

**Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt – Diabetes Zentrum
des Klinikums der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Direktor: Prof. Dr. med. Martin Reincke



**Metabolische Charakterisierung
des Diabetes mellitus
bei adulten Patienten mit Cystischer Fibrose
im Vergleich zu Typ-2 Diabetikern**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Laura Anzeneder

aus
Burghausen

2011

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München**

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Jochen Seißler

Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. Matthias Griesse
Prof. Dr. med. Anette-Gabriele Ziegler

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. med. Florian Kircher

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 17.11.2011

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. <u>Einleitung</u>	8
1.1. <u>Die Cystische Fibrose (CF)</u>	8
1.1.1. Inzidenz, Prävalenz und Mortalität der Cystischen Fibrose.....	8
1.1.2. Genetik und Diagnostik der Cystischen Fibrose.....	10
1.1.3. Pathophysiologie und Klinik der Cystischen Fibrose	12
1.2. <u>Der Cystische Fibrose assoziierte Diabetes mellitus (CFRD)</u>	15
1.2.1. Inzidenz, Prävalenz und Mortalität des CFRD.....	15
1.2.2. Diagnose, Klinik und Therapie des CFRD.....	16
1.3. <u>Pathophysiologie des CFRD</u>	18
1.4. <u>Pathogenese des Diabetes Typ 1</u>	20
1.5. <u>Pathogenese des Diabetes Typ 2</u>	21
1.6. <u>Störung des Inkretineffekts bei DM 2 und CFRD</u>	22
1.7. <u>Fragestellung der Arbeit</u>	24
2. <u>Patienten, Material & Methoden</u>	25
2.1. <u>Rekrutierung und Einschlusskriterien der Probanden</u>	25
2.1.1. Cystische Fibrose Patienten.....	25
2.1.2. Gesunde Kontrollpersonen.....	26
2.1.3. Patienten mit Diabetes Typ 2.....	26
2.2. <u>Studiendesign</u>	27
2.2.1. Durchführung des oralen Glukosetoleranztests (oGTT).....	27
2.2.2. Blutentnahme.....	28
2.2.3. Materialien und Gerätschaften.....	29

2.3. <u>Laboruntersuchungen</u>	30
2.3.1. Routinelabor.....	30
2.3.2. ELISA.....	30
2.3.2.1. Insulin-ELISA.....	31
2.3.2.2. Intaktes Proinsulin-ELISA.....	32
2.3.2.3. Aktives GLP-1-ELISA.....	33
2.4. <u>Berechnungen und Statistik</u>	35
2.4.1. Body-Mass-Index (BMI).....	35
2.4.2. Umrechnungen.....	35
2.4.3. Indizes zur Bewertung der β -Zell Funktion und Insulinresistenz.....	36
2.4.4. Proinsulin/Insulin-Ratio.....	39
2.4.5. Area under the curve (AUC).....	39
2.4.6. Statistik.....	39
3. <u>Ergebnisse</u>	41
3.1. <u>Demographische und klinische Daten</u>	41
3.1.1. Charakteristika der Patienten mit Cystische Fibrose.....	41
3.1.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	43
3.2. <u>Glykämische Parameter</u>	44
3.2.1. Glukosetoleranz der Patienten mit Cystische Fibrose.....	44
3.2.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	49
3.3. <u>Insulinsekretion während des oGTT's</u>	52
3.3.1. Insulinsekretion der Patienten mit Cystische Fibrose.....	52
3.3.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	57
3.4. <u>Bewertung der β-Zell Funktion</u>	60
3.4.1. β -Zell Leistung der Patienten mit Cystische Fibrose.....	60
3.4.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	61

3.5. <u>Bewertung der Insulinresistenz</u>	62
3.5.1. Insulinsensitivität der Patienten mit Cystische Fibrose.....	62
3.5.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	63
3.6. <u>Sekretion des intakten Proinsulins während des oGTT's</u>	64
3.6.1. Proinsulinwerte der Patienten mit Cystische Fibrose.....	64
3.6.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	67
3.7. <u>GLP-1 Spiegel während des oGTT's</u>	71
3.7.1. GLP-1 Werte der Patienten mit Cystische Fibrose.....	71
3.7.2. Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.....	73
4. <u>Diskussion</u>	75
4.1. <u>Prävalenz und Screening des CFRD</u>	75
4.2. <u>Pathophysiologie des CFRD</u>	79
4.3. <u>Klinischer Einfluss und Diagnose des CFRD</u>	86
5. <u>Zusammenfassung</u>	89
6. <u>Abkürzungsverzeichnis</u>	91
7. <u>Abbildungsverzeichnis</u>	93
8. <u>Tabellenverzeichnis</u>	95
9. <u>Literaturverzeichnis</u>	97

10. <u>Publikationen</u>	109
11. <u>Danksagung</u>	110
12. <u>Lebenslauf</u>	111

1. Einleitung

1.1 Die Cystische Fibrose (CF)

1.1.1 Inzidenz, Prävalenz und Mortalität der Cystischen Fibrose

Die Cystische Fibrose (engl.: cystic fibrosis, CF) oder Mukoviszidose ist die häufigste tödlich endende genetische Erkrankung in der weißen Bevölkerung. Gemeinsam mit der Hämochromatose gehört sie ebenfalls zu den häufigsten angeborenen Stoffwechselerkrankungen.

Erstmals klinisch beschrieben wurde die Cystische Fibrose 1936 von dem Schweizer Pädiater Fanconi als „Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasen“. (1) Schon aus dem 17. Jhd. kennt man Beschreibungen von vermutlich Mukoviszidose-erkrankten Kinder (2) und alte, schweizerische Kinderlieder wissen: *"The child will soon die whose forehead tastes salty when kissed!* (3) Den heute gebräuchlichen Namen prägte die Pathologin Dorothy Andersen, die in ihrer Veröffentlichung von 1938 erstmals die Cystische Fibrose als eigenständige Entität beschrieb. (4) Die Bezeichnung Mukoviszidose setzt sich aus den lateinischen Worten *mucus* (Schleim) und *viscidus* (zäh) zusammen und beschreibt somit gut die Problematik dieser Erkrankung.

In Deutschland leben aktuell etwa 8000 betroffene Patienten. Jährlich werden circa 300 Kinder mit Cystischer Fibrose geboren, das entspricht einer Inzidenz von 1 zu 2000 - 3000 Erkrankten pro Geburt in Europa. (5) Ähnliche Zahlen finden sich in anderen Ländern mit hauptsächlich weißer Bevölkerung, wie den USA oder Australien. (6) In anderen ethnischen Gruppen ist die Krankheit selten anzutreffen, als Beispiel ist bei in den USA lebenden Asiaten (v.a. Inder/Pakistani) eine Inzidenz von 1 zu 40.000 zu nennen. (7) (siehe Abb. 1)

Die Mortalität dieser schweren Erkrankung hat in den letzten 40 Jahren stark abgenommen. Eine fundierte Datenlage hierfür bietet die *Cystic Fibrosis Foundation* mit Sitz in Maryland in ihren jährlichen Aufstellungen. Im Jahresbericht von 2006 wurden Daten von 24,487 Erkrankten aus den USA ausgewertet. (8) Bei Gründung der Organisation 1955 kamen nur wenige Mukoviszidose Patienten ins Schulalter. Während der letzten Dekade ist die mediane Überlebenszeit (Alter, das die Hälfte der Erkrankten statistisch erreicht) von 31 auf 37 Jahre angestiegen. Waren von den

Geburtenjahrgängen 1980 bis 1984 nur noch 90,2% der Patienten mit 15 Jahren am Leben, fand man in den Jahrgängen 1990 bis 1994 schon einen Prozentsatz von 95,2%. Somit steigt auch die Zahl der Cystische Fibrose Patienten, die das Erwachsenenalter erreichen. Das *Cystic Fibrosis Register* verzeichnete 1990 30% der Erkrankten als über 18 Jahre, 2006 waren es schon 40%. Es scheint realistisch, dass ein Kind, das heute mit Cystischer Fibrose geboren wird, bis zu 50 Jahre und älter wird.

Dieser Aufwärtstrend ist vor allem in einer aggressiveren Therapie der Lungenerkrankungen und einer verbesserten Ernährungslage der Patienten begründet und zusätzlich begünstigt durch die Ausbildung spezieller Therapiezentren. Jedoch führt dies auch zu einem häufigeren Auftreten von Mukoviszidose-assoziierten Folgeerkrankungen, wie Osteoporose, Leberbeteiligung oder dem Cystische Fibrose-assoziierten Diabetes. Auch die psychische Belastung der Erkrankten steigt mit Alter und Schwere der Erkrankung. (9)

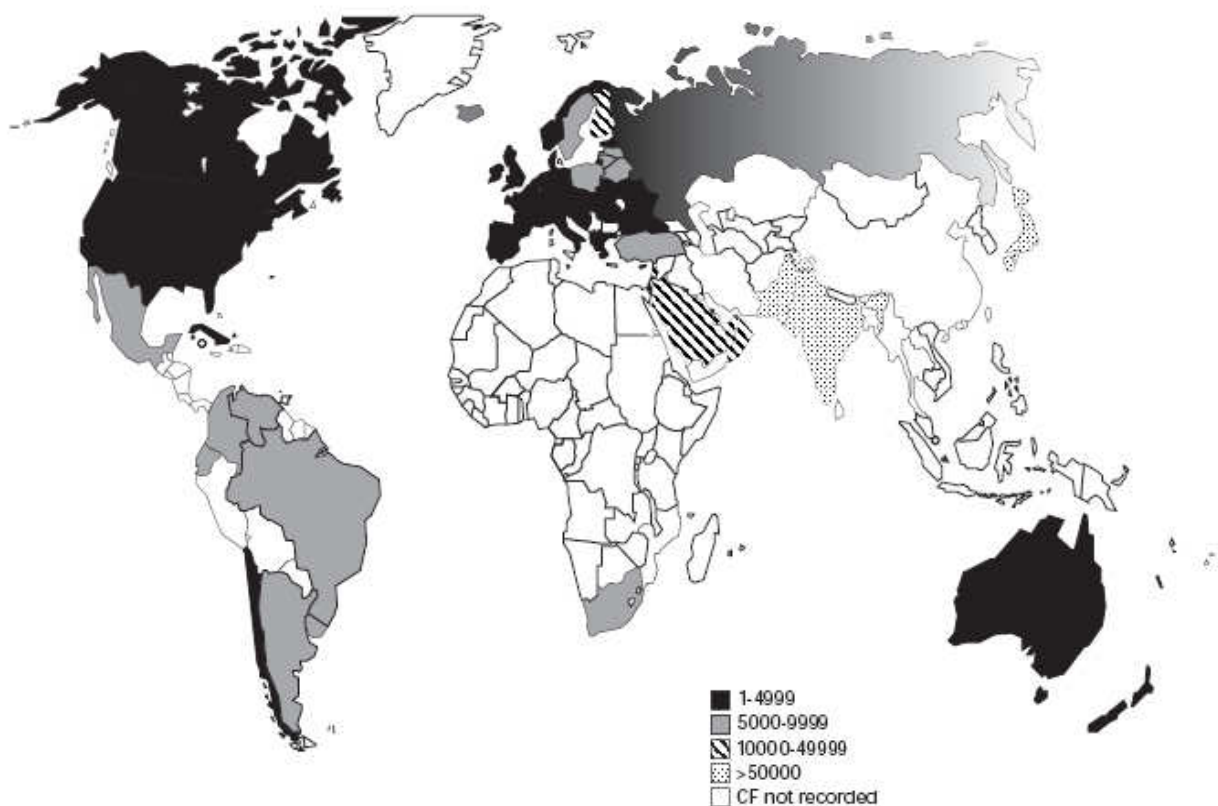


Abb. 1: Weltweite Inzidenz der Cystischen Fibrose aus "The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. Report of a joint meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)/ECFS" (6)

