozesse ist das CRP der empfindlichste Marker und steigt sehr schnell an [31]. Im direkten Vergleich zur BSG (**B**lutröhrchen **S**enkungsgeschwindigkeit), erfolgt die Erhöhung der Werte schneller, und nach dem Abklingen der Erkrankung sinken die Werte ebenfalls auch schneller wieder ab. Die Normalwerte werden oft einige Tage früher erreicht, als die Normalisierung der BSG. Bei Verwendung des turbidimetrischen Assays liegt die CRP-Konzentration im Serum oder Plasma beim Gesunden unter 5 mg/l, während sie in der akuten Phase verschiedener Erkrankungen innerhalb von 4-8 Stunden auf Werte von ca. 20-500 mg/l ansteigen kann [31]. Neben einer Aktivierung des Komplementsystems und einer Initiierung der Opsonierung und Phagozytose eingedrungener Zellen, besteht die Hauptaufgabe des CRPs in der Bindung und Detoxikation toxischer, körpereigener Substanzen, welche aus Gewebeschädigungen hervorgegangen sind [32]. Üblicherweise wird das CRP bestimmt, um systemische Entzündungen zu entdecken, den Erfolg einer antibiotischen bzw. antiinflammatorischen Therapie zu beurteilen, intrauterine Infektionen nach Blasensprung zu erkennen, zwischen aktiver und inaktiver Form mit zusätzlicher Infektion (z.B. bei System. Lupus Erythematodes oder Colitis ulcerosa) zu differenzieren, die Aktivität rheumatischer Krankheiten einzuschätzen, postoperative Komplikationen (Thrombosen, Pneumonien, Wundinfektionen) frühzeitig zu bemerken oder eine Infektion von einer Transplantatabstoßungsreaktion zu unterscheiden [33].

Mittlerweile sind auf dem Markt zwei verschiedene Kits zur CRP-Bestimmung erhältlich. Neben dem altbekannten turbidimetrischen Assay, gibt es seit kurzer Zeit auch einen empfindlicheren nephelometrischen Assay, mit dem man das sogenannte hochsensitive CRP (CRP_HS) bestimmt. Hier liegt der Meßbereich zwischen 0,175 – 1100 mg/l, während er bei dem herkömmlichen Kit nur zwischen max. 3 – 480 mg/l liegt. Somit lassen sich sensitivere Ergebnisse, insbesondere im unteren Normbereich erfassen [34,35].

2.3.2.2. ICAM-1:

Das ICAM-1 (Intercellular-Adhesion-Molecule-1) gehört zur Familie der Immunglobuline und ist ein 95000 Dalton Zelloberflächen-Glykoprotein.

Prinzipiell wird es auf einigen Geweben exprimiert bzw. durch pro-inflammatorische Zytokine, wie IL-1, IFN- γ und TNF- α induziert [36]. ICAM-1 ist in die Adhäsion der Leukozyten involviert und findet sich auf verschiedenen Zellen, wie Endothel, Thymusepithel, Makrophagen, T- und B-Zellen sowie bestimmten Tumorzellen wieder [28]. Es konnte gezeigt werden, daß ICAM-1 sowohl eine Rolle in der Extravasation der Granulozyten durch das Endothel [39], als auch bei der Abstoßung von Nieren- oder Herztransplantaten spielt [40,41]. Ebenso konnte in Versuchen bei Hasen die Teilnahme an der Einwanderung von Neutrophilen in entzündetes Lungengewebe, der Migration von Eosinophilen, sowie der Überreagibilität der Luftwege beobachtet werden [42]. Außerdem fungiert das ICAM-1 als Rezeptor für Rhinoviren [43] und ist beteiligt an der Adhäsion der Erythrozyten an das Endothel bei der zerebralen Manifestation der Malaria [44].

Der erste Hinweis darauf, daß es auch eine lösliche Form des ICAM-1 (soluble ICAM-1 = sICAM-1) geben könnte, resultierte aus der Beobachtung, daß Lymphozyten und bestimmte B-Lymphoblasten (Jy Zellen) dazu in der Lage sind, eine lösliche Form des ICAM-1 zu produzieren, wenn sie in vitro kultiviert werden. Durch immunologische oder molekularbiologische Techniken konnte man meßbare Spiegel von sICAM-1 im Serum gesunder Personen nachweisen.

Das sICAM-1 könnte als Mittel zur Kontrolle der adhäsiven Wechselwirkung zwischen einzelnen Zellen eingesetzt werden. Zumal gezeigt werden konnte, daß rekombinantes sICAM-1 teilweise die Leukozytenadhäsion blockiert [46].

Der entscheidende Hinweis für eine eigene biologische Funktion der löslichen Form, resultiert aus der Beobachtung, daß das rekombinante sICAM-1 die Manifestation einer Infektion mit Rhinoviren verhindert. Dies spricht dafür, daß es sich eventuell um einen antiviralen, auf alle Fälle antiinflammatorischen Wirkstoff handeln könnte [47].

Aufgrund seiner Ligandenfunktion für die Adhäsion von aktivierten polymorphkernigen Zellen auf Gefäßendothelien [28], bietet sich das sICAM-1 als molekularer Marker in der Frühphase der beginnenden Atherosklerose an.

2.4. Typ-2-Diabetes

Grundsätzlich unterscheidet man beim primären Diabetes mellitus neben vielen Sonderformen, gemäß WHO-Einteilung von 1998, folgende zwei Hauptformen:

- Diabetes mellitus Typ 1 (früher: insulinabhängiger Diabetes mellitus (IDDM))
- Diabetes mellitus Typ 2 (früher: insulinunabhängiger Diabetes mellitus (NIDDM))

Zwischen 1,5-2% der Bevölkerung im westlichen Europa leidet an Diabetes mellitus, wobei hierbei nur ca. 13% auf den Typ 1 entfallen und die restlichen 87% dem Typ 2 zuzuordnen sind [37]. In neueren Studien bezüglich der Prävalenz des Diabetes mellitus bei erwachsenen Deutschen wurden über 7000 Personen zwischen 18-79 Jahre untersucht. Die Prävalenzrate betrug 4,7% bei den Männern und 5,6% bei den Frauen mit einem deutlich steigenden Anteil bei zunehmendem Alter. Bei den 70-79 jährigen Frauen leidet mittlerweile etwa jede fünfte an Diabetes [38]. In der San Antonio Heart Study stieg die Inzidenz der weißen Bevölkerung im Schnitt von 2,6% (1980) auf nunmehr 9,4% (1988). Dies entspricht ca. einer Verdreifachung der Inzidenz [45].

Während für den Typ-1-Diabetes ein autoimmunes Geschehen seit längerem bekannt ist, steht beim Typ-2-Diabetes eine Kombination aus nachlassender Sekretionskapazität der Inselzellen des Pankreas und einer einerseits genetischen, andererseits mit Adipositas assoziierten peripheren Insulinresistenz im Vordergrund. Es gibt Hinweise, daß in den meisten Fällen von Typ-2-Diabetes die Insulinresistenz das Hauptproblem darstellt [9].

In der industrialisierten Welt spielt der Diabetes mellitus vom Typ 2 allein aus quantitativen Gründen die Hauptrolle [2].

Die Ursachen sind genauso einleuchtend wie offensichtlich. Zum einen ernähren wir uns durch unseren üppigen Wohlstand zu kalorien- und fettreich.

Der zunehmende Bewegungsmangel läßt unseren Energieumsatz sinken und die anfallenden Fettsäuren werden schlechter verwertet. Es kommt zu einer vermehrten Fetteinlagerung [25].

Im Laufe der Zeit werden somit die β -Zellen des Pankreas über Gebühr stark beansprucht und dadurch möglicherweise schneller insuffizient. Schließlich sind sie nicht mehr dazu in der Lage, eine ausreichende Menge an Insulin zu sezernieren. Zu diesem Zeitpunkt spricht man häufig schon von einem manifesten Typ-2-Diabetes.

Zusätzlich spielt die Genetik beim eine zunehmende Rolle. So erkranken signifikant mehr Menschen mit familiärer Diabetesbelastung an einem Typ-2-Diabetes, bei welchen eine positive Familienanamnese bezüglich der Stoffwechselkrankheit besteht [1,5,8]. Gerade diese Vererblichkeit in Verbindung mit Auslösern der Erkrankung, wie z.B. Adipositas, machen Fehl- und Überernährung sowie Bewegungsmangel den Typ-2-Diabetes für Familienuntersuchungen interessant.

Die Diagnosestellung erfolgt häufig erst bei bereits manifestem Diabetes.

2.5. Insulinresistenz als frühe bzw. früheste auftretende Störung in der Entwicklung zum Typ-2-Diabetes

Wenn die Wirkung bzw. die Wirksamkeit des Insulins herabgesetzt ist, spricht man von einer Insulinresistenz. Die Ursache hierfür beruht sowohl auf einer Störung der Interaktion zwischen dem Insulin und seinem Rezeptor an der Zelloberfläche, als auch auf einem sogenannten Postrezeptordefekt [49]. Hierunter versteht man eine Störung der Signalübertragung bzw. der Glucoseverwertung in der Zelle [51]. Bemerkenswerter Weise lassen sich in der Frühphase des Typ-2-Diabetes normale oder erhöhte Insulinkonzentrationen im Blut nachweisen. Dies liegt am gesteigerten Insulinbedarf bei peripherer Insulinresistenz. Wenn eine Sekretionsstörung auftritt, kommt es zur klinischen Manifestation.

Meßgröße der Insulinsensitivität ist die **Metabolic Clearance Rate (MCR)**, die das virtuelle Blutvolumen angibt, das pro Zeiteinheit durch die Insulinwirkung von der Glucose geklärt wird. Man bestimmt sie mit Hilfe der eu- bzw. isoglykämischen hyperinsulinämischen Glucose-Clamp-Technik [53]. MCR-Werte ($\text{ml/kg}\cdot\text{min}^{-1}$) von 0-5 gelten als insulinresistent, 5-8 als grenzwertig und größer 8 wird als insulinsensibel bezeichnet [53, 55].

2.6. Insulinresistenz und Prädiabetes

Ein wichtiger Schritt in der Diabetes-Prävention ist die Früherkennung von Anzeichen, welche vor der eigentlichen Manifestation der Erkrankung vorhanden sind und dieser regelmäßig voraus gehen. Ein solches Anzeichen ist die Insulinresistenz.

Direkte Nachkommen von Typ-2-Diabetikern sind überzufällig häufig insulinresistent [4,57]. Dabei liegt aber noch keine manifeste Form einer Erkrankung vor.

Insulinresistente Menschen entwickeln auffallend häufig eine Atherosklerose, die häufig bereits weit fortgeschritten ist, wenn der Typ-2-Diabetes als manifest erkannt wird [103]. Die Zahl der Neuerkrankungen bei Personen mit einer Insulinresistenz ist signifikant höher als die der Insulinsensitiven [57]. Deshalb ist es wichtig, ein Verfahren zur Verfügung zu haben, das eine einfache und schnelle Risikoabschätzung bei diesem Kollektiv ermöglicht. Ziel der Arbeit ist daher die Evaluierung bzw. Korrelation der Parameter der endothelialen Dysfunktion mit laborchemischen Markern einer chronischen Entzündungsreaktion bei gesunden Nachkommen von Typ-2-Diabetikern.

2.7. Ziel der Arbeit

Endotheliale Dysfunktion stellt eine sehr frühe Veränderung in der Entwicklung der Atherosklerose dar. Gleichzeitig gilt das Stadium der Insulinresistenz als ein sehr frühes Entwicklungsstadium für Typ-2-Diabetes. Die Insulinresistenz kann als Risikoindikator für Atherosklerose gesehen und damit als Aufforderung zum konsequenten kardiovaskulären Risikofaktorenmanagement herangezogen werden [103]. Wenn man nun die Kenntnisse aus der Atheroskleroseforschung, welche Atherosklerose als eine chronische subklinische Entzündungsreaktion definiert, mit den oben genannten Kenntnissen zu verbinden versucht, stellt sich die Frage, ob bei Menschen, die noch völlig gesund sind, jedoch ein erhöhtes kardiovaskuläres Risikoprofil besitzen, sich bereits eine endotheliale Dysfunktion, Insulinresistenz und/oder erhöhte Entzündungsmarker finden lassen. Wenn ja, könnten diese Parameter, eventuell in Kombination, eine möglichst große Risikovorhersage im Sinne einer primären Atheroskleroseprävention darstellen [52].

Da an der Medizinischen Klinik der Universität Tübingen einerseits sowohl die labortechnischen Mittel zur Bestimmung der Entzündungsparameter CRP, CRP_HS und sICAM-1 zur Verfügung standen, als auch die Methoden zur Messung der Endothelfunktion und der Insulinresistenz, war es für uns interessant herauszufinden, ob es nicht Assoziationen gibt, zwischen in vivo gemessenen biochemischen und molekularen Entzündungsmarkern, sowie den Indikatoren der endothelialen Dysfunktion und der Insulinresistenz.

3. Methodik

3.1. Probanden

Bei der Studie wurden insgesamt 94 Personen im Alter zwischen 18 und 50 Jahren untersucht. Aus zeitlichen, terminlichen oder organisatorischen Ursachen konnten aber nur von 62 Probanden komplette Datensätze erhoben werden, bei den restlichen 32 fehlten am Ende der Untersuchung einer oder mehrere Werte. Von den 62 Probanden mit vollständigen Datensätzen waren jeweils 31 männlich und 31 weiblich. 46 der 62 Personen konnten einen Verwandten ersten Grades mit Typ-2-Diabetes vorweisen, während bei den anderen 16 entweder bei einem höheren Verwandtschaftsgrad oder bei keinem Familienmitglied ein D.m. bekannt war. Bei den teilnehmenden Probanden handelte es sich um gesunde Probanden. Blutdruckauffälligkeiten, sowie bestehender Diabetes oder ein pathologischer OGTT (oraler Glucose-Toleranz-Test) führten ebenso zum Ausschluß, wie bestehende kardiovaskuläre Erkrankungen.

Der Nutzen für die Probanden bestand darin, einen kostenlosen und sehr ausführlichen “Check-up“ zu bekommen. Außerdem bekamen alle Teilnehmer eine Prognose bezüglich ihres persönlichen Diabetesrisikos mitgeteilt.

3.2. Euglykämischer Clamp

3.2.1. Hintergrund

Die Glucose-Clamp-Untersuchung wird zur Bestimmung der Insulinsensitivität der Muskulatur durchgeführt [51,53]. Bei in vivo Untersuchungen besteht das Problem der Rückkopplung zwischen Glucose- und Insulinspiegel im Blut. So kann normalerweise keiner der beiden Parameter konstant gehalten werden. Auf der einen Seite wird die Insulinsekretion durch einen Blutglucoseanstieg stimuliert, auf der anderen Seite aber auch die zelluläre Glucoseaufnahme durch den resultierenden Insulinanstieg gesteigert und damit der Glucosespiegel gesenkt. Diese beiden Vorgänge laufen gleichzeitig ab. Durch den Glucose-Clamp ist es möglich, die Blutglucose konstant zu halten und so den negativen Feedback-Mechanismus zwischen Insulin und Glucose zu unterdrücken. Die Menge an Insulin, die zur Konstanterhaltung des Blutzuckers erforderlich ist, stellt ein indirektes Maß für die „Insulinempfindlichkeit“ des untersuchten Organismus dar.

Je mehr Insulin benötigt wird, desto resistenter ist der Organismus. Umgekehrt ist der Organismus besonders sensibel, wenn nur geringe Insulinmengen für das steady-state benötigt werden, das Insulin demnach schnell in die Zellen transportiert werden und dort wirken kann.

3.2.2. Durchführung

Nach einer nächtlichen Fastenperiode wird die Insulinwirkung mit dem euglykämischen- hyperinsulinämischen Glucose-Clamp gemessen.

Dem Probanden wird zunächst an den beiden Unterarmen je eine Venenverweilkanüle (Vasofix Braunülen, B. Braun Melsungen AG, Germany) gelegt. Dann erfolgt die Gabe eines Insulinbolus und anschließend wird mit der Infusion einer konstanten Insulinrate von 1mU/min/kg Körpergewicht (Insulin H, Hoechst Marion Roussel, Frankfurt) begonnen. Nach drei Minuten wird mit der Infusion einer variablen 40 % igen Glucoselösung (Delta Pharma GmbH, Pfullingen) begonnen,

und diese wird alle fünf Minuten an den aktuellen Plasma-Glucose-Spiegel angepasst, mit dem Ziel, innerhalb von $\pm 10\%$ der anfänglichen Nüchtern-Glucosekonzentration zu bleiben. Die Insulinsensitivität wird ausgedrückt als Metabolische Clearance Rate (MCR) in ml/kg/min. Die MCR wird berechnet aus der exogen zugeführten Glucoseinfusionsrate während des steady-state (die letzten 40 Minuten während des Clamp) dividiert durch die Plasmaglukosekonzentration während des steady-state und normalisiert durch das Körpergewicht in kg.

