

Aus der Medizinischen Klinik I

der Universität zu Lübeck

Direktor: Prof. Dr. H. L. Fehm

---

**Einflussfaktoren auf hormonelle, symptomatische  
und neurokognitive Hypoglykämie-Reaktionen  
bei Typ-2-Diabetes-Patienten**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck

- Aus der Medizinischen Fakultät -

vorgelegt von

Jan Phillip Bremer  
aus Hamburg

Lübeck 2005

1. Berichterstatter/Berichterstatterin: Priv.-Doz. Dr. med. Bernd Schultes

2. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. Andreas Moser

Tag der mündlichen Prüfung: 09.05.2006

Zum Druck genehmigt: Lübeck, den 09.05.2006

gez. Prof. Dr. med. Wolfgang Jelkmann

- Dekan der Medizinischen Fakultät -

## **Inhaltsangabe**

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	S. 4
<b>1. Einleitung</b>	
1.1 Definition und Epidemiologie des Diabetes mellitus	S. 6
1.2 Klassifikation und Ätiologie des Diabetes mellitus	S.6
1.3 Ziele der Therapie und Therapiemöglichkeiten	S. 8
1.4 Hypoglykämie: Definition, Inzidenz und Ursachen	S. 9
1.5 Symptome einer Hypoglykämie	S. 11
1.6 Physiologische Hypoglykämie-Gegenregulation	S. 12
1.7 Gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung und Hypoglykämie- Gegenregulation bei Patienten mit Typ-1- und Typ-2-Diabetes	S. 15
1.8 Hormonelle Gegenregulation bei Typ-1-Diabetes-Patienten	S. 18
1.9 Hormonelle Gegenregulation bei Typ-2-Diabetes-Patienten	S. 19
1.10 Geschlechtliche Unterschiede in der Hypoglykämie- Gegenregulation	S. 20
<b>2. Ziele und Fragestellungen</b>	S. 21
<b>3. Material und Methoden</b>	
3.1 Probandenkollektiv der Studie 1	S. 22

3.2 Probandenkollektiv der Studie 2	S. 24
3.3 Versuchsanordnung	S. 27
3.4 Symptome	S. 28
3.5 Neurokognitive Tests	S. 28
3.6 Analytische Methoden	S. 30
3.7 Statistische Auswertung	S. 30
<b>4. Ergebnisse der Studie 1</b>	
4.1 Blutglukose, Insulin und C-Peptid	S. 32
4.2 Gegenregulatorische Hormone und Blutdruck	S. 35
4.3 Symptome und neurokognitive Funktionen	S. 43
<b>5. Ergebnisse der Studie 2</b>	
5.1 Blutglukose, Insulin und C-Peptid	S. 49
5.2 Gegenregulatorische Hormone und Blutdruck	S. 52
5.3 Symptome und neurokognitive Funktionen	S. 58
<b>6. Diskussion</b>	
6.1 Allgemeines	S. 63
6.2 Studie 1	S. 65

6.3 Studie 2	S. 66
6.4 Limitationen	S. 70
6.5 Ausblick	S. 72
6.6 Schlussfolgerungen	S. 73
<b>7. Zusammenfassung</b>	S. 74
<b>8. Literaturverzeichnis</b>	S. 75
<b>Danksagung</b>	S. 93
<b>Anhang</b>	S. 94
<b>Curriculum vitae</b>	S. 95

## Abkürzungsverzeichnis

Abb.: Abbildung  
ACE: Angiotensin-Converting-Enzyme  
ACTH: adrenokortikotropes Hormon  
ANOVA: Analysis Of Variance between groups  
ASS: Acetylsalicylsäure  
ATP: Adenosin-Tri-Phosphat  
BMI: Body Mass Index  
BZ: Blutzuckerkonzentration  
bzw.: beziehungsweise  
cAMP: Cyclo-Adenosin-Mono-Phosphat  
C-Peptid: Connecting-Peptid  
db: Dezibel  
Diab.: Diabetes  
dl: Deziliter  
EEG: Elektroenzephalogramm  
EKG: Elektrokardiogramm  
FSH: Follikel stimulierendes Hormon  
Glut: Glukosetransporter  
HbA1c: adultes glykosiliertes Hämoglobin  
HLA: humanes Leukozyten Antigen  
Hz: Hertz  
Hypo.: Hypoglykämie  
kg: Kilogramm  
KIR 6.2: Gen des Potassium Inward Rectifier (Kalium-Kanal)  
LH: Luteinisierendes Hormon  
mg: Milligramm  
min: Minuten  
mmHg: Millimeter Quecksilbersäule  
MODY: maturity onset diabetes of the young  
ms: Millisekunden  
mU: Milliunits  
µg: Mikrogramm

μU: Mikrounits

ng: Nanogramm

pg: Picogramm

RNS: Ribonukleinsäure

Sy.: Symptome

Tab.: Tabelle

U: Units

UKPDS: United Kingdom Prospective Diabetes Study

VK: Variationskoeffizient

vs.: versus

z.B.: zum Beispiel

## **1. Einleitung**

### **1.1 Definition und Epidemiologie des Diabetes mellitus**

Der Diabetes mellitus ist ein Sammelbegriff für heterogene Störungen des Glukosestoffwechsels, deren Leitbefund die chronische Hyperglykämie ist. Ursache ist entweder eine gestörte Insulin-Sekretion, eine gestörte Insulin-Wirkung oder die Kombination aus beidem (98). Die Prävalenz des Diabetes mellitus betrug im Jahre 2000 sowohl in Europa als auch in den USA etwa 5-8 % (80,100). Weltweit waren im gleichen Jahr etwa 171 Millionen Menschen von einer diabetischen Stoffwechsellaage betroffen, und es wird davon ausgegangen, dass sich diese Zahl bis 2030 auf über 366 Millionen erhöhen wird (157).

### **1.2 Klassifikation und Ätiologie des Diabetes mellitus**

Nach der Pathogenese werden verschiedene Typen des Diabetes mellitus unterschieden. Der Typ-2-Diabetes stellt mit ca. 90 % die größte Gruppe der Diabetes-Erkrankungen dar. Sein Auftreten ist eng mit dem metabolischen Syndrom (Syndrom X) assoziiert. Als wesentlicher Faktor in der Pathogenese dieses Syndroms wird eine Verminderung der Insulin-Sensitivität angenommen (52,120). Stark assoziiert mit dieser relativen Insulin-Resistenz ist ein erhöhtes Körpergewicht bzw. Adipositas (88). Das Vollbild der Erkrankung zeigt sich in stammbetonter Adipositas, Dyslipoproteinämie mit Hyperlipidämie, essentieller Hypertonie und gestörter Glukosetoleranz bzw. Diabetes mellitus Typ 2. Im Gegensatz zu anderen (nicht medikamentös induzierten) Formen des Diabetes mellitus liegt bei Typ-2-Diabetes-Patienten ein relatives Insulindefizit bei anfänglicher Hyperinsulinämie vor.

Genetische Polymorphismen scheinen für die Entstehung dieser Erkrankung zu prädisponieren. So geht z.B. eine Mutation des KIR 6.2 Gens mit einer Verminderung der Glukagon-Suppression während exogener Belastung mit Kohlenhydraten einher (146). Bis zum heutigen Zeitpunkt konnten jedoch keine spezifisch genetischen Ursachen für die Entstehung des Typ-2-Diabetes gefunden werden (73). Für Sonderformen des Typ-2-Diabetes konnten allerdings kennzeichnende genetische Ursachen gefunden werden (z.B. Mutation des Glukokinase-Gens auf Chromosom 7 (25)). Diese Formen werden allgemein als MODY (maturity onset diabetes of the



young) bezeichnet. Im Gegensatz zum klassischen Typ-2-Diabetes entwickelt sich der MODY schon im Jugendalter. Allerdings tritt bei zunehmender Prävalenz der Adipositas auch bereits bei Kindern die klassische Form des Typ-2-Diabetes auf (11).

Weitere Ursachen des Diabetes mellitus stellen ca. 10 % der diabetischen Erkrankungen dar, wobei der Typ-1-Diabetes innerhalb dieser Gruppe dominiert. Diese Erkrankung ist zumeist mit dem Vorkommen von Autoimmun-Antikörpern (Insulin-Antikörper (123), Glutamatdecarboxylase- (97) und Tyrosinphosphatase-Antikörper (125)) vergesellschaftet. Dabei kommt es durch einen Autoimmunprozess zur Zerstörung der insulinsezernierenden Beta-Zellen und einem daraus folgenden absoluten Insulindefizit. Diese Form des Diabetes tritt meist im jugendlichen Alter auf. Die Ätiologie des Typ-1-Diabetes ist nicht vollständig geklärt. Zirka 20 % der Patienten weisen eine positive Familienanamnese auf. Weiterhin finden sich unter Typ-1-Diabetes-Patienten gehäuft spezifische HLA-Antigene (human leukocyte antigens DR 3 und DR 4 (159)). Allerdings ist diese genetische Disposition nicht alleine ausschlaggebend für das Auftreten der Erkrankung. Umweltfaktoren wie z.B. Infektionen mit Enteroviren stehen in Verdacht in der Pathogenese des Typ-1-Diabetes eine entscheidende Rolle zu spielen (79).

Als Gestationsdiabetes werden Formen des Diabetes mellitus bezeichnet, die erstmals in der Schwangerschaft auftreten bzw. diagnostiziert werden. Diese Form kann der Anfang einer diabetischen Erkrankung sein, in vielen Fällen entwickelt sich die pathologische Glukosetoleranz jedoch nach Beendigung der Schwangerschaft zurück. 40 % der Frauen mit Gestationsdiabetes entwickeln allerdings im weiteren Verlauf einen Typ-2-Diabetes mellitus.

Andere Arten des Diabetes mellitus sind weitaus seltener. Anzuführen wäre der sogenannte pankreoprive Diabetes mellitus, der durch teilweise oder vollständige Zerstörung von Pankreasgewebe z.B. im Rahmen einer chronischen Pankreatitis oder einer operativen Entfernung des Pankreas entsteht. Weiterhin kann der Diabetes mellitus im Rahmen anderer Erkrankungen wie z.B. der Hämochromatose oder im Rahmen von Endokrinopathien, die zu einer Erhöhung diabetogener Hormone führen (z.B. Cushing-Syndrom, Akromegalie, Phäochromozytom), vorkommen. Eine weitere Ursache des Diabetes mellitus stellt die medikamentös induzierte Form der Erkrankung dar. Diese kann unter anderem durch die Einnahme von Kortikosteroiden oder Thiazid-Diuretika verursacht werden.

### 1.3 Ziele der Therapie und Therapiemöglichkeiten

Ungeachtet der jeweiligen Pathogenese ist in der Therapie des Diabetes mellitus neben der Behandlung weiterer Risikofaktoren wie Hypertonie und Hyperlipidämie eine möglichst normoglykämische Blutzuckereinstellung anzustreben. Die Langzeitblutzuckereinstellung bestimmt in hohem Maße die Inzidenz und Schwere diabetischer Folgeerkrankungen (51,147) wie mikrovaskulärer Komplikationen, diabetisch bedingter peripherer oder autonomer Polyneuropathie, Nephropathie, Retinopathie oder Arthropathie. Zu den makrovaskulären Komplikationen zählen unter anderem stenosierende Veränderungen der Herzkranzgefäße, der Hirnarterien und der Gefäße der Extremitäten (periphere arterielle Verschlusskrankheit).

Während der Diabetes Typ 1 mit Insulin bzw. Insulinanaloga behandelt werden muss, existieren in der Behandlung des Typ-2-Diabetes multiple Therapieansätze. Oftmals ist die Erkrankung im Frühstadium noch mit Diät, körperlicher Aktivität und Gewichtsabnahme zu beherrschen. Wenn diese Allgemeinmaßnahmen nicht ausreichen, ist eine Therapie mit oralen Antidiabetika zurzeit das Mittel der ersten Wahl. Gegenwärtig existieren verschiedene Präparate mit unterschiedlichen Wirkmechanismen: Hemmung der Resorption von Kohlenhydraten (Acarbose), die Steigerung der Insulinsensitivität mit Verminderung der Glukoneogenese (Metformin, Glitazone) und die Steigerung der Insulin-Sekretion aus den Beta-Zellen (Sulfonylharnstoffe, Glinide). Im klinischen Gebrauch dominieren zurzeit Metformin und die sekretionssteigernden Präparate in der Gruppe der oralen Antidiabetika. Durch Kombination verschiedener Antidiabetika ist es möglich, den Behandlungserfolg zu maximieren. Während bei Metformin das Risiko einer Hypoglykämie verschwindend gering ist, ist das Risiko einer Unterzuckerung bei Präparaten, die den Insulinspiegel erhöhen, therapiebegrenzend (10,149). Als dritte Möglichkeit der Therapie ist die direkte Substitution von Insulin zu nennen. Häufig ist dieses die letzte Möglichkeit die Blutglukoseeinstellung normoglykäm zu gestalten (122), jedoch birgt auch diese Therapie ein hohes Risiko von Hypoglykämien.

Nach der United-Kingdom-Prospective-Diabetes-Study (UKPDS) (9) lässt sich, wie oben erwähnt, das Auftreten mikrovaskulärer diabetischer Komplikationen durch eine strenge Einstellung des Diabetes Typ 2 verzögern bzw. verhindern. Ebenso zeigen Studien, dass die Mortalität unter der Voraussetzung einer guten glykämischen Einstellung bei Patienten mit Typ-2-Diabetes gegenüber gesunden, gleichaltrigen

Menschen nicht wesentlich erhöht ist (96). In der Therapie des Typ-2-Diabetes ist demnach eine optimale Blutglukoseeinstellung anzustreben. Eine ideale Einstellung des Glukosestoffwechsels ist jedoch nahezu immer mit einer erhöhten Inzidenz von Hypoglykämien verbunden (5).

#### **1.4 Hypoglykämie: Definition, Inzidenz und Ursachen**

Das Auftreten von Hypoglykämien ist die häufigste und gefährlichste Komplikation in der modernen Therapie des Diabetes mellitus.

Von einer Hypoglykämie wird im Allgemeinen ab einer Blutglukosekonzentration von unter 50 mg/dl gesprochen. Klinisch wird die Hypoglykämie durch die sogenannte Whipple Trias charakterisiert:

- eine Blutglukosekonzentration unter 50 mg/dl
- hypoglykämische Symptome
- Besserung der Symptomatik nach Glukosegabe

Darüber hinaus wird in der Praxis von einer Unterzuckerung gesprochen, wenn unabhängig von der Blutglukosekonzentration typische klinische Symptome auftreten. Hierzu zählen unter anderem Schwindel, verschwommenes Sehen, Konzentrationsdefizit, Schwächegefühl, Hunger, Schwitzen und Zittern. Diese Symptome können gerade bei unzureichend eingestellten Diabetes-Patienten auch bei deutlich höheren Blutglukosekonzentrationen auftreten (19).

Klinisch werden leichte und schwere Hypoglykämien unterschieden. Unter dem Einfluss einer leichten Unterzuckerung ist der Patient noch in der Lage sich selbst zu versorgen. Eine schwere Hypoglykämie ist dadurch definiert, dass Fremdhilfe erforderlich, ist um die Unterzuckerung zu therapieren.

Schwere Hypoglykämien scheinen bei Patienten mit Typ-1-Diabetes häufiger aufzutreten als dieses bei Typ-2-Diabetes-Patienten der Fall ist (50,148). Die Inzidenz von schweren Hypoglykämien bei Patienten mit Typ-2-Diabetes steigt jedoch erheblich im Rahmen einer verbesserten Blutzuckereinstellung (5,106,152). So betrug in einer kürzlich veröffentlichten Studie (106) die Inzidenz von schweren Hypoglykämien bei Patienten mit Typ-2-Diabetes, die mittels Insulin behandelt wurden, 11,8 pro 100 Patienten-Jahre. Diese Rate war ähnlich wie sie bei Typ-1-Diabetes-Patienten zu finden war (11,5 pro 100 Patienten-Jahre). Zudem wird man, absolut gesehen, im klinischen Alltag weitaus häufiger mit hypoglykämien Typ-2- als

Typ-1-Diabetes-Patienten konfrontiert, was auf die weit höhere Prävalenz des Typ-2-Diabetes zurückzuführen ist.

Häufige Ursachen einer Hypoglykämie bei Patienten mit Diabetes sind Überdosierung von Insulin bzw. von hypoglykämiefördernden Medikamenten wie Sulfonylharnstoffen oder Gliniden. Weitere Ursachen sind inadäquate Kohlenhydratzufuhr, körperliche Betätigung, übermäßiger Alkoholkonsum und mangelnde Kohlenhydratresorption bei gastrointestinalen Funktionsdefiziten durch Infektionen oder anderen Gründen einer Malabsorption bzw. Maldigestion (9). Ursachen einer Hypoglykämie bei Patienten ohne Diabetes wie z.B. Insulinome oder adrenale Insuffizienzen (z.B. Morbus Addison) sind sehr selten.

In den letzten Jahren konnten Risikofaktoren für das vermehrte Auftreten von Hypoglykämien bei Diabetes-Patienten ermittelt werden. Diese Risikofaktoren umfassen weitreichende physiologische, psychologische und therapeutische Aspekte (78,134). Eine Schlüsselrolle nehmen jedoch insbesondere pathologische Veränderungen im Rahmen der Reaktionen auf eine Hypoglykämie ein. Diese pathologischen Veränderungen werden häufig mit den Begriffen „Hypoglykämie-Gegenregulationsstörung“ und „Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung“ beschrieben (37,75). Wie diese Störungen der Wahrnehmung und Gegenregulation von Hypoglykämien im Einzelnen zustande kommen, ist bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur unvollständig geklärt. Gesichert ist, dass verschiedene Faktoren wie z.B. Lebensalter (2,113), Geschlecht (8,45), Körpergewicht (102), diabetische Neuropathie (18,90,91,118) und die Blutglukoseeinstellung (7,53,101,103,104,108,156) einen deutlichen Einfluss auf die Ausprägung verschiedener physiologischer Reaktionen auf eine Hypoglykämie ausüben. Daraus lassen sich vor allem folgende Risikofaktoren für eine erhöhte Inzidenz und Schwere von Hypoglykämien bei Typ-1-Diabetes-Patienten ableiten: Geringer BMI (102), niedriger HbA1c (102) und hohes Alter (2). Bei Patienten mit Typ-2-Diabetes zeigen sich ähnliche Risikofaktoren bezüglich der Entwicklung von Hypoglykämien: geringer HbA1c und hohes Lebensalter (5). Weiterhin ist die Diabetes-Therapie entscheidend für die Inzidenz von Hypoglykämien bei Patienten mit Typ-2-Diabetes. Unter der Therapie mit Insulin bzw. Insulin-Analoga wird bei Typ-2-Diabetes-Patienten die höchste Inzidenz von Unterzuckerungen beobachtet (106). Insulin-Analoga scheinen jedoch bei Typ-1- und Typ-2-Diabetes-Patienten Vorteile bezüglich der Hypoglykämieinzidenz im Vergleich zu Humaninsulin zu besitzen (20,66). Unabhängig von der Diabetes-Pathogenese scheint

auch die Diabetesdauer einen entscheidenden Einfluss auf die Hypoglykämieinzidenz zu haben, wobei bei längerer Diabetesdauer die Inzidenz der schweren Hypoglykämien steigt (5,82,85,86,92).

Eine eingeschränkte Hypoglykämie-Wahrnehmung (26,76,77,87) ist ebenso wie das Vorhandensein einer stattgehabten schweren Hypoglykämie in der Anamnese eines Patienten (36,37,140) als Risikofaktor für das Erleiden einer Hypoglykämie-Episode zu bewerten. In vielen experimentellen Studien (41,42,109) konnte konsistent eine Beeinträchtigung der Hypoglykämie-Wahrnehmung und -Gegenregulation nach vorherigen Hypoglykämien gezeigt werden. Daher wird allgemein davon ausgegangen, dass sich nach einer ersten schweren Hypoglykämie eine Art *circulus vitiosus* entwickelt, bei dem Hypoglykämien eine Hypoglykämie-Wahrnehmungs- und Gegenregulationsstörung induzieren, welche nachfolgend das Risiko für das Erleiden einer erneuten schweren Hypoglykämie erhöhen (33). Das Ausmaß der Beeinträchtigung von Hypoglykämie-Wahrnehmung und Hypoglykämie-Gegenregulation ist dabei unter anderem abhängig von der Dauer (49,85,128) und der Ausprägung (44) der vorausgehenden Hypoglykämien.

### **1.5 Symptome einer Hypoglykämie**

Die Symptome bzw. die Blutglukoseschwelle für den Beginn der Symptome einer Hypoglykämie sind, wie oben angeführt, von der vorherigen Einstellung des glykämischen Stoffwechsels abhängig (41). Um eine genauere Differenzierung der Hypoglykämiesymptome vorzunehmen, unterscheidet man neuroglykopenen von autonomen Symptomen. Diese Unterscheidung trägt der Tatsache Rechnung, dass zwei verschiedene Mechanismen in der Genese der Hypoglykämiesymptome entscheidende Rollen spielen. Da das zentrale Nervensystem seinen Energiebedarf im Normalfall fast ausschließlich durch Glukose deckt (59), kommt es bei einem Abfall der Blutglukose zu Symptomen, die durch glykopeniebedingte Funktionsstörungen des zentralen Nervensystems zu erklären sind (145). Zu diesen neuroglykopenen Symptomen zählen: Schwindel, Missempfindungen an der Haut, verschwommenes Sehen, Konzentrationsdefizit und Schwächegefühl (151). In schweren Fällen kann es zu Bewusstlosigkeit und Krampfanfällen kommen. Die autonomen Symptome werden zum großen Teil durch Aktivierung des sympathischen- als auch des parasympathischen Systems erklärt (39), wobei Angst, erhöhte Herzfrequenz, Hunger,

Schwitzen, Nervosität und Zittern zu den autonomen Symptomen zählen (151). Anzumerken ist, dass die Klassifikation der einzelnen Symptome in die Bereiche neuroglykopen und autonom in der Literatur zwar üblich, jedoch auch durchaus inkonsistent verwendet wird und umstritten ist.

Die Inzidenz von schweren Hypoglykämien hängt dementsprechend unter anderem von der Diabetes-Therapie, der Güte der Einstellung und der Wahrnehmung der Hypoglykämiesymptome ab. Des Weiteren ist die hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulation ein entscheidender Parameter, der die Inzidenz von schweren Unterzuckerungen beeinflusst.

### **1.6 Physiologische Hypoglykämie-Gegenregulation**

Der Organismus ist bemüht, einen normoglykämischen Zustand beizubehalten. Dieses ist deshalb so wichtig, da das Gehirn seinen Energiebedarf zu über 95% mittels Glukose deckt (59). Schon kurze hypoglykämische Zustände führen zu Funktionsstörungen des zentralen Nervensystems (143), da das in den Astrozyten gespeicherte Glykogen innerhalb der Blut-Hirn-Schranke nur für ein sehr kurzes Zeitintervall ausreicht, um das Gehirn mit Energie zu versorgen (59). Diese Tatsache erklärt, dass unter hypoglykämischen Bedingungen kognitive Funktionen relativ schnell beeinträchtigt werden (62). Bei einem Absinken der Plasmaglukosekonzentration unterhalb von 50 mg/dl kommt es dementsprechend zunehmend zum Auftreten von neurokognitiven Störungen, welche schließlich bei weiterem Abfallen der Glukosekonzentration in eine Bewusstlosigkeit oder einen Krampfanfall münden können (75). Das bedeutet, dass Hypoglykämien unter physiologischen Bedingungen konsequent vom Organismus vermieden werden müssen. Die negativen Auswirkungen chronisch erhöhter Blutglukosekonzentrationen wurden oben schon ausführlich erläutert.

Aufgrund dieser Tatsachen wird die Blutzuckerkonzentration unter physiologischen Bedingungen innerhalb eines relativ engen Bereiches reguliert. Dieses geschieht einerseits durch Insulin als blutzuckersenkendes Hormon und andererseits durch komplexe Mechanismen, die einer Hypoglykämie entgegenwirken. Insulin als wichtigster blutglukosesenkender Faktor ist ein aus 51 Aminosäuren bestehendes Hormon, welches aus zwei Peptidketten besteht, die wiederum über zwei Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Produziert wird dieses Hormon in den

Beta-Zellen der Langerhans-Inseln des Pankreas. Im Verlaufe seiner Synthese wird ein Peptid proteolytisch abgespalten. Durch Messung dieses sogenannten C-Peptides ist es möglich, die endogene Insulinproduktion zu bestimmen.

Der Insulinrezeptor besteht aus zwei Untereinheiten, wobei eine Untereinheit eine Tyrosinkinaseaktivität aufweist. Durch komplexe intrazytoplasmatische Prozesse werden die Insulineffekte ausgelöst. Zu diesen Effekten gehört eine Steigerung der Glykogensynthese und Glykolyse in Leber und Muskulatur bei gleichzeitiger Hemmung der Glykogenolyse. Des Weiteren erhöht Insulin durch Aktivierung eines insulinabhängigen Glukosetransporters (Glut-4) die Permeabilität von peripheren Zellen für Glukose. Neben der Einflussnahme auf den Glukosestoffwechsel steigert Insulin die Triglyzeridsynthese und die Proteinsynthese.

Die genaue Lokalisation eines Zentrums, welches die Hypoglykämie-Gegenregulation steuert, ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch Forschungsgegenstand. Der ventromediale Hypothalamus scheint jedoch eine Schlüsselrolle hinsichtlich dieser Aufgabe zu belegen. Studien zeigen, dass nach künstlicher lokaler Glykopenie in diesem Kerngebiet Gegenregulationsreaktionen ausgelöst (17) bzw. gehemmt werden, wenn jenes Kerngebiet bei systemischer Hypoglykämie adäquat mit Glukose versorgt wird (16).

Die Reaktionen des Organismus auf eine Hypoglykämie gliedern sich in eine endogene und eine exogene Antwort (129). Die exogene Antwort beschreibt die Nahrungsaufnahme als Reaktion auf eine Hypoglykämie-Wahrnehmung. Allerdings muss für diese Verhaltensreaktion die Unterzuckerung bemerkt, und die Symptome müssen richtig gedeutet werden. Die endogene Gegenregulation bei niedrigen Blutglukosewerten geschieht im Allgemeinen sowohl durch Reduktion der Insulinsekretion als auch durch Ausschüttung insulinantagonistischer Hormone durch das autonome Nervensystem (38).

Die Steigerung der insulinantagonistischen Hormonkonzentrationen ist bei exogen zugefügtem Insulin besonders wichtig, da durch exogene Zufuhr dem Organismus die Möglichkeit genommen wird, die Insulinsekretion als Reaktion auf eine Hypoglykämie adäquat zu reduzieren. Hauptmechanismus der Gegenregulation ist eine Steigerung der Glukose-Produktion, vornehmlich durch Glykogenolyse in Leber (58) und Niere (24), bei einer Verminderung der Glukose-Aufnahme im peripheren Gewebe.