1.1.2 Genetik und Diagnostik der Cystischen Fibrose

Die Cystische Fibrose ist eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung. Die Heterozygotenfrequenz liegt bei etwa 1:30, so dass in Deutschland rund drei Millionen gesunde Merkmalsträger und somit potentielle Überträger leben.

Die genetische Ursache der Mukoviszidose wurde 1989 von Riordan et al. entdeckt: ein Defekt im Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR)-Gen, das auf dem langen Arm von Chromosom 7 (7q31.2) liegt. (10) Wie der Name beschreibt, kodiert dieses Gen für das 1480-Aminosäuren-lange Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Protein, das hauptsächlich als cAMP-regulierter Chlorid-Kanal in der apikalen Zellmembran von Epithel- und auch Blutzellen zu finden ist. (10)

Die häufigste zu diesem Defekt führende Mutation ist die Deletion dreier Basenpaare, die für die Aminosäure Phenylalanin an Position 508 des Proteins kodieren. (11) Diese klassische, sogenannte $\Delta F508$ Mutation betrifft rund zwei Drittel der Erkrankten in Nordeuropa und Nordamerika. Mittlerweile sind circa 1600 verschiedene Mutationen bekannt, die homozygot oder in verschiedenen Kombinationen heterozygot auftreten. Häufigkeit und Verteilung variieren zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen. Jedoch treten die meisten Mutationen außer $\Delta F508$ sehr selten auf und werden teilweise als „privat“ angesehen. (5, 12, 13)

Ungefähr die Hälfte der Mutationen sind Missense-Mutationen, daneben werden Nonsense-, Frameshift- und Spleiß-Mutationen und Deletionen einzelner Kodons gefunden. Größere Deletionen oder Insertionen sind selten. Die Mutationen werden in fünf verschiedene Klassen eingeteilt (siehe Abbildung 2 mit Beispielen für typische Mutationen der verschiedenen Klassen). (11)

Klasse I Mutationen führen zu einem unvollständigen, nicht funktionsfähigem CFTR-Protein. Mutationen der Klasse II, welche $\Delta F508$ enthält, stören die richtige Prozessierung des Proteins, das somit nicht in die apikale Membran der Zellen eingebaut werden kann. Obwohl diese Schritte bei Zellen mit Mutation der Klasse III gelingen, kann das Protein wegen einer Blockierung der Kanalöffnung nicht als Chlorid-Kanal fungieren. Bei Klasse IV kommt es bedingt durch eine Störung der Leitfähigkeit des Anionenkanals zur Erkrankung und bei Klasse V wird zu wenig CFTR-Protein gebildet oder zu früh abgebaut. (11, 14)

normal	I	II	III	IV	V
	Keine Synthese	Block in der Prozessierung	Block in der Regulation	Veränderte Leitfähigkeit	Reduzierte Synthese
	Nonsense G542X Frameshift 394defTT Splice junction 1717-1G→A	Missense N1303K AA deletion ΔF508	Missense G551D	Missense R117H R347P	Missense A455E Alternatives Splicing 3849+10kbC →T

Abb. 2: Mutationsklassen der Cystischen Fibrose aus Zielenski J et al. (11)

Klassen I – III gelten betreffend der phänotypischen Ausprägung meist als „schwere“ Mutationen, IV und V dagegen als „milde“. Jedoch ist dies vor allem eine epidemiologische Feststellung und sollte nicht alleine die Prognose eines Patienten bestimmen. Weiterhin geht man davon aus, dass noch weitere Gene den Verlauf der Erkrankung modifizieren (15), was sowohl die Lungen- (16), als auch die intestinale Beteiligung betrifft. (17)

Trotzdem ist die Genanalyse ein wichtiger Schritt in der Diagnostik der Cystischen Fibrose. Die Testung der 40 häufigsten Mutationen identifiziert in den meisten Populationen über 90% der erkrankten Personen. Allerdings sollte die Genanalyse nicht alleine, sondern in Zusammenschau mit weiteren Tests die Diagnose stellen. (18) Diagnostische Algorithmen für klassische und nicht-klassische Cystische Fibrose wurden von der European Union Cystic Fibrosis Diagnostic Working Group und der

US Cystic Fibrosis Foundation herausgegeben. (19, 20) Natürlich ist das klinische Erscheinungsbild (siehe 1.3) ein wichtiges Kriterium. Die Testung der CFTR-Funktion stellt ein weiteres dar. Als Test bietet sich hier der Schweißtest an. Er wurde 1959 von Gibson und Cook beschrieben und beruht auf der gestörten Funktion der Schweißdrüsen bei Mukoviszidose-Patienten. Im durch Pilocarpin-Iontophorese angeregten und gesammelten Schweiß findet man einen erhöhten Natrium-Chlorid-Gehalt. Eine Chlorid-Ionen-Konzentration über 60 mmol/l bestätigt den Verdacht auf Erkrankung. (21) Bei Nachweis einer der die Erkrankung auslösenden Mutationen gilt die Diagnose als gesichert. Liefern diese Tests kein eindeutiges Ergebnis, kann noch die Messung der transepithelialen Potentialdifferenz am respiratorischen Epithel der Nase eingesetzt werden. Dabei wird das elektrochemische Gefälle zwischen zwei Punkten mit verschiedenen Ionen Konzentrationen (Natrium und Chlorid) am Nasenepithel bestimmt, das bei Cystische Fibrose Patienten verändert ist. (22)

1.1.3 Pathophysiologie und Klinik der Cystischen Fibrose

Das CFTR-Protein dient vor allem als Chloridkanal, hat aber ebenfalls regulatorische Wirkung auf andere Chlorid- und Natriumkanäle und auch den intrazellulären Vesikeltransport. (23-25) Zusätzlich ist es am Austausch von Bikarbonat und Chloridionen beteiligt, wobei ein Mangel an Bikarbonat zu einer Anhäufung von schlecht löslichem Schleim an den Epitheloberflächen führt. (26) Aus diesen Grundlagen haben sich vier verschiedene Hypothesen zur Pathophysiologie der Cystischen Fibrose, speziell der Lungenbeteiligung, gebildet, die im Folgenden kurz erläutert werden sollen. (27)

Die Theorie des zu kleinen Volumens geht von der fehlenden Sekretion von Chloridionen durch CFTR und die gleichzeitig anormal erhöhte Absorption von Natriumionen aus. So entsteht ein visköser Schleim auf den Epithelien, der die mukoziliäre Clearance sowie das einfache Abhusten des Sputums verhindert. Bakterien, die in die Lunge eindringen, finden somit ideale, auch anaerobe Wachstumsbedingungen. (27, 28)

Die zweite Hypothese argumentiert mit durch das Fehlen von CFTR zu stark erhöhten Natrium und Chlorid Konzentrationen in der Oberflächenflüssigkeit des

Atemweges. Dadurch werden körpereigene, antibiotische Stoffe (z. Bsp. humanes β -Defensin 1) in der Abwehr von Bakterien gestört. (27, 29-31)

Eine dritte Theorie besagt, dass bei Patienten mit Cystischer Fibrose das Gleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Substanzen zugunsten der proinflammatorischen Moleküle wie Interleukin 8 und 6, Tumornekrosefaktor α und Arachnidonsäuremetaboliten verschoben ist. Dies resultiert in einer fehlerhaften Immunantwort des Erkrankten. (27, 32-36)

Eine weitere Hypothese basiert auf der Vermutung, dass das speziell bei Cystischer Fibrose problematische Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* normalerweise an das CFTR-Protein bindet und eine schnelle, eigene Immunantwort auslöst. Das Fehlen des Proteins verhindert diese Antwort und zusätzlich können die Bakterien an der Epitheloberfläche noch besser binden. (27, 37, 38)

Diese postulierten Veränderungen finden sich in allen Epithelien, die bei Gesunden CFTR exprimieren. Somit sind die Epithelzellen des gesamten Respirationstraktes einschließlich der submukösen Drüsenzellen, die Zellen des Pankreasgangsystems, die Darmepithelzellen, die Zellen des Gallengangsystems und die Epithelzellen der Vasa deferens betroffen. Dies führt zu dem komplexen klinischen Bild einer Multiorgankrankheit (siehe Tab. 1), wobei vor allem die Entzündungen und Infektionen der Lunge, sowie die exokrine Pankreasinsuffizienz die Patienten stark beeinträchtigen.

Kennzeichen der Lungenbeteiligung sind chronische Entzündung, Bronchiektasien, Überblähung, Hypoxämie und Hyperkapnie. Mindestens 80% der Patienten sterben an den Folgen der respiratorischen Insuffizienz. (8)

Circa 90% der Cystische Fibrose Erkrankten leiden auch an einer substitutionsbedürftigen Insuffizienz des exokrinen Pankreas mit dem Problem der Malabsorption. (8) Auch im Pankreas wird ein zähes Sekret mit Mangel an HCO_3^- gebildet, das die Pankreasgänge verschließt. Die Vorstufen der Verdauungsenzyme können somit nicht in den Darm abfließen, sondern werden frühzeitig im Pankreas aktiviert und führen zu Zerstörung und Fibrosierung des Gewebes. Diese Vorgänge tragen ebenfalls zur Entstehung des Cystische Fibrose assoziierten Diabetes bei, der das Hauptthema in dieser Arbeit sein soll.