Die aktuelle Plasmaglukose wird durch die Glucose-Oxidase-Methode (YSI 2300, Yellow Springs Instruments, USA) gemessen.

3.3. Messung der peripheren Endothelfunktion

3.3.1. Theoretischer Hintergrund

Die Ultraschallmessungen wurden nach einer von Celermajer und Wendelhag entwickelten und später von Enderle et al. etwas modifizierten Methode durchgeführt [67,69].

Um eine möglichst genaue Bestimmung des Gefäßstatus durchzuführen, bedient man sich der Dilatationsmessung der Gefäße, welche aus drei Teilen besteht.

◆ *Flußassoziierte Dilatation (FAD%)*

Die Zunahme des Blutflusses stellt einen der stärksten mechanischen Reize für eine NO-Freisetzung an der Endothelzelle dar. Eine verminderte NO-Freisetzung bzw. NO-Wirkung mit reduzierter Dilatation ist ein Parameter für frühfunktionelle Störungen in den Gefäßen. Mit einer künstlich erzeugten Blutflußzunahme läßt sich die FAD% (flow associated dilation = fluß-assoziierte Dilatation, in Prozent) stimulieren und dadurch die Dilatationsfähigkeit der Gefäße bestimmen, indem das Gefäßlumen vor (LD_rest) und nach dem flußassoziierten Dilatationsreiz gemessen wird [67,69]. Die FAD% ist das Maß oder derjenige Wert, der repräsentativ für die Endothelfunktion bzw. –dysfunktion ist.

◆ *endothelunabhängige Vasodilatation (GTN%)*

Um gegebenenfalls zwischen einer verminderten NO-Freisetzung und einer verminderten Sensibilität gegenüber NO unterscheiden zu können, erfolgt nach einer Ruhephase eine erneute Kontrollmessung mit einer Applikation von Nitroglyceroltrinitrat sublingual als externer NO-Donator. Vier Minuten später erfolgt die Gefäßdilatation durch Relaxation der Gefäßwandmuskulatur (tunica media). Die hierdurch verursachte endothelunabhängige Vasodilatation wird als GTN% angegeben. Größere, fortgeschrittenere Gefäßwandveränderungen (Plaques, Mediasklerose) können dadurch im Vorfeld ausgeschlossen werden.

◆ *Intima-Media-Dicke*

Als frühmorphologische Veränderung der Gefäßwände imponiert gegebenenfalls eine Vergrößerung der Intima-Media-Dicke (IMT). Gemäß früherer Arbeiten wurde am bulbus der A. carotis communis die IMT beidseitig ausgemessen.

3.3.2. Meßprinzip

Zur Bestimmung der FAD% wird die rechte A. brachialis in Supinationsstellung, bei einer konstanten Raumtemperatur von $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ auf Höhe des M. biceps in Längseinstellung des Schallkopfes vermessen, wobei die Meßstelle nach erstmaligem Auffinden markiert wird, so daß alle folgenden Messungen an selber Stelle stattfinden können. Nach Eintreffen der Probanden im Untersuchungsraum, legen diese sich möglichst bequem auf eine Liege. Durch mehrmaliges Messen von Puls und Blutdruck kann sichergestellt werden, daß die Versuchsperson ruhig und entspannt ist.

Eine Blutdruckmanschette wird am rechten Unterarm angebracht, der rechte Arm abduziert und bequem auf einem Hocker gelagert. Dabei wird darauf geachtet, daß sich der Arm auf Herzhöhe befindet (Abb. 6).

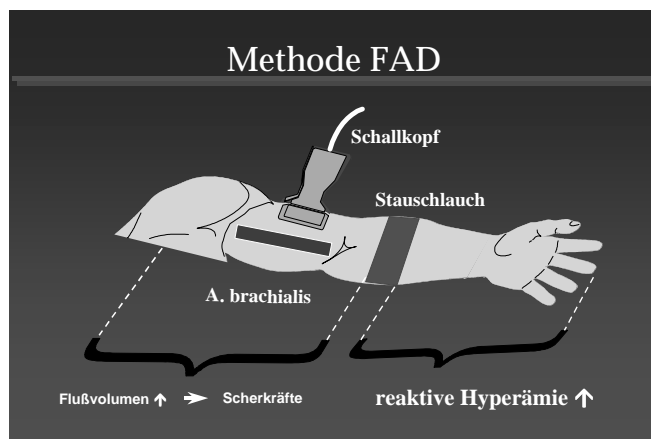


Abb. 6: Darstellung der FAD-Messung

Während der gesamten Meßzeit wird bei der Versuchsperson ein EKG abgeleitet. Diese Maßnahme dient zur R-Zacken getriggerten Feststellung des Meßzeitpunktes in der Enddiastole des Herzzyklus.

Zur Bestimmung von FAD%, GTN%, LD_rest und IMT diene ein hochauflösendes Ultraschallgerät (AU5 Idea, ESAOTE Biomedica, München) in Verbindung mit einem 10-13 MHz Schallkopf (Mittenfrequenz: 11,7 MHz). Die axiale Auflösung beträgt 0,12 mm, bei einer Eindringtiefe von 1,0- 4,5 cm.

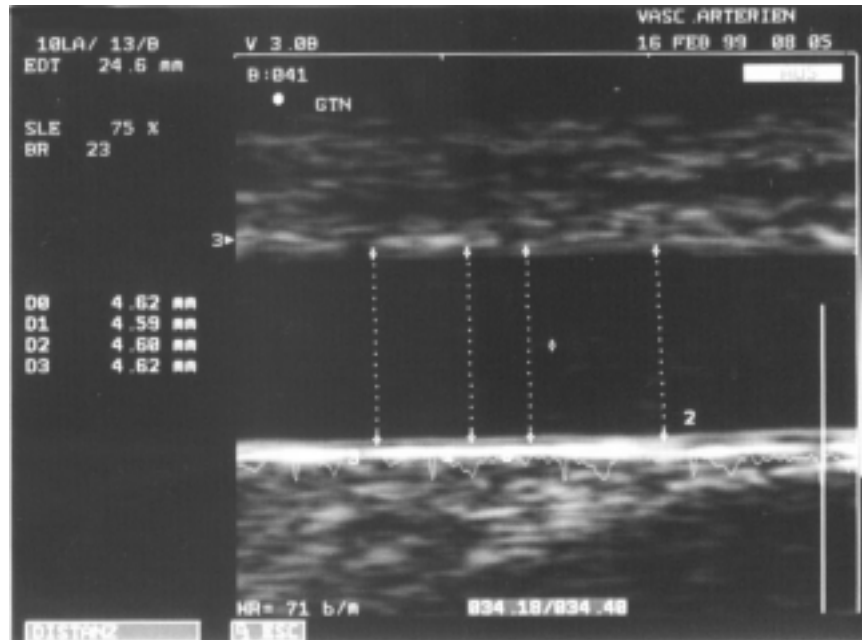
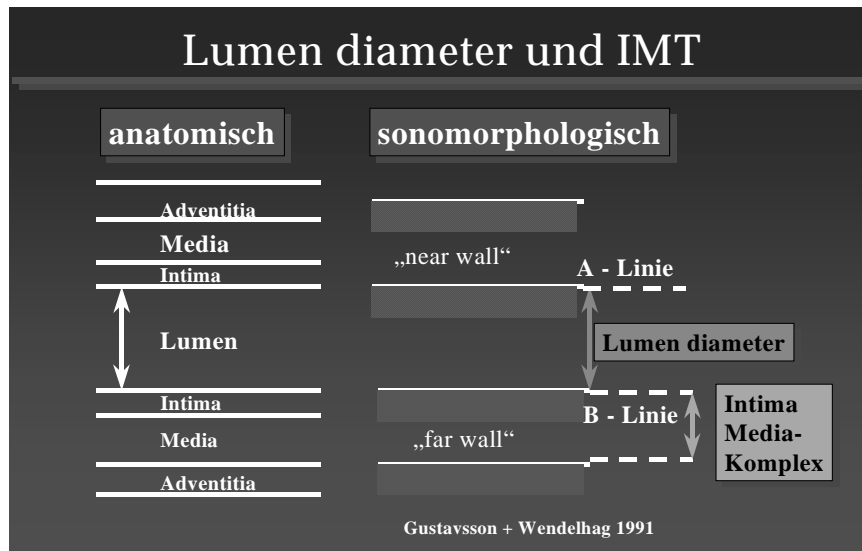


Abb.7: Gegenüberstellung der anatomischen und sonomorphologischen Verhältnisse bzw. Strukturen im Gefäß. Das obere Bild zeigt eine schematische Darstellung, das untere ein original Sonographiebild aus den Untersuchungen (nach Nitrogabe).

Abb. 7 zeigt anschaulich die Unterschiede zwischen den anatomischen Gegebenheiten und des sich sonographisch darstellbaren Bildes des Gefäßes. Die A- und B-Linie steht jeweils für die erste, dem Schallkopf nähere Echogrenzfläche ("leading edge"), die durch den Dichtesprung des sonographierten Gewebes verursacht wird. Die weiter entfernte zweite Echogrenzfläche wird "far edge" genannt. Durch frühere entsprechende Versuche konnten diese Linien als die den anatomischen Strukturen entsprechenden nachgewiesen werden. Die A-Linie entspricht demnach dem anatomischen Korrelat der Intima-Lumen-Grenzfläche, der oberflächlicher gelegenen Gefäßwand ("near wall") und die B-Linie dem der tiefer gelegenen Gefäßwand ("far wall") [67].

Wie von Pignoli et al. beschrieben und definiert, sollte die IMT stets zwischen den in der unten stehenden Abb. gezeigten "leading edges" der "far wall" gemessen werden. Hier spiegelt der erste Echoreflex die echte Intima-Lumen-Grenze wider, während der zweite Reflex dem morphologischen Korrelat der kollagenhaltigen Oberfläche der Tunica adventita entspricht [48]. Bei der "near wall" überschneidet sich die "leading edge" der Grenzfläche von Periadventitia zu Adventitia mit derjenigen, der Grenzfläche von Adventitia zu Media. Deshalb läßt sich an der "near wall" die Intima-Media-Dicke derzeit aus technischen Gründen noch nicht zuverlässig messen.

3.3.3. Durchführung

Die erste Messung (LD_{rest}) am rechten Oberarm erfolgt nach sichergestellter Ruhe des Probanden. Zur Verifizierung des entspannten Zustandes wird 2-3 mal kurz hintereinander der Blutdruck und Puls gemessen.

Der Unterarm des Probanden wird für ca. 4min. mit einem Manschettendruck $\geq 200\text{mmHg}$ komprimiert. Nach Öffnung der Okklusion wartet man standardmäßig 45 Sekunden, da nach dieser Zeit mit der intensivsten NO-Wirkung zu rechnen ist. Demnach bleibt ein Zeitfenster von 15 Sekunden zur Messung der FAD%, da sich anschließend der dilatierte Lumendurchmesser wieder zurückbildet.

In der anschließenden Erholungszeit für das Gefäß wird die IMT an der A. carotis communis bds. direkt distal des Bulbus caroticus an jeweils 3 Stellen gemessen.

Nachdem die A.brachialis ausreichend Zeit zur Erholung gehabt hat, erfolgt nun die Bestimmung der endothelunabhängigen Vasodilatation (GTN/GTN%). Hierzu appliziert man 1 Hub (\cong 400 μ g) Nitrolingualspray sublingual und wartet exakt 4 min. bevor man erneut den Lumendurchmesser der A. brachialis mißt.

FAD% und GTN% geben jeweils die prozentuale Abweichung in Bezug zu LD_rest an. Die Intra-Untersucher-Variabilität beträgt bei dieser Methode 1,2 - 4,2 %.

Die Inter-Untersucher-Variabilität beträgt <8%, bei einem max. SEM von 0,18 mm oder SD von 0,10 mm.

Dies entspricht einem Unterschied von weniger als 0,21 mm bei 95% aller Meßwerte.

3.4. Labortechnisch erhobene Werte

3.4.1. CRP (klassische alte Meßmethode)

Der turbidimetrische Testkit (Tina-quant a CRP von Boehringer Mannheim) beruht auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests [72]. Der Test ist ein immunologischer Trübungstest, bei der die Probe zuerst mit dem Puffer (R1) versetzt wird. Durch die Zugabe eines CRP-Antikörper/Puffer Gemisches (R2) wird die Reaktion gestartet.

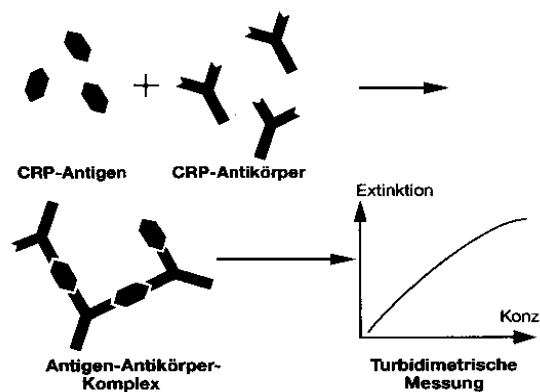


Abb. 8: Prinzip des Agglutinationstest

Die CRP-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe und bilden einen Antigen-Antikörper-Komplex. Dieser kann nach der Agglutination turbidimetrisch gemessen werden. Einen schnelleren Endpunkt der Reaktion erreicht man hierbei durch die Zugabe von Polyethylenglykol, welches die Empfindlichkeit erhöht und das Risiko verringert, bei Proben mit Antigenüberschuß falsch negative Werte zu messen.

Gemessen wird mit dem Analyseautomaten: BM/Hitachi 704/902.

Der Referenzbereich liegt bei Boehringer Mannheim $< 5,0 \text{ mg/l}$, bei IFCC / CRM 470 (gemäß CRM 470 Protein-Standardisierung) ebenfalls $< 5,0 \text{ mg/l}$.

Die Reproduzierbarkeit wurde gemäß internationaler Richtlinien bestimmt und ergab eine Standardabweichung zwischen $0,3\text{-}0,6 \text{ mg/l}$ in der Serie und $1,2\text{-}1,5 \text{ mg/l}$ an verschiedenen Tagen.

Sensitivität: Die analytische Nachweisgrenze liegt bei 3 mg / l und entspricht der niedrigsten meßbaren CRP-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie wird aus drei Standardabweichungen von 21 Proben des niedrigsten Standards berechnet.

3.4.2. CRP_HS (hochsensitives CRP, neue Meßmethode)

Das Prinzip der Methode ist eine Agglutination der in dem Kit (N Latex CRP mono, Dade Behring Marburg GmbH, 35041 Marburg) enthaltenen Polystyrol-Partikel mit CRP enthaltenden Proben. Die Polystyrol-Partikel sind mit einem monoklonalen Antikörper gegen das CRP beladen. Bei der nun folgenden nephelometrischen Messung hängt die Intensität des Streulichtes im Nephelometer vom CRP-Gehalt der Probe ab. So ist der CRP-Gehalt der Probe nur durch den Vergleich mit Verdünnungen eines Standards bekannter Konzentration zu ermitteln.

Die Standardisierung der Bestimmung am Referenzpräparat ergibt im Vergleich zur bisherigen Standardisierung der Dade Behring Marburg GmbH eine identische CRP-Konzentration [73].

Das N Latex-CRP-mono-Reagenz besteht aus einer Suspension von Polystyrol-Partikeln, die mit einem monoklonalen Antikörper (Maus) gegen CRP beladen sind.

Als Untersuchungsmaterial kommen möglichst oder tiefgefroren gelagerte Serum- oder Heparin- und EDTA-Plasmaproben in Frage. Die Probengewinnung erfolgt mit der üblichen Technik der Venenpunktion. Die Probe sollte innerhalb 60min. von Gerinnseln und festen Partikeln gereinigt werden und muß vollständig geronnen sein. Stark lipämische Proben oder eingefrorene, die nach dem Auftauen trüb werden, müssen durch Zentrifugation vor der Bestimmung geklärt werden. Stark lipämische Proben, die nicht zu klären sind, müssen von der für CRP spezifischen Bestimmung ausgeschlossen werden.

Eine Wärmeinaktivierung der Proben sollte man vermeiden (zu niedrige CRP-Werte), Komplementfaktoren hingegen stören nicht.

Alle zur Vorbereitung und Messung erforderlichen Schritte erfolgen automatisch im Zentrallabor.

Der Referenzbereich für Gesunde, nicht schwangerer Erwachsener liegt für CRP-Serum bei $\leq 5 \text{ mg/l}$ [74].