In mehreren Studien (34,72,119,138) konnte gezeigt werden, dass bei gesunden Probanden das Glukagon und in geringerem Maße die Katecholamine eine Hauptrolle

in der Hypoglykämieabwehr spielen. Glukagon führt durch einen cAMP-vermittelten Glykogenabbau und gesteigerter Glukoneogenese in Leber und Nieren zu einer erhöhten Bereitstellung von Glukose. Durch Aktivierung des sympathischen Systems und Stimulation des Nebennierenmarkes kommt es im Rahmen einer Hypoglykämie zu einer Ausschüttung von Adrenalin und Noradrenalin (124), wobei das Adrenalin eine dominierende Rolle spielt. Diese Hormone führen sowohl zu einer gesteigerten Glukoneogenese in Leberzellen als auch zu einer geringeren Aufnahme der zirkulierenden Glukose in das periphere Gewebe. Des Weiteren sind sie unter physiologischen Bedingungen in der Lage die Insulinsekretion zu hemmen. In diesem Zusammenhang ist darauf hinzuweisen, dass bei einem Ausfall der Glukagon-Antwort die Katecholamin-Ausschüttung den größten Teil der Gegenregulation im Falle einer akuten Hypoglykämie ausmacht (21,71,130). Weiterhin führt eine Erhöhung der Serum-Somatotropin-Konzentration durch eine periphere Hemmung der Insulin-Sensitivität zu gegenregulatorischen Effekten. Darüber hinaus führen erhöhte Somatotropin-Konzentrationen zu einer Hemmung der Glukoseutilisation in der Leber. Ebenso stellt das adrenokortikotrope Hormon (ACTH) und konsekutiv Kortisol einen weiteren Faktor in der Hypoglykämie-Gegenregulation bei protrahiert verlaufenden Hypoglykämien dar (36,38). Glukokortikoide wie Kortisol besitzen einen insulinantagonistischen Effekt durch Steigerung der Expression von Schlüsselenzymen der Glukoneogenese. Sie aktivieren die Glukoneogenese in Leber und Nieren, verstärken die Proteolyse in Muskelzellen, wodurch vermehrt Substrate zur Glukoneogenese bereitgestellt werden und stimulieren den Glykogenaufbau. Weiterhin erhöhen Glukokortikoide die Sensitivität der Leber für Glukagon und Katecholamine und setzen die Sensitivität für die Insulinwirkungen herab.

Die Abfolge der unterschiedlichen Gegenregulationsmechanismen ist unter physiologischen Bedingungen hierarchisch gegliedert. Hierbei kann jedem Parameter eine Blutglukoseschwelle zugeordnet werden, an der diese gegenregulatorisch wirksame Komponente aktiviert wird ((119); Tab. 1))



<u>Parameter:</u>	<u>Glukoseschwelle:</u>
Glukagon	: 68 ± 1 mg/dl
Adrenalin	: 68 ± 1 mg/dl
Somatotropin	: 67 ± 2 mg/dl
Noradrenalin	: 65 ± 2 mg/dl
autonome Sy.	: 58 ± 2 mg/dl
Kortisol	: 55 ± 2 mg/dl
neuroglykopenische Sy.	: 51 ± 3 mg/dl
Kognitive Dysfunktionen	: 49 ± 2 mg/dl

**Tab. 1:** *Plasmaglukoseschwellen für das Auftreten spezifischer Hypoglykämie-Reaktionen (nach (119)). Sy.: Symptome*

### **1.7 Gestörte Hypoglykämie-Wahrnehmung und Hypoglykämie-Gegenregulation bei Patienten mit Typ-1- und Typ-2-Diabetes**

Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass sowohl Typ-1-Diabetes-Patienten als auch Typ-2-Diabetes-Patienten eine gestörte hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulation aufweisen. Kompliziert wird diese Tatsache durch das Phänomen der gestörten Hypoglykämie-Wahrnehmung („hypoglycaemia unawareness“) (4). Viele Patienten mit Diabetes mellitus sind nicht in der Lage, Hypoglykämiesymptome in vollem Umfang wahrzunehmen bzw. richtig zu deuten und entsprechend zu handeln. Dieses Phänomen zeigt sich besonders nach längerer Diabetesdauer sowohl bei Typ-1- als auch bei Typ-2-Diabetes-Patienten (75). Besonders stark ausgeprägt ist das Defizit der Symptomwahrnehmung und der hormonellen Gegenregulation nach vorherigen Unterzuckerungen (41,68). Mehrere Erklärungsansätze für dieses Phänomen werden diskutiert. Da das Zentrum der Hypoglykämie-Gegenregulation im Kerngebiet des ventromedialen Hypothalamus lokalisiert wird (3), basieren die meisten Hypothesen auf Veränderungen des Glukosestoffwechsels im zentralen Nervensystem.

Die Glut-1-Hypothese geht davon aus, dass unter dem Einfluss häufiger Hypoglykämien die Expression des insulinunabhängigen Glukose-Transporters-1

(Glut-1) gesteigert wird (105). Dieser Transporter ist in der Lage, Glukose insulinunabhängig durch die Blut-Hirn Schranke zu befördern. Bei gesteigerter Transportrate wären Symptome erst bei niedrigeren Blutglukosekonzentrationen zu erwarten, da dem zentralen Nervensystem somit vermehrt Glukose zur Verfügung stehen würde. Diese Hypothese konnte bisher jedoch nicht untermauert werden, da Experimente (139) gezeigt haben, dass die Glukose-Transportrate durch die Blut-Hirn-Schranke nach einer Hypoglykämie nicht wesentlich gesteigert ist. Regionale Anstiege dieser Rate, insbesondere im Kerngebiet des ventromedialen Hypothalamus, sind jedoch nicht auszuschließen.

Eine im Jahr 1996 veröffentlichte Studie (47) führte zur sogenannten Kortisol-Hypothese. In dieser wurde der normalerweise durch eine Hypoglykämie ausgelöste Kortisolanstieg durch externe Zufuhr von Hydrokortison imitiert. Dieses führte zu einer Verminderung der endokrinen Antwort auf eine Hypoglykämie am Folgetag. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde geschlossen, dass der Kortisol-Anstieg für die endokrinen Gegenregulationsdefizite nach vorheriger Hypoglykämie verantwortlich sei. Eine weitere Studie ergab, dass ein Ausbleiben der Kortisolreaktion auf eine Hypoglykämie zu normalen Hypoglykämie-Gegenregulationen im Verlauf weiterer Unterzuckerungen führt (48). Die Ergebnisse der Experimente konnten durch andere Wissenschaftler jedoch nicht reproduziert werden (131).

Die Glukokinase-Theorie postuliert, dass Neurone, welche vornehmlich im Hypothalamus vorkommen, in der Lage sind die Glukosekonzentration durch komplexe intrazytoplasmatische Prozesse zu messen. Diese Mechanismen werden über die Glukokinase reguliert, welche Glukose über Umwege zu ATP metabolisiert (60). ATP ist in der Lage, spezielle Kalium-Kanäle zu steuern, welche zu einer Hyper- bzw. einer Depolarisation von Neuronen führen (61). Die Theorie bezüglich verminderter Hypoglykämie-Reaktionen basiert darauf, dass aufgrund einer gesteigerten Expression der Glukokinase, induziert durch vorherige Hypoglykämien, relativ erhöhte intrazelluläre ATP-Spiegel bei extrazellulär erniedrigten Glukosekonzentrationen vorliegen. Somit wird ein höherer Glukosespiegel in der Umgebung des Neurons imitiert. Dieses könnte in der Folge zu einer Verminderung der Hypoglykämie-Gegenregulation führen. Diese Theorie ist zurzeit die geläufigste, jedoch stellen sich bezüglich der endogenen Blutzuckermesssysteme und der Steuerung der Hypoglykämie-Gegenregulation noch immer essentielle Fragen. Eine umfassende Theorie ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch nicht absehbar (107,115).

Symptomwahrnehmung und hypoglykämische Gegenregulation korrelieren teilweise miteinander, wobei das autonome Nervensystem eine Schlüsselrolle besitzt. Das Ausschalten des autonomen Nervensystems bzw. die Unterbrechung der entsprechenden Leitungsbahnen im Rückenmark führt zu einer Verminderung der autonomen Symptome und der hormonellen Gegenregulation (29,112). Das bedeutet, dass auch eine Schädigung der autonomen Leitungsbahnen die Symptomwahrnehmung und die hormonelle Gegenregulation negativ beeinflusst.

Dieses Phänomen zeigt sich auch bei der diabetisch bedingten autonomen Polyneuropathie (91,118). Diese ist vor allem für eine reduzierte Katecholaminantwort und konsekutiv für eine herabgesetzte autonome Hypoglykämie-Wahrnehmung verantwortlich (18,83,89,91,93,118). Studien belegen, dass bei Diabetes-Patienten mit nachgewiesener autonomer Polyneuropathie die Katecholaminreaktion relativ zu Patienten ohne autonomer Polyneuropathie um bis zu 75 % vermindert ist (118). Die Konzentration der zirkulierenden Katecholamine beeinflusst in hohem Maße die Symptomwahrnehmung, wobei eine reduzierte Katecholaminkonzentration zu einer Verminderung der autonomen Symptomwahrnehmung führt (87). Hinsichtlich des Einflusses der Polyneuropathie auf andere hormonelle Gegenregulationsmechanismen werden unterschiedliche, zum Teil widersprüchliche Angaben gemacht (89,91,118). Es verdichten sich die Hinweise, dass die diabetisch bedingte autonome Polyneuropathie nicht allein ursächlich für die verminderte Gegenregulation und die defiziente Hypoglykämie-Wahrnehmung ist (87,90,135). So zeigt sich, dass ein Großteil der defizienten Hypoglykämie-Gegenregulationen auch bei Patienten mit diabetisch bedingter autonomer Polyneuropathie durch das strenge Vermeiden von Hypoglykämien reversibel sind (30,40,64).

Ferner belegen Studien, dass ältere Typ-2-Diabetes-Patienten besonders unter einer Einschränkung der autonomen Symptomwahrnehmung leiden (117). Dieses scheint jedoch nicht diabetesspezifisch zu sein, sondern ältere Menschen allgemein zu betreffen (113,116). Des Weiteren hat sich in Bezug auf ältere Patienten mit Typ-2-Diabetes gezeigt, dass Hypoglykämiesymptome oft anders und erst bei niedrigeren Blutglukosewerten zum Ausdruck kommen, als dieses bei jüngeren Patienten der Fall ist (95). Die Differenzierung zwischen Hypoglykämiesymptomen und Symptomen assoziierter Erkrankungen (z.B. zerebrale Durchblutungsstörungen) ist ebenfalls häufig erschwert (95).

## 1.8 Hormonelle Gegenregulation bei Typ-1-Diabetes-Patienten

Aufgrund der dargelegten Fakten ist festzustellen, dass die Hypoglykämie in der Therapie des Diabetes mellitus eine Gefahr darstellt, die gerade bei streng eingestellten Diabetes-Patienten nicht zu unterschätzen ist.

Frühere Studien beschäftigten sich hauptsächlich mit der Hypoglykämie-Gegenregulation bei gesunden Probanden und bei Typ-1-Diabetes-Patienten. Die Gegenregulation bei gesunden Probanden wurde oben schon ausführlich erläutert.

Im Gegensatz zu gesunden Studienkollektiven zeigt sich bei Typ-1-Diabetes-Patienten eine relative Verminderung der Glukagon- (13,74) und Katecholamin-Antwort (37). Gerade das Zusammenspiel dieser beiden Hormonsysteme ist jedoch besonders wichtig, um akuten Hypoglykämien entgegenzuwirken (71). Einleitend in der Pathogenese der Hypoglykämie-Gegenregulationsstörung entwickelt sich eine verminderte Glukagon-Antwort (13,74). Der Mechanismus, der diese Verminderung bewirkt, ist bis zum heutigen Zeitpunkt noch Gegenstand der Forschung. Studien (127,150) weisen darauf hin, dass die Glukagonantwort auf eine Hypoglykämie durch parakrine Kommunikation zwischen Beta- und Alpha-Zellen vermittelt wird. Durch Zerstörung der Beta-Zellen im Rahmen der Typ-1-Diabetes Pathogenese muss dieser Mechanismus offensichtlich versagen. So wurde gezeigt, dass der Grad der Alpha-Zell-Dysfunktion vom Grad der Beta-Zellzerstörung abhängig ist (70). Der Alphazell-Defekt scheint allerdings hypoglykämiespezifisch zu sein, da eine Ausschüttung von Glukagon durch Arginin noch induzierbar ist (74). Ebenfalls ist zu beachten, dass Insulin per se entscheidende Gegenregulationsmechanismen und Reaktionen auf eine Hypoglykämie beeinflusst (68,99), insbesondere die Glukagon-Antwort supprimiert (56,63).

Im weiteren Verlauf des Diabetes mellitus entwickelt sich eine Störung der Katecholamingegenregulation, deren Ursache noch unklar ist. Das Zusammentreffen dieser zwei Komponenten führt im Vergleich zu einem Patientenkollektiv, das noch über eine suffiziente Katecholamin- und Glukagon-Antwort verfügt, zu einem über 10-fach erhöhten Risiko eine Hypoglykämie zu entwickeln (14,32,140,155).

Über die Somatotropin- und Kortisol-Konzentrationen im Verlauf einer Hypoglykämie bei Typ-1-Diabetes-Patienten existieren unterschiedliche Ergebnisse. Während einige Autoren verminderte Somatotropin- und Kortisol-Ausschüttungen als Reaktion auf eine Hypoglykämie beschreiben (7,43), berichten andere Autoren über

normale Konzentrationen relativ zu Hypoglykämie-Antworten bei gesunden Probanden (13,41) bzw. über erhöhte Konzentrationen bei schlechter Blutzuckereinstellung (7) oder längerer Diabetesdauer (13).

### **1.9 Hormonelle Gegenregulation bei Typ-2-Diabetes-Patienten**

Typ-2-Diabetes-Patienten unter Insulintherapie und mit guter glykämischer Einstellung erleiden, wie oben dargestellt, ähnlich viele Hypoglykämien wie Typ-1-Diabetes-Patienten. Aus diesem Grund rückt die Hypoglykämieantwort bei Typ-2-Diabetes-Patienten immer mehr in den Mittelpunkt der Hypoglykämieforschung.

Die Studienlage deutet zurzeit darauf hin, dass Typ-2-Diabetes-Patienten, die noch eine Restfunktion der Beta-Zellen besitzen, eine andere Hypoglykämieantwort zeigen, als dieses bei Typ-1-Diabetes-Patienten oder gesunden Probanden der Fall ist (12,84,108,117,126).

Bei Typ-2-Diabetes-Patienten mit relativ suffizienter Beta-Zell-Funktion ist die Glukagonausschüttung unter hypoglykämischen Bedingungen als normal (12,84,126) oder reduziert (15,141), jedoch nicht als fehlend beschrieben worden. Adrenalin zeigt keine verminderte Antwort im Vergleich zu gesunden Probanden (12,15,37), während die Hypoglykämie-induzierte Noradrenalinreaktion sogar stärker ausfällt, als dieses bei gesunden Vergleichspersonen beobachtet wird (15,108).

In der Literatur wird eine veränderte Hypoglykämie-Reaktion bei erniedrigten bzw. fehlenden C-Peptid-Werten beschrieben. Studien (140) schildern eine stark reduzierte bzw. fehlende Glukagon-Antwort auf eine Hypoglykämie. Hinsichtlich der Adrenalinausschüttung ist besonders darauf hinzuweisen, dass Typ-2-Diabetes-Patienten nach besonders strenger Blutzuckereinstellung eine geringere Adrenalinsekretion aufweisen (22). Die Tatsache, dass die Gegenregulationsmechanismen unter diesen Umständen erst bei niedrigeren Blutglukosespiegeln ausgelöst werden, verschärft die Situation noch zusätzlich (22). Darüber hinaus ist nach vermehrten Hypoglykämien auch die Noradrenalinsekretion vermindert (140). Hypoglykämie-induzierte Somatotropin- und Kortisol-Reaktionen bei Typ-2-Diabetes-Patienten werden unabhängig von der C-Peptid-Konzentration als erniedrigt (15) oder normal (12,84,141) beschrieben.

Das geschilderte Defizit der Gegenregulation bei stark erniedrigten C-Peptid Werten erklärt auch, dass die Diabetesdauer bei Typ-2-Diabetes-Patienten zu einer der

Haupttrisikofaktoren bezüglich der Entwicklung einer schweren Hypoglykämie zählt (5,82,85,86,92), da im Verlauf der Erkrankung die Sekretionsrate der Beta-Zellen abnimmt.

Somit scheinen Typ-2-Diabetes-Patienten mit stark defizienter Beta-Zell-Restfunktion nach vorangehender Unterzuckerung eine ähnlich pathologische Hypoglykämieantwort wie Typ-1-Diabetes-Patienten zu besitzen. Diese Faktoren sind jedoch nicht alleine für das Ausmaß der gegenregulatorischen Funktionsstörungen ausschlaggebend.

### **1.10 Geschlechtliche Unterschiede in der Hypoglykämie-Gegenregulation**

Bei gesunden Probanden und Patienten mit Typ-1-Diabetes zeigte sich in vielen Studien, dass das Geschlecht der Probanden einen entscheidenden Einfluss auf die Reaktionen des Organismus auf eine Hypoglykämie hat. Während die Kortisol-Antworten in den meisten Untersuchungen als geschlechtsunspezifisch beschrieben werden (6,43,45,57,63), ist die Glukagonantwort bei gesunden Probandinnen im Verhältnis zu männlichen Vergleichspersonen als reduziert beschrieben (45,63). Bei Typ-1-Diabetes-Patienten konnte diese Reduktion bisher noch nicht nachgewiesen werden (43). Unabhängig von einer diabetischen Stoffwechsellage ist die Katecholaminreaktion auf erniedrigte Blutglukosekonzentrationen bei weiblichen Probandinnen in vielen Studien als reduziert beschrieben worden (6,43,57). Ebenso verhält es sich mit der Somatotropin-Antwort (43,45,57). Aus diesen Ergebnissen erklärt sich auch die verminderte endogene Glukoseproduktion bei Frauen während einer Hypoglykämie (43).

Bemerkenswert ist jedoch, dass in der Literatur keine erhöhten Inzidenzen von Hypoglykämien bei weiblichen Typ-1- oder Typ-2-Diabetes Patientinnen beschrieben werden. Studien zeigen, dass diese Rate bei Typ-1-Diabetes-Patienten geschlechtsunspezifisch ist (35,50). Die Ursache dieser Tatsache ist bis zum heutigen Zeitpunkt ungeklärt, allerdings gibt es Hinweise darauf, dass der Einfluss vorheriger Hypoglykämien bei Männern zu einer stärkeren Reduktion der Gegenregulation führt, als dieses bei Frauen der Fall ist (46). Hinsichtlich der Blutglukoseschwellen, die erreicht werden müssen um eine hormonelle Gegenregulation auszulösen, zeigen sich ebenfalls keine Unterschiede zwischen gesunden Frauen und Männern (45,63). Ebenso ist herauszustellen, dass Frauen trotz geringerer Katecholaminantwort keine Defizite

bezüglich der Hypoglykämie-Wahrnehmung im Verhältnis zu Männern aufweisen (43,63).

## **2. Ziele und Fragestellungen**

Aufgrund der Tatsache, dass auch Typ-2-Diabetes-Patienten bei guter Blutzuckereinstellung unter einer hohen Hypoglykämieinzidenz leiden, ist es wichtig, die Reaktion des Organismus auf hypoglykämische Zustände innerhalb dieses Patientengutes weiter zu untersuchen. Da der Typ-2-Diabetes eine Erkrankung ist, die vor allem ältere Menschen betrifft, sollten gerade in dieser Altersgruppe genauere Untersuchungen durchgeführt werden.

Aus diesen Gründen bezogen sich unsere Fragestellungen auf die Hypoglykämie-Reaktionen von älteren bzw. postmenopausalen Typ-2-Diabetes-Patienten/Patientinnen, wobei zum einen geschlechtliche Unterschiede und zum anderen Unterschiede in den Hypoglykämie-Reaktionen in Abhängigkeit von der Diabetesdauer untersucht wurden.

Die konkret untersuchten Fragestellungen waren:

1. Gibt es Unterschiede in den hormonellen, symptomatischen und neurokognitiven Reaktionen auf eine Unterzuckerung zwischen postmenopausalen Typ-2-Diabetes Patientinnen im Vergleich zu gleichaltrigen männlichen Typ-2-Diabetes-Patienten?
2. Gibt es Unterschiede in den hormonellen, symptomatischen und neurokognitiven Reaktionen auf eine Unterzuckerung zwischen langjährigen Typ-2-Diabetes-Patienten im Vergleich zu gleichaltrigen Patienten mit kürzerer Diabetes-Anamnese?

Zur Beantwortung dieser Fragestellungen wurden zwei separate experimentelle Studien durchgeführt, wobei in der Studie 1 geschlechtliche Unterschiede untersucht wurden und in der Studie 2 die Unterschiede bezüglich der Diabetesdauer herausgearbeitet wurden.

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Probandenkollektiv der Studie 1**

Untersucht wurden 15 Männer und 15 postmenopausale Frauen ohne Östrogensubstitution mit Typ-2-Diabetes. Die beiden Gruppen wurden so zusammengestellt, dass Lebensalter, BMI, HbA1c, Diabetesdauer und Diabetestherapie gut vergleichbar waren. Die klinischen Parameter der beiden Gruppen sind in Tabelle 2 aufgelistet. Der Nachweis, dass sich alle Frauen im postmenopausalen Stadium befanden, wurde durch die Messung der LH-, FSH- und Östrogen-Konzentrationen erbracht. Dabei wurde eine LH-Konzentration von über 10 mU/ml, eine FSH-Konzentration von über 26 mU/ml und eine Östrogen-Konzentration von unter 50 pg/ml als Einschlusskriterium gewertet. Ferner gaben alle weiblichen Probandinnen an, keine Menstruationsblutung im Jahr vor der Studie gehabt zu haben. Keiner der Probanden erlebte in dem Jahr vor der Studie eine schwere Unterzuckerung, bei welcher er/sie Fremdhilfe bedurfte.

Die Probanden wurden zur Zeit des Experimentes zusätzlich zur Diabetestherapie mit Beta-Rezeptor-Antagonisten (Frauen/Männer: 6/6), ACE-Inhibitoren (7/5), Kalzium-Antagonisten (3/3), Diuretika (1/4), antilipämischen Präparaten (Statine und Fibrate; 3/3) und Thrombozytenaggregationshemmern (ASS und Clopidogrel; 4/4) behandelt. Der Vergleich der Gruppen hinsichtlich dieser Medikation erbrachte ebenso wie bei den oben genannten Parametern keine statistisch signifikanten Unterschiede ( $p > 0,3$  für alle Vergleiche; Chi-Quadrat-Test).



<b>Variablen</b>	<b>Frauen (n=15)</b>	<b>Männer (n=15)</b>	<b>P-Wert</b>
<b>Lebensalter</b> (Jahre)	61,0 ± 1,9 (50 - 72)	61,7 ± 2,8 (40 - 82)	0,830
<b>Diabetesdauer</b> (Jahre)	9,1 ± 1,3 (4 - 17)	9,0 ± 2,3 (1 - 33)	0,931
<b>HbA1c</b> (%)	7,7 ± 0,2 (6,4 - 10,4)	7,6 ± 0,2 (5,7 - 8,7)	0,629
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	30,6 ± 1,5 (21,3 - 41,5)	28,6 ± 1,2 (20,0 - 40,1)	0,300
<b>Diabetes-Therapie</b>			
<b>Diät</b> (ausschließlich)	2	2	1,0
<b>Metformin</b>	10	9	0,705
<b>Sulfonylharnstoffe</b>	4	3	0,666
<b>Insulin</b>	7	7	1,0
<b>Insulindosis</b> (U/kg pro Tag)	0,44 ± 0,11 (0,19– 0,92)	0,42 ± 0,08 (0,15– 0,80)	0,846

**Tab. 2:** Die Parameter werden als Mittelwert ± Standardfehler (Bereich) angegeben. Bezüglich der Medikation war eine Kombination von Antidiabetika möglich. (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben bzw. Chi-Quadrat-Test ermittelt).

Die Versuchsteilnehmer wurden durch Aushänge im Universitätsklinikum Schleswig Holstein-Campus Lübeck, in Apotheken und diabetologischen Schwerpunktpraxen gewonnen. Ebenso wurde in einer Zeitungsanzeige auf die Studie aufmerksam gemacht.

Wenige Tage vor der Teilnahme an dem Versuch wurden alle potentiellen Probanden einer Voruntersuchung unterzogen. Es wurde eine ausführliche Anamnese mit klinischer Untersuchung vorgenommen, sowie ein EKG abgeleitet. An Laboruntersuchungen wurden Elektrolyte, Leberwerte, Nierenretentionswerte, ein kleines Blutbild sowie ein Urinstatus kontrolliert. Eine klinisch manifeste Polyneuropathie wurde mittels Stimmgabelversuch ausgeschlossen.

Ausschlusskriterien für die Teilnahme an dem Experiment waren: Diabetische Nephropathie (Albuminausscheidung > 300 mg/l), klinisch manifeste Polyneuropathie und Zustand nach Herzinfarkt oder Apoplex. Weiterhin stellten schwere akute Erkrankungen ein Ausschlusskriterium dar.

Die Patienten wurden angewiesen am Vortag des Versuches ab 19.00 h keine Mahlzeiten zu sich zu nehmen. Ferner sollte nach dieser Zeit nur noch Wasser getrunken werden. Am Morgen des Versuches wurden alle Medikamente inklusive der diabetischen Medikation nicht eingenommen. Nur die Einnahme von Thrombozytenaggregationshemmern wurde nicht ausgesetzt.

Die Teilnehmer wurden schriftlich sowie mündlich über die Ziele und die Risiken der Studie aufgeklärt. Das Experiment wurde einfach-blind durchgeführt. Alle Probanden haben freiwillig an dem Versuch teilgenommen und schriftlich ihr Einverständnis zu der Teilnahme an der Studie gegeben. Als Aufwandsentschädigung wurde den Probanden €75 gezahlt.

### **3.2 Probandenkollektiv der Studie 2**

In der Studie 2 wurden 12 Patienten mit einer Diabetesdauer von maximal 5 Jahren (mittlere Diabetesdauer  $\pm$  Standardfehler:  $3,4 \pm 0,4$  Jahre; Bereich: 1 - 5 Jahre) mit 12 Patienten mit einer Diabetes-Anamnese von mindestens 10 Jahren verglichen (Diabetesdauer:  $14,4 \pm 1,0$  Jahre; Bereich: 10 - 22 Jahre). Die Diabetesdauer wurde anamnestisch durch die Erstdiagnose des behandelten Arztes definiert. Bezüglich Geschlecht, Lebensalter, BMI und HbA1c waren beide Probandengruppen gut vergleichbar. In der Gruppe mit kurzer Diabetes-Anamnese befanden sich 5 Frauen

und 7 Männer, das Kollektiv mit längerer Diabetes-Anamnese beinhaltete 7 Frauen und 5 Männer. Die klinischen Parameter der Probanden sind in Tabelle 3 aufgelistet. Die Patienten mit längerer Diabetes-Anamnese wurden signifikant häufiger mit Insulin behandelt ( $p = 0,041$ ), während die Diabetes-Patienten mit kürzerer Krankheitsdauer häufiger Metformin einnahmen ( $p = 0,098$ ). Dessen ungeachtet waren beide Gruppen bezüglich der übrigen diabetischen Behandlung (Sulfonylharnstoffe, ausschließlich Diät) gut vergleichbar (Tab. 3).