<p>1. chronische sinupulmonale Erkrankung, manifestiert durch:</p> <ul style="list-style-type: none"> a. persistierende Besiedlung/Infektion mit CF-typischen Keimen, wie <i>Staphylococcus aureus</i>, untypische <i>Haemophilus influenzae</i>, mucoider und nicht-mucoider <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>, und <i>Burkholderia cepacia</i> b. chronischer Husten und Sputumproduktion c. persistierende Veränderungen im Röntgen-Thorax (z. Bsp. Bronchiektasen, Atelektasen, Infiltrate, Überblähung) d. Lungenobstruktion, klinisch bemerkbar durch pfeifendes Atemgeräusch und Luftfallen e. Nasenpolypen; Veränderung der Nasennebenhöhlen im Röntgen der CT f. Trommelschlägelfinger
<p>2. Anomalien im Gastrointestinaltrakt und des Ernährungszustand</p> <ul style="list-style-type: none"> a. Intestinal: Mekoniumileus, distales Obstruktionssyndrom, Rektumprolaps b. Pankreas: Pankreasinsuffizienz, rezidivierende akute Pankreatitis, chronische Pankreatitis, Pankreasanomalien in der Bildgebung c. Leber: verlängerter neonataler Ikterus, chronische hepatische Erkrankung, manifestiert durch klinische oder histologische Anzeichen einer fokal-billiären oder multilobulären Zirrhose d. Ernährungszustand: Gedeihstörungen (Protein-Mangelernährung), Hypoproteinämie und Ödeme, Komplikation durch verminderte Aufnahme fettlöslicher Vitamine
<p>3. Salzverlustsyndrom: akuter Salzverlust, chronisch metabolische Alkalose</p>
<p>4. Probleme des männlichen Genitaltrakts, in obstruktiver Azoospermie resultierend</p>

Tab. 1: Manifestationen der Cystischen Fibrose, modifiziert nach Farrell P. et al. (20)

1.2 Der Cystische Fibrose assoziierte Diabetes mellitus (CFRD)

1.2.1 Inzidenz, Prävalenz und Mortalität des CFRD

Der Cystische Fibrose-assoziierte Diabetes mellitus (engl. Cystic fibrosis related diabetes – CFRD) ist die häufigste Komorbidität der Mukoviszidose. (8) Die Prävalenz des CFRD steigt mit dem Alter an (39), sodass durch die gestiegene Lebenserwartung immer mehr Patienten an dieser Folgeerkrankung leiden. Bei Kleinkindern ist ein CFRD sehr selten zu finden, aber ab dem zehnten Lebensjahr nimmt die Prävalenz pro Jahr um rund 5% zu. Im Alter von 30 Jahren haben etwa 50% der Patienten einen Diabetes entwickelt (40) und insgesamt 70% der Erwachsenen mit CF zeigen eine gestörte Glukosetoleranz. (41) Patienten mit exokriner Pankreasinsuffizienz und homozygote Träger der Mutation $\Delta F508$ sind besonders gefährdet. (42, 43)

Der CFRD geht einher mit einer Verschlechterung des Ernährungszustandes und einem verzögertem Wachstum sowie gehäufte terminaler respiratorischer Insuffizienz und letztlich dem Tod. (44) Finkelstein et al. fanden in einer retrospektiven Studie die Anzahl der Überlebenden bis zum 30 Lebensjahr von 60% in der Kontrollgruppe auf nur 25% der Patienten mit CFRD reduziert. (45) Diese erhöhte Mortalität wurde vor allem für weibliche Patienten beschrieben. (46) Jedoch scheinen sich diese Unterschiede in der Mortalität bezüglich des Geschlechts und auch der Glukosetoleranz aufgrund verbesserter Therapieregime langsam anzugleichen. (47)

Die beschriebene Verschlechterung der Lungenfunktion und des Ernährungszustandes ist schon bis zu sechs Jahre vor Diagnose des Diabetes zu messen. (48) Deshalb sollte eine gestörte Glukosetoleranz möglichst früh erkannt und adäquat therapiert werden, da dies nachweislich den Morbidität und Mortalität der Patienten verbessert. (49)

1.2.2 Diagnose, Klinik und Therapie des CFRD

Diagnostische Kriterien des CFRD wurden im Consensus Conference Report der Cystic Fibrosis Foundation von 1999 festgelegt. (41) Dort wird als Screeningparameter der Nüchternglukosewert genannt. In neueren Studien gilt hierfür ein jährlicher oraler Glukosetoleranztest (oGTT) als Goldstandard. (50) Dieser Test wird unter Standardbedingungen wie zehnstündige Nahrungskarenz und einer Glukosebelastung von 1,75g / kg Körpergewicht bzw. maximal 75 g durchgeführt. Bei Patienten, die gerade orale Glukokortikoide einnehmen oder im letzten Monat einen Infekt hatten, kann das Ergebnis verfälscht sein. Bei pathologischen Werten sollte der Test wiederholt werden. (51) Die Referenzwerte des oGTT und zusätzlich die gemessenen Nüchternwerte dienen zur Diagnose und Einteilung der pathologischen Glukosetoleranzen entsprechend den Werten der American Diabetes Association (ADA) für den Typ 2 Diabetes. Somit entstehen vier Gruppen: Patienten mit normaler Glukosetoleranz (engl.: normal glucose tolerance, NGT), mit gestörter Nüchternglukose (engl.: impaired fasting glucose, IFG), mit gestörter Glukosetoleranz (engl.: impaired fasting glucose, IGT) und mit manifestem Diabetes (CFRD). Der einzige Unterschied zu den ADA Kriterien ist eine weitere Unterscheidung des CFRD in Patienten mit und ohne gestörte Nüchternglukose. Die genauen Referenzwerte für die einzelnen Gruppen sind in Tabelle 2 angegeben. (41)

Kategorie	Venöse Plasmaglukose mg/dl	
	Nüchtern	2-h-oGTT
NGT	< 100	< 140
IFG	100 - 125	< 140
IGT	< 126	140 – 199
CFRD mit/ohne gestörte Nüchternglukose	≥ 126 / < 126	≥ 200

Tab. 2: Diagnosekriterien des Diabetes mellitus bei CF Patienten laut Consensus Conference Report der Cystic Fibrosis Foundation von 1999 (41)

Zusätzlich kann auch die klinische Symptomatik wie unerklärbare Polyurie und Polydipsie, Gewichtsverlust oder keine Gewichtszunahme unter optimierter, hochkalorischer Ernährung, Gedeihstörungen und verzögerte Pubertät, sowie unerklärbare Verschlechterung der Lungenfunktion Hinweise auf eine gestörte Glukosetoleranz geben. (41)

Blutzuckertagesprofil und der HbA_{1c}-Wert können der Therapieüberwachung bei gesicherter Diagnose dienen, sollten jedoch nicht als Screeningmethode eingesetzt werden. (52)

Die Standardtherapie des CFRD erfolgt mit einer intensivierten Insulintherapie, wobei der Bedarf an langwirksamen Insulin zur Nacht meist gering ist. Die Ernährung sollte optimal angepasst sein und gleichzeitig den erhöhten Kalorienbedarf als auch die gestörte Glukosetoleranz berücksichtigen. (41, 53) Zusätzlich muss die Gefahr der Hypoglykämien bei CF besonders beachtet werden. (54) Außerdem schützt ein gut eingestellter Blutzucker vor Spätkomplikationen, die auch beim CFRD zu finden sind. Drei große Studien geben für Patienten mit einer Erkrankungsdauer mit Diabetes von mindestens zehn Jahren die Prävalenz der Mikroalbuminurie mit 10 – 21%, die Retinopathie mit 10 – 36% und die Neuropathie mit 3 – 17% an. (55-57)

1.3 Pathophysiologie des CFRD

Die *American Diabetes Association* zählt den CFRD zu den „anderen spezifischen Diabetes-Typen verursacht durch Erkrankung des exokrinen Pankreas“ und grenzt ihn somit klar vom Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 ab. (58) Allerdings zeigt der CFRD Merkmale sowohl des Typ 1 (DM1), als auch des Typ 2 Diabetes (DM2), siehe Tabelle 3. (40)

Charakteristika	DM1	DM2	CFRD
Erstmanifestation	meist < 20 Jahre	meist > 40 Jahre	~ 20 Jahre
Gewicht	normal	adipös	dünn
Insulinsekretion	↓↓↓	↓: erste Phase Mögliche Verschlechterung ↓↓	↓: erste Phase Schnelle Verschlechterung ↓↓↓
Insulinsensitivität	normal	↓↓↓	↓ - ↑
Ätiologie autoimmun	ja	nein	nein
Amyloid in Pankreasinseln	nein	+	+
Ketoazidose	ja	selten	selten
Mikrovaskuläre Komplikationen	ja	ja	ja
Makrovaskuläre Komplikationen	ja	ja	selten
Behandlung	Insulin	Diät bei Übergewicht; orale Antidiabetika und/oder Insulin	Hochkalorische Ernährung; Insulin; orale Antidiabetika umstritten

Tab. 3: Vergleich des Diabetes bei CF (CFRD) mit Diabetes Typ 1 (DM1) und Typ 2 (DM2), modifiziert nach Costa M. et al. (40)

Die genaue Pathophysiologie des CFRD ist weiterhin unklar, jedoch geht man von einer multifaktoriellen Genese aus. (41)

Als Hauptursache wird der Insulinmangel aufgrund verminderter Anzahl der β -Zellen genannt. (41, 59) Wie die exokrine Pankreasinsuffizienz, entsteht auch die endokrine durch die chronischen Pankreatitiden bei CF. Es kommt zu Umbauvorgängen wie Verfettung und Fibrosierung des Pankreas. (42, 60) Dadurch wird ebenfalls die Architektur der Inseln zerstört. Viele Inseln gehen zugrunde und die Zellzusammensetzung der Verbliebenen verändert sich. Der β -Zellanteil in den Inseln ist vermindert bei gleichzeitig vermehrter Anzahl von Alpha-, PP- und Deltazellen. (61, 62) Trotzdem wurde sowohl ein Mangel an Insulin, als auch an Glucagon und Pankreatischen Polypeptid beschrieben. (63)

In Autopsiebefunden konnte ein direkter Zusammenhang zwischen der Inselzelldestruktion und CFRD gefunden werden. Mukoviszidose-Patienten mit CFRD wiesen einen stärkeren Verlust der β -Zellen in den Inseln auf als CF Patienten mit normaler Glukosetoleranz. (64)

Zusätzlich könnte die Akkumulation von Amyloid in den Inseln, die bei CF Patienten mit CFRD zu sehen ist, einen zytotoxischen, inhibitorischen Effekt auf die Insulinsekretion haben. (65)

Die Insulinsekretion könnte auch durch Defekte auf zellulärer Ebene gehindert sein. Neuere Studien zeigen, dass das CFTR-Protein auch in gesunden β -Zellen exprimiert wird. (66, 67) Wie oben beschrieben greift CFTR regulatorisch in viele Zellprozesse, wie auch den Vesikeltransport oder die Genexpression, ein. Ein Mangel oder Fehlen des Proteins könnte sich auch in Störungen der Insulinsekretion niederschlagen. Weiterhin scheint auch die Translokation des Glukosetransporters GLUT4 durch die Mutation des CFTR negativ beeinflusst zu werden, was einen weiteren Pathomechanismus darstellen könnte. (68)

Die Rolle der Insulinresistenz bei der Entstehung des CFRD ist umstritten. Verschiedene Studien kamen zum Ergebnis, dass die Insulinsensitivität bei CF erniedrigt (69, 70), normal (71, 72) oder sogar erhöht (73, 74) ist. Die Unterschiede der Ergebnisse entstehen wahrscheinlich durch verschiedene Testmethoden und der fehlenden Einheitlichkeit der Studiengruppen.