Sensitivität : Die geringste noch meßbare Konzentration beträgt $0,175 \text{ mg/l}$ (gegenüber 3 mg/l bei der alten CRP-Bestimmung) und ist eine typische Nachweisgrenze bei Messung aus einer minimalen Probenverdünnung von 1:20.

Richtigkeit: Zum Methodenvergleich wurde ein Panel von 71 Seren (CRP-Konzentration bis ca. 500 mg/l) mit dem N-Latex-CRP-mono-Reagenz (y) und dem N-Latex-CRP-Kit (x) gemessen. Der Vergleich der Ergebnisse durch die Regressionsanalyse [75] ergab folgende Ausgleichsgerade:

$$y = 0,95 x + 1,43 \text{ (mg/l)}.$$

Diese angegebenen Werte stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikationen für die N-Latex-CRP-mono-Bestimmung anzusehen.

3.4.3. sICAM-1

Die Konzentration des sICAM-1 wird mit Hilfe eines immunenzymometrischen Verfahrens, dem R&D Systems' sICQAM-1 assay (R&D Systems GmbH, 65205 Wiesbaden) bestimmt. Das sICAM-1 reagiert hierbei mit zwei Antikörpern, die gegen verschiedene Epitope des sICAM-1 Moleküls gerichtet sind. Einer der beiden Antikörper haftet an den Wänden der Mikrotiterschächte, der andere ist mit dem Enzym Meerrettich-Peroxidase (HRP=Horseradish peroxidase) konjugiert. Das anwesende sICAM-1 bildet eine Brücke zwischen den beiden Antikörpern aus.

Die Menge des an den Schacht gebundenen Konjugates wird durch eine Reaktion mit einem Substrat bestimmt.

Dieses Substrat ist spezifisch für ein Enzym, das ein farbiges, photometrisch meßbares Reaktionsprodukt bildet, welches proportional zur Menge des Konjugates und somit der Menge von sICAM-1 in der Probe ist [76].

Was die Serum- bzw. Plasmagewinnung anbelangt, siehe unter CRP_HS.

Auch bei der Bestimmung der sICAM-1 Werte sind Ergebnisse nur durch einen Vergleich mit den industriellen Standards mit vorgegebenen Konzentrationen möglich.

Die Ergebnisse errechnen sich folgendermaßen: Man erstellt eine Standardkurve indem man für jede Standardkonzentration die Werte der mittleren Absorption auf der y-Achse gegen die Konzentration auf der x-Achse aufträgt. Nun zeichnet man eine Näherungskurve durch die Punkte des Diagramms oder benutzt alternativ eine entsprechende Routine (z.B. 5PL).

Die sICAM-1 Konzentrationen der unbekanntenen Proben lassen sich korrespondierend zu der mittleren Absorption der Standardkurve errechnen.

Um den exakten Wert zu erhalten, muß die Konzentration noch mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

Intra-assay-Precision: Vier Serumproben wurden auf 10 Portionen verteilt, um die Präzision innerhalb eines Versuchs zu ermitteln.

Inter-assay-Precision: Vier Serumproben wurden in jeweils 18 Portionen verteilt und durch vier Untersucher untersucht, um die Präzision zwischen den Versuchen zu ermitteln.

Sample	Intra-assay Precision				Inter-assay Precision			
	1	2	3	4	1	2	3	4
n	10	10	10	10	18	18	18	18
Mean (ng/mL)	66.1	125.9	280.6	475.5	64.2	117.3	290.0	452.9
CV(%)	4.8	4.8	3.3	4.6	10.1	7.4	6.0	6.1

Abb.9: Präzision innerhalb eines bzw. zwischen den Versuchen

Nachweis von Verlusten:

Serum specimens were spiked with recombinant sICAM-1 at three levels.

sICAM-1 added (ng/mL)	Number of sera	Mean % sICAM-1 recovered
86.4	5	95.4%
181.5	5	92.4%
370.4	5	93.8%

Culture fluid specimens were spiked with recombinant sICAM-1 at three levels.

sICAM-1 added (ng/mL)	Number of culture fluids	Mean % sICAM-1 recovered
86.4	4	97.8%
181.5	4	104.2%
370.4	4	100.4%

Abb.10: Serumproben bzw. gelöste Kulturen wurden mit rekombinantem sICAM-1 in drei Stufen versetzt

Sensitivität:

Die Sensitivität beträgt weniger als 0,35 ng/ml. Sie wurde ermittelt als die Konzentration, die zwei Standardabweichungen über dem mittleren Nullstandard liegt. Dies entspricht einer Probensensitivität von 7 ng/ml, wenn die Probe im Verhältnis von 1:20 verdünnt ist.

Linearität:

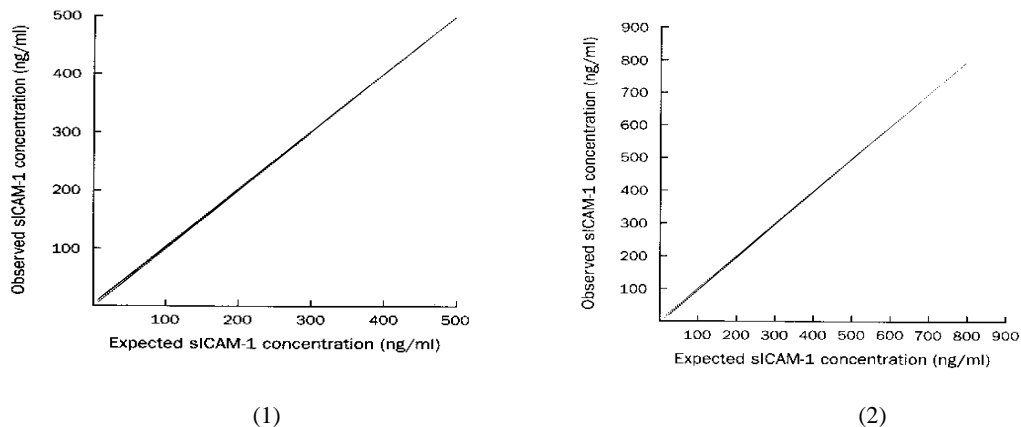


Abb.11: Fünf Proben (1) und vier in Flüssigkeit gelöste Gewebekulturen (2) wurden in Serien-Zweistufen-Verdünnung untersucht.

Spezifität:

Dieser Kit erkennt sowohl rekombinantes, als auch humanes sICAM-1. Es wurden keine Kreuzreaktionen mit natürlichem humanem IgG, sVCAM-1 oder löslichem E-Selectin beobachtet.

Erwartete Werte:

Eine Reihe von 131 Seren gesunder weiblicher und männlicher Spender wurde auf die sICAM-1 Konzentration untersucht:

Mittel: 210,6 ng/ml \pm 2 SD: 114,7 - 306,4 ng/ml

3.4.4. Weitere Parameter

Die Blutglucosespiegel wurden wie oben erwähnt im Rahmen eines oralen Glucose-Toleranz-Tests ermittelt [53]. Hierbei wird eine Venenverweilkanüle in die Ellenbeuge gelegt und nach einer Eingangsblutentnahme eine standardisierte Glucoselösung (40g Glucose/m² Körperoberfläche in 300ml Flüssigkeit) zu trinken gegeben. Nach jeweils 15, 30, 60, 90 und 120min. wird aus der liegenden Kanüle erneut Blut abgenommen und anschließend der Blut- sowie der Insulinspiegel bestimmt. Insgesamt werden so ca. 140ml Blut entnommen.

Die eigentliche Bestimmung der Blutglucose erfolgte mit der HemoCue[®] Blutglucose Methode (HemoCue AB, Box 1204, S-26223, Ängelholm, Schweden).

Die Insulinwerte wurden mit Hilfe des Abbott IMx[®] Insulin - Tests ermittelt (ABBOTT, Max-Planck-Ring 2, 65205 Wiesbaden). Hierbei handelt es sich um ein MEIA (Mikropartikel-Enzymimmunoassay) zur quantitativen Bestimmung von humanem Insulin in Humanserum und Humanplasma (EDTA und Heparin).

HbA1c, Cholesterin, Triglyceride, HDL und LDL wurden nach den üblichen Methoden in unserem Zentrallabor bestimmt.

Auch in puncto Korrelation von kardiovaskulären Erkrankungen mit Endothelfunktion und Lipiden (v.a. Cholesterin) gibt es mittlerweile Arbeiten die sich dieses Zusammenhangs angenommen haben [78,79]. Folglich war natürlich auch für uns wichtig, diese Werte zu erheben.

4. Ergebnisse

4.1. Statistisches Verfahren:

Zur Ergebnisanalyse kam die Software SAS für Windows in der Version 6.11 zur Anwendung. Um die Mittelwerte kontinuierlicher Variablen zu ermitteln, wurde der t-Test, bei den qualitativen Variablen der χ^2 angewendet.

Den Vergleich der kontinuierlichen, normal verteilten Variablen führten wir mit Hilfe einer Varianzanalyse, den der nicht normal verteilten mit einem Kruskal-Wallis-Test durch. Korrelationen wurden mit einer Ranganalyse nach Spearman errechnet.

Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0.05$ festgelegt. Die Angaben der Ergebnisse erfolgen in Mittelwerten \pm Standardabweichung (SD), sowie standard error of the mean (SEM).

4.2. Probanden:

Die Ergebnisse beruhen auf insgesamt 94 Probanden. Von jeweils 31 Frauen und 31 Männern war der Datensatz vollständig. Bei den restlichen Probanden konnten nicht alle Parameter komplettiert werden. Die statistischen Auswertungen wurden jeweils mit den zur Verfügung stehenden Werten durchgeführt.

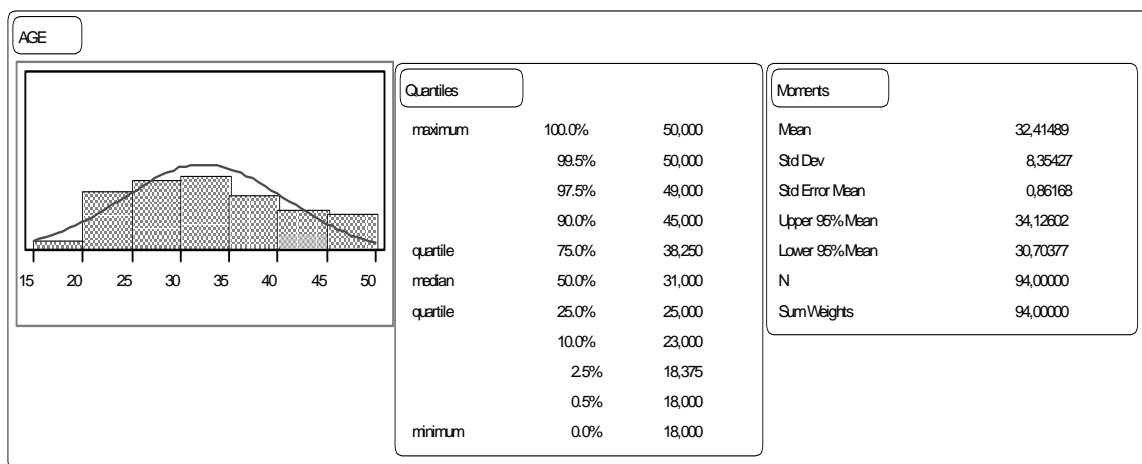


Abb.12: Alter

4.2.1. Alter

Die teilnehmenden Probanden hatten im Mittel ein Alter von 32,4 Jahren bei einer SD von $\pm 8,35$ Jahren und einem SEM von 0,86 Jahren.

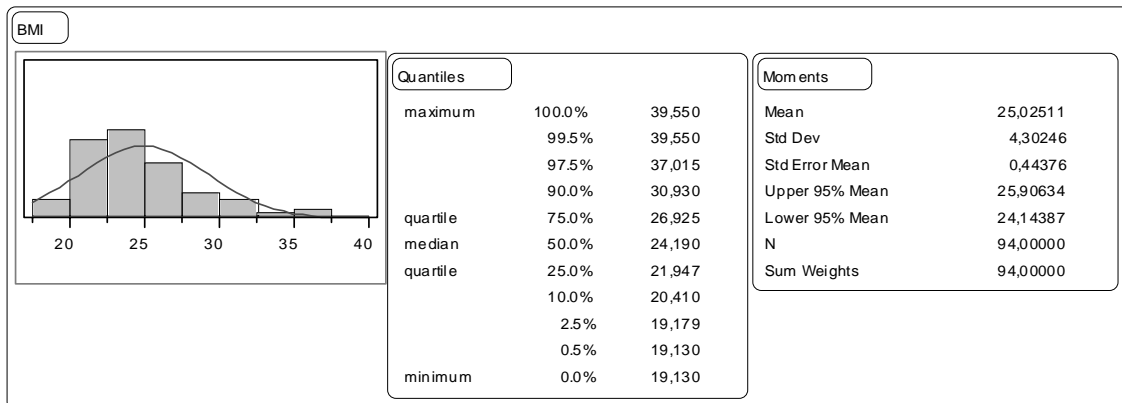


Abb.13: Body-Mass-Index (BMI)

4.2.2. Body-Mass-Index

Der Body-Mass-Index betrug bei den Probanden im Mittel 25 kg/m^2 bei einer SD von $\pm 4,3 \text{ kg/m}^2$ und einem SEM von $0,44 \text{ kg/m}^2$

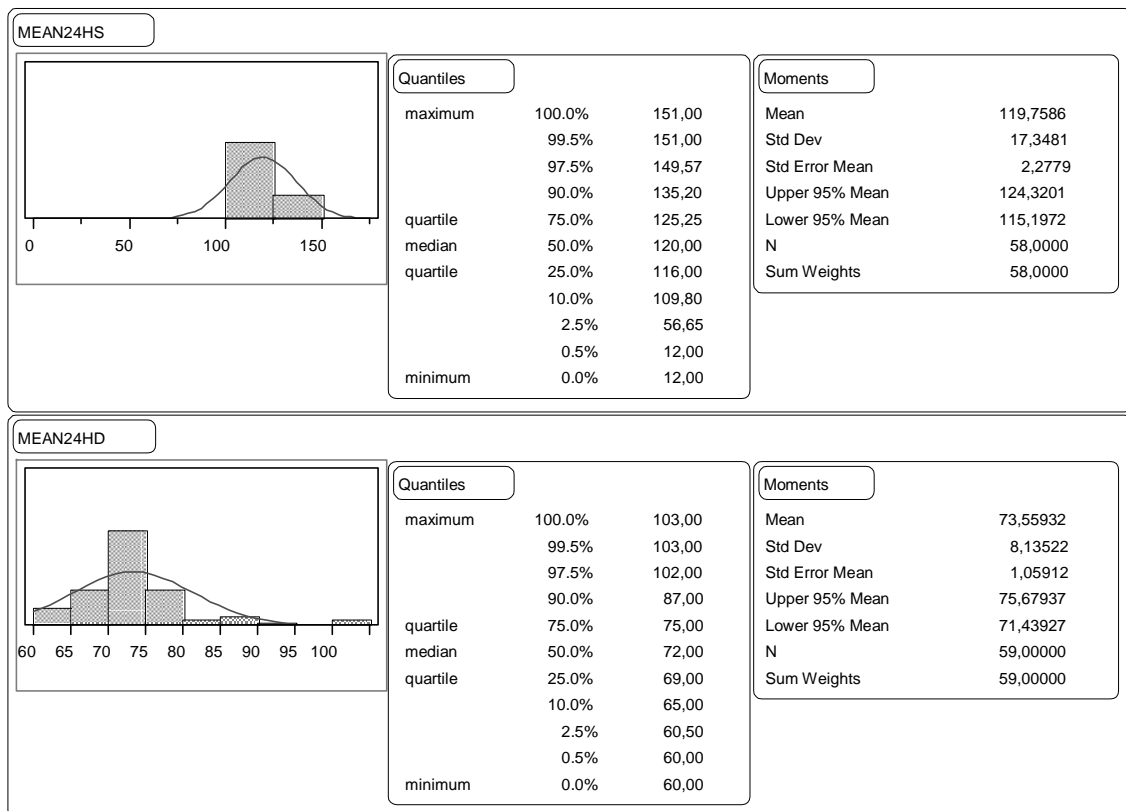


Abb.14: Blutdruck

MEAN24HS = systolischer mittlerer RR über 24 Stunden.

MEAN24HD = diastolischer mittlerer RR über 24 Stunden

4.2.3. Blutdruckmessung über 24 Stunden

Wir führten eine 24 stündige RR-Messung durch.

Hierbei ergab sich ein mittlerer systolischer Wert von 120 mmHg, $SD \pm 17,34$ mmHg und einem SEM von 2,28 mmHg.