Neben der Diabetes-Medikation wurden die Patienten beider Gruppen mit Beta-Rezeptor-Antagonisten (kurze/lange Diabetesdauer: 7/4;  $p = 0,219$ ), ACE-Inhibitoren (6/6;  $p = 1$ ), Kalzium-Kanalblockern (1/2;  $p = 0,537$ ), Diuretika (3/3;  $p = 1$ ), antilipämischen Präparaten (Statine und Fibrate: 3/3;  $p = 1$ ) und Thrombozytenaggregationshemmern (ASS und Clopidogrel: 2/6;  $p = 0,083$ ) behandelt.

Die Rekrutierung und Auswahl der Studienteilnehmer war identisch mit der von Studie 1 und wurde dort bereits ausführlich dargestellt.

Variable	Diab.-Dauer	Diab.-Dauer	P-Wert
	≤ 5 Jahren (n=12)	≥ 10 Jahren (n=12)	
<b>Lebensalter</b> (Jahre)	59,0 ± 1,9 (46 – 68)	62,1 ± 2,0 (50 -72)	0,283
<b>HbA1c</b> (%)	7,3 ± 0,3 (6,0 – 9,1)	7,9 ± 0,4 (5,9 - 11,1)	0,244
<b>BMI</b> (kg/m <sup>2</sup> )	29,5 ± 1,1 (24,7 – 37,8)	30,6 ± 1,6 (21,5 – 41,5)	0,571
<b>Diabetes-Therapie</b>			
<b>Diät</b> (ausschließlich)	2	3	0,615
<b>Metformin</b>	9	5	0,098
<b>Sulfonylharnstoffe</b>	2	1	0,537
<b>Insulin</b>	4	9	0,041
<b>Insulin Dosis</b> (U/kg pro Tag)	0,33 ± 0,10 (0,14 – 0,52)	0,55 ± 0,11 (0,15 – 0,80)	0,238

Tab. 3: Die Parameter werden als Mittelwert ± Standardfehler (Bereich) angegeben. Bezüglich der Medikation war eine Kombination von Antidiabetika möglich (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben bzw. Chi-Quadrat-Test ermittelt).

### 3.3 Versuchsanordnung

Da die Versuche in Studie 1 und Studie 2 analog durchgeführt wurden, werden die Versuchsanordnungen im Folgenden zusammen dargestellt.

Am Tag des Versuches wurden die Probanden um 7.30 h in das Versuchslabor gebeten. Die Probanden lagen in einem schallgeschützten Raum mit dem Oberkörper in einer ca. 60°-Position mit horizontal liegenden Beinen auf einem Bett.

Eine Braunüle wurde in einer Unterarmvene des dominanten Armes fixiert. Diese diente dazu, mittels eines Infusionsschlauches Insulin und nach Bedarf eine 20 %-ige Glukoselösung zu infundieren. Eine zweite Braunüle wurde an der gleichen Stelle des kontralateralen Armes gelegt. Durch diesen Zugang wurde Blut zur Bestimmung der Hormone und der Blutglukosekonzentration gewonnen und zur Prävention einer insulininduzierten Hypokaliämie eine kaliumhaltige Lösung (Ringer) verabreicht. Da beide Zugänge mittels eines dünnen Infusionsschlauches in einen angrenzenden Raum geleitet wurden war es uns möglich Insulin und/oder Glukose zu verabreichen, ohne das dieses von den Probanden bemerkt werden konnte. Während des Versuches war den Probanden die angestrebte bzw. die aktuelle Blutglukosekonzentration nicht bekannt.

Die Einstellung der Blutglukosekonzentration über die Zeit erfolgte nach der standardisierten Clamp-Technik, die von DeFronzo (54) ausführlich beschrieben wurde, wobei es sich in unserer Studie um einen hypoglykämischen, hyperinsulinämischen Clamp handelte. Nach einer 30-minütigen Baseline-Phase wurde die Blutglukosekonzentration durch einen über 4 Minuten applizierten Insulin-Bolus von 0,08 U pro kg Körpergewicht und einer darauf folgenden konstanten Insulininfusionsrate von 2,5 mU/min pro kg Körpergewicht auf 50 mg/dl gesenkt. Dieses Blutzuckerplateau wurde daraufhin über 30 min durch Infusion der Insulinlösung (Insuman Rapid, Aventis, Straßburg, Frankreich) und gegebenenfalls durch eine 20 %-Glukoseinfusion beibehalten. Nach Ende des 30-minütigen Hypoglykämieplateaus wurde die Blutglukosekonzentration durch Infusion der Glukoselösung und durch Beendigung der Insulininfusion wieder auf normoglykämische Konzentrationen reguliert. Während des Clamp-Experimentes wurden die Blutglukosekonzentrationen alle 5 Minuten kontrolliert und gegebenenfalls mittels Infusion von Glukose korrigiert.

Blutproben für die Bestimmung von Insulin, C-Peptid, Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, Kortisol, Somatotropin und Glukagon aus Plasma bzw. Serum wurden einmalig in der Baseline-Phase und alle 15 min während des Clamp-Experimentes gewonnen. Dabei wurden Insulin-, C-Peptid-, Kortisol- und Somatotropin-Konzentrationen aus Serum-Proben bestimmt, während ACTH- und Glukagon-Konzentrationen aus Plasma-Proben ermittelt wurden. Die Bestimmung der Katecholamin-Konzentrationen erfolgte aus Plasma-Vakutainern die vor und nach der Beimpfung dieser gekühlt wurden.

Der Blutdruck wurde in der Baseline-Phase, während des Hypoglykämieplateaus und nach der Stabilisierung der Blutglukosekonzentration nach der Riva-Rocci-Methode gemessen.

### **3.4 Symptome**

Ein semiquantitativer Symptom-Fragebogen wurde den Probanden in der Baseline Phase, am Ende des Hypoglykämie-Plateaus und nach der Stabilisierung der Blutglukosekonzentration auf normale Werte zur Beantwortung ausgehändigt. Die Probanden konnten Werte zwischen 0 (keine Symptome) und 9 (starke Symptome) angeben. Der Fragebogen beinhaltete insgesamt 27 Symptome. In der Auswertung dieses Fragebogens wurde zwischen neuroglykopenen und autonomen Symptomen unterschieden. Diese Einteilung wurde nach Mitrakou durchgeführt (151). Als neuroglykopene Symptome wurden bewertet: Schwindel, Missempfindungen an der Haut, verschwommenes Sehen, Konzentrationsstörungen und Schwächegefühl. Zu den autonomen Symptomen wurden gezählt: Angst, Palpitationen, Hunger, Schwitzen, Nervosität und Zittern. Die Gesamtheit der Hypoglykämiesymptome wurde durch die Summe der oben genannten Symptome gebildet.

### **3.5 Neurokognitive Tests**

Die neurokognitiven Tests wurden in der Baseline-Phase, während des Hypoglykämie-Plateaus und nach Wiedererreichen einer normalen Blutglukosekonzentration durchgeführt.

Eine Methode zur Einschätzung der neurokognitiven Leistungsfähigkeit stellte ein Kurzzeitgedächtnistest in Form eines Wort-Wiedergabe-Testes dar. Dieser bestand aus

einer akustischen Präsentation von 15 Wörtern, die mittels CD-Player in einem Zeitintervall von 1 Sekunde zwischen den Wörtern vorgetragen wurden. Um Wiederholungen auszuschließen, wurden unterschiedliche Wortlisten aus einem Wörterpool zusammengestellt. So war sichergestellt, dass kein Proband Wiederholungen innerhalb der Testserie ausgesetzt war. Innerhalb dieses Pools wurden drei Kategorien unterschieden: Essens-bezogene Ausdrücke (z.B. Schinken, Eier), emotionale Wörter (z.B. Mutter, Freund) und neutrale Wörter (z.B. Baum, Feld) (137). Eine Minute nach Präsentation der Wörter wurden die Testpersonen gebeten, alle Begriffe, die in Erinnerung geblieben waren, zu wiederholen. Dafür standen den Probanden wiederum 60 Sekunden Zeit zur Verfügung. In der Auszählung der erinnerten Wörter wurden die drei Kategorien gesondert berücksichtigt und in Relation zur Gesamtzahl der genannten Wörter bewertet.

Zusätzlich wurde die Reaktionszeit während eines akustischen Vigilanztestes quantifiziert. Dieser verlangte von den Probanden die Unterscheidung eines Ziel-Tones (1200 Hz, 60 ms, 64 db) von einem Standard-Ton (800 Hz, 60 ms, 64 db). Insgesamt wurden sowohl in der Baseline-Phase, während der Hypoglykämie und nach dem Hypoglykämieplateau 400 Töne in einem Zeitintervall von 10 min über Kopfhörer präsentiert, wovon 40 Töne Ziel-Töne darstellten. Die Töne wurden in einem Abstand von 1000 bis 3000 ms erzeugt. Die Probanden wurden instruiert einen Knopf mit dem Daumen der dominanten Hand bei Ertönen des Zieltones möglichst schnell zu drücken (67). Die Reaktion auf die Töne wurde mittels eines AD-Wandlers (Cambridge Electronic-Design CED 1401; Science Park Cambridge, England, Auflösung: max. 32 Kanäle, max. 16000 Datenpunkte pro Sekunde) und eines Computers registriert.

Als korrekte Antwort wurde ein Betätigen des Knopfes nach Präsentation eines Ziel-Tones gewertet. Eine falsche Antwort wurde bei Betätigen des Knopfes nach Standardton registriert. Die mittlere Reaktionszeit, die Zahl der korrekten Antworten und die Zahl der falschen Antworten wurden dokumentiert.

Die zusätzlich von uns registrierten EEG-Signale mittels Neurofax EEG-44218 (Nihon-Kohden, Danbury, USA) konnten aufgrund technisch bedingter Artefakte nicht ausgewertet werden, daher werden sie hier nicht genauer beschrieben.

### 3.6 Analytische Methoden

Die Blutglukosekonzentration wurde durch Einsatz der Glukose-Dehydrogenase-Methode gemessen (HemoCue B-Glukose-Analyzer, Ängelholm, Schweden). Die intra- und inter-Assay Variationskoeffizienten (VK) betragen: < 3,5 % bzw. < 2,7 %. Serum-Insulin-, C-Peptid-, Kortisol- und Somatotropin-Konzentrationen wurden durch kommerziell erhältliche Immunoassays (Immulite, DPC, Los Angeles, USA) bestimmt. Die intra- und inter-Assay Variationskoeffizienten betragen: Insulin: < 5,2 % bzw. < 6,1 %; C-Peptid: < 7,6 % bzw. < 10,5 %; Kortisol: < 5,8 % bzw. < 6,3 %; Somatotropin: < 5,8 % bzw. < 5,5 %. Die Plasma ACTH-Konzentration wurde ebenfalls mittels Immunoassay bestimmt (Immulite, DPC, Los Angeles, USA), wobei der intra-Assay VK < 6,1 % und der inter-Assay VK < 9,4 % betrug. Die Konzentration des Glukagons im Plasma wurde durch den Einsatz eines Radio-Immunoassays bestimmt (Adaltis, Montreal, Kanada; intra-Assay VK: < 8,0 %; inter-Assay VK: < 8,2 %). Plasma Adrenalin und Noradrenalin wurden mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographen mit elektrochemischem Detektor ermittelt (Chromosystems, München, Deutschland). Die intra- und inter-Assay Variationskoeffizienten betragen < 2,9 % bzw. < 4,2 % für Adrenalin und < 2,6 % bzw. < 3,9 % für Noradrenalin. LH-, FSH- und Östrogen-Konzentrationen wurden durch den Einsatz eines Elektrochemie-Lumineszenz Immunoassays (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Deutschland) bestimmt. Hierbei betragen die Variationskoeffizienten jeweils: LH: intra-Assay VK: < 1,8 %, inter-Assay VK: < 5,2 %; FSH: intra-Assay VK: < 1,8 %, inter-Assay VK: < 5,3 %; Östrogen: intra-Assay VK: < 5,7 %, inter-Assay VK: 6,2 %. Die Konzentrationen für LH, FSH und Östrogen befanden sich bei allen untersuchten Frauen im Referenzbereich für Frauen im postmenopausalen Status (LH: 7,7 – 58,5 mU/ml; FSH: 25,8 – 134,8 mU/ml; Östrogen: 5,0 – 54,7 pg/ml).

### 3.7 Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung wurde SPSS 11.5 für Windows benutzt. Alle Ergebnisse werden, soweit nicht anders beschrieben, als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler dargestellt. Die statistische Auswertung basierte auf Varianzenanalysen (ANOVA) für wiederholte Messungen. Hierbei beschreibt der Faktor „Hypo“ den Effekt der Hypoglykämie in

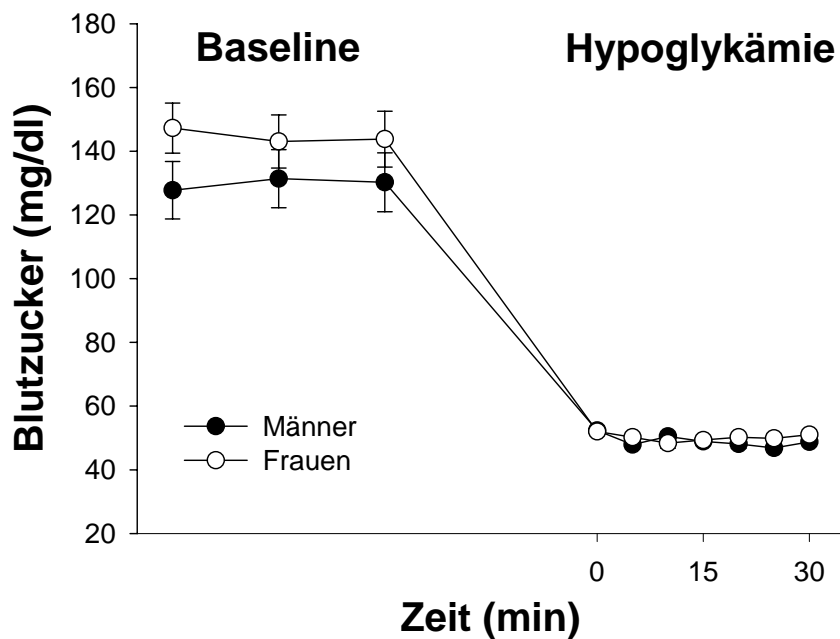


Bezug auf die Messergebnisse innerhalb der Baseline-Phase. Zusätzlich wurde in Studie 1 der Faktor „Sex“ und in Studie 2 der Faktor „Dauer“ eingeführt, um Vergleiche zwischen den jeweiligen Gruppen durchzuführen. Somit bezeichnet die Interaktion der Faktoren „Sex x Hypo“ bzw. „Dauer x Hypo“ die Unterschiede der Geschlechter bzw. Unterschiede in Bezug auf die Diabetesdauer in der Reaktion auf die Hypoglykämie mit der Voraussetzung, dass die Parameter während der Baseline-Phase vergleichbar waren. Für paarweise Vergleiche wurde der T-Test für ungepaarte Stichproben bzw. der Chi-Quadrat-Test verwandt. P-Werte wurden ab einem Wert unter 0,05 als statistisch signifikant angesehen. Da der Anstieg der Blutglukosekonzentration nach dem Hypoglykämieplateau in Studie 1 zwischen den Frauen und Männern nicht vergleichbar war, beziehen sich alle Analysen in Studie 1 nur auf die Baseline-Werte und die Werte während der Hypoglykämie. In Studie 2 zeigte sich der Verlauf der Blutglukosekonzentration über die Zeit des Clamp-Versuches als sehr gut zwischen den Gruppen vergleichbar. Aus diesem Grund beziehen sich die Analysen in Studie 2 sowohl auf die Werte der Baseline-Phase als auch auf die Werte des Hypoglykämieplateaus und der Post-Hypoglykämie-Phase. Dabei wurden die Post-Hypoglykämie-Werte 30 min nach Ende des Hypoglykämieplateaus gemessen. In beiden Studien werden die Messwerte zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau nicht dargestellt, da sich der Verlauf der Blutglukosekonzentration in diesem Zeitintervall als sehr variabel darstellte.

## 4. Ergebnisse der Studie 1

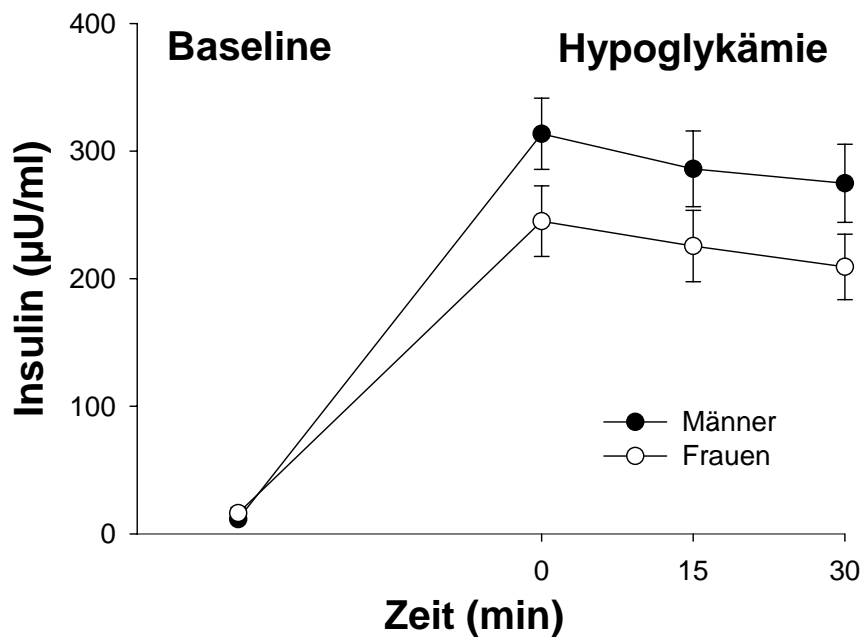
### 4.1 Blutglukose, Insulin und C-Peptid

Der Mittelwert der Blutzuckerkonzentration (BZ) in der Baseline-Phase zeigte sich bei den weiblichen Probandinnen im Vergleich zu den BZ-Konzentrationen in der männlichen Gruppe als etwas erhöht ( $145 \pm 8$  vs.  $130 \pm 9$  mg/dl). Dieser Unterschied war jedoch statistisch nicht signifikant ( $p = 0,231$ ). Die Ziel-Konzentration des Hypoglykämie-Plateaus von 50 mg/dl wurde im Mittel nach  $60 \pm 7$  min bei den Frauen und nach  $47 \pm 8$  min bei den männlichen Probanden erreicht ( $p = 0,203$ ). Während des Plateaus zeigten sich die BZ-Werte der beiden Gruppen als gut vergleichbar (Abb. 1).

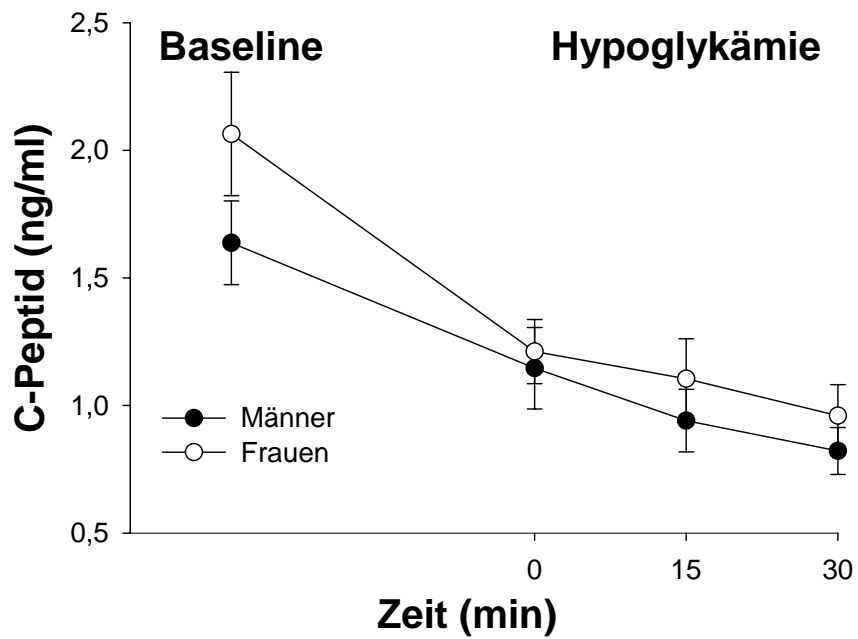


**Abb. 1:** Blutglukosekonzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus. Blutglukosekonzentrationen zwischen den beiden Phasen werden nicht dargestellt. Daten werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben. Die Gruppengröße ( $n$ ) beträgt jeweils 15 Personen.

Serum-Insulin- und -C-Peptid-Konzentrationen unterschieden sich zwischen den Geschlechtern in der Baseline-Phase nicht wesentlich voneinander (Insulin:  $18,7 \pm 4,9$  bei den Frauen vs.  $11,4 \pm 1,8 \mu\text{U/ml}$  bei den Männern;  $p = 0,155$ ; C-Peptid:  $2,1 \pm 0,2$  vs.  $1,6 \pm 0,2 \text{ ng/ml}$ ;  $p = 0,155$ ). Während der Hypoglykämie betrug die Serum-Insulinkonzentration im Mittel  $226 \pm 26 \mu\text{U/ml}$  bei den Frauen und  $291 \pm 28 \mu\text{U/ml}$  in der männlichen Versuchsgruppe ( $p = 0,102$ ; Abb. 2). In Folge der Hypoglykämie sanken ( $p < 0,001$ ) die C-Peptid-Spiegel der Frauen und Männer auf Werte von  $0,96 \pm 0,12$  bzw.  $0,82 \pm 0,09 \text{ ng/ml}$  ( $p = 0,374$  für den Vergleich zwischen den Gruppen; Abb. 3).



**Abb. 2:** Insulinkonzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

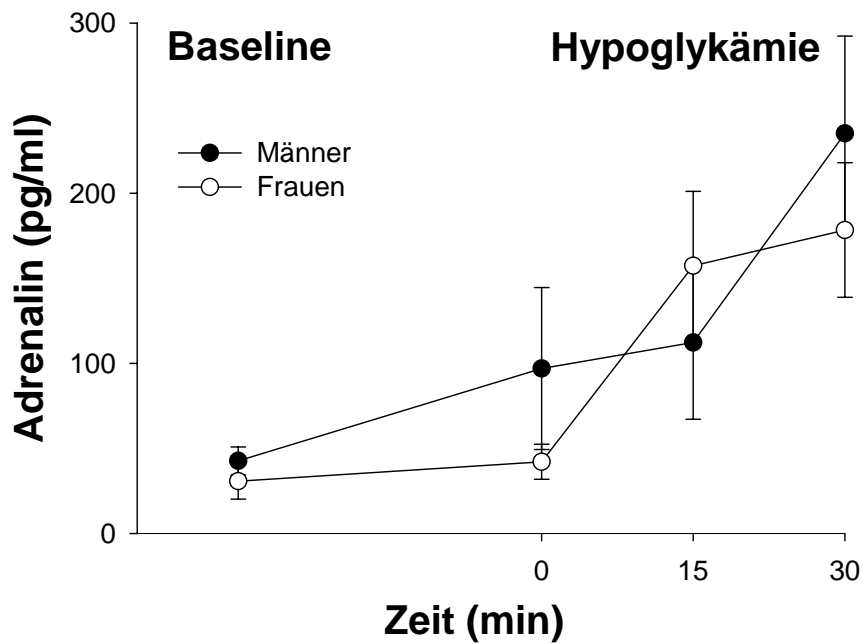


**Abb. 3:** C-Peptid-Konzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

Somit ist festzustellen, dass bezüglich der Blutglukosewerte, der Insulin- und C-Peptid-Werte relativ gut vergleichbare Konzentrationen und Verläufe über das Zeitintervall des Experimentes beobachtet wurden.

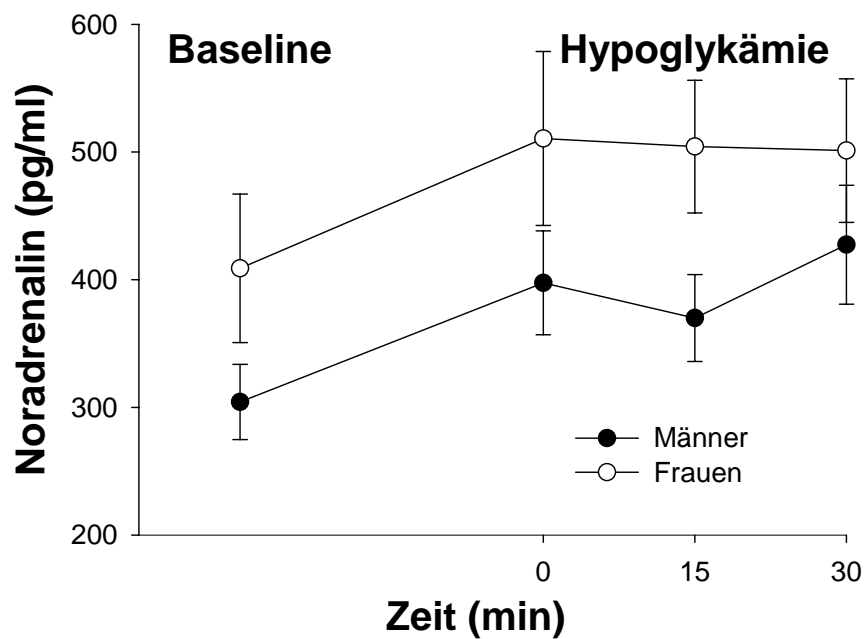
## 4.2 Gegenregulatorische Hormone und Blutdruck

Die gemessenen Baseline-Adrenalinwerte der Frauen und Männer waren gut vergleichbar ( $31 \pm 10$  vs.  $43 \pm 8$  pg/ml;  $p = 0,380$ ). Während der Hypoglykämie stiegen die Werte im Verlauf der Zeit an ( $p < 0,001$ ), jedoch wurde kein signifikanter Unterschied im Anstieg der Konzentrationen zwischen Frauen und Männern gefunden ( $p = 0,327$ ; Abb. 4).