Die Insulinresistenz kann auch intermittierend bei Patienten mit physischem Stress wie Infektionen oder Steroid-Behandlungen auftreten. Überhaupt ist der Glukosestoffwechsel bei Mukoviszidose durch eine Vielzahl von Faktoren, die

einzigartig für diese Erkrankung sind, stark beeinflusst. Dazu zählen Unterernährung, chronisch und akute Infektionen, erhöhter Grundumsatz (vor allem durch erhöhte Atemarbeit), Glucagonresistenz, verlängerte Darmpassage und Leberfunktionsstörung. (42)

Zuletzt soll noch die veränderte Insulinclearance-Rate bei CF genannt werden. Es konnte gezeigt werden, dass die Abbaurate von Insulin bei Mukoviszidose um 30 – 40% erhöht ist. (70) Dies ist unabhängig davon, ob ein CFRD vorliegt. Dies könnte ein weiterer Faktor für dessen Entstehung sein.

1.4 Pathogenese des Diabetes Typ 1

Auch beim Typ 1 Diabetes (DM1) kommt es wie beim Diabetes der CF Patienten durch Zerstörung der β -Zellen zu einem absoluten Insulinmangel. Jedoch handelt es sich beim DM1 um eine autoimmun vermittelte Erkrankung des endokrinen Pankreas. Bestimmte HLA-Genotypen wie DR 3/4 und andere Genvarianten, die wichtige Regulatoren des Immunsystems sind, prädisponieren für die Entstehung eines DM1. Durch noch nicht genau geklärte Umweltfaktoren (z.B. Virusinfektionen, Nahrungsbestandteile) kommt es zur Induktion einer Inselzell-spezifischen Autoimmunreaktion (Insulinitis), die zu einer T-Zell vermittelten Destruktion der β -Zellen führt. Zusätzlich produzieren die ebenfalls aktivierten B-Zellen verschiedene Autoantikörper (AK) gegen Inselzellbestandteile wie die cytoplasmatischen Inselzell-AK (ICA), Anti-Glutaminsäure Decarboxylase-AK (GADA), Insulin-Auto-AK (IAA) und Antikörper gegen die Tyrosinphosphatase 2 (Anti-IA-2-AK). Die autoimmun bedingte Destruktion der β -Zellen führt zu absolutem Insulinmangel und Insulinpflichtigkeit, die ab einer Zerstörung von circa 80 – 90% der β -Zellen auftreten. Im Vergleich zum schleichenden Beginn des Typ 2 Diabetes tritt der DM1 oft rasch in Erscheinung und manifestiert sich meist im Kindesalter und der Adoleszenz. (75)

1.5 Pathogenese des Diabetes Typ 2

Vergleicht man den Diabetes bei CF mit dem Typ 2 Diabetes (DM2), fallen zuerst die Unterschiede im Erscheinungsbild der Patienten auf. Bei Patienten mit DM2 handelt es sich vor allem um ältere, meist adipöse Menschen im Zusammenhang mit dem metabolischen Syndrom, während der CFRD auch bei jungen, meist untergewichtigen Patienten auftritt.

Pathophysiologisch geht man beim DM2 von einer Insulinresistenz mit zunehmendem β -Zell-Verlust und β -Zell-Dysfunktion aus, wobei initial vor allem die frühe Phase der Insulinsekretion gestört ist. Klinisch wird die Diagnose meist erst gestellt, wenn bereits 40% bis 60% der β -Zellen zugrunde gegangen sind. (76) Ab diesem Zeitpunkt kann die vorhandene Insulinresistenz durch vermehrte Insulinproduktion nicht mehr kompensiert werden und es kommt zur Manifestation des Diabetes. Somit ist auch beim DM2 die β -Zell Funktion ein entscheidender Punkt. (77, 78) Der Verlust der β -Zellen könnte einerseits durch eine genetisch bedingte, erhöhte Sensibilität bereits gegen moderat erhöhte Glukosewerte und veränderte Fettsäuremuster im Sinne einer Gluko-Lipotoxizität erklärt werden. (79) Dies könnte zu vermehrter Apoptose der Zellen führen. Außerdem konnten bei 90% der DM2 Patienten cytotoxische Amyloidablagerungen in den β -Zellen gefunden werden, deren Ausprägung mit der Dauer und Schwere der Erkrankung korreliert. (80, 81)

Die bestehende Insulinresistenz führt zusätzlich zur Erschöpfung der β -Zellen. Nach kontinuierlicher Überstimulation und vermehrter Sekretion kommt es schließlich zum Ausfall der Zellen. (82, 83) Diese Schädigung ist außerdem durch erhöhte Nüchternspiegel des aktiven Proinsulin im peripheren Blut gekennzeichnet. Daher wird das intakte Proinsulin als weiterer diagnostischer Marker einer Insulinresistenz und auch der β -Zell Dysfunktion bei DM2 Patienten diskutiert. Zudem gilt es als unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor. (84) Im Gegensatz zu klassischen Markern wie dem HbA_{1c} oder den Glukosespiegeln gibt das intakte Proinsulin direkten Einblick in die zugrunde liegende Pathophysiologie des DM2. (85) Wie beschrieben kommt es schon in der prädiabetischen Phase zu steigender Insulinresistenz, die einen pathologisch erhöhten Insulinbedarf nach sich zieht. Bevor durch Niedergang der β -Zellen ein absoluter Insulinmangel entsteht, versuchen die β -Zellen durch vermehrte Insulinsekretion diesem gesteigerten Bedarf

nachzukommen. Allerdings führt dies zu einer qualitativen Sekretionsstörung. Durch Erschöpfung der Spaltungsenzyme wird das Proinsulin in den Speichervesikeln der β -Zellen unzureichend zu Insulin und C-Peptid prozessiert und es wird zunehmend intaktes Proinsulin in die Blutbahn ausgeschüttet. Ab einem Wert des intakten Proinsulins von über 10 pmol/l im nüchternen Zustand kann man von einer Insulinresistenz ausgehen. Dieser Wert wurde im Vergleich mit dem ivGTT und dem HOMA Model etabliert (siehe 2.4.3). (86)

1.6 Störung des Inkretineffekts bei DM 2 und CFRD

Ein weiterer Pathomechanismus in der Entstehung des DM2 ist die Störung in der enteropankreatischen Achse. Schon lange ist bekannt, dass bei oraler im Gegensatz zur intravenösen Gabe von gleichen Mengen Glukose eine verstärkte Insulinantwort zu finden ist. (87) Dieser sogenannte Inkretineffekt ist für bis zu 70% der Insulinausschüttung verantwortlich und wird durch die beiden Darmhormone glucagon-like peptide-1 (GLP-1) und glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP) vermittelt. (88) Dabei spielt GLP-1, das von L-Zellen im Dünndarm nahrungsabhängig sezerniert wird, die größte Rolle. (89) In seinen aktiven Formen GLP-1(7–37) und GLP-1(7–36 Amid) stimuliert es die β -Zellen, wird aber rasch mit einer Halbwertszeit von 1 - 2 min durch die ubiquitäre Dipeptidyl Peptidase IV (DPPIV) zu inaktiven Formen abgebaut. (90, 91) In der Literatur werden Nüchternspiegel des aktiven GLP-1 mit 5 – 10 pmol/l und postprandiale Spiegel mit 15 – 50 pmol/l angegeben. (92) Die direkte Wirkung von GLP-1 führt nicht nur zur Insulinsekretion, sondern in Tiermodellen auch zu einer Steigerung der Insulinbiosynthese und der Insulingentranskription. (93) Desweiteren finden sich auch Langzeitwirkungen des GLP-1 wie β -Zell-Proliferation, Anregung der Inselneogenese und Hemmung der β -Zell-Apoptose. (94) Der Inkretineffekt in Patienten mit DM2 ist um bis zu 50% vermindert und hat somit relevanten Anteil an der Pathogenese. (95, 96)

Auch bei CF Patienten wurde die enteropankreatische Achse getestet. Eine Studie von Lanng et al. von 1993 bewertete die GLP-1 Sekretion und somit den Inkretineffekt bei CF Patienten als intakt. (97) Allerdings wurde in dieser Studie ein

Radioimmunassay (RIA) benutzt, der das GLP-1(7–36 Amid) mit einem unspezifischen Antiserum (Nr. 2135) detektiert. Dieses Antiserum bindet gleich stark an alle Peptide, die diese GLP-1 Sequenz beinhalten, gleichgültig ob NH₂- oder COOH-terminal noch Anhänge zu finden sind. (98) Somit wurden auch die Vorstufen GLP-1(1–37) und GLP-1(1–36 Amid), genauso wie das Major Proglucagon Fragment (MPF) aus dem Pankreas gebunden. Diese Problematik entsteht aus der Bildung all dieser Peptide durch posttranslationale Prozessierung aus Proglucagon im Darm bzw. Pankreas. In den α -Zellen des Pankreas wird aus Proglucagon als wichtigstes Peptid das Glukagon, sowie das glicentin-related pancreatic polypeptide (GRPP) und das MPF, prozessiert. In den L-Zellen des Darms entstehen aus Proglucagon das GLP-1, das GLP-2 und das Glicentin. (99) Wie in Abbildung 3 zu sehen ist, enthält das MPF die Sequenz des GLP-1(7–36 Amid) und wurde deshalb mit dem beschriebenen Antiserum ebenfalls detektiert. Somit wurden nicht nur die biologisch intakten Formen GLP-1(7–37) und GLP-1(7–36 Amid), die zur Insulinsekretion führen, bestimmt. Eventuell kam es zusätzlich zu einer Kreuzreaktivität mit den Metaboliten GLP-1(9-36 Amid) und GLP-1(9-37). Dies ist von Bedeutung, da die aktiven Formen des GLP-1 nur 10 – 20 % der Gesamtmenge an GLP-1 Produkten im Plasma ausmachen (92) und die genannten Metabolite eventuell sogar als Antagonisten fungieren. (91) Somit ist nicht klar belegt, ob die enteropankreatische Achse bei CF normal ist.