Der mittlere diastolische Wert betrug 74 mmHg, $SD \pm 8,14$ mmHg und einem SEM von 1,06 mmHg.

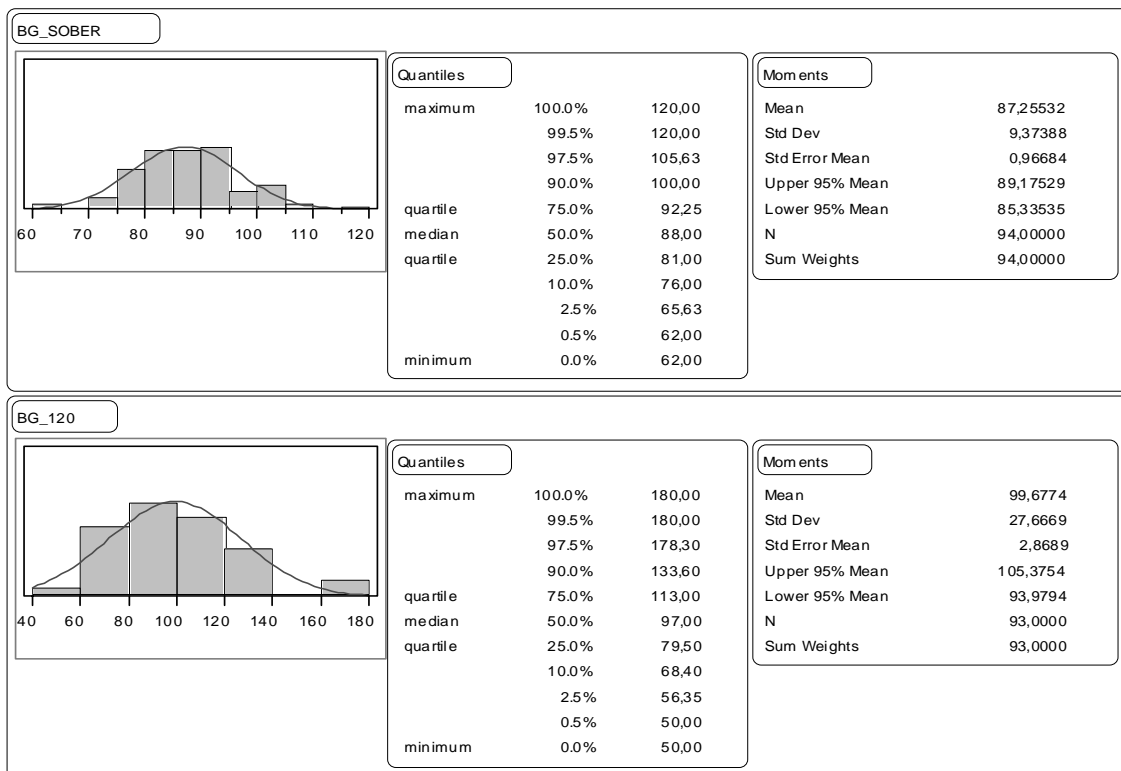


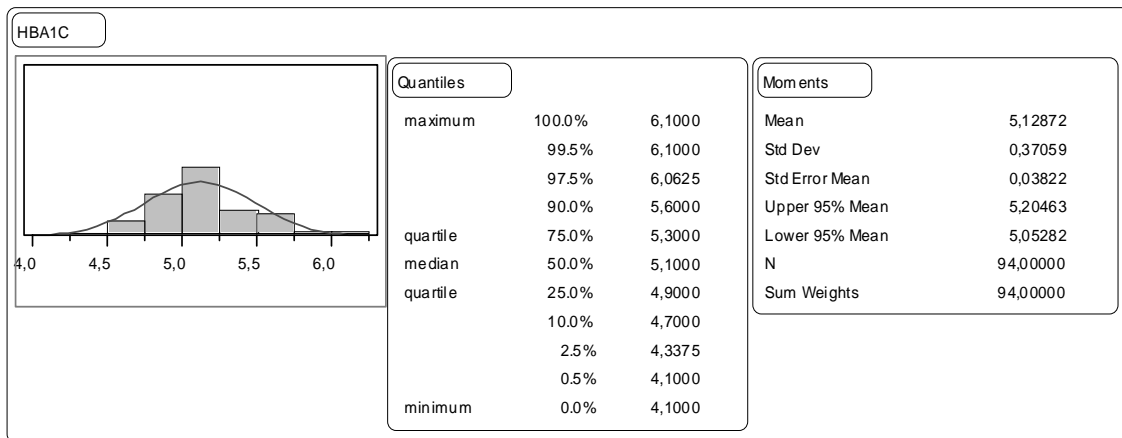
Abb.15: Nüchtern sowie 2 Std. nach Glucosegabe gemessener Blutzucker
 BG_SOBER = Nüchternblutzucker, BG_120 = Blutzucker nach 2 Stunden

4.2.4. Blutzucker

Die Bestimmung des Blutzuckers erfolgte einmal nüchtern (BG_SOBER) und anschließend zwei Stunden nach Glucosegabe (BG_120).

BG_SOBER betrug im Mittel 87 mg/dl, $SD \pm 9,37$ mg/dl und SEM 0,97 mg/dl.

BG_120 betrug im Mittel 100 mg/dl, $SD \pm 27,67$ und SEM 2,87 mg/dl.

Abb.16: HbA_{1c}4.2.5. HbA_{1c}

Als Langzeitparameter der Glucosestoffwechsellage wurde HbA_{1c} bestimmt.

Der Mittelwert betrug bei unseren Probanden 5,13 % bei einer SD von $\pm 0,37$ % und einem SEM von 0,04 %.

Die Cholesterinwerte sowie die Triglyceride und HDL wurden in mg/dl, LDL in mmol/l berechnet und anschließend in mg/dl umgerechnet. (Umrechnungsfaktor siehe bei: DGFF e.V. / Lipid-Liga e.V. „Ärztlicher Beratungsdienst“, Waldklausenweg 20, 81377 München)

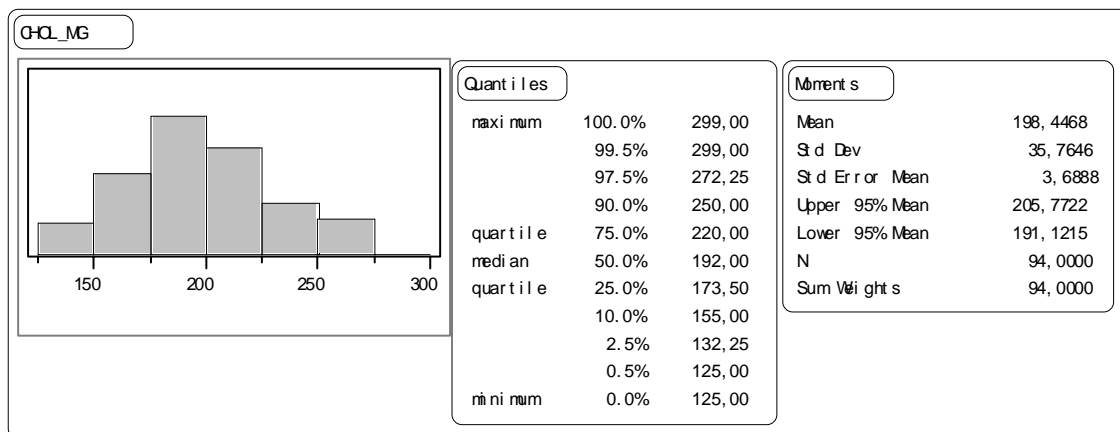


Abb.17: Cholesterin

4.2.6. Cholesterin

Wir bestimmten das Cholesterin in mg/dl.

Dabei ergab sich ein Mittelwert von 198 mg/dl, $SD \pm 35,8$ mg/dl

und ein SEM von 3,7 mg/dl.

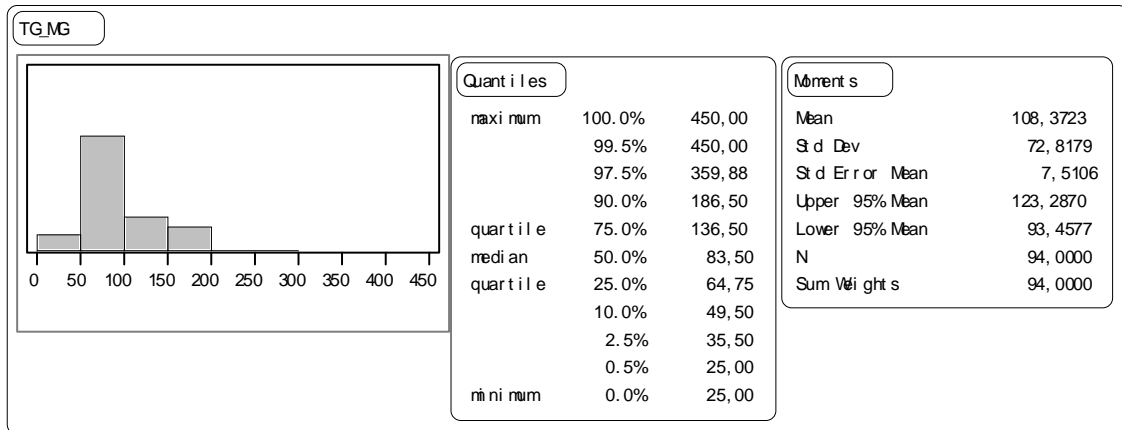


Abb. 18: Triglyceride

4.2.7. Triglyceride

Wir bestimmten die Triglyceride. Die Auswertung ergab einen Mittelwert von 108,4 mg/dl, $SD \pm 72,8$ mg/dl und einen SEM von 7,5 mg/dl.

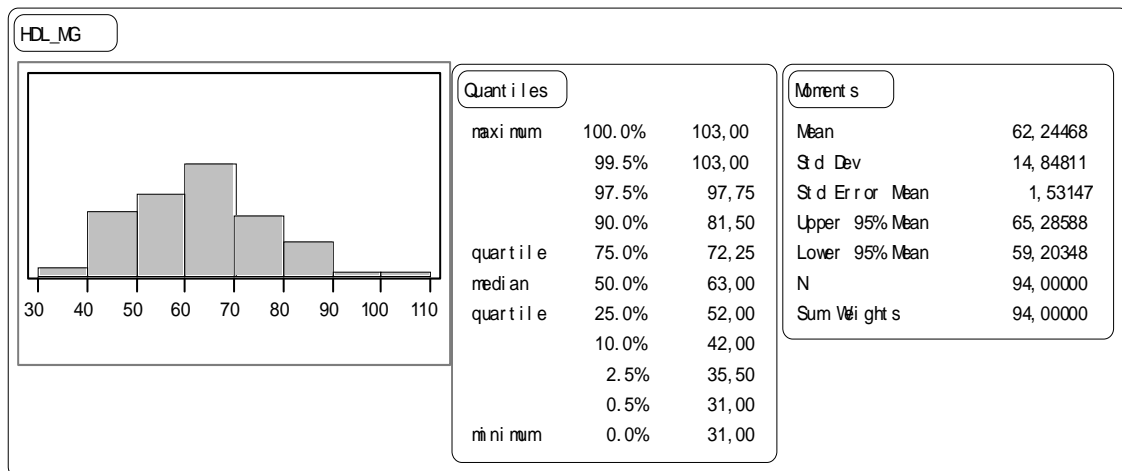


Abb. 19: HDL-Cholesterin

4.2.8. HDL

Die Angabe der HDL-Cholesterinwerte erfolgt in mg/dl.

Der Mittelwert des HDL betrug 62,2 mg/dl bei einer SD von $\pm 14,8$ mg/dl und einem SEM von 1,5 mg/dl.

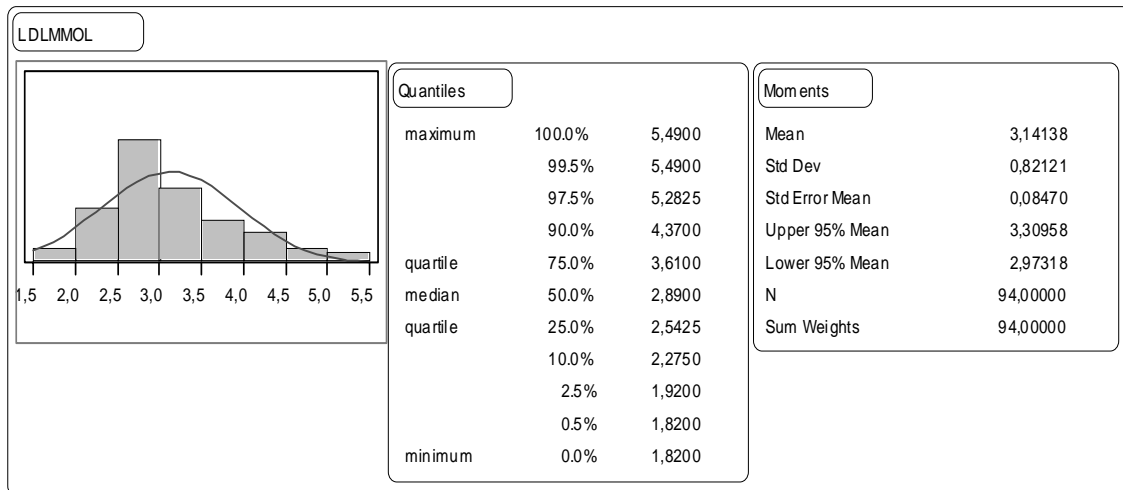


Abb. 20: LDL-Cholesterin

4.2.9. LDL

Aufgrund der verwendeten Analysegeräte wurde das LDL-Cholesterin zunächst in mmol/l erhoben und im Anschluß in mg/dl umgerechnet.

Bei einem Referenzbereich $< 4,1$ mmol/l bzw. < 160 mg/dl ermittelten wir einen Mittelwert von $3,14$ mmol/l (SD: $\pm 0,82$ mmol/l) bzw. $121,48$ mg/dl (SD: $\pm 31,76$ mg/dl) mit einem SEM von $0,08$ mmol/l bzw. $3,28$ mg/dl.

4.3. Sonographische Ergebnisse:

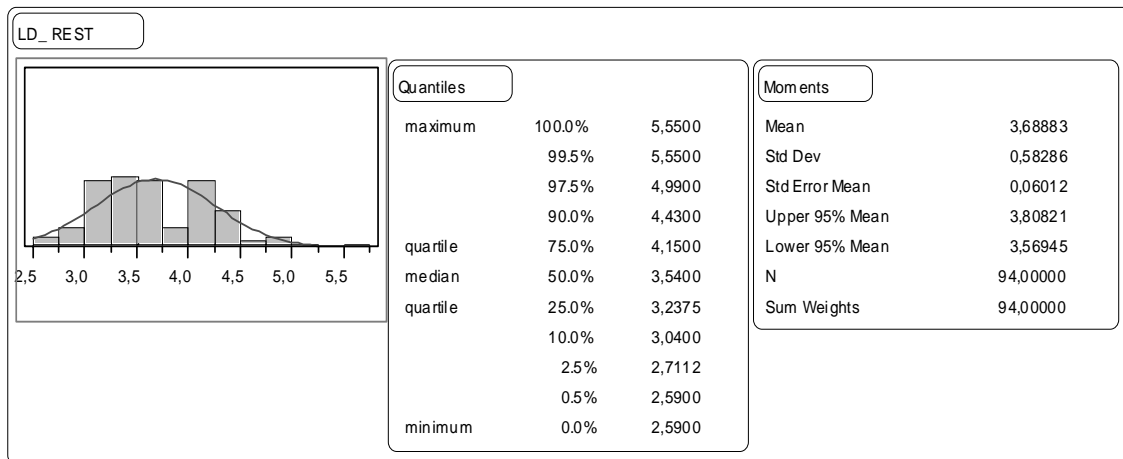


Abb. 21: Lumendiameter der A. brachialis

4.3.1. Lumendiameter in Ruhe

Der sonographisch in Ruhe und entspanntem Zustand gemessene Durchmesser des Gefäßlumens der A.brachialis betrug im Mittel 3,7mm, SD \pm 0,58mm und SEM 0,06mm.