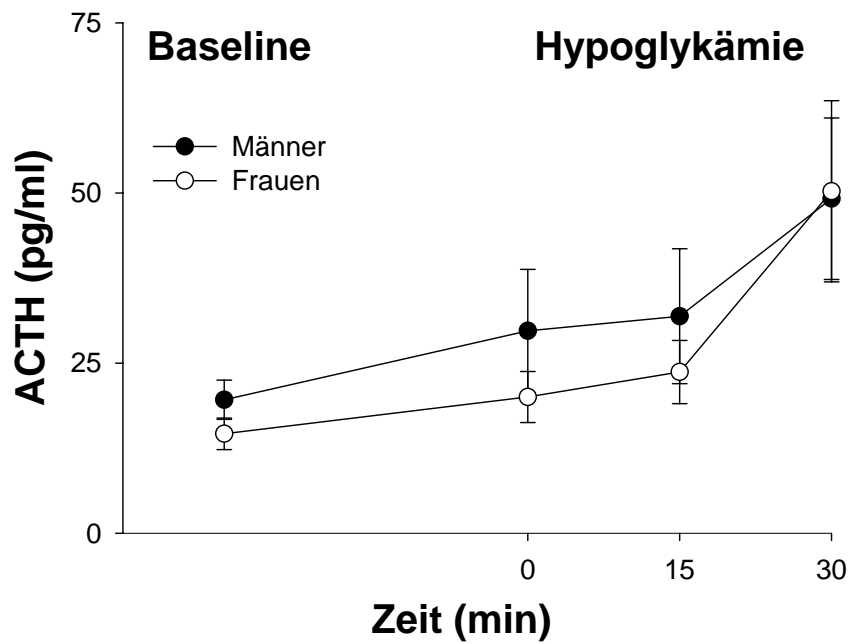
**Abb. 4:** AdrenalinKonzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

Basale NoradrenalinKonzentrationen unterschieden sich ebenfalls nicht signifikant zwischen den Geschlechtern (Frauen  $409 \pm 58$  vs. Männer:  $304 \pm 29$  pg /ml;  $p = 0,120$ ), wobei die Frauen über das gesamte Zeitintervall etwas erhöhte Konzentrationen aufwiesen ( $p = 0,106$ ). In Folge der Hypoglykämie stiegen die Konzentrationen in beiden Gruppen ( $p < 0,001$ ), jedoch wurde auch hier kein signifikanter Unterschied im Anstieg der NoradrenalinKonzentrationen gefunden ( $p = 0,611$ ; Abb. 5).

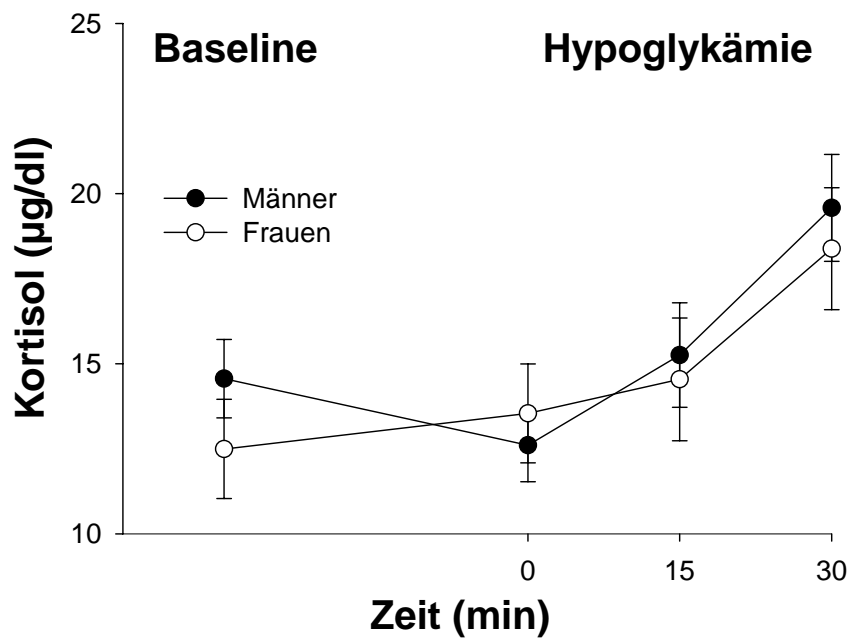


**Abb. 5:** NoradrenalinKonzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

ACTH- und Kortisol-Konzentrationen in der Baseline-Phase waren sehr gut zwischen den beiden Gruppen vergleichbar ( $p > 0,185$  für beide Vergleiche). Ein hypoglykämiebedingter Anstieg der beiden Hormone wurde sowohl bei den Frauen als auch bei den Männern registriert ( $p < 0,007$  für beide Hormone). Ein signifikanter Unterschied in diesem Anstieg zwischen weiblicher und männlicher Gruppe fand sich jedoch nicht ( $p > 0,583$  für beide Hormone; Abb. 6 und Abb. 7).



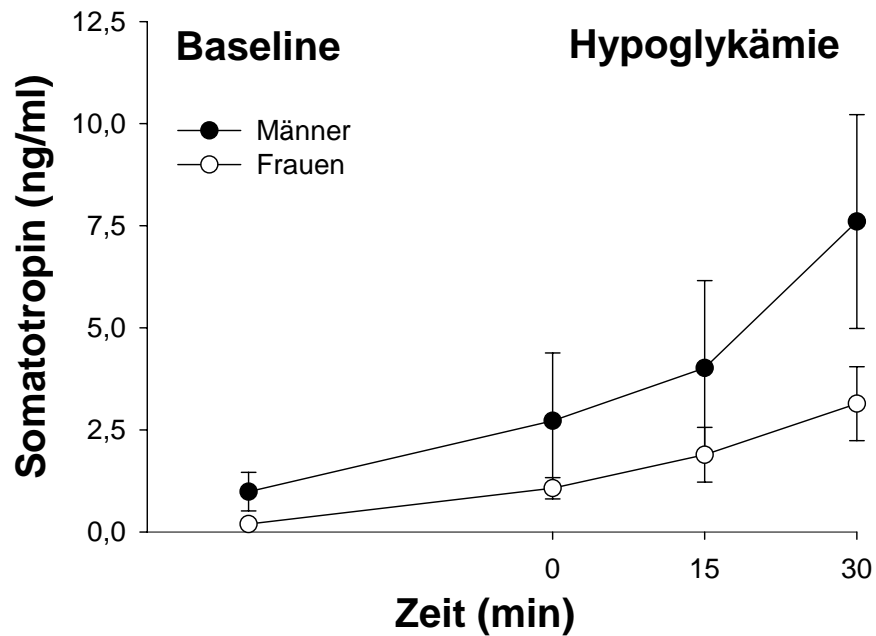
**Abb. 6:** Konzentrationen des adrenokortikotropen Hormons in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.



**Abb. 7:** Kortisolkonzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

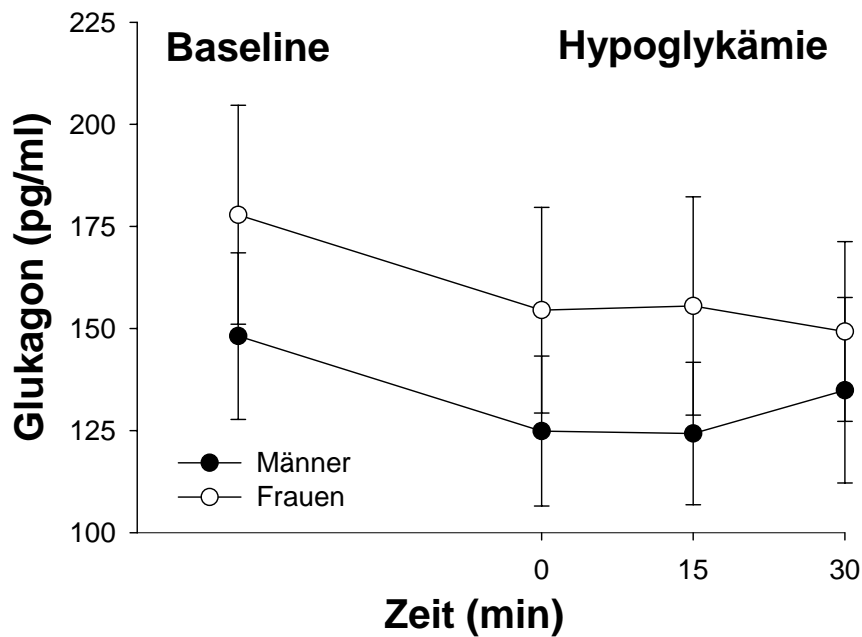


Die basalen Somatotropin-Konzentrationen zeigten ebenfalls vergleichbare Werte zwischen den Geschlechtern ( $0,19 \pm 0,05$  vs.  $0,99 \pm 0,47$  ng/ml;  $p = 0,107$ ). Im Anstieg der Somatotropin-Konzentrationen ( $p < 0,001$ ) während der Hypoglykämie wurden ebenso keine signifikanten Unterschiede gefunden ( $p = 0,256$ ; Abb. 8).



**Abb. 9:** Somatotropin-Konzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

Die Plasma-Glukagonkonzentrationen differierten sowohl in der basalen Phase als auch in der hypoglykämische Phase nicht signifikant zwischen der weiblichen und der männlichen Gruppe (Basal: Frauen:  $178 \pm 27$  vs. Männer:  $148 \pm 20$  pg/ml;  $p = 0,385$ ; Hypoglykämie-Mittelwert: Frauen:  $153 \pm 94$  vs. Männer:  $128 \pm 73$  pg/ml;  $p = 0,422$ ; Abb. 10). Die Konzentration des Plasma-Glukagons sank während der Hypoglykämie leichtgradig, jedoch signifikant in beiden Versuchsgruppen ( $p = 0,014$ ). Geschlechtliche Unterschiede im Verlauf der Reduktion waren jedoch auch bezüglich dieses Parameters nicht feststellbar ( $p = 0,604$ ).



**Abb. 10:** Glukagonkonzentrationen in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

Die Tabelle 4 zeigt zusammenfassend die hormonellen Veränderungen, die als Reaktion auf die induzierte Hypoglykämie bezüglich der Hormone registriert wurde.

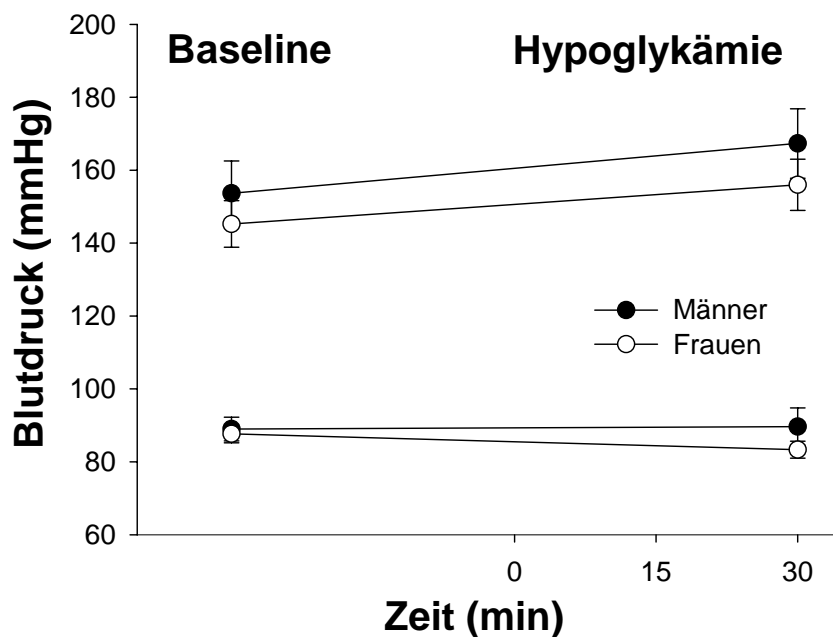
<b>Variablen</b>	<b>Frauen (n = 15)</b>	<b>Männer (n = 15)</b>	<b>P-Werte</b>
<b>Adrenalin (pg/ml)</b>			
<i>Baseline</i>	30,7 ± 10,5	42,6 ± 8,3	0,380
<i>Anstieg</i>	147,7 ± 35,7	192,6 ± 57,5	0,513
<b>Noradrenalin (pg/ml)</b>			
<i>Baseline</i>	408,9 ± 58,2	304,3 ± 29,4	0,120
<i>Anstieg</i>	92,3 ± 33,4	123,1 ± 39,3	0,554
<b>ACTH (pg/ml)</b>			
<i>Baseline</i>	14,6 ± 2,3	19,6 ± 2,9	0,186
<i>Anstieg</i>	35,6 ± 14,6	29,5 ± 10,7	0,739
<b>Kortisol (µg/dl)</b>			
<i>Baseline</i>	12,5 ± 1,5	14,6 ± 1,2	0,276
<i>Anstieg</i>	5,9 ± 2,8	5,0 ± 1,5	0,787
<b>Somatotropin (ng/ml)</b>			
<i>Baseline</i>	0,19 ± 0,05	0,99 ± 0,47	0,107
<i>Anstieg</i>	2,95 ± 0,91	6,61 ± 2,66	0,203
<b>Glukagon (pg/ml)</b>			
<i>Baseline</i>	177,9 ± 26,8	148,1 ± 20,4	0,385
<i>Abfall</i>	- 28,6 ± 12,2	- 13,3 ± 15,6	0,444

**Tab. 4:** *Hormonkonzentrationen in der Baseline-Phase und Veränderungen der Konzentrationen als Reaktion auf die Hypoglykämie (Ende des Hypoglykämieplateaus - Baseline). Daten werden als Mittelwert ± Standardfehler angegeben (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben ermittelt).*

Zusammengefasst zeigt sich, dass in Hinblick auf die gegenregulatorischen Hormone eine Reaktion auf die Hypoglykämie induziert wurde, diese sich jedoch nicht signifikant zwischen den Geschlechtern unterschied.

Der systolische Blutdruck stieg während der Hypoglykämie bei den Frauen von  $145 \pm 6$  auf  $156 \pm 7$  mmHg und bei den Männern von  $154 \pm 9$  auf  $167 \pm 10$  mmHg signifikant an ( $p = 0,010$ ). Der diastolische Blutdruck veränderte sich dagegen über das Clamp-Intervall nicht signifikant (Baseline: Frauen:  $88 \pm 2$ , Männer:  $89 \pm 3$  mmHg;  $p = 0,745$ ; Hypoglykämie: Frauen  $83 \pm 2$ , Männer:  $90 \pm 5$  mmHg;  $p = 0,270$ ; Verlauf über die Zeit:  $p = 0,407$ ). Der Anstieg des systolischen Blutdruckes zeigte keinen wesentlichen Unterschied zwischen Frauen und Männern ( $p = 0,741$ ; Abb. 11).

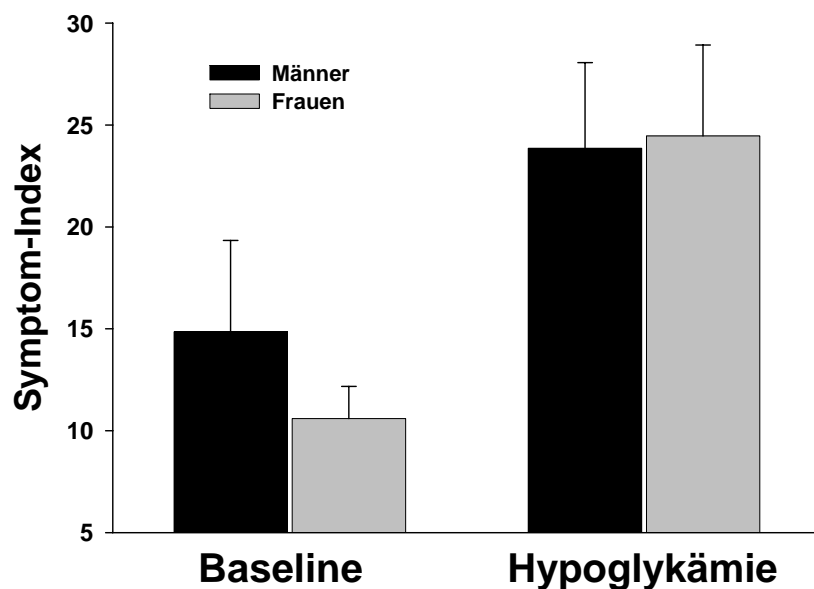
Somit wurden signifikante Veränderungen des systolischen Blutdruckes bezüglich der Hypoglykämie beobachtet, diese zeigten jedoch keine wesentlichen geschlechtsspezifische Unterschiede.



**Abb. 11:** Systolischer und diastolischer Blutdruck in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

### 4.3 Symptome und neurokognitive Funktionen

Die angegebene Intensität der wahrgenommenen Hypoglykämiesymptome stieg im Verlauf des Experimentes signifikant in beiden Gruppen an ( $p < 0,001$  für beide Geschlechter). Jedoch wurde zwischen den Versuchsgruppen kein Unterschied im Verlauf über die Zeit gefunden ( $p = 0,370$ ; Abb. 12). Die separate Analyse autonomer und neuroglykopenischer Symptome ergab ähnliche Ergebnisse, wobei auch hier der Anstieg bei Frauen und Männern vergleichbar war (Sex x Hypo:  $p = 0,586$  für autonome Symptome; Sex x Hypo:  $p = 0,248$  für neuroglykopenische Symptome). Ein signifikanter Effekt der Hypoglykämie zeigte sich sowohl bezüglich der autonomen Symptome ( $p < 0,001$  für beide Geschlechter) als auch bezüglich der neuroglykopenen Symptome ( $p = 0,002$  für beide Geschlechter). Der Anstieg der autonomen Symptome als Reaktion auf die Hypoglykämie betrug bei den Frauen  $7,9 \pm 2,6$  und bei den Männern  $6,1 \pm 1,4$  ( $p = 0,556$ ). Im Vergleich dazu fiel der Anstieg der neuroglykopenen Symptome insgesamt etwas geringer aus (Frauen:  $5,9 \pm 1,9$  vs. Männer  $2,9 \pm 1,8$ ;  $p = 0,253$ ; Tab. 5).

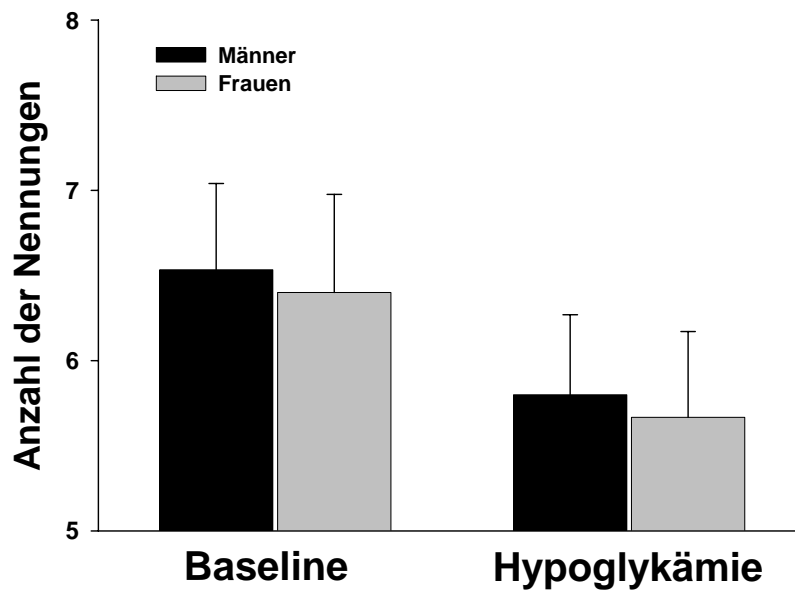


**Abb. 12:** Summe der autonomen und neuroglykopenen Symptome in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus. Daten werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben.

<b>Parameter</b>	<b>Frauen (n = 15)</b>	<b>Männer (n = 15)</b>	<b>P-Werte</b>
<b>Autonom</b>			
<i>Baseline</i>	6,2 ± 1,2	5,9 ± 2,2	0,917
<i>Zunahme</i>	7,9 ± 2,6	6,1 ± 1,4	0,556
<b>Neuroglykopen</b>			
<i>Baseline</i>	4,4 ± 1,1	8,5 ± 2,1	0,093
<i>Zunahme</i>	5,9 ± 1,9	2,9 ± 1,8	0,253
<b>Alle Symptome</b>			
<i>Baseline</i>	10,6 ± 1,6	14,5 ± 4,2	0,394
<i>Zunahme</i>	13,9 ± 4,2	9,0 ± 3,0	0,360

**Tab. 5:** Nennungen bezüglich der Symptome in der Baseline-Phase und Anstieg während des Hypoglykämieplateaus aufgeschlüsselt in autonome Symptome, neuroglykopene Symptome und die Summe aller Hypoglykämie-typischer Symptome. Daten werden als Mittelwert ± Standardfehler angegeben (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben ermittelt).

Die Anzahl der erinnerten Wörter im Wort-Wiedergabe-Test war während des Hypoglykämieplateaus geringer als dieses in der Baseline-Phase der Fall war, jedoch war dieser Abfall nicht signifikant ( $p = 0,091$ ). Die Abnahme der erinnerten Worte war identisch zwischen Frauen und Männern ( $p = 1,000$ ; Abb. 13). Die gesonderte Analyse der Wortgruppen zeigte ebenfalls keine signifikante Veränderung in der prozentualen Verteilung der Wortgruppen (Tab. 6).



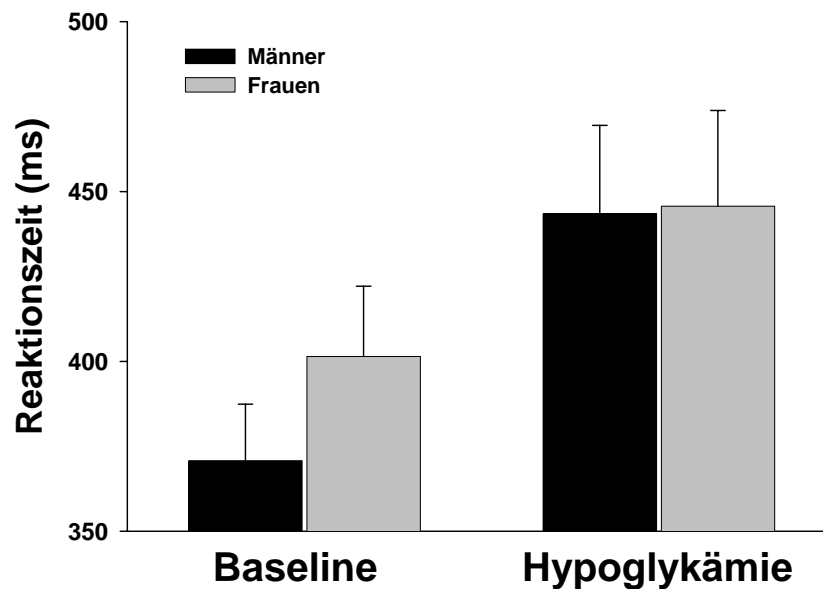
**Abb. 13:** Anzahl der erinnerten Wörter in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

<b>Parameter</b>	<b>Frauen (n = 15)</b>	<b>Männer (n = 15)</b>	<b>P-Werte</b>
<b>Nahrungsaufnahme</b>			
<i>Baseline</i>	2,3 ± 0,3	1,8 ± 0,2	0,167
<i>Abnahme</i>	0,13 ± 0,38	-0,20 ± 0,26	0,473
<b>Emotion</b>			
<i>Baseline</i>	1,9 ± 0,3	2,3 ± 0,4	0,361
<i>Abnahme</i>	-0,07 ± 0,38	0,27 ± 0,36	0,531
<b>Neutral</b>			
<i>Baseline</i>	2,2 ± 0,3	2,5 ± 0,3	0,514
<i>Abnahme</i>	0,53 ± 0,35	0,53 ± 0,401	1,000
<b>Summe</b>			
<i>Baseline</i>	6,4 ± 0,6	6,5 ± 0,5	0,863
<i>Abnahme</i>	0,6 ± 0,63	0,6 ± 0,62	1,000

**Tab. 6:** Anzahl der erinnerten Wörter in der Baseline-Phase und Abnahme in Folge der Hypoglykämie aufgeschlüsselt in 3 Kategorien und deren Summe. Daten werden als Mittelwert ± Standardfehler angegeben (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben ermittelt).



Die Reaktionszeit stieg während der Hypoglykämie signifikant an (Frauen: von  $401 \pm 21$  auf  $446 \pm 28$  ms, Männer: von  $371 \pm 17$  auf  $443 \pm 26$  ms;  $p < 0,001$ ), wobei sich auch hier kein signifikanter Unterschied zwischen den Geschlechtern in der Baseline-Phase ( $p = 0,258$ ) und im Verlauf ( $p = 0,350$ ; Abb. 14) fand.



**Abb. 14:** Reaktionszeit auf einen auditiven Stimulus in der Baseline-Phase und während des Hypoglykämieplateaus.

Die Anzahl der korrekt erkannten Töne bei den männlichen Probanden sank von  $39,5 \pm 0,3$  auf  $36,7 \pm 1,7$ . In der weiblichen Versuchsgruppe zeigte sich eine geringe Zunahme dieses Parameters ( $39,2 \pm 0,3$  vs.  $39,4 \pm 0,3$ ). Diese Veränderungen erreichten zwar keine signifikanten Werte ( $p = 0,109$ ), jedoch fällt die gegensätzliche Entwicklung der Werte bezüglich der Gruppen auf, was sich in dem Faktor „Sex x Hypo“ ( $p = 0,066$ ) niederschlägt.

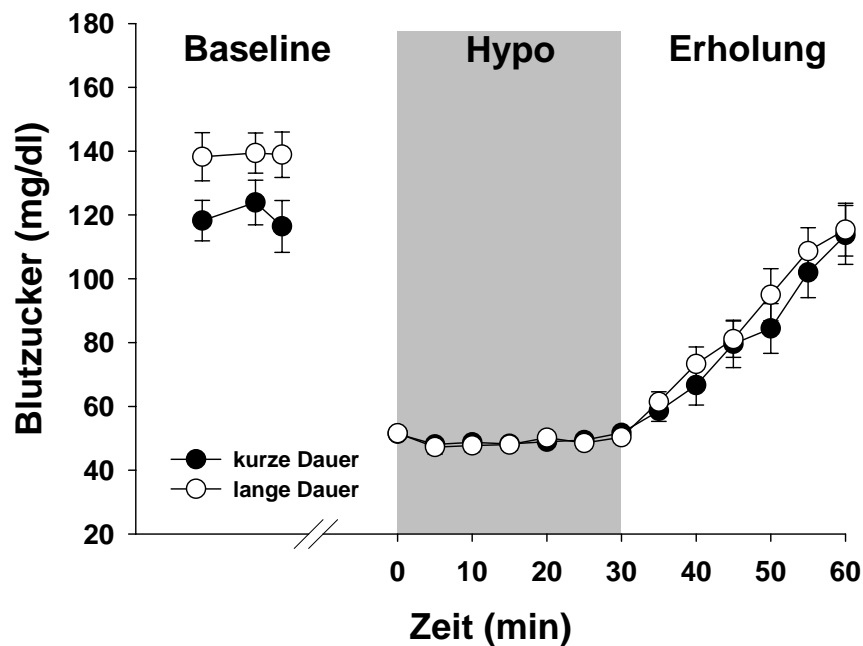
Die Anzahl der falsch als Zieltöne erkannten akustischen Signale veränderte sich im Verlauf des Experimentes wie folgt: In der männlichen Versuchsgruppe stieg die Anzahl dieses Parameters von  $1,7 \pm 0,5$  auf  $4,7 \pm 1,6$ . Die weibliche Gruppe zeigte eine ähnliche Reaktion ( $1,9 \pm 0,4$  vs.  $5,5 \pm 3,8$ ). Diese Veränderungen waren jedoch nicht signifikant ( $p = 0,111$ ). Sowohl der Verlauf dieses Parameters ( $p = 0,870$ ) als auch die Werte der Baseline-Phase ( $p = 0,758$ ) unterschieden sich auch hier nicht zwischen den Geschlechtern.

Zusammengefasst ist aufgrund der dargelegten Ergebnisse festzustellen, dass auch in Bezug auf die Symptome und die neurokognitiven Funktionen sich Veränderungen als Reaktion auf die Unterzuckerung eingestellt haben. Ein geschlechtlicher Unterschied war jedoch auch diesbezüglich nicht erkennbar.