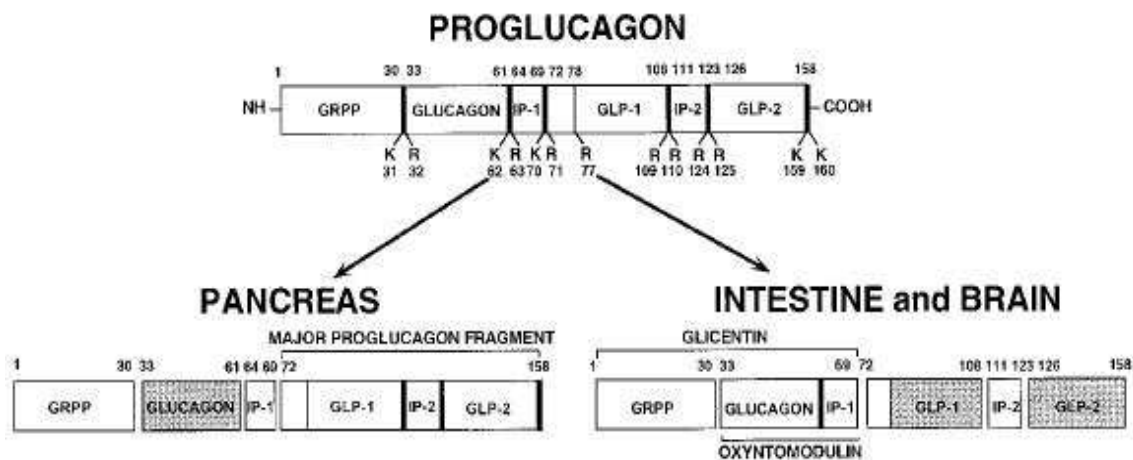


Abb. 3: Alternative posttranslationale Prozessierung von Proglucagon in Pankreas, Darm und Gehirn; aus Kieffer T. J. und Habener J. F. (99)

1.7 Fragestellung der Arbeit

Mit der zunehmenden Lebenserwartung der CF Patienten steigt auch die Prävalenz des CFRD und seiner Vorstufen und wirft die Frage nach adäquatem Screening, valider Diagnose und der Pathophysiologie dieser Komorbidität auf. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollten folgende Fragen beantwortet werden:

1. Wie hoch ist die Prävalenz von Glukosestoffwechselstörungen in einer unselektionierten Gruppe von erwachsenen CF-Patienten? Erscheint dementsprechend ein jährliches Screening notwendig und was wäre die dafür geeignete Methode?
2. Welche Pathophysiologie liegt der Entstehung eines CFRD und seiner Vorstufen zugrunde?
 - 2.1. Kommt es zu einer Störung in den verschiedenen Phasen der Insulinsekretion?
 - 2.2. Liegt bei CF Patienten mit gestörter Glukosetoleranz eine Insulinresistenz vor?
 - 2.3. Ist bei CF Patienten eine adäquate GLP-1 Sekretion und somit eine intakte enteropankreatische Achse vorhanden?
3. Besteht ein Zusammenhang zwischen veränderter Glukosetoleranz und dem Ausmaß der Lungenbeteiligung bzw. dem Ernährungszustand der Patienten mit CF?

2. Patienten, Material & Methoden

2.1 Rekrutierung und Einschlusskriterien der Probanden

34 CF Patienten, zehn gesunde Kontrollpersonen und neun Patienten mit Typ 2 Diabetes wurden im Rahmen der LMU Diabetes Studie untersucht.

Zum Einschluss in die Studie musste Volljährigkeit oder das Einverständnis der Eltern vorliegen, sowie eine schriftliche Einverständniserklärung nach erfolgter Aufklärung. Die Studie wurde genehmigt von der Ethikkommission der LMU München.

Alle Probanden hatten normale Serumkreatininwerte ($<1,2$ mg/dl), eine gestörte Leberfunktion mit bis zu vierfach erhöhter GPT und/oder bis zu dreifach erhöhter γ GT fand sich bei fünf CF Patienten und drei Patienten mit DM2.

2.1.1 Cystische Fibrose Patienten

Die Rekrutierung der CF Patienten erfolgte in Zusammenarbeit mit der Mukoviszidose-Ambulanz der Medizinischen Klinik Innenstadt der LMU.

Bei allen Patienten war die Mukoviszidose durch einen Schweißtest und/oder Gentest gesichert. Die Art der Mutation der einzelnen Patienten wurde der Krankenakte entnommen.

Die Lungenfunktion wurde mit Hilfe der zuletzt durchgeführten Spirometrie beurteilt. Hierfür wurden die Werte der Einsekundenkapazität (FEV1) herangezogen, die auch in der Klinik zur Verlaufskontrollen vor allem der obstruktiven Veränderungen bei CF dient.

Patienten, die aktuell mit Pankreasenzym substituiert wurden, wurden als exokrin-pankreasinsuffizient eingestuft.

Ausgeschlossen wurden Patienten mit einer pulmonalen Exazerbation in den vorangegangenen zwei Wochen, sowie einer Therapie mit oralen Glukokortikoiden oder Insulin bzw. der Diagnose eines manifesten Diabetes mellitus.

Sieben CF Patienten zeigten in der Vorgeschichte eine gestörte Glukosetoleranz, bei einer Patientin war ein Gestationsdiabetes während einer vorausgegangenen Schwangerschaft bekannt.

2.1.2 Gesunde Kontrollpersonen

Als Kontrollpersonen dienten gesunde, im Alter den Patienten gleichende Personen, bei denen bis dato keine Stoffwechselstörung bekannt war. Zusätzlich sollte kein bekannter Diabetes in der Familie vorliegen. Keine der Kontrollpersonen nahm Medikamente außer L-Thyroxin oder orale Kontrazeptiva ein.

Eine Kontrollperson musste aufgrund eines erhöhten Nüchtern glukosewertes aus der Studie ausgeschlossen werden.

2.1.3 Patienten mit Diabetes Typ 2

In die Gruppe der Typ 2 Diabetiker kamen Patienten, die mit Verdacht auf diese Diagnose in der Diabetesambulanz der Medizinischen Klinik Innenstadt der LMU vorstellig wurden. Im Rahmen der Diagnostik wurde ein oGTT zur Bestätigung durchgeführt und die Patienten zur Teilnahme an der Studie gebeten.

Als weitere Diagnosen fanden sich bei sechs der Patienten eine arterielle Hypertonie, bei fünf eine Makroangiopathie im Sinne einer koronaren Herzerkrankung, Zustand nach Myokardinfarkt oder Apoplex, sowie bei fünf Patienten eine Hyperlipidämie.

2.2 Studiendesign

2.2.1 Durchführung des oralen Glucosetoleranztests (oGTT)

Ein oGTT wurde standardisiert bei allen Patienten unter gleichen Bedingungen durchgeführt.

Der Versuchsbeginn wurde auf 8:00 Uhr festgelegt. Die Patienten waren angehalten, ab 22:00 Uhr des Vortags weder Nahrung noch Flüssigkeit zu sich zu nehmen (10-stündige Karenz). Die Nüchternheit wurde anamnestisch geprüft.

Zur Blutentnahme wurde eine Venenverweilkanüle in eine Cubitalvene gelegt und mit langsam tropfender, physiologischer Kochsalzlösung offengehalten und nach jeder Blutentnahme gespült.

Im nüchternen Zustand erfolgte eine Blutabnahme für die Bestimmung von Laborparametern wie Kreatinin und den Leberenzymen.

Die Glukosebelastung mit 75 g wurde dem Patienten in Form eines Saftes (Accu-Check Dextro O.G-T.) dargereicht und innerhalb von 5 min aufgenommen.

Der Test wurde bei 26 CF Patienten und acht gesunden Kontrollpersonen über 180 Minuten und bei acht CF Patienten, zwei Kontrollpersonen und allen Patienten mit DM2 über 120 Minuten durchgeführt. Das Studienprotokoll beinhaltete Blutentnahmen zur Plasmagewinnung zu den Zeitpunkten 0, 30, 60, 120 Minuten im oGTT über zwei Stunden und zusätzlich zu den Zeiten 15, 90, 150 und 180 Minuten im oGTT über drei Stunden.

Der Blutzucker Verlauf während eines oGTT bei einer gesunden Person ist in Abbildung 4 dargestellt.

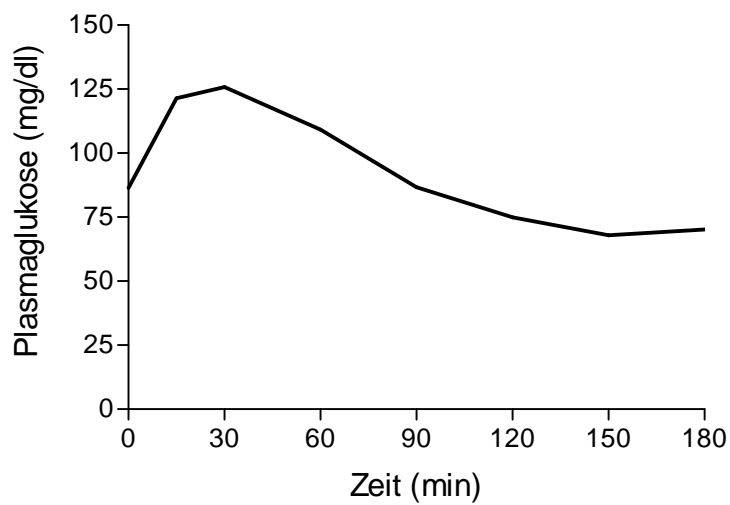


Abb. 4: Blutzuckerlauf während eines oGTT bei einer gesunden Person

2.2.2 Blutentnahme

Das Plasma zur Bestimmung von Glukose, Insulin, intaktem Proinsulin und aktivem GLP-1 wurde in Monovetten mit Zusatz von EDTA abgenommen. Um den Abbau von GLP-1 zu verhindern, wurde sofort 300 µl Aprotinin und 75µl DDP IV-Inhibitor zu den Proben pipettiert und das Blut sofort aus Eis gestellt. Die Proben wurden innerhalb einer halben Stunde abzentrifugiert (acht Minuten bei 490 g), aliquotiert und bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C eingefroren.