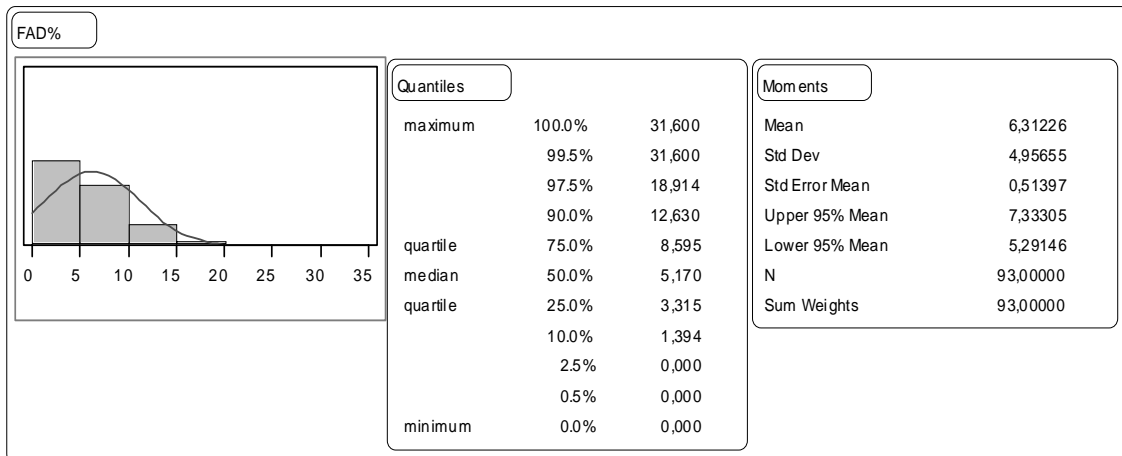


Abb. 22: FAD%: Fluß-assozierte Dilatation

4.3.2. Die Fluß-assozierte Dilatation (FAD)

Nach vierminütiger Stauung des Oberarmes $\geq 200\text{mmHg}$ betrug die, durch Scherkräfte an der Gefäßwand induzierte, mittlere FAD 6,3% bei einer SD $\pm 4,96\%$ und SEM 0,5%.

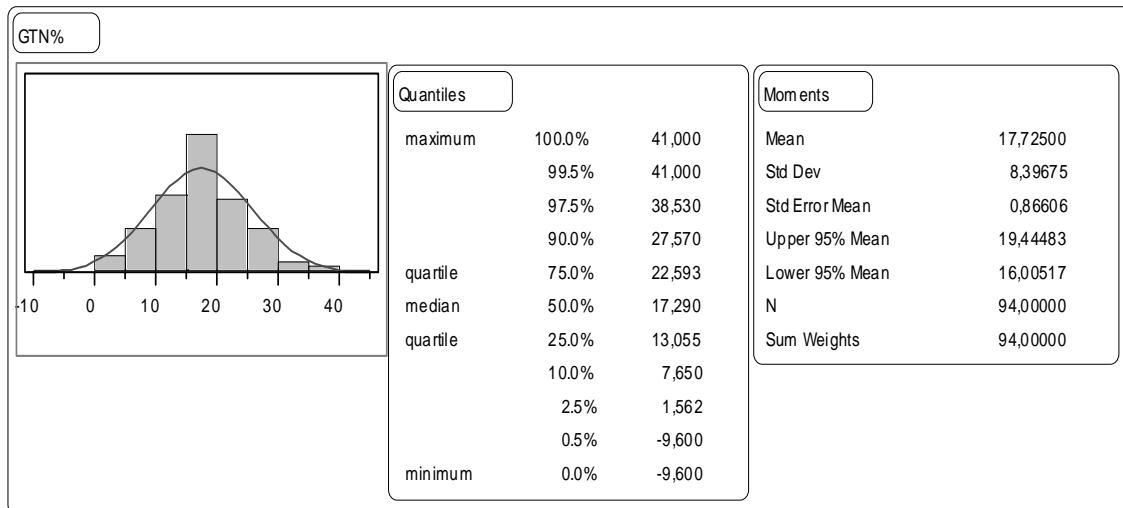


Abb.23 : GTN%: Dilatation nach Gabe von Glyceroltrinitrat

4.3.3. Dilatation nach Gabe von Glyceroltrinitrat (GTN%)

Als Positivprobe wurde nach Gabe von einem Hub Glyceroltrinitrat die Dilatation erneut gemessen (GTN%). Durchschnittlich betrug die GTN% 17,7% bei einer $SD \pm 8,40\%$ und $SEM 0,87\%$.

4.4. Entzündungsparameter:

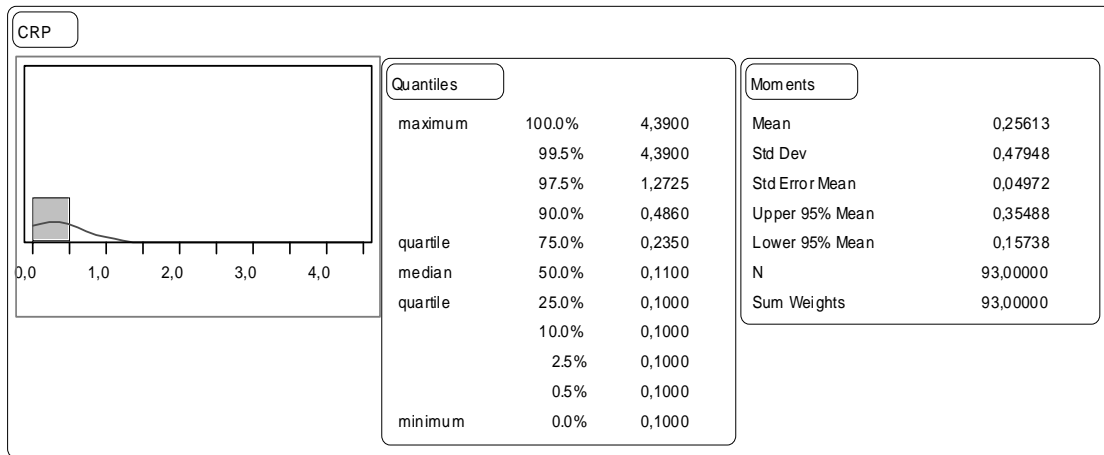


Abb. 24: CRP: C-reaktives Protein

4.4.1. CRP

Das C-reaktive Protein betrug im Durchschnitt 0,26 mg/dl mit einer SD \pm 0,48 mg/dl und einem SEM 0,05 mg/dl.

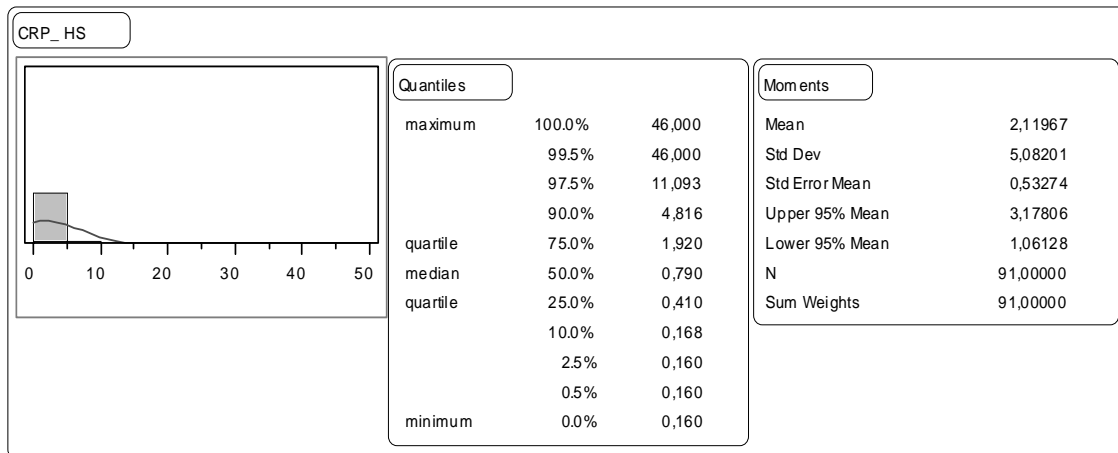


Abb. 25: CRP_HS: Hochsensitives CRP

4.4.2. CRP_HS

Die Meßergebnisse des hochsensitiven CRP ergaben durchschnittlich 2,12 mg/dl. Die SD betrug $\pm 5,08$ mg/dl, der SEM 0,53 mg/dl.

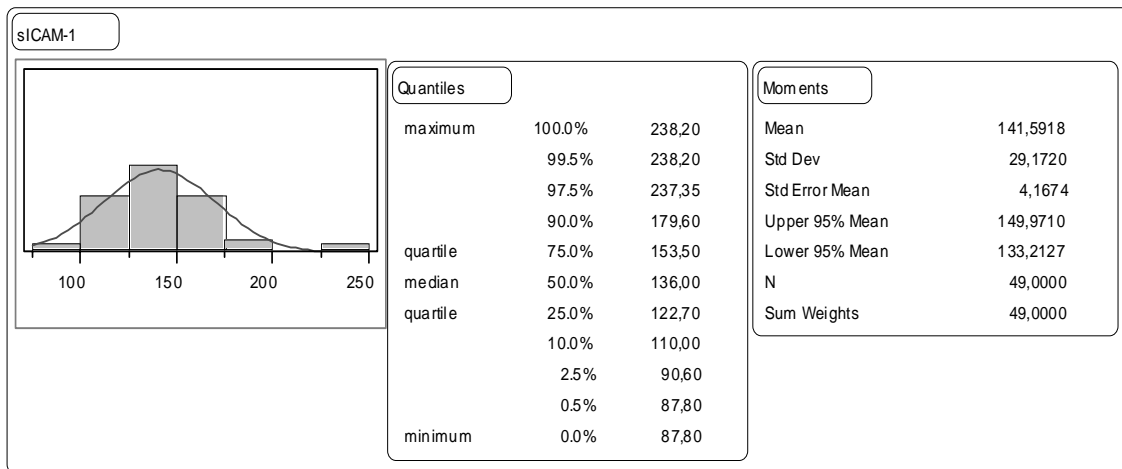


Abb. 26: sICAM-1: Lösliches Interzelluläres Adhäsionsmolekül

4.4.3. sICAM-1

Die Konzentration des löslichen Interzellulären Adhäsionsmoleküls betragen im Mittel 141,6 ng/ml, SD \pm 29,2 ng/ml und der SEM 4,2 ng/ml.

4.5. Ergebnis der CLAMP-Untersuchung:

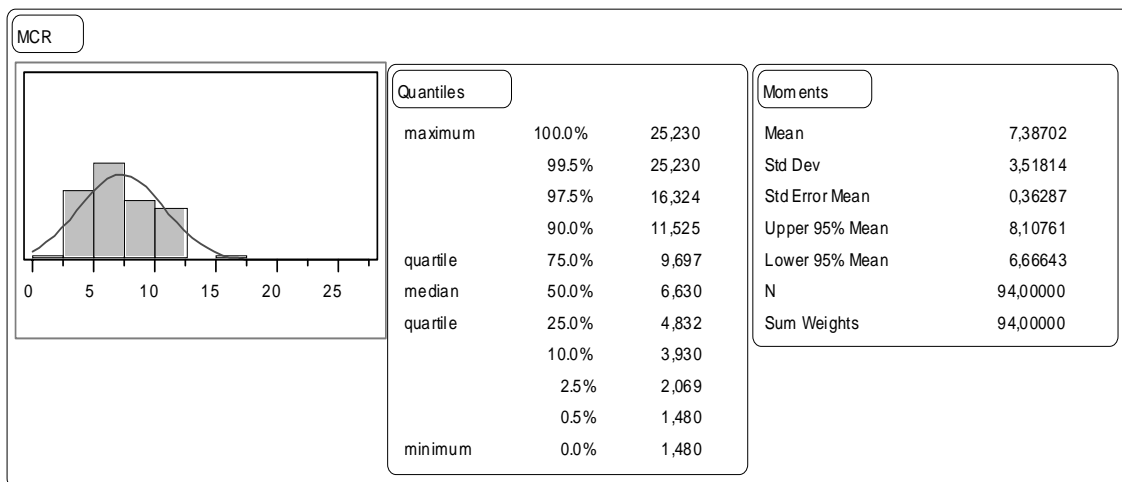


Abb.: 27: MCR: Glucose-Verschwinderate (Metabolic Clearance Rate)

4.5.1. Metabolic Clearance Rate (MCR)

Während der CLAMP-Untersuchung wurde die MCR bestimmt.

Diese betrug bei den Probanden im Mittel $7,4 \text{ ml/kg min}^{-1}$.

$SD \pm 3,5 \text{ ml/kg min}^{-1}$,

$SEM 0,36 \text{ ml/kg min}^{-1}$.

4.6. Korrelationen:

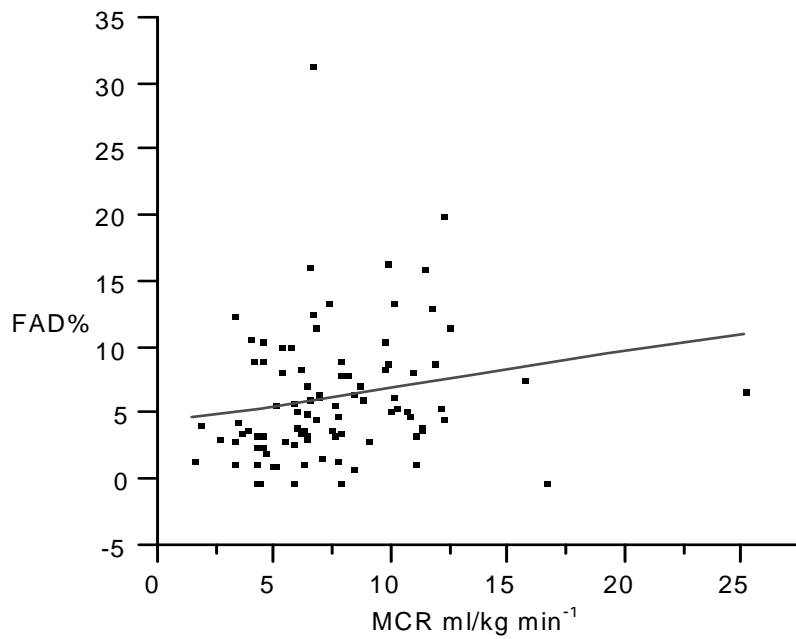


Abb. 28: Korrelation zwischen FAD% und MCR.

4.6.1. FAD % zu MCR

Die periphere Endothelfunktion (FAD%) korreliert positiv mit der Insulinsensitivität ($R= 0,31$; $p= 0,0025$), ausgedrückt als Metabolic Clearance Rate (MCR).

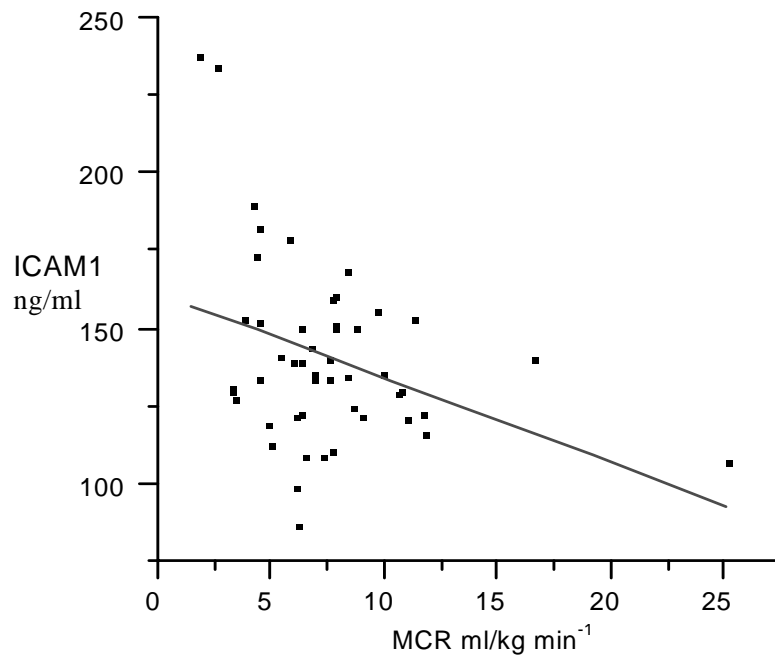


Abb. 29: Korrelation zwischen sICAM1 und MCR.