## 5. Ergebnisse Studie 2

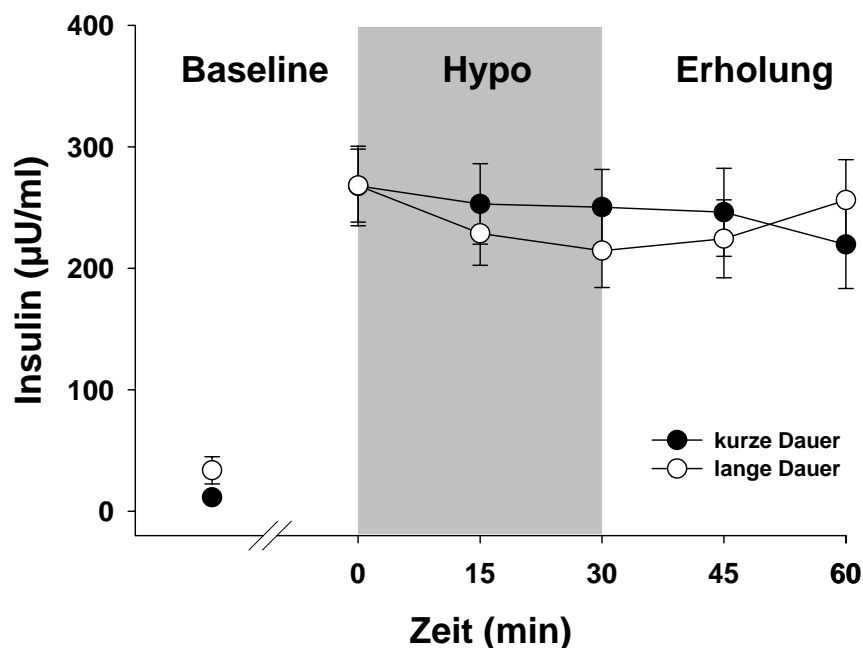
### 5.1 Blutglukose, Insulin und C-Peptid

Die Analysen der Blutzuckerkonzentrationen der Baseline-Phase zeigten einen Trend zu höheren Blutzuckerkonzentrationen bei Patienten mit längerer Diabetes-Anamnese (kurze vs. lange Diabetesdauer:  $120 \pm 7$  vs.  $139 \pm 7$  mg/dl;  $p = 0,056$ ). Die Latenzzeit bis zum Erreichen des Hypoglykämieplateaus war gut zwischen den beiden Gruppen vergleichbar (kurze vs. lange Diabetesdauer:  $43,3 \pm 6,0$  min vs.  $58,3 \pm 7,5$  min;  $p = 0,132$ ). Der Mittelwert der Blutzuckerkonzentrationen während des Hypoglykämieplateaus war ebenfalls gut zwischen den beiden Kollektiven zu vergleichen (kurze vs. lange Diabetesdauer:  $49,5 \pm 0,4$  vs.  $49,1 \pm 0,5$  mg/dl;  $p = 0,533$ ). In der Erholungsphase war keine charakteristische Abweichung der Blutzuckerungsverläufe zwischen beiden Gruppen zu erkennen (Abb.15).

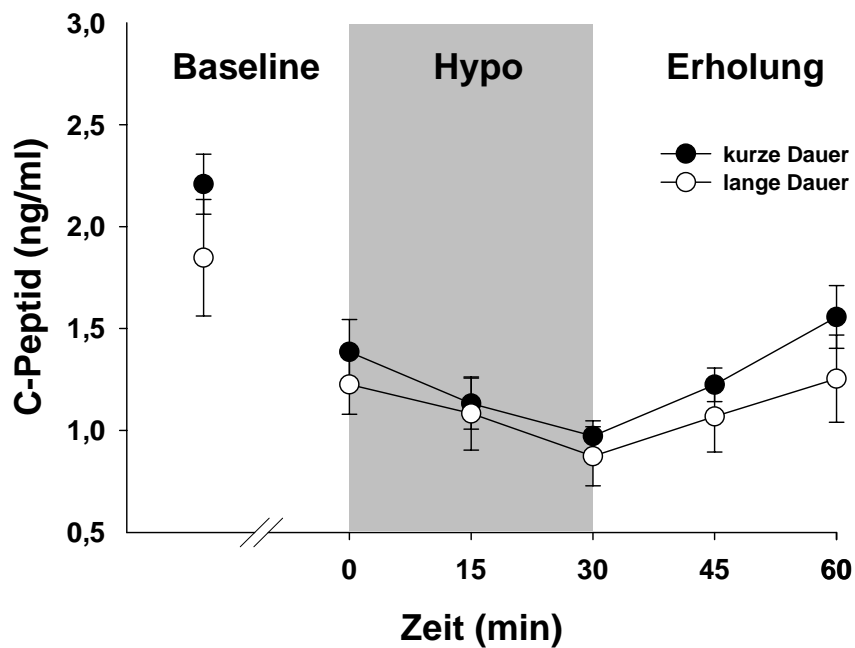


**Abb. 15:** *Blutzuckerkonzentrationen während des Clamp-Experimentes. Glukosekonzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt. Daten werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben. Die Gruppengröße  $n$  beträgt jeweils 12 Personen. Die Gruppe mit kurzer Dauer beinhaltet Patienten mit einer maximalen Diabetes-Anamnese von 5 Jahren, die Gruppe mit langer Dauer wird von Patienten mit einer Diabetesdauer von minimal 10 Jahren gebildet.*

Der Vergleich der Baseline-Insulinkonzentrationen zeigte einen signifikanten Unterschied, wobei Patienten mit längerer Diabetesdauer höhere Konzentrationen aufwiesen ( $11,5 \pm 1,4$  vs.  $36,9 \pm 11,7 \mu\text{U/ml}$ ;  $p = 0,035$ ). Im Verlauf des Clamp-Versuches wurde kein signifikanter Unterschied der Insulinkonzentrationen gefunden ( $p = 0,293$ ). Die Mittelwerte der Insulinkonzentrationen während des Versuches betragen  $771 \pm 95 \mu\text{U/ml}$  in der Studienpopulation mit kurzer Diabetesdauer und  $652 \pm 94 \mu\text{U/ml}$  in der Gruppe mit einer Diabetes-Anamnese von minimal 10 Jahren ( $p = 0,382$ ; Abb. 16). Die C-Peptid-Konzentrationen in der Baseline-Phase betragen  $2,2 \pm 0,2 \text{ ng/ml}$  in der Gruppe mit kurzer Diabetesdauer und  $1,9 \pm 0,3 \text{ ng/ml}$  in der Studienpopulation mit längerer Krankheitsanamnese ( $p = 0,273$ ). Der Abfall der C-Peptid-Konzentrationen während der Hypoglykämie ( $p < 0,001$ ) und der Wiederanstieg in der Erholungsphase waren ebenfalls gut vergleichbar ( $p = 0,551$ ; Abb. 17).



**Abb. 16:** Insulinkonzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.

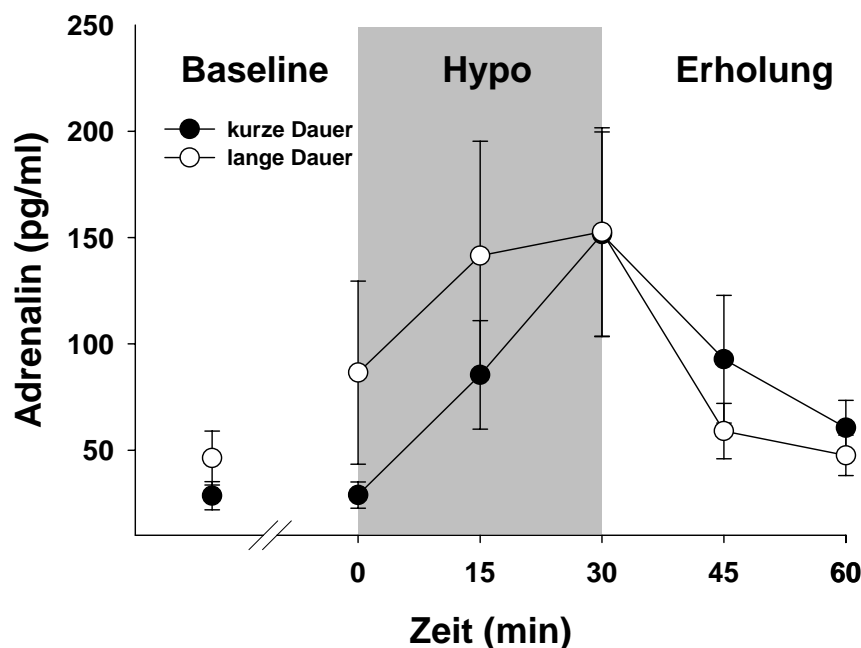


**Abb. 17:** *C-Peptid-Konzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.*

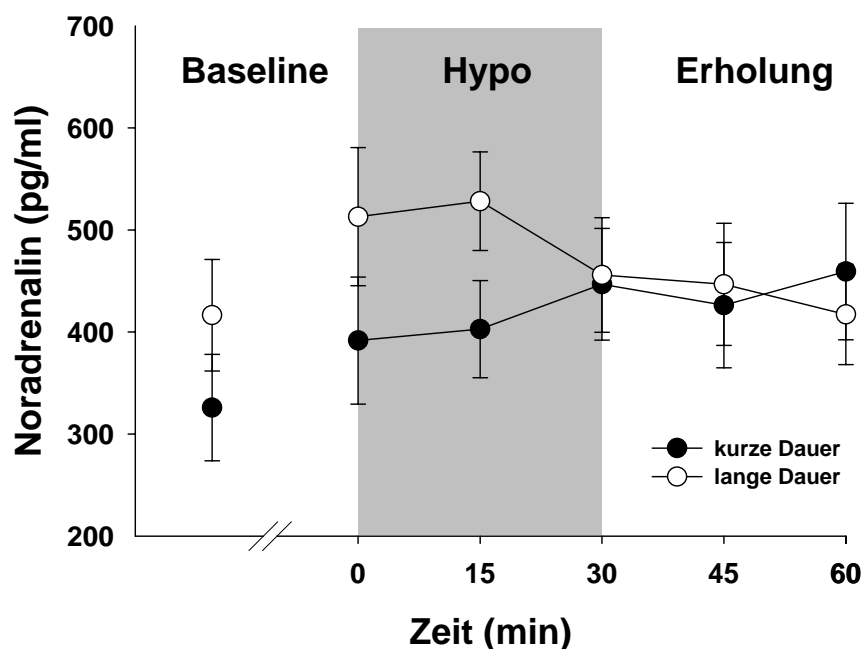
Zusammenfassend ist festzustellen, dass sich die beiden Kollektive zwar bezüglich der Baseline-Insulinkonzentration signifikant unterschieden haben, jedoch bezüglich aller anderen Parameter keine signifikanten Unterschiede vorhanden waren.

## 5.2 Gegenregulatorische Hormone und Blutdruck

Die Ausgangskonzentrationen von Adrenalin und Noradrenalin zeigten vergleichbare Konzentrationen der beiden Studienpopulationen (Adrenalin:  $29 \pm 7$  vs.  $46 \pm 13$  pg/ml;  $p = 0,229$ ; Noradrenalin:  $326 \pm 52$  vs.  $417 \pm 55$  pg/ml;  $p = 0,244$ ). Für beide Hormone war ein deutlicher Anstieg als Reaktion auf die Hypoglykämie nachweisbar (Adrenalin:  $p < 0,001$ ; Noradrenalin:  $p = 0,004$ ). Der Verlauf der Adrenalinkonzentration war ebenfalls sehr gut zwischen beiden Gruppen vergleichbar ( $p = 0,301$ ; Abb. 18). Im Noradrenalinanstieg zeigte sich jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Studienpopulationen im Konzentrationsverlauf ( $p = 0,003$ ). Dabei wurde ein vergleichbarer Anstieg der Noradrenalinkonzentration zu Beginn der Hypoglykämie beobachtet. Am Ende der Hypoglykämie zeigte sich jedoch ein Abfall der Noradrenalinkonzentration bei den Patienten mit langer Krankheitsanamnese. In der Studienpopulation mit kürzerer Diabetesdauer wurde in diesem Zeitraum ein weiterer Anstieg der Konzentration beobachtet (Abb. 19).

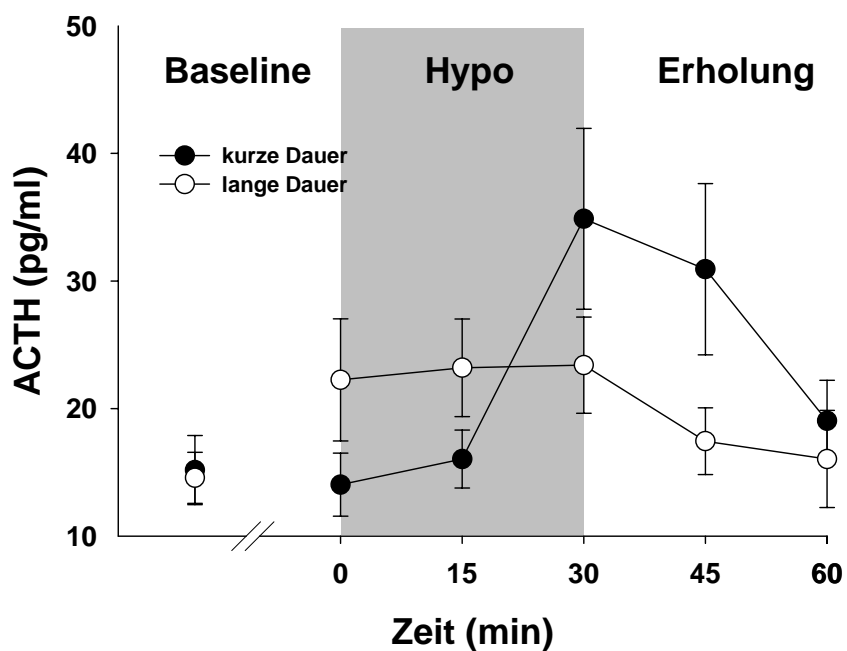


**Abb. 18:** Adrenalinkonzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.

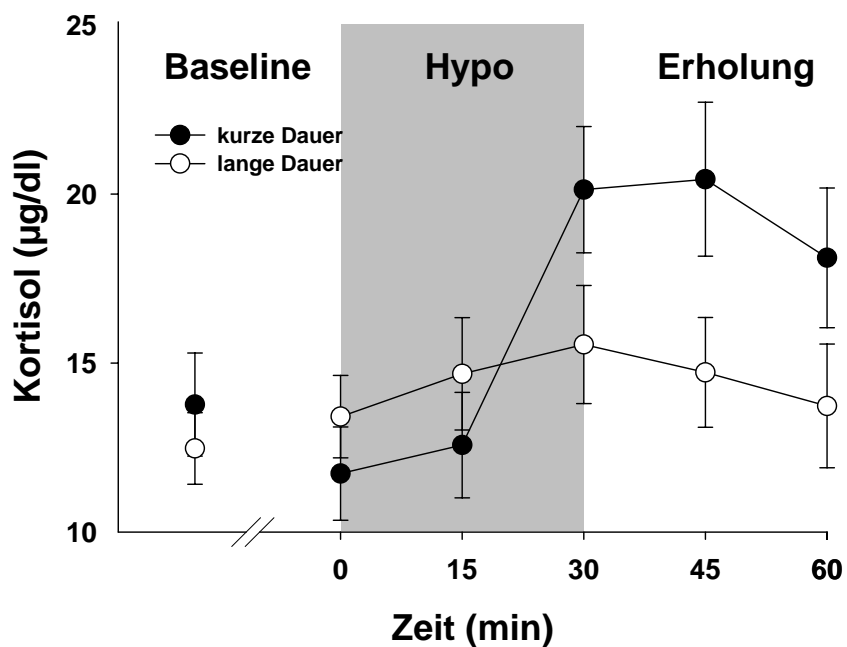


**Abb. 19:** Noradrenalin-Konzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.

Die basalen Konzentrationen von ACTH und Kortisol zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Versuchskollektiven (ACTH: kurze vs. lange Diabetesdauer:  $15,2 \pm 2,7$  vs.  $14,6 \pm 2,0$  pg/ml;  $p = 0,860$ ; Kortisol:  $13,8 \pm 1,5$  vs.  $12,5 \pm 1,1$  µg/dl;  $p = 0,491$ ). Während der Hypoglykämie stellte sich der Anstieg sowohl von ACTH ( $p = 0,001$ ) als auch von Kortisol ( $p < 0,001$ ) als signifikant dar. Unterschiede der Konzentrationsanstiege zwischen beiden Kollektiven waren nicht nur bezüglich ACTH sondern auch bezüglich des Kortisol-Verlaufes feststellbar (ACTH:  $p = 0,005$ ; Abb. 20; Kortisol:  $p = 0,006$ ; Abb. 21). Dabei schienen beide Hormonkonzentrationen bei der Studienpopulation mit langer Diabetes-Anamnese etwas schneller anzusteigen. Im weiteren Verlauf zeigte sich der Hypoglykämie-induzierte Anstieg der ACTH- und Kortisol-Konzentrationen jedoch deutlich ausgeprägter bei den Patienten mit kürzerer Diabetes-Anamnese, als dieses bei den Patienten mit langer Diabetesdauer der Fall war.



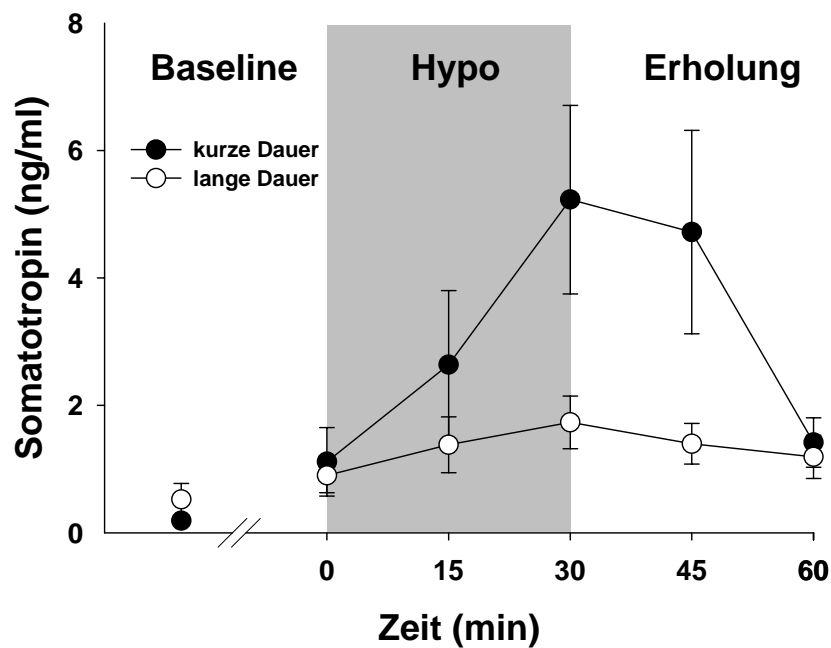
**Abb. 20:** Konzentrationen des adrenokortikotropen Hormons (ACTH) während der Baseline-Phase, des Hypoglykämieplateaus und der Erholungsphase. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.



**Abb. 21:** Kortisolkonzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.

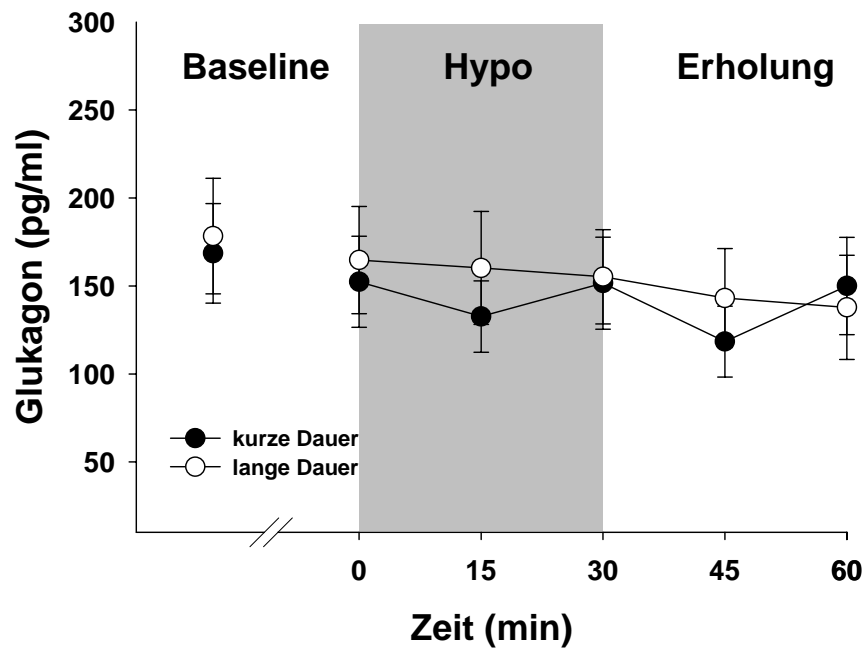


Die Somatotropin-Konzentrationen in der Baseline-Phase zeigten sich zwischen beiden Studienpopulationen als gut vergleichbar (kurze vs. lange Diabetesdauer:  $0,19 \pm 0,06$  vs.  $0,52 \pm 0,25$  ng/ml;  $p = 0,204$ ). Aufgrund der Hypoglykämie stieg das Somatotropin in beiden Gruppen ( $p < 0,001$ ), wobei sich in der Studienpopulation mit kurzer Diabetesdauer ein deutlich ausgeprägter Anstieg beobachten ließ ( $p = 0,008$ ; Abb. 22). Am Ende der Erholungszeit waren vergleichbare Konzentrationen des Somatotropins zu messen ( $p = 0,664$ ).



**Abb. 22:** Somatotropin-Konzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.

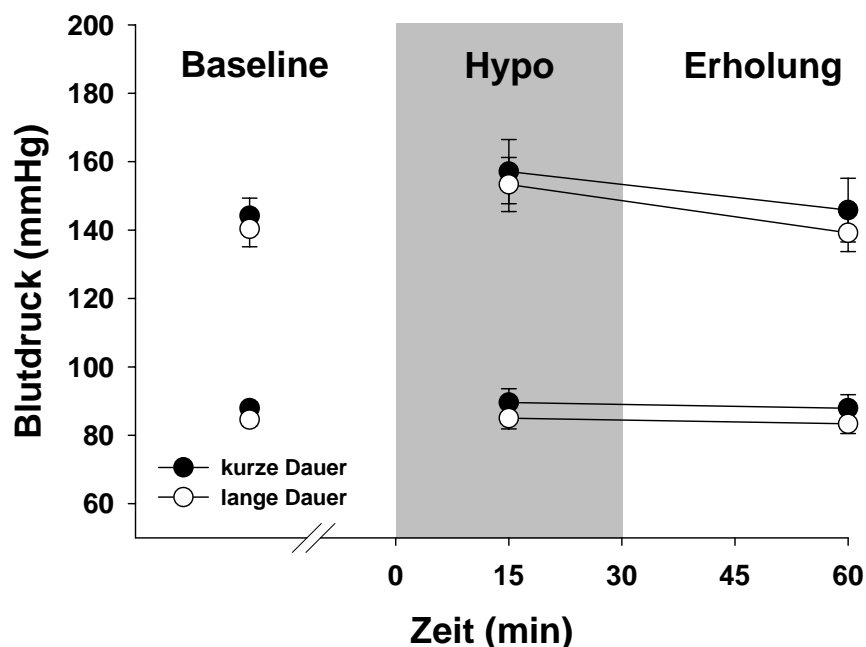
Die Baseline-Glukagonkonzentrationen waren gut zwischen beiden Kollektiven vergleichbar (kurze vs. lange Diabetesdauer:  $169 \pm 28$  vs.  $178 \pm 33$  pg/ml;  $p = 0,824$ ). Die Hypoglykämie zeigte keinen signifikanten Effekt bezüglich der Glukagonkonzentration, jedoch wurde ein leichtes Absinken der Konzentration über die Zeit beobachtet ( $p = 0,056$ ). Der Konzentrationsverlauf des Glukagons wurde durch die Diabetesdauer nicht signifikant beeinflusst ( $p = 0,667$ ; Abb. 23).



**Abb. 23:** *Glukagonkonzentrationen während des Clamp-Experimentes. Konzentrationen zwischen Baseline-Phase und Hypoglykämieplateau werden nicht dargestellt.*

Durch die Hypoglykämie stieg der systolische Blutdruck von  $144 \pm 5$  mmHg in der Baseline-Phase auf  $157 \pm 9$  mmHg während der Hypoglykämie bei den Patienten mit kurzer Diabetes-Anamnese. In der Gruppe der Patienten mit längerer Krankheitsdauer betrugen die Parameter  $140 \pm 5$  mmHg in der Baseline-Phase und  $153 \pm 8$  mmHg während des Hypoglykämieplateaus. Der Anstieg des systolischen Blutdruckes als Reaktion auf die Hypoglykämie war signifikant ( $p = 0,001$ ), wobei kein Unterschied zwischen den Kollektiven in der Baseline-Phase ( $p = 0,607$ ) und im Verlauf nachweisbar war ( $p = 0,974$ ; Abb. 24). Im Rahmen der Erholungsphase sank der mittlere systolische Blutdruck in beiden Studienpopulationen wieder auf Werte, die mit den Ausgangsparametern vergleichbar waren ( $146 \pm 9$  mmHg in der Gruppe mit einer kurzen Diabetesdauer,  $139 \pm 5$  mmHg in der Gruppe mit kurzer Diabetes-Anamnese;  $p = 0,543$ ).

Bezüglich des diastolischen Blutdruckes wurden keine signifikanten Veränderungen während der Hypoglykämie beobachtet ( $p = 0,912$ ). Der diastolische Blutdruck ließ sich in der Baseline-Phase gut zwischen den beiden Kollektiven vergleichen ( $88 \pm 2$  mmHg vs.  $85 \pm 2$  mmHg;  $p = 0,226$ ). Während des Versuches änderte sich der diastolische Blutdruck nicht signifikant ( $p = 0,699$ ).

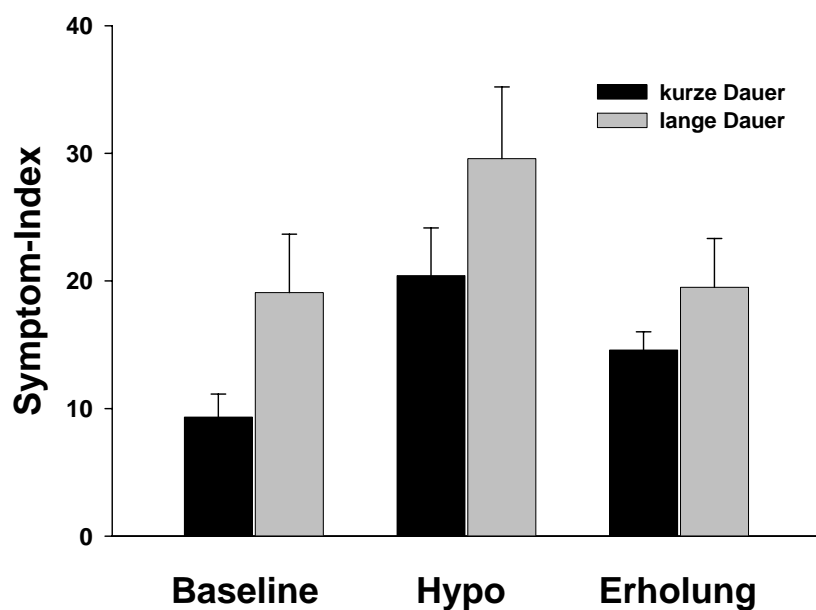


**Abb. 24:** Systolischer und diastolischer Blutdruck während der Baseline-Phase, des Hypoglykämieplateaus und der Erholungs-Phase.