2.2.3 Materialien und Gerätschaften

Die benutzten Materialien und Geräte sind in Tabelle 4 bzw. 5 aufgelistet.

Material	Hersteller
Vasofix Safety Kanüle, 20G	BRAUN, Melsungen
Accu-Check Dextro O.G-T. Saft 75g Glukose/300 ml	Roche GmbH, Mannheim
Aprotinin, 7700 KIU/ml, Bovine Lung Solution	Calbiochem-Merck, Darmstadt
DDP IV-Inhibitor	LINCO Research, St. Charles, MO
Human Insulin ELISA Kit	LINCO Research, St. Charles, MO (Cat. # EZHI-14K)
Intact Human Proinsulin ELISA Kit	LINCO Research, St. Charles, MO (Cat. # EZHIPI-17K)
Glucagon-like-peptide-1 (active) ELISA Kit	LINCO Research, St. Charles, MO (Cat. # EGLP-35K)
HbA1c Assay	Roche GmbH, Mannheim

Tab. 4: In der Studie benutzte Materialien

Gerät	Hersteller
SUPER GL ambulance Blutzuckermessgerät	Dr. Müller Gerätebau GmbH, Freital
TECAN Spectra ELISA Reader	SLT Labinstruments Deutschland GmbH, Achterwehr
Wallac Victor3 TM 1420-012 Multilabel Counter	Perkin Elmer, Rodgau

Tab. 5: In der Studie benutzte Gerätschaften

2.3 Laboruntersuchungen

2.3.1 Routinelabor

Routineparameter wurden im diagnostischen Labor der Medizinischen Klinik Innenstadt der LMU bestimmt.

Der Blutzuckerwert aus dem Plasma wurde nach der Glukooxidase-Methode gemessen.

Der HbA_{1c} Wert dient als Langzeitparameter zur Bewertung der Blutzuckerstoffwechsellage des Patienten in den letzten acht Wochen. Bei häufig erhöhten Blutglukosewerten kommt es zu einer Glykosylierung des Hämoglobins und damit zu einem erhöhten HbA_{1c} Wert. Die Normalwerte des Assays liegen bei 3,5 – 6,0%.

Zur Beurteilung der Aktivität möglicher entzündlicher Prozesse wurde das high sensitive C-reaktive-Protein (hsCRP) bestimmt. Normale Werte liegen hier bei unter 0,5 mg/dl.

2.3.2 ELISA

Für die quantitative Bestimmung von Insulin, intaktem Proinsulin und aktivem GLP-1 wurden Immunoassays vom Typ des Double-Antibody-Sandwich-ELISA verwendet.

Dieses immunologische Nachweisverfahren basiert auf der Verwendung zweier monoklonaler Antikörper (AK), die beide spezifisch an das zu bestimmende Antigen (AG) binden. Dabei ist wichtig, dass die AK an verschiedene Stellen des AG binden, um sich nicht gegenseitig zu behindern.

Der erste AK ist fest auf einer 96-Well Mikrotiterplatte gebunden, in deren Wells die Proben pipettiert werden. Während einer Inkubationszeit kann das AG an diesen Coating AK binden. Danach wird durch Waschen überschüssiges Material entfernt, so dass nur das fest am AK heftende AG auf der Platte verbleibt. Im nächsten Schritt wird der zweite AK zugegeben, der ebenfalls mit dem AG bindet. Somit ist das AG zwischen zwei AK gelegen, was den Namen „Sandwich“-ELISA erklärt. Dieser sekundäre, sogenannte Detektionsantikörper ist mit einem Assay-spezifischen Enzym gekoppelt, das den Umsatz eines passenden Substrats katalysiert. Dieses

wird nach erneutem Waschen als Nächstes hinzugegeben. Das so entstandene Produkt kann je nach Substrat photometrisch, durch Lumineszenz oder Fluoreszenz bestimmt werden. Die gemessenen Werte sind somit proportional zum gebundenen AG, also zur bestimmenden Konzentration in der Probe. Durch Erstellen einer Standardkurve aus bekannten Proben kann die Konzentration direkt berechnet werden.

Zur Bestimmung von Insulin und Proinsulin wurde frisches oder höchstens zum zweiten Mal aufgetautes Plasma benutzt, für GLP-1 ausschließlich frisch aufgetaute Aliquots.

2.3.2.1 Insulin-ELISA

Zur Bestimmung von Insulin wurde ein ELISA-Kit für humanes Insulin benutzt. Im Kit enthalten ist eine mit monoklonalem Maus-anti-Human-Insulin Antikörpern beschichtete Platte, als Detektionsantikörper ein weiterer monoklonaler Maus-anti-Human-Insulin Antikörper, der biotyniliert ist. An dieses Biotin kann eine mit Streptavidin-konjugierte Merrettichperoxidase (in der Enzymlösung) binden. Da Biotin mehrer Bindungsstellen für Streptavidin besitzt und somit mehr Enzym vorhanden ist, führt dieser Zwischenschritt zu einer Signalverstärkung. Zur Messung der Enzymaktivität wird das Substrat 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine hinzugegeben und die Absorption bei 450 nm photometrisch gemessen. Zusätzlich im Kit enthalten sind Waschpufferkonzentrat, Assaypuffer, Matrixlösung, Qualitätskontrollen, die Standards 2, 5, 10, 20, 50, 100 und 200 $\mu\text{U/ml}$ für Insulin und eine Stopplösung.

Der Assay wurde laut Anleitung durchgeführt. Das Plasma wurde bei Raumtemperatur ca. 30 Minuten aufgetaut und dann auf Eis gestellt. Der Waschpuffer wurde durch zehnfache Verdünnung des Konzentrats hergestellt und anschließend 300 μl in jedes Well der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach 5 Minuten Inkubationszeit wurde der Waschpuffer dekantiert und sofort 20 μl Assaypuffer in jedes Well für Leerwert und Patientenplasma hinzugegeben, sowie 20 μl Matrixlösung in jedes Well für Leerwert, Standards und Qualitätskontrollen. Nun wurde je 20 μl der Standards mit steigender Konzentration, der Qualitätskontrollen und der Patientenplasma in die entsprechenden Wells pipettiert. Nachdem zusätzlich je 20 μl Detektionsantikörper in alle Wells gegeben wurde, wurde die

abgedeckte Platte eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubiert. Anschließend erfolgte dreimaliges Waschen der Platte mit je 300 µl Waschpuffer pro Well und nach Dekantieren der Flüssigkeit wurde in jedes Well 100 µl Enzymlösung gegeben. Die abgedeckte Platte wurde daraufhin 30 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubiert. Nach fünfmaligen Waschen der Platte mit je 300 µl Waschpuffer pro Well wurde 100 µl Substratlösung in jedes Well pipettiert und die abgedeckte Platte je nach entstehender Farbintensität für 8 – 10 Minuten auf dem Shaker inkubiert. Als letztes wurden 100 µl Stopplösung in jedes Well hinzugefügt und die Platte im Photometer bei 450 nm eingelesen.

Sensitivität: Der Assay erfasst Werte ab 2 µU/ml.

Spezifität: Für humanes Insulin 100%, keine Kreuzreaktivität für intaktes humanes Proinsulin und dessen größerem Zwischenprodukt Des(31,32)Human Proinsulin, aber mit dem kleineren Zwischenprodukt Des(64,65)Human Proinsulin (117%).

Intra- und Inter-Assay-Variation waren 4,6 - 7,0% bzw. 9,1 - 11,4% bei 5,96 – 10, 3 µU/ml.

2.3.2.2 Intaktes Proinsulin-ELISA

Proinsulin wurde mit einem ELISA-Kit für intaktes humanes Proinsulin bestimmt.

Coating-Antikörper ist ein polyklonaler Guinea-Schwein-anti-humanes-Insulin Antikörper, Detektionsantikörper ein monoklonaler Maus-Antikörper spezifisch für die Sequenz, die B-Kette und C-Peptid im Proinsulin verbindet. Die Messung der Absorption erfolgt bei 440 nm korrigiert von der Absorption bei 590 nm (Meerrettichperoxidase mit 3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine als Substrat). Zusätzlich im Kit enthalten sind Waschpufferkonzentrat, Assaypuffer, Matrixlösung, Qualitätskontrollen, die Standards 0,5, 1, 2, 5, 10, 20, 50 und 100 pM für Proinsulin und eine Stopplösung.

Der Ablauf gleicht dem des Insulin-Assays und wurde ebenfalls laut Anleitung durchgeführt. Das Plasma wurde bei Raumtemperatur ca. 30 Minuten aufgetaut und dann auf Eis gestellt. Der Waschpuffer wurde durch zehnfache Verdünnung des Konzentrats hergestellt und anschließend die Mikrotiterplatte dreimal mit je 300 µl Waschpuffer pro Well gewaschen. Daraufhin wurde sofort 50 µl Assaypuffer in jedes Well für Leerwert und Patientenplasma hinzugegeben, sowie 50 µl Matrixlösung in

jedes Well für Leerwert, Standards und Qualitätskontrollen. Nun wurde je 50 µl der Standards mit steigender Konzentration, der Qualitätskontrollen und der Patientenplasma in die entsprechenden Wells pipettiert. Die abgedeckte Platte wurde eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubiert. Nach dreimaligen Waschen der Platte mit je 300 µl Waschpuffer pro Well wurde 100 µl Detektionsantikörper in alle Wells gegeben und die abgedeckte Platte eine Stunde bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubiert. Anschließend erfolgte dreimaliges Waschen der Platte mit je 300 µl Waschpuffer pro Well und nach Dekantieren der Flüssigkeit wurde in jedes Well 100 µl Enzymlösung gegeben. Die abgedeckte Platte wurde daraufhin 30 Minuten bei Raumtemperatur auf einem Schüttler inkubiert. Nach sechsmaligen Waschen der Platte mit je 300 µl Waschpuffer pro Well wurde 100 µl Substratlösung in jedes Well pipettiert und die abgedeckte Platte je nach Farbintensität für 15 – 25 Minuten auf dem Shaker inkubiert. Als letztes wurden 100 µl Stopplösung in jedes Well hinzugefügt und die Platte im Photometer innerhalb von 5 Minuten eingelesen.

Sensitivität: Der Assay erfasst Werte ab 0,1 pM.