4.6.2. sICAM-1 zu MCR

Zwischen sICAM1 und MCR besteht tendenziell eine negative Korrelation:

($R = -0,25$; $p = 0,085$)

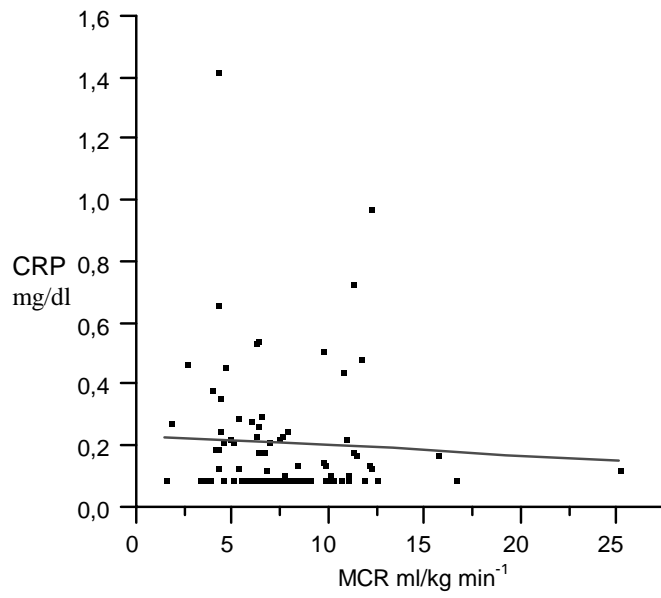


Abb. 30: Korrelation zwischen CRP und MCR

4.6.3. CRP zu MCR

CRP korreliert nicht mit MCR: ($p= 0,61$)

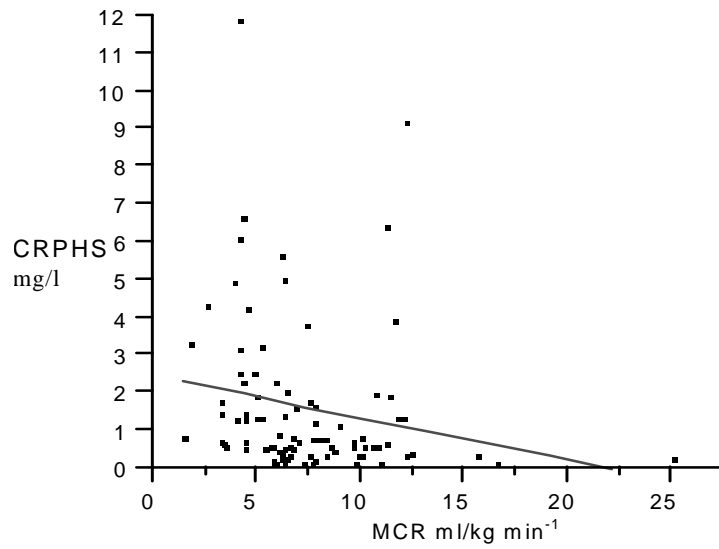


Abb. 31: Korrelation zwischen CRP_HS und MCR

4.6.4. CRP_HS zu MCR

CRP_HS korreliert eindeutig negativ mit MCR: ($R = -0,34$; $p = 0,001$)

5. Diskussion

5.1. Überblick

Die Manifestation des Typ-2-Diabetes ist ein schleichender Prozeß. Vor der Erkrankung an einem Diabetes mellitus Typ-2 steht der Prädiabetes. Prädiabetes ist gekennzeichnet durch eine erhöhte Insulinresistenz, was sich in einer Abnahme der Metabolic Clearance Rate (MCR) widerspiegelt [50,51,57]. Bestimmen läßt sich die MCR durch einen euglykämischen hyperinsulinämischen Clamp. Diese Methode gibt darüber Aufschluß, wieviel Glucose der Organismus mit einer zuvor definierten Menge an Insulin in die Zellen transportieren kann. Mit anderen Worten: Von welcher Menge Glucose kann das Blut in einer vorgegebenen Zeit durch eine vorgegebene konstante Insulinmenge geklärt werden. Der Clamp gilt als Goldstandard zur Bestimmung der Insulinsensitivität [53].

Diabetiker sterben vor allem an den kardiovaskulären Folgeerkrankungen, welche durch den Diabetes ausgelöst werden [52]. Am Anfang dieses kardiovaskulären Endpunkts steht die Atherosklerose, deren Genese multifaktoriell ist [2,9].

Die endotheliale Dysfunktion scheint eine frühe funktionelle Störung der Atherosklerose zu sein [54].

Wie in der TREND-Studie gezeigt, ist sie reversibel und tritt schon zu einem Zeitpunkt auf, an welchem die Person noch völlig symptomfrei, bzw. nach klinischen Kriterien noch gesund ist [58]. Die endotheliale Dysfunktion äußert sich in einer sonographisch meßbaren Abnahme der Dilatationsfähigkeit des Gefäßes, sowie in einer Vergrößerung des Lumendiameters (LD) [59].

Bei Persistenz von einwirkenden Risikofaktoren kommt es neben der endothelialen Dysfunktion auch zu einer Verdickung des Intima-Media-Komplexes (Intima-Media-Thickness = IMT) [60,61].

Diese stellt neben einer verdickten Basalmembran in der Niere das derzeit früheste morphologische Korrelat für Atherosklerose dar und ist bei Diabetikern früh diagnostizierbar [61,63].

Darüber hinaus beginnt man in letzter Zeit Atherosklerose zunehmend als chronische, subklinische systemische Entzündungsreaktion des arteriellen Gefäßsystems zu verstehen [27,67]. Entzündliche Vorgänge in der Gefäßwand fördern indirekt die Plaquentstehung, welche zur Gefäßverengung und schließlich zum Verschuß führt. Entzündungsparameter wie z.B. CRP, CRP_HS, sICAM-1, etc. lassen sich heute mittels kommerziell erhältlicher Kits einfach bestimmen. Die Frage ist, ob bereits in einem prä-atherosklerotischen Stadium vermehrte Entzündungszeichen gefunden werden können [68,80].

5.2. Vorgehensweise und Ziel unserer Arbeit

Wir untersuchten 94 gesunde Nachkommen von Typ-2-Diabetikern auf eine bestehende endotheliale Dysfunktion, Insulinresistenz und Veränderungen bestimmter laborchemischer Entzündungsmarker wie CRP, CRP_HS und sICAM-1. Dahinter steckt die Überlegung, ob Prädiabetiker mit verminderter MCR auch bereits prä-atherosklerotische Veränderungen haben (verminderte FAD%, erhöhtes CRP_HS oder sICAM-1), bzw. ob sich daraus bei potentiellen Patienten wie den Prädiabetikern ein System zur Früherkennung der Atherosklerose entwickeln läßt, z.B. durch die Kombination von FAD% + CRP_HS oder FAD% + sICAM-1.

Ziel dieser Studie war, bei Nachkommen von Typ-2-Diabetikern, vor dem Hintergrund der Insulinresistenz, Assoziationen aufzudecken, zwischen der endothelialen Dysfunktion und den molekularen Markern der chronischen Entzündung.

5.3. Probanden

Ohne signifikante Unterschiede waren die Probanden in puncto Alters- und Geschlechtsverteilung, Größe, Gewicht, BMI, Blutdruck, der Cholesterinfraktionen sowie der Triglyceride und des Lumendiameters in Ruhe vergleichbar.

Diese Gegebenheiten waren auch eine unabdingbare Voraussetzung zur Durchführung bzw. Teilnahme an der Studie, da pathologische Werte als Ausschlußkriterium gewertet wurden.

5.4. Korrelation zwischen MCR und der Endothelfunktion

Insulinresistenz ist als reduzierte insulinstimulierte Gesamtkörper-Glucoseaufnahme definiert, wie sie z.B. mittels Glucose-Clamp-Technik gemessen werden kann. Da in der dieser Methode überwiegend die Aufnahme und Speicherung von Glucose in die Skelettmuskulatur eingeht, wird häufig angenommen, dass der Insulinresistenz ein muskelspezifischer Defekt zugrunde liegt. Allerdings manifestiert sie sich auch an Leber, Fettgewebe und Niere sowie im Zusammenhang mit Muskelperfusion, Antilipolyse, Lipoproteinlipase-Aktivität, Apoptose und Kationentransport [103].

Wir konnten eine geringe aber signifikant positive Korrelation zwischen der Insulinresistenz, ausgedrückt als MCR und der Endothelfunktion, ausgedrückt als FAD% nachweisen ($p = 0,0025$, $R=0,31$).

Daß das Ergebnis von GTN% gegenüber FAD% deutlich höher ausfällt, ist dadurch zu begründen, daß es sich bei Glyceroltrinitrat um eine Art positive Kontrollprobe handelt, bei welcher der Vasodilatator NO quasi in Reinform appliziert wird.

Die bei der NO-Gabe applizierte Menge an NO wird außerdem vermutlich deutlich größer sein, als diejenige, die bei der FAD freigesetzt wird [4,11].

Damit liegen die Ausgangswerte für FAD% im gleichen Bereich wie sie auch beispielsweise Enderle oder Celermajer gefunden haben [4,69]. Die Werte für MCR decken sich ebenfalls mit denen der Literatur [55].

Personen mit einer verminderten Endothelfunktion bzw. endothelialen Dysfunktion sind signifikant häufiger insulinresistent. Dieses Ergebnis paßt zu denen von Haffner et al, der atherosklerotische Veränderungen im prädiabetischen Status in erster Linie bei Insulinresistenten gefunden hat [57]. Auch Balletshofer beschreibt die Assoziation zwischen einer Endothelschädigung und der Insulinresistenz bei jungen, gesunden erstgradigen Verwandten von Typ-2-Diabetikern [50].

Rett erklärt in seiner Arbeit wie auf zellulärer Ebene überschüssiges Insulin die Atherogenese in mehrerer Hinsicht beeinflusst.

So interagiert Insulin mit Zytokinen und Wachstumsfaktoren in der Kommunikation zwischen Gefäßwandzellen und einer Vielzahl von Mediatoren. Endothelfunktion und Insulinwirkung interagieren wechselseitig und frühzeitig [50]. Auf glatte Gefäßmuskelzellen wirkt Insulin als spezifischer Wachstumsfaktor und stimuliert andererseits die Genexpression des Angiotensin-II-Typ-1-(AT₁-)Rezeptors, wodurch Gefäßwandhypertrophie und Vasokonstriktion gefördert werden [103].

5.5. Korrelationen zwischen MCR und molekularen Entzündungsmarkern

Die Zusammenhänge zwischen den biochemischen/molekularen Entzündungsmarkern und der Insulinresistenz waren uneinheitlicher:

MCR vs. sICAM-1:

Vergleicht man bei den Probanden die Werte des Adhäsionsmoleküls sICAM-1 mit denen der Insulinresistenz (MCR), zeigt sich lediglich ein Trend für eine negative Korrelation ($R = -0,25$, $p = 0,085$). Personen mit einer Insulinresistenz haben in unserer Studie tendenziell erhöhte sICAM-1 Werte. Daraus läßt sich folgern, daß erhöhte sICAM-1 Werte bereits zu dem Zeitpunkt der präatherosklerotischen Veränderungen vorliegen. Dies ist vor allem vor dem Hintergrund der früheren Literatur interessant, die erhöhte sICAM-1 Werte bei manifesten atherosklerotischen Erkrankungen beschreibt [81].

Morisaki untersuchte 114 gesunde Personen, 112 mit Hypercholesterinämie und 38 mit einer KHK. Gesucht wurde nach einer signifikanten Assoziation zwischen sICAM-1 und der Entstehung von Atherosklerose. Alters- und geschlechtsunabhängig war sICAM-1 nur signifikant bei der KHK-Gruppe erhöht ($p < 0,001$). Bemerkenswert ist die Tatsache, daß mit dem Ausmaß der KHK auch das sICAM-1 ansteigt [81]. Dies könnte auch eine Erklärung dafür sein, daß bei unseren gesunden aber insulinresistenten Probanden die Erhöhung des sICAM-1 entsprechend gering ausgefallen ist, da eine manifeste atherosklerotische Erkrankung zu diesem Zeitpunkt noch nicht vorliegt.

Ceriello et al. untersuchten 25 Typ-2-Diabetiker noch ohne diabetische Folgeerkrankungen, die alle diätetisch und/oder mit oralen Antidiabetika eingestellt waren. Untersucht wurde initial und 3 Monate nach Optimierung der diabetischen Stoffwechsellage. Ceriello et al fanden eine signifikante Korrelation zwischen HbA1c und sICAM-1. Je besser dabei die Stoffwechselsituation war, desto niedriger waren die

Spiegel des sICAM-1. Unabhängig vom Vorhandensein angiopathischer Veränderungen finden sich zusätzlich erhöhte sICAM-1 Werte bei Typ-2-Diabetikern.

Ceriello et al schließen daraus auf einen Zusammenhang zwischen oxidativem Streß und abhängigem sICAM-1, sowohl bei Diabetikern als auch bei Gesunden und vermuten einen pathogenetischen Zusammenhang zu vaskulären Komplikationen bei Diabetikern [82]. Dieses Ergebnis der Arbeitsgruppe aus Italien liegt im Trend. Wir können es erweitern, indem wir die Verbindung zwischen sICAM-1 und der vaskulären Situation zu einem früheren Zeitpunkt, präatherosklerotisch, aufzeigen.

Zu ähnlichen Resultaten kommen die Gruppen um Cominacini und Fasching. Cominacini untersuchte ein Kollektiv von 31 Diabetikern (13 mit Typ-2), 10 mit Hyperlipoproteinämie und 20 gesunden Personen. Er fand sich eine signifikante Korrelation ($p < 0,01$) ausschließlich in der Gruppe der Typ-2-Diabetiker [95].

Ebenso verhält es sich bei Fasching, der 159 metabolisch stabile Typ-2-Diabetiker mit 71 gesunden Probanden verglich [98]. Hier gab es die gleiche deutliche Korrelation wie bei den anderen Arbeitsgruppen ($p < 0,001$). Fasching stützt unsere Hypothese einer wenn auch nur tendenziellen Korrelation zwischen sICAM-1 und der MCR mit der Erklärung, daß die hohe Zahl der klinisch stummen atherosklerotischen Läsionen bei Typ-2-Diabetikern ein Grund für den fehlenden Unterschied zwischen sICAM-1-Konzentrationen bei Patienten mit oder ohne Makroangiopathien sein könnten.

Damit schließt sich auch bei diesen zwei Arbeitsgruppen der Kreis zum Prädiabetiker mit klinisch stummen, aber bereits dennoch vorhandenen Gefäßschäden.

Weitere in letzter Zeit veröffentlichte Arbeiten bestätigen ebenfalls die positive Korrelation von sICAM-1 zu atherosklerotischen Gefäßschäden, wie cerebralen Insulten bei Diabetikern [99] oder zu hohen Blutglukosewerten [100].

Steiner hingegen findet keine signifikant erhöhten sICAM-1 Werte bei Diabetikern. Seine Arbeitsgruppe untersuchte 60 Typ-2-Diabetiker, die alle unter 60 Jahre alt waren [96].

Warum Steiner zu einem, von der sehr deutlichen Korrelation der anderen abweichenden, Ergebnis kommt, ist anhand unserer Datenlage nicht erklärbar. Vielleicht lagen unterschiedliche Laborbedingungen vor, oder es gab möglicherweise doch unbeabsichtigte Unterschiede im Kollektiv.

MCR vs. CRP / CRP_HS:

Das herkömmliche C-reaktive Protein (CRP) zur Erfassung von Entzündungsvorgängen bei Patienten korreliert nicht mit der MCR für die Insulinresistenz ($p = 0,61$), was eventuell durch die geringe Sensitivität der Methode erklärt werden könnte, da das hochsensitive CRP (CRP_HS) negativ zur Insulinresistenz (MCR) korreliert ($R = -0,34$, $p = 0,001$).

Die Literatur berichtet über eine starke unabhängige Assoziation zwischen CRP und kardiovaskulären Erkrankungen, unter anderem auch bei Diabetikern.

Fröhlich beschreibt kürzlich die signifikante CRP Erhöhung, abhängig von der Anzahl der Manifestationen des metabolischen Syndroms. Dabei fiel ihr auf, daß Personen mit D.m. deutlich höhere Werte hatten, als solche ohne einen D.m. Es gab eine direkte Abhängigkeit der Höhe des CRPs von der Insulinkonzentration [101].

Analog zu den Ergebnissen beim sICAM-1 lassen sich auch unsere Ergebnisse mit denen von Fröhlich erklären: Wenn die Höhe des CRP von der Insulinkonzentration abhängig ist, kann beim Prädiabetiker die CRP Konzentration in einer entsprechend geringen Größe erhöht sein, welche durch die unsensitive Bestimmungsmethode nicht erfaßt werden kann.

Diese Hypothese wird durch unsere Ergebnisse des CRP_HS untermauert.

Bei dieser hochsensitiven Methode zeigt sich jetzt eine signifikante Korrelation zur Insulinresistenz. Die Atherosklerose kann somit als subklinische Entzündungsreaktion gewertet werden, die nur über die hochsensitive Methode erfaßt wird.

Festa untersuchte im Rahmen einer Multicenterstudie die Beziehung des CRP zur Insulinresistenz bei Nichtdiabetikern.

Von den 1008 untersuchten Probanden wurde wie bei uns eine KHK ausgeschlossen.