Aus diesen Ergebnissen ist zu folgern, dass in beiden Kollektiven eine hormonelle Reaktion auf die induzierte Hypoglykämie stattfand und das Ausmaß der Gegenregulation bezüglich der ACTH-, der Kortisol- und der Somatotropin-Antwort deutlich ausgeprägter bei Patienten mit kürzerer Diabetesdauer war, als dieses bei Patienten mit längerer Diabetesdauer der Fall war.

### **5.3 Symptome und neurokognitive Funktionen**

In der Baseline-Phase zeigte sich ein Trend zu einer erhöhten Symptomempfindung in der Studienpopulation mit längerer Diabetes-Anamnese (kurze vs. lange Diabetesdauer:  $9,3 \pm 1,8$  vs.  $19,1 \pm 4,6$  Nennungen;  $p = 0,061$ ). Zwar wurde ein signifikanter Anstieg der Symptomwahrnehmung während der Hypoglykämie festgestellt ( $p < 0,001$ ), dieser erwies sich jedoch als nicht signifikant unterschiedlich zwischen den beiden Gruppen ( $p = 0,697$ ; Abb. 25). Die separate Analyse der autonomen Symptome ergab vergleichbare Ergebnisse, wobei sich auch bezüglich dieses Parameters ein signifikanter Hypoglykämieeffekt zeigte ( $p < 0,001$ ). Die Diabetesdauer wies jedoch keinen Einfluss auf die Veränderung des Parameters während der Hypoglykämie auf ( $p = 0,330$ ). Dabei betragen die Ausgangswerte in der Baseline-Phase Werte von  $4,2 \pm 1,5$  bei der Studienpopulation mit kurzer Diabetes-Anamnese und  $9,9 \pm 2,4$  bei der Gruppe mit längerer Diabetesdauer ( $p = 0,052$ ). Die neuroglykopenen Symptomwahrnehmung stieg ebenfalls während der Hypoglykämie ( $p = 0,004$ ) signifikant an, jedoch ohne wesentliche Unterschiede im Verlauf zwischen den Patienten-Kollektiven ( $p = 0,939$ ). Baseline-Werte für die neuroglykopenen Symptome betragen  $0,7 \pm 0,7$  in der Gruppe mit einer maximalen Diabetesdauer von 5 Jahren und  $3,7 \pm 2,0$  Nennungen in der Gruppe mit minimal 10 Jahren Krankheitsanamnese ( $p = 0,163$ ). Die Veränderungen der Symptomwahrnehmung werden in Tabelle 7 zusammengefasst.

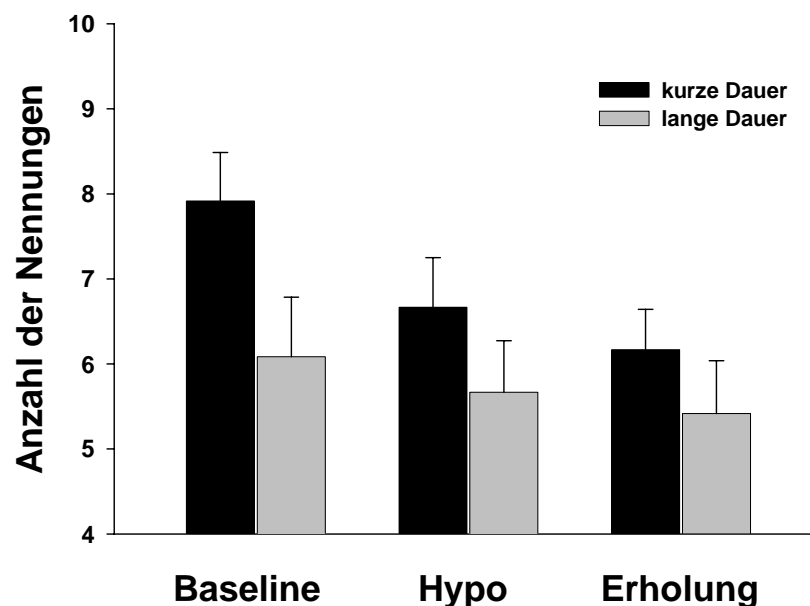


**Abb. 25:** Summe der autonomen und neuroglykopenen Symptome. Daten werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben.

Parameter	Diab.-Dauer $\leq 5$ Jahren (n = 12)	Diab.-Dauer $\geq 10$ Jahren (n = 12)	P-Werte
<b>Autonom</b>			
Baseline	4,2 $\pm$ 1,5	9,9 $\pm$ 2,4	0,052
Zunahme	6,6 $\pm$ 1,9	7,2 $\pm$ 3,0	0,871
<b>Neuroglykopen</b>			
Baseline	5,2 $\pm$ 1,4	9,2 $\pm$ 2,4	0,161
Zunahme	4,5 $\pm$ 1,9	3,3 $\pm$ 2,4	0,701
<b>Summe</b>			
Baseline	9,3 $\pm$ 1,8	19,1 $\pm$ 4,6	0,061
Zunahme	11,1 $\pm$ 3,5	10,5 $\pm$ 5,2	0,926

**Tab. 7:** Nennungen bezüglich der Symptome aufgeschlüsselt in autonome Symptome, neuroglykopene Symptome und die Summe aller Symptome mit Angaben über die Zunahme während der Hypoglykämie. Daten werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler angegeben (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben ermittelt).

Im Wort-Wiedergabe-Test ließ sich während der Baseline-Phase eine Tendenz zu einer besseren Gedächtnisleistung bei Patienten mit kürzerer Diabetes-Anamnese finden ( $p = 0,055$ ). Ferner zeigte sich ein signifikanter Effekt der Hypoglykämie auf die Kurzzeitgedächtnisleistung in beiden Gruppen ( $p = 0,014$ ). Die separate Analyse der Wortgruppen ergab, dass sich die unterschiedliche Tendenz während der Baseline-Phase im Wesentlichen auf Unterschiede im Bereich der neutralen Wörter begründete (kurze Diabetesdauer:  $2,9 \pm 0,3$ ; längerer Diabetesdauer:  $1,8 \pm 0,2$ ;  $p = 0,006$ ). Darüber hinaus zeigte sich eine protrahierte Einschränkung der Kurzzeitgedächtnisleistung über die Phase der Hypoglykämie hinaus. Unterschiede im Verlauf dieses Testes waren nicht signifikant zwischen den Gruppen nachzuweisen ( $p = 0,382$ ; Abb. 26). Die separate Analyse der Wortgruppen zeigte ebenfalls keinen divergierenden Verlauf dieser Parameter zwischen den Kollektiven (Essen:  $p > 0,708$ ; Emotion:  $p > 0,211$ ; Neutral:  $p > 0,490$ ). Die Ergebnisse des Wort-Wiedergabe-Testes werden in Tabelle 8 zusammengefasst.



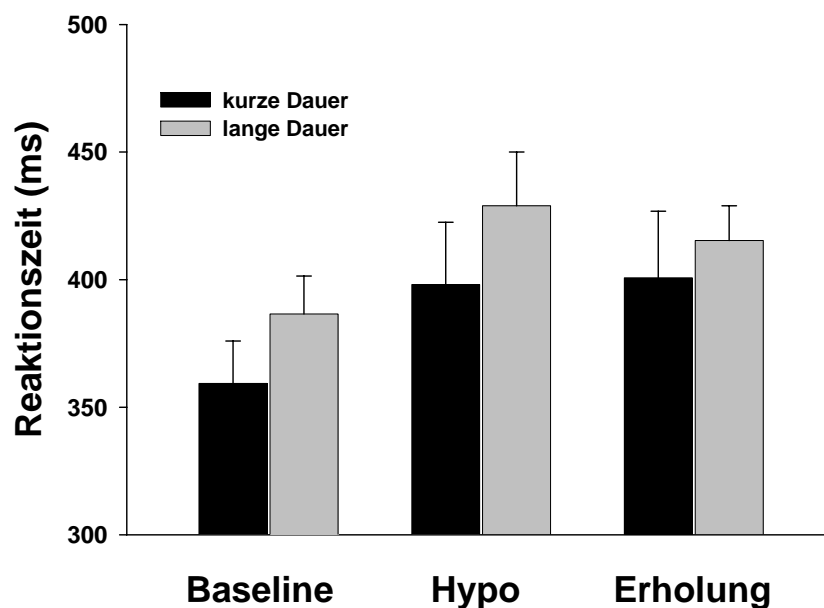
**Abb. 26:** Anzahl der erinnerten Wörter während der Baseline-Phase, des Hypoglykämieplateaus und der Erholungs-Phase.

Parameter	Diab.-Dauer	Diab.-Dauer	P-Werte
	≤ 5 Jahren (n = 12)	≥ 10 Jahren (n = 12)	
<b>Essen</b>			
<i>Baseline</i>	2,1 ± 1,0	2,3 ± 0,4	0,756
<i>Veränderungen</i>	0,25 ± 0,39	0,00 ± 0,54	0,710
<b>Emotion</b>			
<i>Baseline</i>	2,9 ± 0,4	2,0 ± 0,4	0,114
<i>Veränderungen</i>	-0,67 ± 0,33	-0,17 ± 0,47	0,398
<b>Neutral</b>			
<i>Baseline</i>	2,9 ± 0,3	1,8 ± 0,2	0,006
<i>Veränderungen</i>	-0,58 ± 0,43	-0,25 ± 0,28	0,525
<b>Summe</b>			
<i>Baseline</i>	7,9 ± 0,6	6,1 ± 0,7	0,055
<i>Veränderungen</i>	- 1,00 ± 0,52	-0,42 ± 0,811	0,552

**Tab. 8:** Anzahl der erinnerten Wörter in der Baseline-Phase und Veränderungen aufgrund des Hypoglykämieplateaus aufgeschlüsselt in 3 semantische Kategorien sowie deren Summen. Daten werden als Mittelwert ± Standardfehler angegeben (P-Werte wurden mittels T-Test für ungepaarte Stichproben ermittelt).

Die Analyse der Reaktionszeiten zeigte in der Baseline-Phase gut vergleichbare Werte ( $359 \pm 17$  vs.  $387 \pm 15$  ms;  $p = 0,236$ ). Während der Hypoglykämie stieg die Reaktionszeit deutlich an ( $p < 0,001$ ), wobei sich keine Unterschiede zwischen den Gruppen fanden ( $p = 0,703$ ; Abb.27). Auch bezüglich der Analyse der Reaktionszeiten ist eine protrahierte Einschränkung aufgrund der vorherigen Hypoglykämie zu erkennen.

Die als richtig erkannten Zieltöne zeigten sich in der Baseline-Phase als gut vergleichbar ( $p = 0,127$ ). Ein Hypoglykämie-induzierter Effekt auf diesen Test-Parameter konnte jedoch nicht nachgewiesen werden ( $p = 0,638$ ). Ebenso verhielt sich die Anzahl der falsch interpretierten Zieltöne. In der Baseline-Phase zeigten sich gut vergleichbare Werte ( $0,9 \pm 0,3$  vs.  $2,0 \pm 0,7$ ;  $p = 0,199$ ), eine signifikante Änderung dieses Parameters über die Zeit konnte jedoch auch hier nicht erfasst werden ( $p = 0,686$ ).



**Abb. 27:** Reaktionszeit auf einen auditiven Stimulus während der Baseline-Phase, des Hypoglykämieplateaus und der Erholungs-Phase.

Somit zeigt sich, dass Hypoglykämie-induzierte Effekte bezüglich der Symptomwahrnehmung, der kognitiven Leistungsfähigkeit (Kurzzeitgedächtnis-Test) und der Reaktionszeit auf einen auditiven Stimulus zu beobachten waren. Die Testergebnisse bezüglich dieser Parameter wurden jedoch nicht wesentlich von der Diabetesdauer beeinflusst.



## 6. Diskussion

### 6.1 Allgemeines

In den vorliegenden Studien wurden hormonelle, symptomatische und neurokognitive Reaktionen auf eine Hypoglykämie bei Typ-2-Diabetes-Patienten untersucht. In der Studie 1 wurde erstmals der Einfluss des Geschlechtes auf die Hypoglykämie-Reaktionen bei Typ-2-Diabetes-Patienten untersucht. Dabei wurden die Hypoglykämie-Reaktionen postmenopausaler Frauen ohne Hormonersatztherapie mit den Reaktionen gleichaltriger Männer mit Typ-2-Diabetes verglichen. Obwohl durch die Hypoglykämie deutliche Veränderungen in den meisten erfassten Parametern induziert wurden, waren keine signifikanten Abweichungen in diesen Parametern zwischen Frauen und Männern nachweisbar. Diese Beobachtung führt zu dem Schluss, dass keine klinisch relevanten Unterschiede zwischen postmenopausalen Frauen mit Typ-2-Diabetes und gleichaltrigen Männern mit Typ-2-Diabetes hinsichtlich der Reaktion auf eine Hypoglykämie bestehen.

Studie 2 betrachtet den Einfluss der Diabetesdauer auf die oben genannten Parameter während eines hypoglykämischen Clamp-Versuches. Auch in dieser Studie wurden eindeutige hormonelle, symptomatische und neurokognitive Reaktionen durch die Hypoglykämie induziert. Im Gegensatz zum Geschlecht scheint die Diabetesdauer jedoch maßgeblich die hormonellen Gegenregulationsmechanismen zu beeinflussen. Die Hypoglykämie-induzierten Anstiege von ACTH, Kortisol und Somatotropin zeigten sich bei den langjährigen Typ-2-Diabetes-Patienten im Vergleich zu den Patienten mit einer Diabetes-Anamnese von maximal 5 Jahren als stark reduziert. Die Symptomwahrnehmung und die Abnahme der neurokognitiven Fähigkeiten wurden im Gegensatz zu den hormonellen Reaktionen auf eine Hypoglykämie nicht wesentlich durch die Diabetesdauer beeinflusst.

In Bezug auf die Antwort der gegenregulatorischen Hormone bei Typ-2-Diabetes-Patienten bestätigen unsere beiden Studien die Ergebnisse vorausgehender Arbeiten. Adrenalin zeigte einen ausgeprägten Anstieg als Reaktion auf eine Hypoglykämie. Damit unterstützen unsere Daten Resultate vorheriger Studien (12,15,22,108,117,142,158). Die von uns beobachtete signifikante Erhöhung der Noradrenalinausschüttung während der Unterzuckerung wird ebenfalls beschrieben (15), jedoch nicht in allen Studien als signifikant angegeben (12). Hinsichtlich der

ACTH- und Kortisol-Anstiege auf die induzierte Hypoglykämie bestätigen unsere Daten gleichermaßen die Befunde bestehender Studien (15,22,108,142,158). Die Somatotropin-Antwort auf die induzierte Hypoglykämie ist in vielen Arbeiten ebenfalls beobachtet worden (12,15,22,142).

Auf den ersten Blick erscheint das leichtgradige Absinken (Studie 1) bzw. der fehlende Anstieg (Studie 2) der Glukagonkonzentration während beider Clamp-Experimente überraschend. Jedoch beschreiben vorherige Studien, dass Insulin an sich die Glukagonsekretion hemmt (110). Unter dem Aspekt, dass in der vorliegenden Studie ein hypoglykämischer Clamp mit verhältnismäßig hoher Insulininfusionsrate (2,5 mU/min pro kg Körpergewicht) durchgeführt wurde, ist es wahrscheinlich, dass der suppressive Effekt des Insulins die stimulatorische Wirkung der Hypoglykämie hinsichtlich Glukagon stark überlagert hat.

Die von uns beobachtete Erhöhung des systolischen Blutdruckes erscheint aufgrund der hormonellen, insbesondere der Katecholaminreaktion erklärbar, zumal eine Erhöhung des systolischen Blutdruckes bei gesunden Probanden ebenfalls durch eine Absenkung der Blutglukosekonzentration induzierbar ist (38). Weiterhin zeigen aktuelle Studien, dass Insulin per se durch Einfluss auf das autonome Nervensystem den systolischen Blutdruck bei gesunden Probanden erhöht (153). In verschiedenen anderen Studien mit Typ-2-Diabetes-Patienten konnte der Anstieg des systolischen Blutdruckes jedoch nicht beobachtet werden (84,117). Allerdings wurde in diesen Studien die antihypertensive Therapie nicht berücksichtigt (84) bzw. nicht ausgesetzt (117). Zwar ist nachgewiesen, dass Insulin die Compliance der Aorta steigert (154) und somit auch einen senkenden Einfluss auf den systolischen Blutdruck besitzt, jedoch ist zu beachten, dass es sich bei unseren Probanden um Patienten mit Insulin-Resistenz handelt. Diese Resistenz wirkt sich nicht nur auf die metabolischen Effekte des Insulins aus, sondern bewirkt auch eine geringere Wirkung des Insulins hinsichtlich der vaskulären Wirkung (144).

Der diastolische Druck hat sich im Laufe unseres Clamp-Experimentes nicht wesentlich verändert. Zwar stieg die Katecholaminkonzentration im Rahmen der Hypoglykämie an, dieses hatte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf den diastolischen Blutdruck. Das Ausbleiben der Druckerhöhung könnte durch den in Studien (31) vorbeschriebenen beta-adrenergen Effekt des Insulins in physiologischen bzw. supra-physiologischen Konzentrationen erklärt werden. Dieser führt unter Insulinzufuhr zu einer Vasodilatation peripherer Gefäße und damit zu einem Absinken

des diastolischen Blutdruckes bzw. zu einer Abschwächung druckerhöhender Mechanismen. Dieser Effekt könnte zu einem Ausbleiben der Druckerhöhung geführt haben.

Somit ist festzustellen, dass die Ergebnisse unserer Studien die vorbeschriebenen allgemeinen hormonellen und vegetativen Reaktionen auf eine Hypoglykämie bestätigen.

## 6.2 Studie 1

Geschlechtliche Unterschiede in der Hypoglykämie-Gegenregulation bei Typ-2-Diabetes-Patienten wurden bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht untersucht. Das Ergebnis unserer Experimente, dass sich die hypoglykämische Gegenregulation nicht signifikant zwischen den Geschlechtern bei Typ-2-Diabetes-Patienten unterscheidet, erscheint auf den ersten Blick erstaunlich, da bei Patientinnen mit Typ-1-Diabetes eine verminderte Ausschüttung gegenregulatorisch wirksamer Hormone im Vergleich zu männlichen Typ-1-Diabetes-Patienten zu beobachten ist (43). Dasselbe Phänomen zeigte sich bei gesunden Probanden (6,45,46,57).

Vor diesem Hintergrund ist eine vor kurzer Zeit von Davis et al. veröffentlichte Studie interessant (136). In dieser wird ein hemmender Einfluss von Östrogen auf die hormonellen Gegenregulationsmechanismen im Rahmen einer Hypoglykämie beschrieben. Untersucht wurden 8 gesunde postmenopausale Frauen mit Hormonersatztherapie (Östrogen), 9 gesunde postmenopausale Probandinnen ohne Östrogentherapie und 8 in Lebensalter und Gewicht vergleichbare gesunde männliche Probanden. Die gesunden postmenopausalen Probandinnen mit Östrogenersatztherapie wiesen eine geringere Glukagon- und Adrenalin-Antwort als Reaktion auf eine Unterzuckerung auf, als dieses in der männlichen und weiblichen Kontrollgruppe ohne Östrogensubstitution beobachtet wurde. Diese Beobachtung könnte erklären, dass in unserer Studie keine signifikanten geschlechtlichen Unterschiede in der hormonellen Gegenregulation zu finden waren, da unser Probandenkollektiv nur postmenopausale Frauen ohne Östrogensubstitution beinhaltete.

Allerdings zeigte Davis Studie keinen bzw. nur einen geringen Einfluss von Östrogenen auf die Noradrenalinausschüttung bei den gesunden Probanden. Angaben über das Verhalten der Somatotropin-Konzentrationen wurden in dieser Veröffentlichung nicht gemacht. Ebenso sind Unterschiede zwischen Männern und

Frauen ohne Östrogensubstitution in der Glukagonantwort und dem Anstieg des systolischen Blutdruckes beobachtet worden, so dass noch andere Parameter die geschlechtlichen Unterschiede in der hypoglykämischen Gegenregulation beeinflussen können. Ebenfalls ist einschränkend zu bemerken, dass eine weitere Studie gezeigt hat, dass sich die hormonelle Gegenregulation bei gesunden Frauen während des menstruellen Zyklus nicht wesentlich verändert (55). Ungeachtet dieser Einschränkungen scheinen unsere Ergebnisse die Hypothese, dass Östrogene hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulationen hemmen, weiter zu unterstützen, da unser weibliches Probandenkollektiv postmenopausale Frauen ohne Östrogensatztherapie beinhaltete und somit der potentiell hemmende Faktor Östrogen in unserem Studiensetting zu vernachlässigen war.

Somit legen diese Daten nahe, dass kein klinisch relevanter Unterschied in der hypoglykämischen Gegenregulation zwischen gleichaltrigen Männern und Frauen im postmenopausalen Status mit Typ-2-Diabetes existiert. Sowohl die hormonellen als auch die symptomatischen und neurokognitiven Reaktionen auf eine Hypoglykämie zeigten sich in unserer Studie als vergleichbar zwischen diesen beiden Gruppen.

### **6.3 Studie 2**

Der Einfluss der Diabetesdauer und der Einfluss der Beta-Zellschädigung auf die Hypoglykämie-Reaktionen bei Typ-2-Diabetes-Patienten ist zurzeit Gegenstand der Forschung. So beschreibt eine aktuelle Studie von der Arbeitsgruppe um Cryer et al. (140) eine geringere Ausschüttung des gegenregulatorisch wirksamen Hormons Glukagon bei Typ-2-Diabetes-Patienten mit einer fortgeschrittener Beta-Zell-Dysfunktion. In dieser Studie wurden 7 mit oralen Antidiabetika behandelte Typ-2-Diabetes-Patienten mit 6 Insulin-behandelten Typ-2-Diabetes-Patienten verglichen. Diese Gruppierung wurde unter der Annahme gewählt, dass Patienten unter Insulin-Therapie eine höhergradige Beta-Zell-Dysfunktion aufweisen, als dieses bei Typ-2-Diabetes-Patienten mit oraler Medikation der Fall ist. Dabei betragen die C-Peptid-Konzentrationen als Marker der Beta-Zell-Funktion bei den oral behandelten Patienten  $3,1 \pm 1,7$  ng/ml und bei den mittels Insulin behandelten Patienten  $1,1 \pm 0,4$  ng/ml ( $p = 0,0051$ ). Die Arbeitsgruppe um Cryer beobachtete eine deutlich geringere Konzentration des Glukagons bei den Patienten mit fortgeschrittener Beta-Zell-Dysfunktion im Vergleich zu den Typ-2-Diabetes-Patienten mit höheren C-Peptid-

Konzentrationen und den ebenfalls getesteten gesunden Probanden mit einer mittleren C-Peptid-Konzentration von  $2,3 \pm 1,1$  ng/ml. Daraus wurde geschlossen, dass Patienten mit verminderter Insulin-Sekretion unter einer ungenügenden Glukagonausschüttung während einer Hypoglykämie leiden. Eine Aussage zu dieser Schlussfolgerung kann aufgrund unserer Ergebnisse nicht gemacht werden. Aufgrund der relativ hohen Insulininfusionsrate von 2,5 mU/min pro kg Körpergewicht während unserer Experimente kann nicht differenziert werden, ob die fehlende Glukagonantwort aufgrund einer Alpha-Zell-Dysfunktion oder aufgrund des hemmenden Einflusses des Insulins bestand. Somit ist eine differenzierte Aussage über das Verhalten der Glukagonsekretion während einer Hypoglykämie aufgrund unserer Studienanordnung nicht möglich.

Kritisch zu bewerten ist der statistisch signifikante Unterschied bezüglich des Verlaufes der Noradrenalin-Konzentration in Studie 2. Am Anfang der Hypoglykämie zeigen beide Konzentrationsverläufe einen nahezu identischen Verlauf. Jedoch divergiert der Noradrenalin-Konzentrationsverlauf am Ende der von uns induzierten Hypoglykämie. In der Gruppe der Diabetes-Patienten mit kurzer Krankheitsanamnese konnte eine weitere Steigerung der Konzentration beobachtet werden, während in der Gruppe der Patienten mit längerer Diabetes-Anamnese eine Abnahme der Konzentration in diesem Zeitraum erfasst wurde. Ob sich der Trend zu divergierenden Noradrenalin-Verläufen bestätigt, sollte durch eine prolongiertere Hypoglykämie geprüft werden. Jedenfalls kann aus unseren Daten kein klinisch relevantes Noradrenalin-Defizit abgeleitet werden.

Dessen ungeachtet zeigen die Ergebnisse unserer Studie reduzierte Somatotropin-, ACTH- und Kortisol-Reaktionen auf eine Hypoglykämie bei Patienten mit langer Diabetes-Anamnese. Zwar ist bekannt, dass die Somatotropin-Ausschüttung in einem hohen Maße vom Lebensalter abhängt (28,121,160), jedoch können Parameter wie Geschlecht, Lebensalter, BMI oder HbA1c in diesem Studiensetting mit größter Sicherheit als beeinflussende Faktoren der Hypoglykämie-Gegenregulation ausgeschlossen werden, da die Gruppen hinsichtlich dieser Parameter gut angepasst wurden. Der signifikant höhere Anstieg der Kortisol-Konzentration in dem Patientenkollektiv mit kürzerer Diabetes-Anamnese wurde von einem entsprechenden ACTH-Anstieg begleitet. Das führt zu der Vermutung, dass der Unterschied maßgeblich durch den ungleichen Anstieg des ACTH begründet ist, da ACTH zu einer konsekutiven Kortisolausschüttung führt. Eine Beeinträchtigung der Hypophysen-

Nebennierenachse im Rahmen eines Diabetes mellitus wurde schon in mehreren Studien beobachtet (81,94). Dabei konnten bei Typ-2-Diabetes-Patienten (81) erhöhte basale Konzentrationen von ACTH und von Kortisol gegenüber nicht diabetisch Erkrankten festgestellt werden (23,27). Des Weiteren ist bekannt, dass Diabetes mellitus mit einer Dysregulation der Hypophysen-Nebennierenachse assoziiert ist (23,27,132,133). Obwohl in unserer Studie die erhöhten basalen Konzentrationen von ACTH und Kortisol nicht bestätigt werden konnten, scheint die Dysregulation der Hypophysen-Nebennierenachse nach den Ergebnissen unserer Untersuchung bei langjährigen Typ-2-Diabetes-Patienten weitaus ausgeprägter zu sein, als dieses bei Typ-2-Diabetes-Patienten mit kürzerer Krankheitsanamnese der Fall ist.