Spezifität: Für humanes intaktes Proinsulin 100%, keine Kreuzreaktivität mit humanen Insulin bei Werten bis zu 10nM, keine Kreuzreaktivität mit dem größerem Zwischenprodukt Des(31,32)Human Proinsulin, aber geringe mit dem kleineren Zwischenprodukt Des(64,65)Human Proinsulin (36%); Anwesenheit von Insulin (bis zu 208 µU/ml) stören die Ergebnisse das Assay nicht.

Intra- und Inter-Assay-Variation waren 0,4 – 7,7% bzw. 3,3 – 9,0% bei 1,41 – 29,1 pM/l.

2.3.2.3 Aktives GLP-1-ELISA

Die Bestimmung von aktivem GLP-1 erfolgt mit einem Chemolumineszenz-ELISA-Kit für aktives GLP-1. Die Platte ist beschichtet mit einem monoklonalen Antikörper spezifisch für das N-terminale Ende des aktiven GLP-1, so dass nur aktives GLP-1 gemessen wird. Das Detektionskonjugat enthält ein Anti-GLP1 alkalisches Phosphatase-Konjugat, das als zweiter Antikörper fungiert. Diese Phosphatase baut das Substrat 4-Methylumbelliferyl-Phosphat zum fluoreszierenden Umbelliferon um. Die Fluoreszenz wird bei Anregung/Emission von 355 nm/460 nm gemessen.

Zusätzlich im Kit enthalten sind Waschpufferkonzentrat, Assaypuffer, Qualitätskontrollen, die Standards 2, 5, 10, 20, 50 und 100 pM für aktives GLP-1, Substrat Diluent und eine Stopplösung.

Das Kit wurde bis auf eine Änderung laut Anleitung verwendet. Das Plasma wurde bei Raumtemperatur ca. 30 Minuten aufgetaut und dann auf Eis gestellt. Der Waschpuffer wurde durch zehnfache Verdünnung des Konzentrats hergestellt und anschließend in jedes Well der Mikrotiterplatte 300 µl pipettiert und die Platte 5 Minuten inkubiert. Daraufhin wurde die Flüssigkeit dekantiert und sofort 200 µl Assaypuffer in jedes Well für Leerwert und 100 µl Assaypuffer in die restlichen Wells gegeben. Abweichend vom Protokoll wurde die Platte nun zur Verminderung der unspezifischen Bindungsstellen 30 Minuten inkubiert. Nun wurde je 100 µl der Standards mit steigender Konzentration, der Qualitätskontrollen und der Patientenplasma in die entsprechenden Wells pipettiert. Die abgedeckte Platte wurde über Nacht bei 4°C auf einem Schüttler inkubiert. Am nächsten Tag wurde die Platte fünfmal mit je 300 µl Waschpuffer pro Well gewaschen, wobei beim 4. Waschvorgang die Platte mit dem Waschpuffer 5 Minuten inkubiert wurde. Anschließend wurde 200 µl Detektionskonjugat in alle Wells gegeben und die abgedeckte Platte zwei Stunden bei Raumtemperatur auf einem Shaker inkubiert. Anschließend erfolgte dreimaliges Waschen der Platte mit je 300 µl Waschpuffer pro Well und nach Dekantieren der Flüssigkeit wurde in jedes Well 200 µl mit dem Substrat Diluent verdünntes Substrat gegeben. Die abgedeckte Platte wurde daraufhin 20 Minuten bei Raumtemperatur und im Dunkeln auf einem Shaker inkubiert. Als letztes wurden 50 µl Stopplösung in jedes Well hinzugefügt und die Platte im Fluoreszenz-Reader innerhalb von 10 Minuten gemessen.

Sensitivität: Der Assay erfasst Werte ab 2 pM.

Spezifität: Für aktives GLP-1 (7-36 Amid) und GLP-1 (7-37 Amid) 100%, keine Kreuzreaktion mit anderen Formen von GLP-1 (1-36 Amid, 1-37 Amid, 9-36 Amid, 9-37 Amid) oder GLP-2, sowie Glukagon.

Intra- und Inter-Assay-Variation waren 6 – 9% bzw. <1 – 13% bei 4 - 76 pM/l.

2.4 Berechnungen und Statistik

2.4.1 Body-Mass-Index (BMI)

Größe und aktuelles Gewicht der Patienten wurden vor Beginn des oGTT erfasst. Aus diesen Angaben wurde der Body-Mass-Index nach folgender Formel berechnet:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht (kg)} / \text{Körpergröße}^2 \text{ (m}^2\text{)}$$

Laut WHO gilt ein BMI von 18,5 bis 25 kg/m² als normalgewichtig. Bei darüber liegenden Werten spricht man von Übergewicht und ab einem BMI von über 30 kg/m² von behandlungsbedürftiger Adipositas. Werte unter 18 kg/m² sind als Untergewicht zu sehen.

2.4.2 Umrechnungen

Plasmaglukose- und Insulinwerte wurden aus den gängigen Einheiten wie folgt in die SI-Einheiten umgerechnet: (100)

$$\text{Glukose (mmol/l)} = 0,05551 \times \text{Glukose (mg/dl)}$$

$$\text{Insulin (pmol/l)} = 7,175 \times \text{Insulin (}\mu\text{U/ml)}$$

2.4.3 Indizes zur Bewertung der β -Zell-Funktion und Insulinresistenz

Zur genauen Evaluation der β -Zell Funktion und auch der Insulinresistenz wurden in dieser Arbeit verschiedene Indizes berechnet. Diese stellen den Zusammenhang zwischen Blutzucker- und Insulinwerten her.

Als Goldstandard zur Beurteilung der Insulinsekretion und –resistenz gelten der hyper- und euglykämische Glukoseclampversuch, sowie der intravenöse Glukosetoleranztest (ivGTT). Jedoch sind diese Tests sehr aufwendig in der Durchführung und belastend durch die häufigen Blutentnahmen in kurzen Zeitabständen. Außerdem wird auch kein physiologischer Zustand simuliert. (101) Aus diesem Grund wurde eine Reihe von Indizes etabliert, die helfen sollen diese Versuche durch einfache Messungen und Berechnungen zu ersetzen. All diese Indizes werden dabei aus Nüchtern- und im oGTT gewonnenen Werten berechnet.

Das bekannteste und häufigste genutzte Modell zur Bewertung der basalen β -Zell-Funktion und der basalen Insulinresistenz ist das Homeostatic Model Assessment (HOMA). Es wurde schon 1985 von Matthews et al. (102) etabliert und wird seitdem vor allem für größere epidemiologische Studien aufgrund seiner Einfachheit genutzt. In dieses Modell gehen nur die Werte im nüchternen Zustand ein. Man kann von einem Index sprechen, der den Steady-State zwischen Glukose und Insulin bewertet. Die Beziehung der Glukose und des Insulins in diesem basalen Zustand spiegelt die Balance zwischen Glukoneogenese der Leber und Insulinsekretion wieder, die durch einen Feedback Mechanismus zwischen Leber und β -Zellen aufrecht erhalten wird. (103) Sowohl HOMA-%B als auch HOMA-IR korrelieren sehr gut mit dem euglykämischen Clampversuch. Der HOMA-%B nach Matthews et al. (102-104) wurde wie folgt berechnet:

$$\text{HOMA-\%B} = (20 \times \text{Insulin}_{0\text{min}} (\mu\text{U/ml})) / (\text{Glucose}_{0\text{min}} (\text{mmol/l}) - 3,5)$$

Eine normale β -Zell Funktion entspricht 100%.

Die Formel des HOMA-IR (102, 103) lautet:

$$\text{HOMA-IR} = (\text{Insulin}_{0\text{min}} (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glucose}_{0\text{min}} (\text{mg/dl})) / 405$$

Normale Insulinsensitivität liegt bei einem IR von 1 vor. Allerdings sollten beide HOMA Werte in Zusammenschau beurteilt werden, da zum Beispiel eine erhöhte Insulinsensitivität mit einem IR < 1 eine vermeintlich verminderte β -Zell Funktion unter 100% simulieren kann.

Andere, sogenannte dynamische Indizes bewerten die Insulinsekretion und -resistenz nach einer Glukosebelastung. Ein solcher Index zur Beurteilung der β -Zell-Funktion ist der Insulinogenic Index. Er setzt die Differenzen zwischen Insulin- bzw. Glukosewerten bei 30 und 0 Minuten ins Verhältnis. Man gewinnt einen Eindruck über das dynamische Verhältnis von Glukose und Insulin nach Belastung. Probanden mit einer normalen Insulinsekretionsleistung und demzufolge einem mäßigen Glukoseanstieg im oGTT haben eine größeren Insulinogenic Index als Patienten mit einer Sekretionsstörung und folglich höheren Glukosewerten. Der Insulinogenic Index wurde wie folgt berechnet:

Insulinogenic Index =

$$\frac{(\text{Insulin}_{30\text{min}} (\mu\text{U/ml/l}) - \text{Insulin}_{0\text{min}} (\mu\text{U/ml/l}))}{(\text{Glucose}_{30\text{min}} (\text{mmol/l}) - \text{Glucose}_{0\text{min}} (\text{mmol/l}))}$$

Noch eine genauere Formel zur Berechnung der ersten Phase der Insulinsekretion liefern Stumvoll et al. (105) Auch der Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index bezieht die Nüchtern- und 30 Minuten-Werte mit ein. Eine gute Insulinsekretion bei normalem Glukoseanstieg im oGTT führt zu einem großen Indexwert, während Insulinmangel und hohe Glukosewerte einen kleinen Index nach sich ziehen. Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index (105) wurde nach folgender Formel berechnet:

Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index =

$$1283 + 1,829 \times \text{Insulin}_{30\text{min}} (\text{pmol/l}) - 138,7 \times \text{Glucose}_{30\text{min}} (\text{mmol/l}) + 3,772 \times \text{Insulin}_{0\text{min}} (\text{pmol/l})$$

Sowohl der Insulinogenic Index als auch Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index wurden kürzlich von Hammana et al. für CF Patienten im Vergleich mit dem ivGTT evaluiert und zeigten eine gute Korrelation mit diesem. (106)

Auch zur Bewertung der Insulinresistenz nach Glukosebelastung kann ein Index von Stumvoll et al. herangezogen werden. (107) In den Stumvoll's Insulin Sensivity Index (ISI_{stumvoll}) gehen neben den 120 Minutenwerten für Insulin zusätzlich der BMI sowie das Alter ein. Ein erhöhter Zweistundenwerte im oGTT, Übergewicht und zunehmendes Alter führen zu einem erhöhten Wert dieses Resistenzindex. Laut einer weiteren Studie von Stumvoll et al. (105) korreliert die Formel besser mit dem Clampversuchen als das HOMA-Modell.