Auch Festa nutzte die hochsensitive Methode der CRP Bestimmung. Analog zu unseren Ergebnissen zeigte sich bei seiner Arbeit die deutliche Korrelation zwischen CRP_HS und der Insulinsensitivität ($p < 0,0001$).

Wie auch bei Fröhlich, berichtet er über einen linearen Anstieg des CRP_HS mit steigender Zahl metabolischer Komplikationen (Hyperlipidämie, Hypertonus, Adipositas, Insulinresistenz) [102].

Festa findet Anzeichen für eine Beziehung zwischen hohen CRP_HS Werten und hoher Insulinresistenz, was einer niedrigen MCR entspricht. Damit besteht bei Festa wie bei uns eine negative Korrelation zwischen CRP_HS und MCR.

5.6. Kritikpunkte

Mit 62 komplett untersuchten Personen konnten partiell signifikante Untersuchungsergebnisse erhoben werden. Eine noch größere Zahl an Probanden hätte sicherlich die Ergebnisse noch eindrucksvoller werden lassen, andererseits aber den Rahmen dieser Arbeit überschritten.

Alle unsere Probanden kamen freiwillig von zu Hause und standen uns nicht etwa im Rahmen eines stationären Aufenthaltes zur Verfügung. Es war ein erheblicher apparativer und personeller Aufwand für unsere Arbeit nötig. Der Realisation eines noch deutlich größeren Kollektivs sind daher Grenzen gesetzt.

Wir führten die Messungen alle früh morgens kurz vor Beginn des Glucose-Clamps durch. Nachdem der jeweilige Proband im Versuchslabor eingetroffen war, durfte er sich sogleich auf ein Bett legen. Bis alle nötigen Vorbereitungen getroffen und alle Gerätschaften installiert waren, vergingen ca. 5-10 min. Nach dieser Zeitspanne hatten sich die Probanden beruhigt; es lagen normale Kreislaufverhältnisse vor. Obwohl wir in allen Fällen auf normale Blutdruckverhältnisse und Herzfrequenzen achteten, sei als Kritikpunkt an dieser Stelle angemerkt, daß einige der Probanden am Untersuchungstag mit dem Fahrrad anreisten und somit unter Umständen bei Untersuchungsbeginn andere Stoffwechselverhältnisse boten, als diejenigen, die mit dem Auto kamen. Dies stellt ein generelles Problem jeglicher Studien dar. Retrospektiv betrachtet, wäre bei diesen Personen eine um ein paar Stunden frühere Anreise sinnvoll gewesen.

6. Zusammenfassung

Im Hinblick auf die Tatsache, daß der Myokardinfarkt als eine der häufigsten Todesursachen in der industrialisierten Welt überzufällig häufig in Folge eines Diabetes auftritt, war es von Interesse, nach Gemeinsamkeiten bei denjenigen zu suchen, die besonders gefährdet sind, einen D.m. zu entwickeln. So wurden die direkten Nachkommen von Typ-2-Diabetikern untersucht.

Es ist bekannt, daß eine Insulinresistenz einem manifesten Diabetes vorausgeht. Weiter ist bekannt, daß die sonographisch gemessene endotheliale Dysfunktion eine frühfunktionelle Störung der Gefäßfunktion und gleichzeitig eine Vorstufe des atherosklerotischen Prozesses darstellt. Daß bei der Atherosklerose auch eine entzündliche Genese eine Rolle spielt, konnte unlängst gezeigt werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war die Suche nach Zusammenhängen zwischen der endothelialen Dysfunktion und molekularen Entzündungsmarkern wie CRP, CRP_HS und sICAM-1 bei direkten Nachkommen von Typ-2-Diabetikern mit und ohne Insulinresistenz.

Die FAD% als Parameter für die endotheliale Dilatationsfähigkeit in Prozent, sowie das klassische CRP, das hochsensitive CRP_HS und das intrazelluläre Adhäsionsmolekül sICAM-1 als Entzündungsmarker wurden in Beziehung gesetzt zu der MCR, als Maß der Insulinresistenz

Zwischen der FAD% und der MCR konnte eine deutlich sichtbare positive Korrelation festgestellt werden. Dagegen war die im Trend erkennbare Korrelation zwischen dem sICAM-1 und der MCR nicht signifikant.

Vermutlich aufgrund einer zu unempfindlichen Methode fand sich keine Assoziation zwischen CRP und MCR. Damit ist die Erfassung einer subklinischen Entzündung hier nicht möglich.

Dagegen ließ sich eine eindeutig negative Korrelation zwischen CRP_HS und MCR ermitteln.

Eine Insulinresistenz geht mit einem gesteigerten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen einher.

Die chronische subklinische Entzündungsreaktion stellt einen gewichtigen Teil der Insulinresistenz dar. Mit dem Ausmaß der Insulinresistenz steigen auch die Werte für Entzündungsmarker wie CRP_{HS} und tendenziell sICAM-1.

Dies ist im Einklang mit der Vorstellung von der Atherosklerose als einer chronischen Entzündungsreaktion. Dabei sind die untersuchten Entzündungsmarker als hinreichend sensitiv zu beurteilen, was die Detektion eines sehr frühen Stadiums dieser chronischen Entzündungsreaktion betrifft. Ein Stadium, in dem noch keine manifeste Atherosklerose, wohl aber funktionelle vaskuläre bzw. endotheliale Dysfunktionen vorhanden sind.

7. Ausblick

Die enge Korrelation von FAD zu MCR, CRP_HS zu MCR und sICAM-1 zu MCR konnte gezeigt werden.

Die Hypothese, dass sich im prädiabetischen Stadium eine chronische Entzündungsreaktion manifestiert und diese als Auslöser des pathologischen Prozesses zu werten ist, wurde durch unsere Ergebnisse eindeutig unterstützt.

In einem nächsten Schritt wäre es gegebenenfalls wünschenswert, nach Möglichkeiten zu suchen, die diesen frühen Entzündungsprozess verlangsamen bzw. unterbinden.

Hierbei ist beispielsweise an antiinflammatorische, antiphlogistische Medikationen zu denken.

Unter dem Aspekt, daß körperliches Training und die Ernährungsumstellung auf eine kalorienreduzierte, fettmodifizierte Vollwertkost die Insulinsensitivität verbessern, bieten sich primärpräventive Behandlungsprogramme mit dem gemeinsamen Ziel der Insulinwirkungsverbesserung, Endothelfunktionsverbesserung und der Atherosklerose Primärprävention an.

Ein medikamentöser Ansatz wäre in der Gabe von Insulinsensitizern oder Statinen zu sehen.

Man wird in Zukunft auf die Ergebnisse entsprechender Studien gespannt sein können.

8. Literatur

- 1 WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group.
Global estimates for prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance in adults.
Diabetes Care 1993 16: 157-177
- 2 Hamaty M, Lamberti M, Sowers JR.
Diabetic vascular disease and hypertension.
Curr-Opin-Cardiol. 1998 Sep; 13(5): 298-303
- 3 Vanhoutte PM.
Endothelial dysfunction and atherosclerosis.
Arch-Mal-Coeur-Vaisse. 1997 Nov; 90 Spec No 6: 9-19 +
Eur-Heart-J. 1997 Nov; 18 Suppl E: E19-29
- 4 Enderle MD, Balletshofer BM, Schmülling RM, Haering HU, Pfohl M.
Early detection of atherosclerosis with high resolution ultrasound exemplified by type II diabetic patients.
Ultraschall Med. 1998 Feb; 19(1): 16-21
- 5 Lundberg V, Stegmayr B, Asplund K, Eliasson M, Huhtasaari F.
Diabetes as a risk factor for myocardial infarction: population and gender perspectives.
J Intern Med 1997 Jun; 241(6): 485-92
- 6 Britten M, Schachinger V.
The role of endothelial function for ischemic manifestations of coronary atherosclerosis.
Herz. 1998 Mar; 23(2): 97-105
- 7 Bouhanick B, Berrut G, Fabbri P, Fressinaud P, Marre M.
Nephropathy in non-insulin-dependent diabetics
Presse Med 1996 Sep 21; 25(27): 1251-6
- 8 Adachi H, Hirai Y, Tsuruta M, Fujiura Y, Imaizumi T.
Is insulin resistance or diabetes mellitus associated with stroke? An 18-year follow-up study.
Diabetes Res Clin Pract 2001 Mar; 51(3): 215-235

- 9 Siegenthaler W, Kaufmann W, Hornbostel H, Waller HD.
Lehrbuch der Inneren Medizin; 3.Auflage,
Georg Thieme Verlag 1992: 178-186

- 10 Luscher TF, Barton M.
Biology of the endothelium.
Clin-Cardiol. 1997 Nov; 20(11 Suppl 2): II-3-10

- 11 Celermajer DS.
Testing endothelial function using ultrasound.
J-Cardiovasc-Pharmacol. 1998; 32 Suppl 3: S29-32

- 12 Atkov OY, Balahonova TV, Pogorelova OA.
Non-invasive ultrasound detection of endothelial dysfunction.
Eur-J-Ultrasound. 1998 Feb; 7(1): 37-45

- 13 Ross R.
Atherosclerosis - an inflammatory disease
N Engl J Med 1999; 340: 115-126

- 14 Michel JB.
Role of endothelial nitric oxide in the regulation of arterial tone.
Rev-Prat. 1997 Dec 15; 47(20): 2251-6

- 15 Cannan CR, Mathew V, Lerman A.
New insight into coronary endothelial dysfunction: role of endothelin.
J-Lab-Clin-Med. 1998 Apr; 131(4): 300-5

- 16 Adams, MR, Robinson J, McCredie R, Seale JP, Sorensen KE, Deanfield JE, Celermajer DS.
Smooth muscle dysfunction occurs independently of impaired endothelium-dependent dilation in adults at risk of atherosclerosis.
J-Am-Coll-Cardiol. 1998 Jul; 32(1): 123-7

- 17 Calver A, Collier J, Vallance P.
Inhibition and stimulation of nitric oxide synthesis in the human forearm arterial bed patients with insulin-dependent diabetes.
J Clin Invest 1992; 90: 2548-54

- 18 Playford DA, Watts GF.
Non-invasive measurement of endothelial function.
Clin-Exp-Pharmacol-Physiol. 1998 Jul-Aug; 25(7-8): 640-3

- 19 Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, Kanell WB, Dawber TR.
Diabetes, blood lipids and the role of obesity in coronary heart disease risk for women: the Framingham Study.
Ann Intern Med. 1977; 87: 393-397

- 20 Hogikyan RV, Galecki AT, Pitt B, Halter JB, Greene DA, Supiano MA.
Specific impairment of endothelium-dependent vasodilation in subjects with type 2 diabetes independent of obesity.
J-Clin-Endocrinol-Metab. 1998 Jun; 83(6): 1946-52

- 21 Haynes WG, Web DJ.
Endothelin as a regulator of cardiovascular function in health and disease.
J-Hypertension. 1998 Aug; 16(8): 1081-98

- 22 Lopez-Farre A, Farre J, Sanchez-de-Miguel L, Romero J, Gonzalez-Fernandez F, Casado S.
Endothelial dysfunction: a global response
Rev-Esp-Cardiol. 1998; 51 Suppl 6: 18-22

- 23 Hambrecht R, Fiehn E, Weigl C, Gielen S, Hamann C, Kaiser R, Yu J, Adams V, Niebauer J, Schuler G.
Regular physical exercise corrects endothelial dysfunction and improves exercise capacity in patients with chronic heart failure.
Circulation. 1998 Dec 15; 98(24): 2709-15

- 24 Ghiadoni L, Taddei S, Virdis A, Sudano I, Di-Legge V, Meola M, Di-Venanzio L, Salvetti A.
Endothelial function and common carotid artery wall thickening in patients with essential hypertension.
Hypertension. 1998 Jul; 32(1): 25-32

- 25 Serrano-Rios M.
Relationship between obesity and the increased risk of major complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus.
Eur-J-Clin-Invest. 1998 Sep; 28 Suppl 2: 14-7, discussion 17-8

- 26 Enderle MD, Schröder S, Ossen R, Meisner C, Baumbach A, Häring HU, Karsch KR, Pfohl M.
Comparison of peripheral endothelial dysfunction and intima media thickness in patients with suspected coronary artery disease.
Heart. 1998 Oct; 80(4): 349-54
- 27 Meniconi A, Noll G, Luscher TF.
Is arteriosclerosis an infectious disease?
Schweiz-rundsch-Med-Prax. 1998 Jan 14; 87(3): 64-74
- 28 Rothlein, R, et al
Induction of ICAM-1 on primary and continuous cell lines by pro-inflammatory cytokines.
J Immunol. 1988; 141: 1665-1669
- 29 Hind CRH, Pepys MB.
The role of serum C-reactive protein (CRP) measurement in clinical practice.
Int Med. 1984; 5: 112-151
- 30 Hanson LA, Wadsworth CH.
Das C-reaktive Protein und sein diagnostischer Wert, insbesondere bei Infektionen.
Laboratoriumsblätter 1979; 29: 58-68
- 31 Ziegenhagen G, Drahovsky D.
Klinische Bedeutung des C-reaktiven Proteins.
Med Klin. 1983; 78: 24-35
- 32 Henry JB (Hrsg.).
Clinical diagnosis and management by laboratory methods, Vol.2
Philadelphia: WB Saunders Co, 1979
- 33 Greiling H, Gressner AM (Hrsg.).
Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3. Auflage.
Stuttgart / New York: Schattauer Verlag 1995: 234-236

- 34 Passing H, Bablok W.
A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part 1
J Clin Chem Clin Biochem. 1983; 21: 709-720
- 35 Roberts WL; Sedrick R; Moulton L; Spencer A; Rifai N.
Evaluation of four automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications.
Clin Chem. 2000 Apr; 46(4): 461-8.
- 36 Dustin ML, et al.
Induction of IL-1 and IFN- γ : tissue distribution, biochemistry and function of a natural adherence molecule (ICAM-1).
J Immunol. 1986; 137: 245-254
- 37 Evans JM, Newton RW, Ruta DA, MacDonald TM, Morris AD
Socio-economic status, obesity and prevalence of Type I and Type II diabetes mellitus.
Diabet Med 2000 Jun; 17 (6): 478-80
- 38 Thefeld, W
Prevalence of diabetes mellitus in the adult German population.
Gesundheitswesen 1999 Dec; 61: Spec No: S85-9
- 39 Smith CW, et al.
Cooperative interactions of LFA-1 and Mac-1 with Intercellular Adhesion Molecule-1 in facilitating transendothelial of human neutrophils in vitro.
J Clin Invest. 1989; 83: 2008
- 40 Cosimi AB, et al.
In vivo effects of monoclonal antibody to ICAM-1 (CD54) in non-human primates with renal allografts.
J Immunol. 1990; 144: 4604

- 41 Flavin TR, et al.
Monoclonal antibody against ICAM-1 prolongs cardiac allograft survival in cynomolgus monkeys.
Transplant Proc. 1990; 23: 533
- 42 Wegner CD, et al.
Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1) in the pathogenesis of asthma.
Science. 1990; 247: 456
- 43 Staunton DE, et al.
A cell adhesion molecule, ICAM-1 is the major surface receptor for rhinoviruses.
Cell. 1989; 56: 848-853
- 44 Berendt AR, Simmons DL, Tansey J, Newbold CI, Marsh K.
Intercellular adhesion molecule-1 is an endothelial cell adhesion receptor for *Plasmodium falciparum*.
Nature 1989 Sep 7; 341(6237): 57-9
- 45 Burke JP, Williams K, Gaskill SP, Hazuda HP, Haffner SM, Stern MP.
Rapid rise in the incidence of type 2 diabetes from 1987-1996: results from the San Antonio Heart Study.
Arch Intern Med 1999 Jul 12; 159(13): 1450-6
- 46 Seth R, et al.
Circulating ICAM-1 isoforms: diagnostic prospects for inflammatory and immune disorders.
The Lancet. 1991; 338: 83-84
- 47 Marlin SD, et al.
A soluble form of ICAM-1 inhibits rhinovirus infection.
Nature. 1990; 344:70-72
- 48 Pignoli P, Tremoli E, Poli A, Oreste P, Paoletti R.
Intimal plus medial thickness of the arterial wall: A direct measurement with ultrasound imaging.
Circulation 1986; 74(6); 1399-1406