Der bedeutsame Einfluss der Diabetesdauer ist allerdings auf die hormonellen Hypoglykämie-Reaktionen beschränkt. Die symptomatischen und neurokognitiven Reaktionen wurden durch die Dauer der Diabetes-Anamnese nicht wesentlich beeinflusst. In diesen Parametern zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen in Studie 2.

Folglich ist festzustellen, dass das Ausmaß der hormonellen Hypoglykämie-Gegenregulation im hohen Maße durch die Diabetesdauer bestimmt wird, wobei bei zunehmender Diabetesdauer die hormonelle Hypoglykämie-Gegenregulation abnimmt. Dieses ist besonders unter dem Aspekt zu betrachten, dass in der Arbeitsgruppe um Cryer (140) ein Glukagondefizit bei Typ-2-Patienten mit einer Beta-Zell-Dysfunktion beobachtet wurde. Somit rücken bei diesen Patienten die Antworten der anderen gegenregulatorisch wirksamen Hormone wie Adrenalin, Noradrenalin, ACTH, Kortisol und Somatotropin in den Vordergrund. Das von uns beobachtete Defizit von 3 der 5 oben genannten hormonellen Gegenregulationsmechanismen bei Patienten mit langer Diabetes-Anamnese könnte unter anderem die Beobachtung, dass die Diabetesdauer zu einer der Hauptrisikofaktoren für die Entwicklung einer schweren Hypoglykämie zählt (5,82,85,86,92), erklären. Insbesondere die Tatsache, dass ACTH, Kortisol und Somatotropin zu den gegenregulatorisch wirksamen Hormonen zählen, die überwiegend bei protrahiert verlaufenden Hypoglykämien entscheidend sind (36,38), deutet darauf hin, dass Patienten mit langer Diabetes-Anamnese besonders durch länger verlaufende Unterzuckerungen gefährdet sind.

Bezüglich der basalen Glukosekonzentrationen, der basalen Insulin- und C-Peptid-Konzentrationen in Studie 2 fällt auf, dass die Patienten mit längerer Diabetesdauer zwar erhöhte basale Blutglukose- und Insulin-Konzentrationen aufwiesen, die C-

Peptid-Konzentrationen jedoch in dieser Studienpopulation tendenziell geringere Werte aufwiesen. Dieses ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Tatsache zurückzuführen, dass die Gruppen sich hinsichtlich der Diabetes-Therapie unterschieden haben. Die Patienten mit einer Diabetes-Anamnese von mindestens 10 Jahren wurden signifikant häufiger mit einer Insulintherapie behandelt als dieses bei den Patienten mit einer maximalen Diabetesdauer von 5 Jahren der Fall war. Somit erklärt sich der basal erhöhte Insulinspiegel bei gleichzeitig verminderter basaler C-Peptid-Konzentration. Die Beobachtung, dass trotz erhöhter basaler Insulinkonzentrationen eine erhöhte basale Blutglukosekonzentration bei den Patienten mit einer längeren Krankheitsdauer vorlag, weist darauf hin, dass in diesem Patientenkollektiv eine höhere Insulinresistenz bestand, als dieses bei den Patienten mit einer maximalen Diabetes-Anamnese von 5 Jahren der Fall war.

In Bezug auf hypoglykämische Symptomwahrnehmung in der Studie 2 ist anzumerken, dass die Ausgangswerte der Patienten mit langer Diabetesdauer zwar höher waren, dennoch das Ausmaß des Anstieges der Symptomwahrnehmung während der Hypoglykämie zwischen den untersuchten Probanden in Studie 2 nahezu identisch war. Die basal erhöhte Symptomwahrnehmung der Patienten mit längerer Diabetes-Anamnese in der Baseline-Phase war besonders auf die autonomen Symptome zurückzuführen. In diesem Zusammenhang ist uns keine Studie bekannt, in der diese Beobachtung vorher beschrieben wurde.

Die Analyse der Ergebnisse des Wort-Wiedergabe-Testes in Studie 2 zeigte eine deutliche Einschränkung des Kurzzeitgedächtnisses während der Hypoglykämie in beiden Gruppen. Jedoch ist zu erkennen, dass die hypoglykämiebedingte Einschränkung der kognitiven Leistungsfähigkeit in beiden Studienpopulationen über das Zeitintervall der Hypoglykämie hinausgeht. In der Erholungsphase konnten wir ein weiteres Abnehmen des Kurzzeitgedächtnisses beobachten. Die Ergebnisse im auditiven Vigilanztest zeigten keine weitere Zunahme der Reaktionszeit, jedoch eine weiter bestehende Verlängerung dieser. Folglich bestehen deutliche Einschränkungen des Kurzzeitgedächtnisses und des Reaktionsvermögens noch relativ lange nach einer Hypoglykämie (65), obwohl in diesem Zeitintervall keine Hypoglykämiesymptome mehr von den Patienten wahrgenommen werden. Somit ist es wahrscheinlich, dass bestimmte Funktionen bzw. Regionen des Gehirns besonders empfindlich gegenüber glykopenen Zuständen sind (111,114), wohingegen andere Regionen des zentralen Nervensystems, wie z.B. die Regionen zur Hypoglykämie-Wahrnehmung, die

Fähigkeit besitzen, sich relativ schnell von glykopenen Verhältnissen zu erholen (62). Diese Beobachtung zeigte keine Abhängigkeit von der Diabetesdauer.

#### **6.4 Limitationen**

Einige methodische Einschränkungen der vorliegenden Untersuchung sollten erwähnt werden.

Da im Design beider Studien nur ein Hypoglykämieplateau vorgesehen war, waren wir nicht in der Lage die Glukoseschwellen für den Beginn der Gegenregulation bezüglich einzelner Hormone zu bestimmen. Aus diesem Grund können wir keine fundierte Aussage darüber machen, ob geschlechtliche Unterschiede hinsichtlich der Blutglukoseschwellen bestehen. Doch berichten aktuelle Studien hinsichtlich dieser Thematik, dass keine Abweichungen diesbezüglich zwischen den Geschlechtern bei gesunden Probanden bestehen (45,63). Aus diesem Grund erscheint es fraglich, ob sich bei Typ-2-Diabetes-Patienten geschlechtliche Unterschiede der Schwellen betreffend finden lassen. Hinsichtlich des Einflusses der Diabetesdauer auf die Blutglukoseschwellen zur Auslösung der Hypoglykämie-Reaktionen sind nach unserem Kenntnisstand bis heute keine Untersuchungen verfügbar. Die Frage, ob dieses der Fall ist, sollte in künftigen Studien geklärt werden.

Weiterhin muss angemerkt werden, dass das Hypoglykämieplateau nur relativ kurz war (30 Minuten). Für einen Teil der untersuchten Parameter ist dokumentiert, dass die Gegenregulationsantwort erst nach Ablauf von 30 min (Kortisol: 39 min, Noradrenalin: 40 min) ihr Maximum erreicht (63). Somit ist es möglich, dass die Gegenregulationsantwort in unseren Studien noch nicht das steady-state am Ende des Hypoglykämieplateaus erreicht hat. Weiterhin ist nachgewiesen, dass der Angleich der Glukosekonzentrationen zwischen zentralem Nervensystem und peripheren Blutsystem ca. 20 min in Anspruch nimmt (1). Somit ist das Maximum der kognitiven Defizite und der neuroglykopenen Symptome erst nach Ablauf dieses Zeitintervalles zu erwarten. Allerdings spiegelt das Studiensetting den klinischen Verlauf einer Hypoglykämie sehr gut wieder. Aus diesem Grund scheinen die gesammelten Daten insgesamt gut auf klinische Situationen übertragbar zu sein.

Ebenso kann die große Streuung einiger Parameter, die in dieser Studie untersucht wurden, als Kritikpunkt gewertet werden. Durch die große Varianz erscheint die statistische Power, Unterschiede aufzudecken, eingeschränkt zu sein. Es ist



wahrscheinlich, dass Variable wie Lebensalter, Blutzuckerkontrolle oder Diabetes-Therapie zu dieser Varianz beigetragen haben. Jedoch wurde in den Studien sehr genau darauf geachtet, dass die Gruppen insbesondere in diesen Variablen sehr gut vergleichbar waren, um systematische Einflüsse dieser Faktoren auf die Ergebnisse auszuschließen. Zusätzlich wurde in unseren Studien ein relativ großes Probandenkollektiv von 2 x 15 Personen bzw. 2 x 12 Personen untersucht um einen Fehler 2. Art möglichst unwahrscheinlich zu machen. Weiterhin ist anzumerken, dass die Variabilität potentiell beeinflussender Faktoren im klinischen Patientengut mit Typ-2-Diabetes ebenfalls sehr groß ist.

Die Kollektive in Studie 2 waren bezüglich des Geschlechtes, des Lebensalters, des BMI und des HbA1c gut zu vergleichen. Auch bestanden keine signifikanten Unterschiede in der nicht diabetesbezogenen medikamentösen Therapie, es zeigten sich jedoch signifikante Unterschiede in der Therapie mittels Insulin. Zum einen zeigte sich eine signifikant häufigere Einnahme von Insulinpräparaten in der Gruppe mit längerer Diabetes-Anamnese (kurze/lange Diabetesdauer: 4/9), zum anderen wurde eine signifikant höhere Insulinkonzentration in der Baseline-Phase bei den Patienten mit langer Krankheitsanamnese gefunden. Während des Hypoglykämieplateaus bestanden jedoch keine signifikanten Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Gruppen. Somit ist ein unterschiedlicher Einfluss des Insulins durch unterschiedliche basale Konzentration auf die Hypoglykämie-Reaktionen nicht zu erwarten.

Die Patienten mit einer kurzen Diabetesdauer wurden etwas häufiger mit Metformin behandelt (n = 9), als dieses in der Studienpopulation mit längerer Diabetesdauer (n = 5) der Fall war (p = 0,098). Obgleich dieser Unterschied nicht signifikant war, sollte angemerkt werden, dass eine aktuelle Studie (69) keine Auswirkungen dieses Medikamentes auf symptomatische und hormonelle Reaktionen auf eine Hypoglykämie beschreibt.

Ebenso ist zu beachten, dass die Diabetesdauer in Studie 2 anamnestisch ermittelt wurde. Der Zeitpunkt der diabetischen Erstmanifestation kann retrospektiv bei Typ-2-Diabetes-Patienten nie genau erfasst werden. Dennoch kann aufgrund der Zusammenstellung der Studiengruppen davon ausgegangen werden, dass sich die Diabetesdauer zwischen den beiden Gruppen signifikant unterschieden hat. Das Patientenkollektiv mit kurzer Diabetes-Anamnese wies eine mittlere Diabetesdauer von  $3,4 \pm 0,4$  Jahren (Bereich: 1-5 Jahre) auf, wobei das Patientenkollektiv mit längerer Krankheitsanamnese eine Diabetesdauer von  $14,4 \pm 1,0$  Jahren (Bereich: 10-

22 Jahre) aufzeigte. Somit ist ein mittleres Zeitintervall von 11 Jahren zwischen den beiden Studienpopulationen vorhanden, und es kann davon ausgegangen werden, dass trotz der relativen Unsicherheit einer anamnestischen Festlegung der diabetischen Erstmanifestation der Unterschied bezüglich der Diabetesdauer signifikant war.

### **6.5 Ausblick:**

Um weitere Einblicke in die Regulation der Hypoglykämie-Reaktionen zu erhalten, sollte der Einfluss von Östrogen und Progesteron auf die Art und Ausprägung der Hypoglykämieantwort genauer untersucht werden. So ist bis heute noch nicht geprüft worden, ob Unterschiede in der hormonellen Gegenregulation als Antwort auf eine Unterzuckerung zwischen den Geschlechtern bei jüngeren (prämenopausalen) Typ-2-Diabetes-Patienten existieren. Ferner sind die Einflüsse des Progesterons und des Östrogens auf Gegenregulationsmechanismen bei Typ-1-Diabetes-Patienten im prämenopausalen und postmenopausalen Zustand noch nicht geklärt. Zum anderen sollten Unterschiede in der Hypoglykämie-Gegenregulation zwischen postmenopausalen Frauen und gleichaltrigen Männern mit Typ-1-Diabetes untersucht werden.

Bezüglich des Einflusses der Diabetesdauer auf die Hypoglykämie-Reaktionen ist unter anderem zu klären, ob sich der aktuell beobachtete divergierende Verlauf der NoradrenalinKonzentrationen zwischen Patienten mit unterschiedlicher Dauer der Typ-2-Diabetes Anamnese bestätigt. Ferner ist bis zum heutigen Zeitpunkt nicht bekannt, ob die Diabetesdauer einen entscheidenden Einfluss auf die Blutglukoseschwellen der Hypoglykämie-Reaktionen ausübt. Für die Beantwortung dieser Fragestellung sollte ein stufenweiser hypoglykämischer Clamp-Versuch durchgeführt werden, indem Typ-2-Diabetes-Patienten mit unterschiedlicher Diabetesdauer verglichen werden. Weiterhin wäre interessant zu klären, ob Typ-2-Diabetes-Patienten mit längerer Diabetesdauer aufgrund der verminderten hormonellen Gegenregulation tatsächlich auch eine geringere endogene Glukoseausschüttung aufweisen, da dieser Parameter neben der Symptomwahrnehmung und der neurokognitiven Fähigkeiten während einer Hypoglykämie das Auftreten von schweren Hypoglykämien entscheidend beeinflusst.

## 6.6 Schlussfolgerungen:

Unsere Ergebnisse zeigen, dass das Geschlecht bei älteren Typ-2-Diabetes-Patienten keinen klinisch relevanten Einfluss auf das Ausmaß der hormonellen, symptomatischen und neurokognitiven Reaktionen auf eine Hypoglykämie hat. Das Nicht-Vorhandensein der geschlechtlichen Unterschiede kann möglicherweise dadurch erklärt werden, dass in dieser Studie postmenopausale Patientinnen mit gleichaltrigen männlichen Patienten verglichen wurden. Somit ist der potentiell beeinflussende Faktor Östrogen in dieser Studie bei den weiblichen Typ-2-Diabetes-Patientinnen zu vernachlässigen. Die vergleichbaren Reaktionen auf die induzierte Hypoglykämie zwischen den Geschlechtern bei älteren Patienten könnte die Tatsache begründen, dass bis heute keine geschlechtlichen Unterschiede in der Hypoglykämieinzidenz bei Typ-2-Diabetes-Patienten gefunden wurden, da der Anteil postmenopausaler bzw. älterer Patienten im Typ-2-Diabetes-Krankengut als relativ hoch anzusehen ist.

Des Weiteren zeigen unsere Ergebnisse einen signifikanten Einfluss der Diabetesdauer auf die Hypoglykämie-Gegenregulationsmechanismen. So werden insbesondere die hormonellen Reaktionen (ACTH, Kortisol, Somatotropin) auf eine Unterzuckerung durch eine lange Diabetes-Anamnese negativ beeinflusst. Damit ist das Risiko einer schweren Hypoglykämie abhängig von der Diabetesdauer. Problematisch ist diese Tatsache besonders unter dem Aspekt, dass langjährige Typ-2-Diabetes-Patienten häufig mit Insulin bzw. Insulin-Analoga behandelt werden. Diese Medikamente besitzen ein hohes Risikopotential eine Hypoglykämie hervorzurufen. Da insbesondere Hormone betroffen sind, die bei protrahierten Hypoglykämien gegenregulatorische Effekte aufweisen, ist besonders die Gefahr von längeren Unterzuckerungen bei Typ-2-Diabetes-Patienten mit langer Diabetes-Anamnese erhöht. Somit kann unsere Studie eine Erklärung zu der Tatsache beitragen, dass Typ-2-Diabetes-Patienten mit einer langen Krankheitsanamnese ein besonders hohes Hypoglykämierisiko besitzen. Unter diesem Aspekt sollte individuell das Risiko einer Hypoglykämie mit dem Risiko eventueller diabetischer Spätschäden abgewogen werden.

## **7. Zusammenfassung:**

Über Hypoglykämie-Gegenregulationsmechanismen bei Diabetes-Patienten wurde in der Vergangenheit ausführlich berichtet. So zeigen viele Studien eine verminderte Ausschüttung gegenregulatorisch wirksamer Hormone bei weiblichen Typ-1-Diabetes-Patienten im Verhältnis zu männlichen Vergleichspersonen. Bezüglich der geschlechtlichen Unterschiede bei Typ-2-Diabetes-Patienten bestehen bis heute keine Ergebnisse. Ebenso ist der Einfluss der Typ-2-Diabetesdauer auf Hypoglykämie-Reaktionen noch nicht systematisch untersucht worden.

Um diese Unklarheiten zu klären wurden hyperinsulinämische, hypoglykämische (50 mg/dl) Clamp-Versuche bei 15 Männern und 15 postmenopausalen Frauen mit Typ-2-Diabetes ohne Östrogensubstitution durchgeführt (Studie 1). Ebenso wurden 12 Typ-2-Diabetes-Patienten mit einer Diabetesdauer von maximal 5 Jahren mit 12 Patienten mit einer Diabetesdauer von minimal 10 Jahren verglichen (Studie 2). Hormonelle, symptomatische und neurokognitive Reaktionen auf die induzierte Hypoglykämie wurden dokumentiert. Die Studienpopulationen waren bezüglich Lebensalter, Körpergewicht, Blutzuckereinstellung und Diabetesdauer bzw. Geschlecht gut vergleichbar.

Unsere Ergebnisse zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Im Gegensatz dazu zeigte sich ein signifikanter Einfluss der Diabetesdauer. Es wurde eine Reduktion der ACTH-, Kortisol- und Somatotropin-Ausschüttung während der Hypoglykämie bei Typ-2-Diabetes-Patienten mit längerer Diabetes-Anamnese beobachtet. Unterschiede in den symptomatischen und neurokognitiven Reaktionen wurden in beiden Studien nicht gefunden.

Zusammengefasst legen diese Daten nahe, dass das Geschlecht bei älteren bzw. postmenopausalen Typ-2-Diabetes-Patienten keinen klinisch bedeutsamen Einfluss auf das Ausmaß von Hypoglykämie-Gegenregulationsmechanismen besitzt. Im Gegensatz dazu zeigen Patienten mit langer Diabetes-Anamnese im Vergleich zu Patienten mit kürzerer Diabetesdauer eine signifikant reduzierte hormonelle Gegenregulation. Dieses könnte zu der erhöhten Inzidenz schwerer Hypoglykämien bei Patienten mit langer Diabetes-Anamnese beitragen.

## 8. Literaturverzeichnis

1. Abi-Saab WM, Maggs DG, Jones T, Jacob R, Srihari V, Thompson J, Kerr D, Leone P, Krystal JH, Spencer DD, During MJ, Sherwin RS: Striking differences in glucose and lactate levels between brain extracellular fluid and plasma in conscious human subjects: effects of hyperglycemia and hypoglycemia. *J.Cereb.Blood Flow Metab.* 22:271-279, 2002
2. Allen C, LeCaire T, Palta M, Daniels K, Meredith M, D'Alessio DJ: Risk factors for frequent and severe hypoglycemia in type 1 diabetes. *Diabetes Care* 24:1878-1881, 2001
3. Amiel SA: R.D.Lawrence lecture 1994. Limits of normality: The mechanisms of hypoglycaemia unawareness. *Diabet. Med.* 11:918-924, 1994
4. Amiel SA: Hypoglycaemia unawareness: a reversible problem? *Diabet. Med.* 18 Suppl 1:11-14, 2001
5. Amiel SA: Hypoglycaemia in the elderly: presentation, counterregulation, cognitive function and prevention. *Diabetes Nutr.Metab.* 15:451-454, 2002
6. Amiel SA, Maran A, Powrie JK, Umpleby AM, Macdonald IA: Gender differences in counterregulation to hypoglycaemia. *Diabetologia* 36:460-464, 1993
7. Amiel SA, Pottinger RC, Archibald HR, Chusney G, Cunnah DT, Prior PF, Gale EA: Effect of antecedent glucose control on cerebral function during hypoglycemia. *Diabetes Care* 14:109-118, 1991
8. Arslanian SA, Heil BV, Becker DJ, Drash AL: Sexual dimorphism in insulin sensitivity in adolescents with insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 72:920-926, 1991
9. Banarer S, Cryer PE: Hypoglycemia in type 2 diabetes. *Med.Clin.North Am.* 88:1107-1116, 2004
10. Ben Ami H, Nagachandran P, Mendelson A, Edoute Y: Drug-induced hypoglycemic coma in 102 diabetic patients. *Arch.Intern.Med.* 159:281-284, 1999

11. Bhargava SK, Sachdev HS, Fall CH, Osmond C, Lakshmy R, Barker DJ, Biswas SK, Ramji S, Prabhakaran D, Reddy KS: Relation of serial changes in childhood body-mass index to impaired glucose tolerance in young adulthood. *N.Engl.J.Med.* 350:865-875, 2004
12. Boden G, Soriano M, Hoeldtke RD, Owen OE: Counterregulatory hormone release and glucose recovery after hypoglycemia in non-insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes* 32:1055-1059, 1983
13. Bolli G, De Feo P, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusanio F, Brunetti P, Gerich JE: Abnormal glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus. Interaction of anti-insulin antibodies and impaired glucagon and epinephrine secretion. *Diabetes* 32:134-141, 1983
14. Bolli GB, De Feo P, De Cosmo S, Perriello G, Ventura MM, Benedetti MM, Santeusanio F, Gerich JE, Brunetti P: A reliable and reproducible test for adequate glucose counterregulation in type I diabetes mellitus. *Diabetes* 33:732-737, 1984
15. Bolli GB, Tsalikian E, Haymond MW, Cryer PE, Gerich JE: Defective glucose counterregulation after subcutaneous insulin in noninsulin-dependent diabetes mellitus. Paradoxical suppression of glucose utilization and lack of compensatory increase in glucose production, roles of insulin resistance, abnormal neuroendocrine responses, and islet paracrine interactions. *J.Clin.Invest.* 73:1532-1541, 1984
16. Borg MA, Sherwin RS, Borg WP, Tamborlane WV, Shulman GI: Local ventromedial hypothalamus glucose perfusion blocks counterregulation during systemic hypoglycemia in awake rats. *J. Clin. Invest.* 99:361-365, 1997
17. Borg WP, Sherwin RS, During MJ, Borg MA, Shulman GI: Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release. *Diabetes* 44:180-184, 1995
18. Bottini P, Boschetti E, Pampanelli S, Ciofetta M, Del Sindaco R, Scionti L, Brunetti P, Bolli GB: Contribution of autonomic neuropathy to reduced plasma adrenaline responses to hypoglycemia in IDDM. Evidence for a nonselective defect. *Diabetes* 46:814-823, 1997

19. Boyle PJ, Schwartz NS, Shah SD, Clutter WE, Cryer PE: Plasma glucose concentration at the onset of hypoglycemic symptoms in patients with poorly controlled diabetes and in nondiabetics. *N.Engl.J.Med.* 318:1487-1492, 1988
20. Brunelle BL, Llewelyn J, Anderson JH, Jr., Gale EA, Koivisto VA: Meta-analysis of the effect of insulin lispro on severe hypoglycemia in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 21:1726-1731, 1998
21. Burge MR, Schmitz-Fiorentino K, Fischette C, Qualls CR, Schade DS: A prospective trial of risk factors for sulfonylurea-induced hypoglycemia in type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 279:137-143, 1998
22. Burge MR, Sobhy TA, Qualls CR, Schade DS: Effect of short-term glucose control on glycemic thresholds for epinephrine and hypoglycemic symptoms. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 86:5471-5478, 2001
23. Cameron OG, Kronfol Z, Greden JF, Carroll BJ: Hypothalamic-pituitary-adrenocortical activity in patients with diabetes mellitus. *Arch.Gen.Psychiatry* 41:1090-1095, 1984
24. Cersosimo E, Garlick P, Ferretti J: Renal glucose production during insulin-induced hypoglycemia in humans. *Diabetes* 48:261-266, 1999
25. Chevre JC, Hani EH, Boutin P, Vaxillaire M, Blanche H, Vionnet N, Pardini VC, Timsit J, Larger E, Charpentier G, Beckers D, Maes M, Bellanne-Chantelot C, Velho G, Froguel P: Mutation screening in 18 Caucasian families suggest the existence of other MODY genes. *Diabetologia* 41:1017-1023, 1998
26. Clarke WL, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, Julian D, Schlundt D, Polonsky W: Reduced awareness of hypoglycemia in adults with IDDM. A prospective study of hypoglycemic frequency and associated symptoms. *Diabetes Care* 18:517-522, 1995
27. Coiro V, Volpi R, Capretti L, Speroni G, Caffarra P, Scaglioni A, Malvezzi L, Castelli A, Caffarri G, Rossi G, et al: Low-dose ovine corticotropin-releasing hormone stimulation test in diabetes mellitus with or without neuropathy. *Metabolism* 44:538-542, 1995

28. Corpas E, Harman SM, Blackman MR: Human growth hormone and human aging. *Endocr.Rev.* 14:20-39, 1993
29. Corral RJ, Frier BM, McClellont EJ, Taylor SJ, Christie NE: Recovery mechanisms from acute hypoglycaemia in complete tetraplegia. *Paraplegia* 17:314-318, 1979
30. Cranston I, Lomas J, Maran A, Macdonald I, Amiel SA: Restoration of hypoglycaemia awareness in patients with long-duration insulin-dependent diabetes. *Lancet* 344:283-287, 1994
31. Creager MA, Liang CS, Coffman JD: Beta adrenergic-mediated vasodilator response to insulin in the human forearm. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 235:709-714, 1985
32. Cryer PE: Hypoglycemia: The limiting factor in the management of IDDM. *Diabetes* 43:1378-1389, 1991
33. Cryer PE: Iatrogenic hypoglycemia as a cause of hypoglycemia-associated autonomic failure in IDDM. A vicious cycle. *Diabetes* 41:255-260, 1992
34. Cryer PE: Glucose counterregulation: prevention and correction of hypoglycemia in humans. *Am.J.Physiol.* 264:149-155, 1993
35. Cryer PE: Are gender differences in the responses to hypoglycemia relevant to iatrogenic hypoglycemia in type 1 diabetes? *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85:2145-2147, 2000
36. Cryer PE: Hypoglycemia-associated autonomic failure in diabetes. *Am.J.Physiol. Endocrinol.Metab.* 281:1115-1121, 2001
37. Cryer PE: Hypoglycaemia: the limiting factor in the glycaemic management of Type I and Type II diabetes. *Diabetologia* 45:937-948, 2002
38. Cryer PE, Davis SN, Shamoon H: Hypoglycemia in diabetes. *Diabetes Care* 26:1902-1912, 2003
39. Cryer PE, Fisher JN, Shamoon H: Hypoglycemia. *Diabetes Care* 17:734-755, 1994