-
- 49 Zimmet P, Boyko EJ, Collier GR, de Courten M.
Etiology of the metabolic syndrome: potential role of insulin resistance, leptin resistance, and other players.
Ann N Y Acad Sci. 1999 Nov 18; 892:25-44.
- 50 Balletshofer BM, Rittig K, Enderle MD, Volk A, Maerker E, Jacob S, Matthaei S, Rett K, Haering HU.
Endothelial dysfunction is detectable in young normotensive first-degree relatives of subjects with type 2 diabetes in association with insulin resistance.
Circulation 2000 Apr 18; 101(15): 1780-4
- 51 Kelley DE.
Overview: What is insulin resistance?
Nutr Rev. 2000 Mar; 58(3 Pt 2):S2-3. Review
- 52 Kar AK, Mandal M
Hypertension, insulin resistance and atherosclerosis.
J Indian Med Assoc. 1999 Mar; 97(3): 86-90. Review.
- 53 De Fronzo RA, Tobin J, Andres R.
The glucose clamp technique: a method for the quantification of beta cell sensitivity to insulin.
Am J Physiol. 1979; 127: E214-E223
- 54 Watts GF, Playford DA.
Dyslipoproteinaemia and hyperoxidative stress in the pathogenesis of endothelial dysfunction in non-insulin-dependent diabetes mellitus: an hypothesis.
Atherosclerosis. 1998 Nov; 141(1): 17-30
- 55 Doberne L, Greenfield MS, Rosenthal M, Widstrom A, Reaven GM.
Effect of variations in basal plasma glucose concentration on glucose utilization (M) and metabolic clearance rates (MCR) during insulin clamp studies in patients with NIDDM.
Diabetes. 1982; 31: 396-400
- 56 Ferrannini E.
The theoretical basis of indirect calorimetry: a review.
Metabolism. 1989; 37: 287-309

- 57 Haffner SM, Mykkanen L, Festa A, Burke JP, Stern MP.
Insulin-resistant prediabetic subjects have more atherogenic risk factors than insulin-sensitive prediabetic subjects: implications for preventing coronary heart disease during the prediabetic state.
Circulation. 2000 Mar 7; 101(9): 975-80
- 58 Pepine CJ.
Clinical implications of endothelial dysfunction.
Clin-Cardiol. 1998 Nov; 21(11): 795-9
- 59 Mancini GB, Henry GC, Macaya C, O'Neill BJ, Pucillo AL, Carere RG, Wargovich TJ, Mudra H, Luscher TF, Klibaner MI, Haber HE, Uprichard AC, Pepine CJ, Pitt B.
Angiotensin-converting-enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease.
The TREND (Trial on Reversing ENdothelial Dysfunction)
Circulation 1996; 94: 258-265
- 60 Wendelhag I, Gustavsson T, Suurkula M, et al.
Ultrasound measurement of wall thickness in carotid artery:
Fundamental principles and description of a computerized analysing system.
Clin Physiol. 1991; 11: 565-77.
- 61 Watarai T, Yamasaki Y, Ikeda M, Kubota M, Kodama M, Tsujino T, Kishimoto M, Kawamori R, Hori M.
Insulin resistance contributes to carotid arterial wall thickness in patients with non-insulin-dependent-diabetes mellitus.
Endocr J. 1999 Oct; 46(5): 629-38.
- 62 Adon'ev BI, Sermagina NF.
Two-step bicycle spirometry as a method of determining the functional reserves of the cardiovascular and respiratory systems in healthy persons.
Kardiologiia. 1990 Jan;30(1):83-4
- 63 Rosenberger G, Fichtlscherer S.
Analysis of forearm circulation –
a substitute for diagnosis of coronary atherosclerosis?
Herz. 1998 Mar; 23(2): 130-4

- 64 Barstow TJ, Jones AM, Nguyen PH, Casaburi R.
Influence of muscle fibre type and fitness on the oxygen uptake/power output slope during incremental exercise in humans.
Exp Physiol. 2000 Jan; 85(1):109-16
- 65 Ferrannini E, Mari A.
How to measure insulin sensitivity.
J Hypertens. 1998 Jul; 16(7): 895-906. Review.
- 66 Felber JP, Ferrannini E, Golay A, Meyer HU, Theibaud D, Curchod B, Maeder E, Jequier E, DeFronzo RA.
Role of lipid oxidation in pathogenesis of insulin resistance of obesity and type II diabetes.
Diabetes. 1987 Nov; 36(11): 1341-50.
- 67 Koga M, Otsuki M, Kubo M, Hashimoto J, Kasayama S.
Relationship between circulating vascular cell adhesion molecule-1 and microvascular complications in type 2 diabetes mellitus.
Diabet-Med. 1998 Aug; 15(8): 661-7
- 68 Cleland SJ, Sattar N, Petrie JR, Forouhi NG, Elliott HL, Connell JM.
Endothelial dysfunction is a possible link between C-reactive protein levels and cardiovascular disease.
Clin Sci (Colch) 2000 May 1; 98(5): 531-535
- 69 Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al.
Noninvasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis.
Lancet 1992; 340: 1111-14.
- 70 Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, et al.
Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction.
J Am Coll Cardiol. 1994; 24: 1468-74.
- 71 Sorensen KE, Celermajer DS, Georgakopoulos D, et al.
Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein (a) level.
J Clin Invest. 1994; 93: 50-55.

- 72 Tietz NW.
Fundamentals of Clinical Chemistry.
2. Auflage. Philadelphia: WB Saunders, 1976: 278-280.
- 73 Whicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, et al.
New international reference preparation for proteins in human serum (RPPHS).
Clin Chem. 1994; 40: 934-38.
- 74 Dati F, Lammers M, Adam A, Sondag D, Stienen L.
Referenzwerte für 18 Plasmaproteine am Behring-Nephelometer-System.
Lab med. 1989; 13: 87-90
- 75 Passing H, Bablock W.
A new biometric procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I.
J Clin Chem Clin Biochem 1983; 21: 709-20
- 76 Gearing AJH, et al.
Soluble forms of vascular adhesion molecules, E-Selectin, ICAM-1 and VCAM-1: Pathological significance.
Annals N. Y. Acad. Sci. 1992; 667: 324-31
- 77 Nichols GA; Hillier TA; Javor K; Brown JB.
Predictors of glycemic control in insulin-using adults with type 2 diabetes.
Diabetes Care. 2000 Mar; 23(3): 273-7.
- 78 Wilkinson IB, Cockcroft JR.
Cholesterol, endothelial function and cardiovascular disease.
Curr-Opin-Lipidol. 1998 Jun; 9(3): 237-42
- 79 Jung O, Jung W, Malinski T, Wiemer G, Schoelkens BA, Linz W.
Ischemic preconditioning and infarct mass: the effect of hypercholesterolemia and endothelial dysfunction.
Clin Exp Hypertens 2000 Feb; 22(2): 165-79

- 80 Blann AD, Devine C, Amiral J, McCollum CN.
Soluble adhesion molecules, endothelial markers and atherosclerosis risk factors in abdominal aortic aneurysm: a comparison with claudicants and healthy controls.
Blood-Coagul-Fibrinolysis 1998 Sep; 9(6): 479-84
- 81 Morisaki N, Saito I, Tamura K, Tashiro J, Masuda M, Kanzaki T, Watanabe S, Masuda Y, Saito Y.
New indices of ischemic heart disease and aging: studium on the serum levels of soluble intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and soluble vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in patients with hypercholesterolemia and ischemic heart disease.
Atherosclerosis 1997; 131: 43-48
- 82 Ceriello A, Falletti E, Bortolotti N, Motz E, Cavarape A, Russo A, Gonano F, Bartoli E.
Increased circulating intercellular adhesion molecule-1 levels in type II diabetic patients: The positive role of metabolic control and oxidativestress.
Metabolism, Vol.45/4; April 1996: 498-501
- 83 Dakak N, Husain S, Mulcahy D, Andrews NP, Panza JA, Waclawiw M, Schenke W, Quyyumi AA.
Contribution of nitric oxide to reactive hyperemia: impact of endothelial dysfunction.
Hypertension. 1998 Jul; 32(1): 9-15
- 84 Vanhoutte PM.
Endothelial dysfunction and vascular disease.
Verh-K-Acad-Geneskd-Belg. 1998; 60(3): 251-66
- 85 Van-Zwieten PA.
Endothelial dysfunction in hypertension. A critical evaluation.
Blood-Press-Suppl. 1997; 2: 67-70
- 86 Hedner T, Sun X.
Measures of endothelial function as an endpoint in hypertension?
Blood-Press-Suppl. 1997; 2: 58-66
- 87 Shimokawa H.
Endothelial dysfunction in hypertension.
J-Atheroscler-Thromb. 1998; 4(3): 118-27

- 88 Stumvoll M; Mitrakou A; Pimenta W; Jenssen T; Yki-Jarvinen H; Van Haefden T; Renn W; Gerich J
Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity.
Diabetes Care 2000 Mar; 23(3): 295-301
- 89 Zonderland ML; Dubbeldam S; Erkelens DW; van Haefden TW
Lower beta-cell secretion in physically active first-degree relatives of type 2 diabetes patients.
Metabolism 2000 Jul; 49(7): 833-8
- 90 Nyholm B; Porksen N; Juhl CB; Gravholt CH; Butler PC; Weeke J; Veldhuis JD; Pincus S; Schmitz O
Assessment of insulin secretion in relatives of patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: evidence of early beta-cell dysfunction.
Metabolism 2000 Jul; 49(7): 896-905
- 91 Jacob S; Balletshofer B; Henriksen EJ; Volk A; Mehnert B; Loblein K; Haring HU; Rett K
Beta-blocking agents in patients with insulin resistance: effects of vasodilating beta-blockers.
Blood Press 1999; 8(5-6): 261-8
- 92 Volk A; Renn W; Overkamp D; Mehnert B; Maerker E; Jacob S; Balletshofer B; Haring HU; Rett K
Insulin action and secretion in healthy, glucose tolerant first degree relatives of patients with type 2 diabetes mellitus. Influence of body weight.
Exp Clin Endocrinol Diabetes 1999; 107(2): 140-7
- 93 Tavintharan S; Chew LS; Heng DM.
A rational alternative for the diagnosis of diabetes mellitus in high risk individuals.
Ann Acad Med Singapore. 2000 Mar; 29(2): 213-8.
- 94 Rohlfing CL, Little RR, Wiedmeyer HM, England JD, Madsen R, Harris MI, Flegal KM, Eberhardt MS, Goldstein DE.
Use of GHb (HbA1c) in screening for undiagnosed diabetes in the U.S. population.
Diabetes Care. 2000 Feb; 23(2): 187-91.

- 95 Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Davoli A, De Santis A, Campagnola M, Rigoni A, Zenti MG, Moghetti P, Lo Cascio V.
Elevated levels of soluble E-selectin in patients with IDDM and NIDDM: relation to metabolic control.
Diabetologia. 1995; 38: 1122-1124.
- 96 Steiner M, Reinhardt KM, Krammer B, Ernst B, Blann AD.
Increased levels of soluble adhesion molecules in type 2 (non-insulin dependent) Diabetes mellitus are independent of glycaemic control.
Thromb Haemost 1994; 72: 979-984.
- 97 Cominacini L, Fratta Pasini A, Garbin U, Campagnola M, Davoli A, Rigoni A, Zenti MG, Pastorino AM, Lo Cascio V.
E-selectin plasma concentration is influenced by glycaemic control in NIDDM patients: possible roll of oxidative stress.
Diabetologia. 1997; 40: 584-589.
- 98 Fasching P, Waldhäusl W, Wagner OF
Elevated circulating adhesion molecules in NIDDM-potential mediators in diabetic macroangiopathy.
Diabetologia. 1996; 39: 1242-1244
- 99 Kawamura T, Umemura T, Kanai A, Uno T, Matsumae H, Sano T, Sakamoto N, Sakakibara T, Nakamura J, Hotta N.
The incidence and characteristics of silent cerebral infarction in elderly diabetic patients: association with serum-soluble adhesion molecules.
Diabetologia. 1998; 41: 911-917
- 100 Park CW, Kim JH, Lee JW, Kim YS, Ahn HJ, Shin YS, Kim SY, Choi EJ, Chang YS, Bang BK.
High glucose-induced intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression through an osmotic effect in rat mesangial cells is PKC-NF-KappaB-dependent.
Diabetologia. 2000; 43: 1544-1553
- 101 Fröhlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, Muche R, Brenner H, Koenig W.
Association between C-Reactive Protein and features of the Metabolic Syndrome.
Diabetes Care 2000; 23: 1839-1839

102 Festa A, D'Agostino R, Howard G, Mykkänen L, Tracy RP, Haffner SM.
Chronic subclinical inflammation as part of the Insulin Resistance Syndrome.
Circulation 2000; 102: 42-47

103 Rett K
Risikofaktor Hyperinsulinämie? Risikoprädiktor Insulinresistenz!
Dtsch. Med. Wschr. 2000; 125: 676-677

Danksagung

Bedanken möchte ich mich besonders bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. K. Rett für die freundliche Überlassung des Themas, sowie das große Vertrauen, das er mir entgegenbrachte. Für Fragen oder Probleme hatte er immer ein offenes Ohr.

Ferner gilt mein Dank insbesondere Herrn PD Dr. med. M. Enderle für die hervorragende Betreuung dieser Arbeit. Einen engagierteren Betreuer hätte ich mir nicht wünschen können.

Ebenso möchte ich Frau Maerker und ihrem Team ein großes Dankeschön aussprechen. Ihrer Initiative, Geduld und Flexibilität ist es zu verdanken, daß ich meine Studien so schnell beenden konnte.

Meinem Vorgänger und Lehrer der Untersuchungstechnik Herrn K.Rittig danke ich für seine geduldige Anleitung.

Bei Frau C. Engel möchte ich mich herzlich für die Hilfe und Beratung bei der statistischen Auswertung bedanken.

Herrn M. Haap sei für seine engagierte Hilfe bei der Durchsicht der Arbeit vielmals gedankt.

Nicht zuletzt gilt mein großer Dank natürlich auch allen Probanden, die sich für diese Arbeit zur Verfügung gestellt haben. Ohne Freiwillige wäre die Durchführung dieser Arbeit niemals möglich gewesen.

Lebenslauf

Patrick Beckmann

Geburtsdatum / -ort 31.10.1971 in Frankfurt am Main
Staatsangehörigkeit deutsch

Schule/Berufstätigkeit/Wehrdienst

08/82 – 06/91 Schloßgymnasium / Kirchheim unter Teck
10/91 – 12/92 Wehrdienst beim Feldjägerbataillon 750 in Esslingen
 (Grundausbildung in München)
01/93 – 08/93 Anstellung bei der Firma MDM in Wernau als
 Kundenbetreuer

Studium

10/93 – 03/96 Studium der Medizin an der Universität in Greifswald
04/96 – 05/01 Studium der Medizin an der Universität Tübingen
03/96 Ärztliche Vorprüfung
03/98 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/99 Beginn der Promotionsarbeit
03/00 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
09/05/01 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Staatsexamen)

Famulaturen

07/96 – 08/96 Praxisfamulatur bei Dr. Stephan Koegel/Stuttgart
 (Orthopädie, Sportmedizin, HBO-Therapie)
09/97 Famulatur am Kreiskrankenhaus Kirchheim/Teck,
 Abt. Gynäkologie (Dr. Köller)
08/98 Famulatur an den Städtischen Kliniken Esslingen,
 Abt. Pädiatrie (Prof. Dr. Götze)
04/99 – 05/99 Famulatur am G.F. Jooste Hospital, University of Cape Town,
 Department of Surgery (Consultant Dr. Fenchel)

Praktisches Jahr

04/00 – 08/00 Städtische Kliniken Esslingen,
 Abt. Pädiatrie (Prof. Dr. Götze)
08/00 – 12/00 Städtische Kliniken Esslingen,
 Abt. Innere Medizin (Prof. Dr. Leschke / Prof. Dr. Maier)

12/00 – 01/01	Städtische Kliniken Esslingen, Abt. Chirurgie (Prof. Dr. Mattes / Prof. Dr. Degreif / Prof. Dr. Schwilden
01/01 – 03/01	G.F. Jooste Hospital, University of Cape Town, Department of Surgery (Consultant Dr. Fenchel)

Arzt im Praktikum

06/01 – 11/02	18-monatige Tätigkeit als AiP in der orthopädischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Sindelfingen (Prof. Dr. Gekeler)
---------------	--

Ärztliche Tätigkeit

01/03 – 07/04	Assistenzarzt im St. Augustinus Krankenhaus in Düren (Dr. Spithaler)
seit 08/04	Assistenzarzt im Kreiskrankenhaus in Nürtingen (Dr. Bopp)

Ehrenamtliche Tätigkeiten

07/91 – 08/92	Betreuer im Jugendzeltlager der Katholischen Gemeinde in Köngen
01/00 – 01/02	Zweiter Vorsitzender der „Tauchgruppe Teck e.V.“ in Kirchheim
seit 03/00	Beisitzer im Vorstand des „Stadtverband für Leibesübungen“ in Kirchheim
01/02 – 12/03	Erster Vorsitzender der „Tauchgruppe Teck e.V.“ in Kirchheim