40. Dagogo-Jack S, Rattarasarn C, Cryer PE: Reversal of hypoglycemia unawareness, but not defective glucose counterregulation, in IDDM. *Diabetes* 43:1426-1434, 1994
41. Dagogo-Jack SE, Craft S, Cryer PE: Hypoglycemia-associated autonomic failure in insulin-dependent diabetes mellitus. Recent antecedent hypoglycemia reduces autonomic responses to, symptoms of, and defense against subsequent hypoglycemia. *J.Clin.Invest.* 91:819-828, 1993
42. Davis MR, Mellman M, Shamon H: Further Defects in Counterregulatory Responses Induced by Recurrent Hypoglycemia in IDDM. *Diabetes* 41:1335-1340, 1992
43. Davis SN, Fowler S, Costa F: Hypoglycemic counterregulatory responses differ between men and women with type 1 diabetes. *Diabetes* 49:65-72, 2000
44. Davis SN, Mann S, Galassetti P, Neill RA, Tate D, Ertl AC, Costa F: Effects of differing durations of antecedent hypoglycemia on counterregulatory responses to subsequent hypoglycemia in normal humans. *Diabetes* 49:1897-1903, 2000
45. Davis SN, Shavers C, Costa F: Differential gender responses to hypoglycemia are due to alterations in CNS drive and not glycemic thresholds. *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.* 279:1054-1063, 2000
46. Davis SN, Shavers C, Costa F: Gender-related differences in counterregulatory responses to antecedent hypoglycemia in normal humans. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85:2148-2157, 2000
47. Davis SN, Shavers C, Costa F, Mosqueda Garcia R: Role of cortisol in the pathogenesis of deficient counterregulation after antecedent hypoglycemia in normal humans. *J.Clin.Invest.* 98:680-691, 1996
48. Davis SN, Shavers C, Davis B, Costa F: Prevention of an increase in plasma cortisol during hypoglycemia preserves subsequent counterregulatory responses. *J.Clin.Invest.* 100:429-438, 1997

49. Davis SN, Shavers C, Mosqueda-Garcia R, Costa F: Effects of differing antecedent hypoglycemia on subsequent counterregulation in normal humans. *Diabetes* 46:1328-1335, 1997
50. DCCT Research Group: Epidemiology of severe hypoglycemia in the diabetes control and complications trial. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *Am.J.Med.* 90:450-459, 1991
51. DCCT Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N.Engl.J.Med.* 329:977-986, 1993
52. DeFronzo RA, Ferrannini E, Simonson DC: Fasting hyperglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus: contributions of excessive hepatic glucose production and impaired tissue glucose uptake. *Metabolism* 38:387-395, 1989
53. DeFronzo RA, Hendler R, Christensen N: Stimulation of counterregulatory hormonal responses in diabetic man by a fall in glucose concentration. *Diabetes* 29:125-131, 1980
54. DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R: Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am.J.Physiol.* 237:214-223, 1979
55. Diamond MP, Grainger DA, Rossi G, Connolly-Diamond M, Sherwin RS: Counter-regulatory response to hypoglycemia in the follicular and luteal phases of the menstrual cycle. *Fertil.Steril.* 60:988-993, 1993
56. Diamond MP, Hallarman L, Starick-Zych K, Jones TW, Connolly-Howard M, Tamborlane WV, Sherwin RS: Suppression of counterregulatory hormone response to hypoglycemia by insulin per se. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 72:1388-1390, 1991
57. Diamond MP, Jones T, Caprio S, Hallarman L, Diamond MC, Addabbo M, Tamborlane WV, Sherwin RS: Gender influences counterregulatory hormone responses to hypoglycemia. *Metabolism* 42:1568-1572, 1993

58. Dinneen S, Gerich J, Rizza R: Carbohydrate metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 327:707-713, 1992
59. Clarke DD, Sokoloff L: Circulation and Energy Metabolism of the brain. In: Siegel GJ, Agranoff BW, Albers RW, Fisher SK, Uhler MD: *Basic Neurochemistry*, 6 ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 1998, p. 637-670
60. Dunn-Meynell AA, Routh VH, Kang L, Gaspers L, Levin BE: Glucokinase is the likely mediator of glucosensing in both glucose-excited and glucose-inhibited central neurons. *Diabetes* 51:2056-2065, 2002
61. Evans ML, McCrimmon RJ, Flanagan DE, Keshavarz T, Fan X, McNay EC, Jacob RJ, Sherwin RS: Hypothalamic ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels play a key role in sensing hypoglycemia and triggering counterregulatory epinephrine and glucagon responses. *Diabetes* 53:2542-2551, 2004
62. Evans ML, Pernet A, Lomas J, Jones J, Amiel SA: Delay in onset of awareness of acute hypoglycemia and of restoration of cognitive performance during recovery. *Diabetes Care* 23:893-897, 2000
63. Fanelli C, Pampanelli S, Epifano L, Rambotti AM, Ciofetta M, Modarelli F, Di Vincenzo A, Annibale B, Lepore M, Lalli C, Del Sindaco P, Brunetti P, Bolli GB: Relative roles of insulin and hypoglycaemia on induction of neuroendocrine responses to, symptoms of, and deterioration of cognitive function in hypoglycaemia in male and female humans. *Diabetologia* 37:797-807, 1994
64. Fanelli C, Pampanelli S, Epifano L, Rambotti AM, Di Vincenzo A, Modarelli F, Ciofetta M, Lepore M, Annibale B, Torlone E, Perriello G, De Feo P, Santeusano F, Brunetti P, Bolli GB: Long-term recovery from unawareness, deficient counterregulation and lack of cognitive dysfunction during hypoglycaemia, following institution of rational, intensive insulin therapy in IDDM. *Diabetologia* 37:1265-1276, 1994
65. Frier BM: Hypoglycaemia and cognitive function in diabetes. *Int.J.Clin.Pract.Suppl.* 30-37, 2001

66. Fritsche A, Schweitzer MA, Haring HU: Glimepiride combined with morning insulin glargine, bedtime neutral protamine hagedorn insulin, or bedtime insulin glargine in patients with type 2 diabetes. A randomized, controlled trial. *Ann.Intern.Med.* 138:952-959, 2003
67. Fruehwald-Schultes B, Born J, Kern W, Peters A, Fehm HL: Adaptation of cognitive function to hypoglycemia in healthy men. *Diabetes Care* 23:1059-1066, 2000
68. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Deininger E, Wellhoener P, Kerner W, Born J, Fehm HL, Peters A: Protective effect of insulin against hypoglycemia-associated counterregulatory failure. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 84:1551-1557, 1999
69. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Oltmanns KM, Sopke S, Toschek B, Born J, Fehm HL, Peters A: Metformin does not adversely affect hormonal and symptomatic responses to recurrent hypoglycemia. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 86:4187-4192, 2001
70. Fukuda M, Tanaka A, Tahara Y, Ikegami H, Yamamoto Y, Kumahara Y, Shima K: Correlation between minimal secretory capacity of pancreatic beta-cells and stability of diabetic control. *Diabetes* 37:81-88, 1988
71. Gerich J, Cryer P, Rizza R: Hormonal mechanisms in acute glucose counterregulation: the relative roles of glucagon, epinephrine, norepinephrine, growth hormone, and cortisol. *Metabolism* 29:1164-1175, 1980
72. Gerich J, Davis J, Lorenzi M, Rizza R, Bohannon N, Karam J, Lewis S, Kaplan R, Schultz T, Cryer P: Hormonal mechanisms of recovery from insulin-induced hypoglycemia in man. *American Physiological Society* 380-385, 1979
73. Gerich JE: The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity. *Endocr.Rev.* 19:491-503, 1998
74. Gerich JE, Langlois M, Noacco C, Karam JH, Forsham PH: Lack of glucagon response to hypoglycemia in diabetes: evidence for an intrinsic pancreatic alpha cell defect. *Science* 182:171-173, 1973

75. Gerich JE, Mookan M, Veneman T, Korytkowski M, Mitrakou A: Hypoglycemia unawareness. *Endocr. Rev.* 12:356-371, 1991
76. Gold AE, Frier BM, MacLeod KM, Deary IJ: A structural equation model for predictors of severe hypoglycaemia in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet.Med.* 14:309-315, 1997
77. Gold AE, MacLeod KM, Frier BM: Frequency of severe hypoglycemia in patients with type I diabetes with impaired awareness of hypoglycemia. *Diabetes Care* 17:697-703, 1994
78. Gonder-Frederick L, Cox D, Kovatchev B, Schlundt D, Clarke W: A biopsychobehavioral model of risk of severe hypoglycemia. *Diabetes Care* 20:661-669, 1997
79. Graves PM, Norris JM, Pallansch MA, Gerling IC, Rewers M: The role of enteroviral infections in the development of IDDM: limitations of current approaches. *Diabetes* 46:161-168, 1997
80. Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, Eberhardt MS, Goldstein DE, Little RR, Wiedmeyer HM, Byrd-Holt DD: Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Diabetes Care* 21:518-524, 1998
81. Hashimoto K, Nishioka T, Takao T, Numata Y: Low plasma corticotropin-releasing hormone (CRH) levels in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM). *Endocr.J.* 40:705-709, 1993
82. Heller SR: What we know about counterregulation in Type 2 diabetes. *Diabetes Nutr.Metab.* 15:372-375, 2002
83. Heller SR, Macdonald IA, Herbert M, Tattersall RB: Influence of sympathetic nervous system on hypoglycaemic warning symptoms. *Lancet* 2:359-363, 1987
84. Heller SR, Macdonald IA, Tattersall RB: Counterregulation in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. Normal endocrine and glycaemic responses, up to ten years after diagnosis. *Diabetologia* 30:924-929, 1987

85. Henderson JN, Allen KV, Deary IJ, Frier BM: Hypoglycaemia in insulin-treated Type 2 diabetes: frequency, symptoms and impaired awareness. *Diabet.Med.* 20:1016-1021, 2003
86. Hepburn DA, MacLeod KM, Pell AC, Scougal IJ, Frier BM: Frequency and symptoms of hypoglycaemia experienced by patients with type 2 diabetes treated with insulin. *Diabet.Med.* 10:231-237, 1993
87. Hepburn DA, Patrick AW, Eadington DW, Ewing DJ, Frier BM: Unawareness of hypoglycaemia in insulin-treated diabetic patients: prevalence and relationship to autonomic neuropathy. *Diabet.Med.* 7:711-717, 1990
88. Hillier TA, Pedula KL: Characteristics of an adult population with newly diagnosed type 2 diabetes: the relation of obesity and age of onset. *Diabetes Care* 24:1522-1527, 2001
89. Hilsted J, Madsbad S, Krarup T, Sestoft L, Christensen NJ, Tronier B, Galbo H: Hormonal, metabolic, and cardiovascular responses to hypoglycemia in diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes* 30:626-633, 1981
90. Hoeldtke RD, Boden G: Epinephrine secretion, hypoglycemia unawareness, and diabetic autonomic neuropathy. *Ann. Intern. Med.* 120:512-517, 1994
91. Hoeldtke RD, Boden G, Shuman CR, Owen OE: Reduced epinephrine secretion and hypoglycemia unawareness in diabetic autonomic neuropathy. *Ann. Intern. Med.* 96:459-462, 1982
92. Holstein A, Plaschke A, Egberts EH: Clinical characterisation of severe hypoglycaemia - a prospective population-based study. *Exp.Clin.Endocrinol.Diabetes* 111:364-369, 2003
93. Howorka K, Heger G, Schabmann A, Skrabal F, Pumplrla J: Weak relationship between symptom perception and objective hypoglycaemia-induced changes of autonomic function in hypoglycaemia unawareness in diabetes. *Acta Diabetol.* 35:1-8, 1998

94. Inouye KE, Chan O, Yue JT, Matthews SG, Vranic M: Effects of diabetes and recurrent hypoglycemia on the regulation of the sympathoadrenal system and hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Am.J.Physiol. Endocrinol.Metab.* 288:422-429, 2005
95. Jaap AJ, Jones GC, McCrimmon RJ, Deary IJ, Frier BM: Perceived symptoms of hypoglycaemia in elderly type 2 diabetic patients treated with insulin. *Diabet.Med.* 15:398-401, 1998
96. Katakura M, Naka M, Kondo T, Nishii N, Komatsu M, Sato Y, Yamauchi K, Hiramatsu K, Ikeda M, Aizawa T, Hashizume K: Prospective analysis of mortality, morbidity, and risk factors in elderly diabetic subjects: Nagano study. *Diabetes Care* 26:638-644, 2003
97. Kaufman DL, Erlander MG, Clare-Salzler M, Atkinson MA, Maclaren NK, Tobin AJ: Autoimmunity to two forms of glutamate decarboxylase in insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Clin.Invest.* 89:283-292, 1992
98. Kerner W, Fuchs C, Redaelli M, Boehm BO, Köbberling J, Scherbaum WA, Tillil H: Definition, Klassifikation und Diagnostik des Diabetes mellitus. In Evidenzbasierte Diabetes-Leitlinien DDG. Scherbaum WA, Lauterbach KW, Joost HG, Eds. Deutsche Diabetes-Gesellschaft, 2001,
99. Kerr D, Reza M, Smith N, Leatherdale B: Importance of insulin in subjective, cognitive, hormonal responses to hypoglycemia in patients with IDDM. *Diabetes* 40:1057-1062, 1991
100. King H, Aubert RE, Herman WH: Global burden of diabetes, 1995-2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 21:1414-1431, 1998
101. Kinsley BT, Widom B, Simonson DC: Differential regulation of counterregulatory hormone secretion and symptoms during hypoglycemia in IDDM. Effect of glycemic control. *Diabetes Care* 18:17-26, 1995

102. Klein BE, Klein R, Moss SE: Risk of hypoglycemia in users of human insulin. The Wisconsin Epidemiologic study of Diabetic Retinopathy. *Diabetes Care* 20:336-339, 1997
103. Korzon-Burakowska A, Hopkins D, Matyka K, Lomas J, Pernet A, Macdonald I, Amiel S: Effects of glycemic control on protective responses against hypoglycemia in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 21:283-290, 1998
104. Kovatchev BP, Cox DJ, Gonder-Frederick LA, Young-Hyman D, Schlundt D, Clarke W: Assessment of risk for severe hypoglycemia among adults with IDDM: validation of the low blood glucose index. *Diabetes Care* 21:1870-1875, 1998
105. Kumagai AK, Kang YS, Boado RJ, Pardridge WM: Upregulation of blood-brain barrier GLUT1 glucose transporter Protein and mRNA in experimental chronic hypoglycemia. *Diabetes* 44:1399-1404, 1995
106. Leese GP, Wang J, Broomhall J, Kelly P, Marsden A, Morrison W, Frier BM, Morris AD: Frequency of severe hypoglycemia requiring emergency treatment in type 1 and type 2 diabetes: a population-based study of health service resource use. *Diabetes Care* 26:1176-1180, 2003
107. Levin BE, Routh VH, Kang L, Sanders NM, Dunn-Meynell AA: Neuronal glucosensing: what do we know after 50 years? *Diabetes* 53:2521-2528, 2004
108. Levy CJ, Kinsley BT, Bajaj M, Simonson DC: Effect of glycemic control on glucose counterregulation during hypoglycemia in NIDDM. *Diabetes Care* 21:1330-1338, 1998
109. Lingenfelter T, Renn W, Sommerwerck U, Jung MF, Buettner UW, Zaiser Kaschel H, Kaschel R, Eggstein M, Jakober B: Compromised hormonal counterregulation, symptom awareness, and neurophysiological function after recurrent short-term episodes of insulin-induced hypoglycemia in IDDM patients. *Diabetes* 42:610-618, 1993
110. Liu D, Moberg E, Kollind M, Lins PE, Adamson U: A high concentration of circulating insulin suppresses the glucagon response to hypoglycemia in normal man. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 23:1123-1128, 1991



111. Lobmann R, Smid HG, Pottag G, Wagner K, Heinze HJ, Lehnert H: Impairment and recovery of elementary cognitive function induced by hypoglycemia in type-1 diabetic patients and healthy controls. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 85:2758-2766, 2000
112. Mathias CJ, Frankel HL, Turner RC, Christensen NJ: Physiological responses to insulin hypoglycaemia in spinal man. *Paraplegia* 17:319-326, 1979
113. Matyka K, Evans M, Lomas J, Cranston I, Macdonald I, Amiel SA: Altered hierarchy of protective responses against severe hypoglycemia in normal aging in healthy men. *Diabetes Care* 20:135-141, 1997
114. McAulay V, Deary IJ, Ferguson SC, Frier BM: Acute hypoglycemia in humans causes attentional dysfunction while nonverbal intelligence is preserved. *Diabetes Care* 24:1745-1750, 2001
115. McCall AL: IDDM, counterregulation, and the brain. *Diabetes Care* 20:1228-1230, 1997
116. Meneilly GS, Cheung E, Tuokko H: Altered responses to hypoglycemia of healthy elderly people. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 78:1341-1348, 1994
117. Meneilly GS, Cheung E, Tuokko H: Counterregulatory hormone responses to hypoglycemia in the elderly patient with diabetes. *Diabetes* 43:403-410, 1994
118. Meyer C, Grossmann R, Mitrakou A, Mahler R, Veneman T, Gerich J, Bretzel RG: Effects of autonomic neuropathy on counterregulation and awareness of hypoglycemia in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 21:1960-1966, 1998
119. Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mokan M, Jenssen T, Kiss I, Durrant J, Cryer P, Gerich J: Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. *Am.J.Physiol.* 260:67-74, 1991
120. Miyazaki Y, Glass L, Triplitt C, Wajcberg E, Mandarino LJ, DeFronzo RA: Abdominal fat distribution and peripheral and hepatic insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *Am.J.Physiol. Endocrinol.Metab.* 83:1135-1143, 2002

121. Muggeo M, Moghetti P, Querena M, Girotto S, Bonora E, Crepaldi G: Effect of aging on growth hormone, ACTH and cortisol response to insulin-induced hypoglycemia in type I diabetes. *Acta Diabetol.Lat.* 22:159-168, 1985
122. Nathan DM: Clinical practice. Initial management of glycemia in type 2 diabetes mellitus. *N.Engl.J.Med.* 347:1342-1349, 2002
123. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, Paquette TL: Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. *Science* 222:1337-1339, 1983
124. Paramore DS, Fanelli CG, Shah SD, Cryer PE: Hypoglycemia per se stimulates sympathetic neural as well as adrenomedullary activity, but, unlike the adrenomedullary response, the forearm sympathetic neural response is not reduced after recent hypoglycemia. *Diabetes* 48:1429-1436, 1999
125. Passini N, Larigan JD, Genovese S, Appella E, Sinigaglia F, Rogge L: The 37/40-kilodalton autoantigen in insulin-dependent diabetes mellitus is the putative tyrosine phosphatase IA-2. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 92:9412-9416, 1995
126. Peacey SR, Robinson R, Bedford C, Harris ND, Macdonald IA, Holman RR, Heller SR: Does the choice of treatment for type 2 diabetes affect the physiological response to hypoglycemia? *Diabetes Care* 23:1022-1023, 2000
127. Peacey SR, Rostami-Hodjegan A, George E, Tucker GT, Heller SR: The use of tolbutamide-induced hypoglycemia to examine the intraislet role of insulin in mediating glucagon release in normal humans. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 82:1458-1461, 1997
128. Peters A, Rohloff F, Kerner W: Preserved counterregulatory hormone release and symptoms after short term hypoglycemic episodes in normal men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 80:2894-2898, 1995
129. Peters A, Schweiger U, Pellerin L, Hubold C, Oltmanns KM, Conrad M, Schultes B, Born J, Fehm HL: The selfish brain: competition for energy resources. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 28:143-180, 2004

130. Popp DA, Shah SD, Cryer PE: Role of epinephrine-mediated beta-adrenergic mechanisms in hypoglycemic glucose counterregulation and posthypoglycemic hyperglycemia in insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Clin.Invest.* 69:315-326, 1982
131. Raju B, McGregor VP, Cryer PE: Cortisol elevations comparable to those that occur during hypoglycemia do not cause hypoglycemia-associated autonomic failure. *Diabetes* 52:2083-2089, 2003
132. Roy M, Collier B, Roy A: Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation among diabetic outpatients. *Psychiatry Res.* 31:31-37, 1990
133. Roy M, Collier B, Roy A: Dysregulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis and duration of diabetes. *J.Diabet.Complications* 5:218-220, 1991
134. Ryan CM, Dulay D, Suprasongsin C, Becker DJ: Detection of symptoms by adolescents and young adults with type 1 diabetes during experimental induction of mild hypoglycemia: role of hormonal and psychological variables. *Diabetes Care* 25:852-858, 2002
135. Ryder RE, Owens DR, Hayes TM, Ghatgei MA, Bloom SR: Unawareness of hypoglycaemia and inadequate hypoglycaemic counterregulation: no causal relation with diabetic autonomic neuropathy. *B.M.J.* 301:783-787, 1990
136. Sandoval DA, Ertl AC, Richardson MA, Tate DB, Davis SN: Estrogen blunts neuroendocrine and metabolic responses to hypoglycemia. *Diabetes* 52:1749-1755, 2003
137. Schultes B, Kern W, Peters A, Oltmanns KM, Gais S, Fehm HL, Born J: Differential adaptation of neurocognitive brain functions to recurrent hypoglycemia in healthy men. *Psychoneuroendocrinology* 30:149-161, 2004
138. Schwartz NS, Clutter WE, Shah SD, Cryer PE: Glycemic thresholds for activation of glucose counterregulatory systems are higher than the threshold for symptoms. *J.Clin.Invest.* 79:777-781, 1987

139. Segel SA, Fanelli CG, Dence CS, Markham J, Videen TO, Paramore DS, Powers WJ, Cryer PE: Blood-to-brain glucose transport, cerebral glucose metabolism, and cerebral blood flow are not increased after hypoglycemia. *Diabetes* 50:1911-1917, 2001
140. Segel SA, Paramore DS, Cryer PE: Hypoglycemia-associated autonomic failure in advanced type 2 diabetes. *Diabetes* 51:724-733, 2002
141. Shamon H, Friedman S, Canton C, Zacharowicz L, Hu M, Rossetti L: Increased epinephrine and skeletal muscle responses to hypoglycemia in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J.Clin.Invest.* 93:2562-2571, 1994
142. Spyer G, Hattersley AT, Macdonald IA, Amiel S, MacLeod KM: Hypoglycaemic counter-regulation at normal blood glucose concentrations in patients with well controlled type-2 diabetes. *Lancet* 356:1970-1974, 2000
143. Strachan MW, Deary IJ, Ewing FM, Ferguson SS, Young MJ, Frier BM: Acute hypoglycemia impairs the functioning of the central but not peripheral nervous system. *Physiol. Behav.* 72:83-92, 2001
144. Tamminen M, Westerbacka J, Vehkavaara S, Yki-Jarvinen H: Insulin-induced decreases in aortic wave reflection and central systolic pressure are impaired in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 25:2314-2319, 2002
145. Towler DA, Havlin CE, Craft S, Cryer P: Mechanism of awareness of hypoglycemia. Perception of neurogenic (predominantly cholinergic) rather than neuroglycopenic symptoms. *Diabetes* 42:1791-1798, 1993
146. Tschritter O, Stumvoll M, Machicao F, Holzwarth M, Weisser M, Maerker E, Teigeler A, Haring H, Fritsche A: The prevalent Glu23Lys polymorphism in the potassium inward rectifier 6.2 (KIR6.2) gene is associated with impaired glucagon suppression in response to hyperglycemia. *Diabetes* 51:2854-2860, 2002
147. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. *Lancet* 352:837-853, 1998

148. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes. *Lancet* 352:854-865, 1998
149. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group: United Kingdom Prospective Diabetes Study 24: a 6-year, randomized, controlled trial comparing sulfonylurea, insulin, and metformin therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes that could not be controlled with diet therapy. *Ann.Intern.Med.* 128:165-175, 1998
150. Unger RH: The Berson memorial lecture. Insulin-glucagon relationships in the defense against hypoglycemia. *Diabetes* 32:575-583, 1983
151. Veneman T, Mitrakou A, Mookan M, Cryer PE, Gerich J: Induction of hypoglycemia unawareness by asymptomatic nocturnal hypoglycemia. *Diabetes* 42:1233-1237, 1993
152. Veneman TF, Erkelens DW: Clinical review 88: hypoglycemia unawareness in noninsulin- dependent diabetes mellitus. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 82:1682-1684, 1997
153. Kern W, Peters A, Born J, Fehm HL, Schultes B: Changes in blood pressure and plasma catecholamine levels during prolonged hyperinsulinemia. *Metab.* Accepted 08.10.2004.
154. Westerbacka J, Wilkinson I, Cockcroft J, Utriainen T, Vehkavaara S, Yki-Jarvinen H: Diminished wave reflection in the aorta. A novel physiological action of insulin on large blood vessels. *Hypertension* 33:1118-1122, 1999
155. White NH, Skor DA, Cryer PE, Levandoski LA, Bier DM, Santiago JV: Identification of type I diabetic patients at increased risk for hypoglycemia during intensive therapy. *N.Engl.J.Med.* 308:485-491, 1983
156. Widom B, Simonson DC: Glycemic control and neuropsychologic function during hypoglycemia in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann.Intern.Med.* 112:904-912, 1990

157. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27:1047-1053, 2004
158. Woerle HJ, Meyer C, Popa EM, Cryer PE, Gerich JE: Renal compensation for impaired hepatic glucose release during hypoglycemia in type 2 diabetes: further evidence for hepatorenal reciprocity. *Diabetes* 52:1386-1392, 2003
159. Wolf E, Spencer KM, Cudworth AG: The genetic susceptibility to type 1 (insulin-dependent) diabetes: analysis of the HLA-DR association. *Diabetologia* 24:224-230, 1983
160. Zadik Z, Chalew SA, McCarter RJ, Jr., Meistas M, Kowarski AA: The influence of age on the 24-hour integrated concentration of growth hormone in normal individuals. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 60:513-516, 1985

## **Danksagung**

Ich bedanke mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. H.L. Fehm für die Bereitstellung aller erforderlicher Mittel und Räumlichkeiten.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Bernd Schultes für die hervorragende Betreuung dieser Studie und die sehr gute wissenschaftliche Zusammenarbeit, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Auch Kamila Chara gilt mein besonderer Dank für die hervorragende Zusammenarbeit und ihre fachliche Hilfe im Labor. Christiane Otten danke ich für die Bestimmung der Hormonkonzentrationen und für ihre außergewöhnliche Hilfsbereitschaft. Für die organisatorische Hilfestellung von Anja Otterbein bedanke ich mich an dieser Stelle ebenso ausdrücklich.

Nicht zuletzt gilt mein Dank Maria Baron mit derer Hilfe diese Arbeit überhaupt erst entstehen konnte.

## **Anhang**

### **Ethikantrag**

Die Studie wurde von der örtlichen Ethik-Kommission geprüft und genehmigt  
(Aktenzeichen: 00-108 vom 24.10.2000).



## Curriculum vitae

Persönliche Daten: Jan Phillip Bremer  
geboren am 07.02.1980  
in Hamburg  
ledig

Anschrift: Sibeliusstraße 2, 22761 Hamburg

Schulbildung: 1986-1990 Grundschule Trenknerweg, Hamburg  
1990-1999 Gymnasium Hochrad, Hamburg  
1999 Abitur

Hochschulausbildung: 1999 Beginn des Studium der  
Humanmedizin an der  
Universität zu Lübeck  
2001 Physikum  
2002 1. Staatsexamen  
2004 2. Staatsexamen  
2005 3. Staatsexamen

Beginn der Promotion: 2002 Medizinische Klinik 1, Direktor: Prof.  
Dr. H.L. Fehm, Universitätsklinikum  
Schleswig-Holstein, Campus Lübeck

Berufstätigkeit: seit 2005 Assistenzarzt in der Rheumaklinik Bad  
Bramstedt, Abteilung Innere Medizin

Hamburg, den 23.12.2005