$$ISI_{\text{stumvoll}} = 0,222 - 0,00333 \times \text{BMI (kg/m}^2) - 0,0000779 \times \text{Insulin}_{120\text{min}} \text{ (pmol/l)} - 0,000422 \times \text{Alter (Jahre)}$$

Als weitere Formel zur Bewertung der Insulinresistenz im dynamischen Zustand wurde der Index nach Matsuda (ISI_{est}) (108) berechnet. Neben den basalen Glukose- und Insulinwerten verwendeten wir hier auch die 30, 60 und 120 Minuten Werte des oGTT. In der Originalpublikation gehen zusätzlich die Werte bei 90 Minuten ein, die wir aufgrund fehlender Messungen bei unseren Patienten weglassen mussten. Ein niedriger Wert dieses Index spricht für eine verminderte Insulinsensitivität und korreliert ebenfalls mit dem Clampversuch.

$$ISI_{\text{est}} = \frac{10000}{\sqrt{\text{Glucose}_{0\text{min}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) \times \text{Insulin}_{0\text{min}} \left(\frac{\text{mU}}{\text{l}}\right) \times \text{Glucose}_{\text{mean}} \left(\frac{\text{mg}}{\text{dl}}\right) \times \text{Insulin}_{\text{mean}} \left(\frac{\text{mU}}{\text{l}}\right)}}$$

Wobei gilt:

$$\text{Glucose}_{\text{mean}} = (\text{Glucose}_{0\text{min}} + \text{Glucose}_{30\text{min}} + \text{Glucose}_{60\text{min}} + \text{Glucose}_{120\text{min}}) / 4$$

$$\text{Insulin}_{\text{mean}} = (\text{Insulin}_{0\text{min}} + \text{Insulin}_{30\text{min}} + \text{Insulin}_{60\text{min}} + \text{Insulin}_{120\text{min}}) / 4$$

2.4.4 Proinsulin/Insulin-Ratio

Erhöhte Nüchternspiegel von Proinsulin können Hinweis auf eine Insulinresistenz geben. Zusätzlich kann auch das Verhältnis von Proinsulin zu Insulin im Nüchternzustand zur Bewertung einer β -Zelldysfunktion herangezogen werden.(85)

Die „Proinsulin/Insulin Ratio“ wurde wie folgt errechnet:

$$\text{Proinsulin/Insulin Ratio} = \text{Proinsulin}_{0\text{min}} \text{ (pmol/l)} / \text{Insulin}_{0\text{min}} \text{ (pmol/l)}$$

2.4.5 Area under the curve (AUC)

Die AUC wurde für Glukose, Insulin, intaktes Proinsulin und aktives GLP-1 sowohl für die frühe Phase im oGTT von 0 bis 30 Minuten ($\text{AUC}_{x0-30\text{min}}$), als auch für die späte Phase von 30 bis 120 Minuten ($\text{AUC}_{x30-120\text{min}}$) bestimmt. Zusätzlich wurde noch die AUC von 60 bis 120 Minuten ($\text{AUC}_{x60-120\text{min}}$) berechnet.

Es soll die Sekretionsleistung für die einzelnen Hormone sowie der daraus resultierende Verlauf der Glukose bewertet werden. Die Berechnung erfolgte nach der Trapezregel mit der Software GraphPad Prism, Version 3.00, GraphPad Software Incorporated.

2.4.6 Statistik

Für die statistische Auswertung wurden die Patienten mit CF laut Diagnosekriterien der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG; siehe Tabelle 2) unterteilt in normale Glukosetoleranz (engl.: normal glucose tolerance, NGT), gestörte Nüchternglukose (engl.: impaired fasting glucose, IFG), gestörte Glukosetoleranz (engl.: impaired fasting glucose, IGT) und Diabetes (CFRD).

Die Berechnung der Statistik erfolgte mit der Software GraphPad Prism, Version 3.00, GraphPad Software Incorporated. Bei mehr als zwei unabhängigen, nicht normalverteilten Stichproben wurde zum Vergleich ordinärer Variablen der Chi-

Quadrat-Test genutzt und für stetige Variablen der Kruskal-Wallis-Test. Beide Tests prüfen, ob mit einem vorher festgelegten Signifikanzniveau ein Unterschied zwischen diesen Gruppen zu finden ist. Zeigte sich beim Kruskal-Wallis-Test ein signifikantes Ergebnis, wurde zur Prüfung welche Gruppen sich unterschieden der Dunn's Multiple Comparison Test angeschlossen.

Es wurde mit dem Signifikanzniveau $p < 0,05$ geprüft.

Für den statistischen Vergleich wurden drei Gruppen gebildet:

Die erste Gruppe beinhaltete nur CF Patienten und somit wurden NGT, IFG, IGT und CFRD Patienten miteinander verglichen. In der zweiten Gruppe waren wieder die CF Patienten unterteilt nach Glukosetoleranzklassen zu finden und sie wurden hier zusätzlich mit den Kontrollen in Beziehung gesetzt. Die dritte Gruppe diente zum Vergleich von CFRD Patienten mit Kontrollen und DM2 Patienten.

Unter der Annahme dass es sich um zwei unabhängige, nicht normalverteilte Stichproben mit stetigen Variablen handelt, wurde zum Vergleich des Verhältnisses von Insulin zu Proinsulin (Insulin/Proinsulin) zwischen Kontrollpersonen und DM2 Patienten in Abbildung 15 der Mann-Whitney Test verwendet.

Korrelationen wurden mit dem Spearman's Test für nicht parametrische Daten berechnet. Als Signifikanzniveau wurde $p < 0,05$ gewählt. Angegeben wird zusätzlich das 95%-Konfidenzintervall.

Alle Werte in den Tabellen sind als Mittelwert plus/minus der Standardabweichung angegeben. Die Fehlerbalken der Graphen stellen den Standardfehler des Mittelwertes dar.

3. Ergebnisse

3.1 Demographische und klinische Daten

3.1.1 Charakteristika der Patienten mit Cystischer Fibrose

Unter den 34 Patienten mit Cystischer Fibrose fanden sich im oGTT Screening 17 Probanden mit einem normalen Glukosestoffwechsel (NGT), vier mit einer erhöhten Nüchternglukose (IFG), acht mit einer pathologischen Glukosetoleranz (IGT) und fünf mit Diabetes (CFRD). Von den sieben Patienten, bei denen bereits eine gestörte Glukosetoleranz bekannt war, wurden laut oGTT ein Patient in die NGT, einer in die IFG, zwei in die IGT und drei in die CFRD Gruppe eingeteilt. Bei der Patientin mit vorangegangenem Gestationsdiabetes wurde ein manifester Diabetes festgestellt.

Die Geschlechterverteilung in den vier CF Gruppen wies keine Unterschiede auf. Auch bei der Altersverteilung zeigte sich keine signifikante Differenz. Jedoch waren CFRD Patienten mit durchschnittlich $35,8 \pm 12$ Jahren deutlich älter als NGT Patienten mit $28,9 \pm 7,9$ Jahren.

CF Patienten mit Störungen im Glukosemetabolismus hatten mit Werten um die 20 kg/m^2 (IFG = $20,4 \pm 1,1$; IGT = $20,1 \pm 3,3$; CFRD = $20,4 \pm 2,2$) einen niedrigeren BMI als NGT Patienten mit durchschnittlich $21,5 \pm 2,3 \text{ kg/m}^2$ (Tab. 6).

Im Vergleich mit der Kontrollgruppe, deren Durchschnittsalter bei $28,3 \pm 11$ Jahren und der BMI bei $21,8 \pm 1,7 \text{ kg/m}^2$ lagen, ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zu den CF Patienten.

Der CRP Wert war mit Werten über 1 mg/dl bei allen CF Patienten, außer bei den NGT Patienten, erhöht. NGT Patienten hatten mit den Kontrollpersonen vergleichbare Werte. IGT Patienten wiesen die höchsten Spiegel auf, gefolgt von den IFG Patienten. Doch zeigten sich die Unterschiede zwischen den drei Gruppen mit gestörter Glukosetoleranz als marginal (Tab. 6).

Die Werte der FEV1 ließen den Trend erkennen, dass mit zunehmender Glukoseintoleranz eine Verschlechterung der Lungenfunktion einherging. Lag die FEV1 bei NGT Patienten bei durchschnittlich $2,9 \pm 1,0 \text{ l}$, waren es für IGT und CFRD Patienten nur noch $1,8 \pm 0,9 \text{ l}$ bzw. $1,9 \pm 0,9 \text{ l}$.

Eine Korrelation dieser vier demografischen Daten (Alter, BMI, CRP, FEV1) mit den Nüchternglukosewerten sowie mit den Zweistundenglukosewerten im oGTT zeigte

keinen signifikanten Zusammenhang. Allerdings waren Korrelationen dieser Werte mit dem Maximalglukosewert während des oGTT signifikant. Je höher dieser maximale Glukosewert gemessen wurde, desto schlechter war die FEV1 ($r_s = -0,5$; KI = -0,7 bis -0,2; $p < 0,002$) bzw. desto höher lag der CRP-Wert ($r_s = 0,5$; KI = 0,2 bis 0,7; $p < 0,004$) der Patienten. Auch das Alter korrelierte direkt mit dem Glukosemaximalwert ($r_s = 0,4$; KI = 0,02 bis 0,6; $p < 0,04$).

	CF gesamt	NGT	IFG	IGT	CFRD
Geschlecht: m/w	19 / 15	10 / 7	3 / 1	4 / 4	2 / 3
Alter (Jahre)	30,2 ± 8,5	28,9 ± 7,9	29,8 ± 9,1	29,9 ± 7,7	35,8 ± 12
BMI (kg/m ²)	20,9 ± 2,5	21,5 ± 2,3	20,4 ± 1,1	20,1 ± 3,3	20,4 ± 2,2
CRP (mg/dl)	0,81 ± 1,2	0,28 ± 0,2	1,25 ± 1,1	1,54 ± 1,9	1,12 ± 0,7
exokrin pankreasinsuffizient*	29 (85%)	14 (82%)	4 (100%)	7 (88%)	4 (80%)
FEV1 (l)	2,4 ± 1,0	2,9 ± 1,0	2,1 ± 1,2	1,8 ± 0,9	1,9 ± 0,9

Tab. 6: Demografische Daten der CF Patienten und Analyse der CRP und FEV1 Werte in den verschiedenen Glukosetoleranzgruppen

*Alle Patienten mit exokriner Pankreasinsuffizienz waren suffizient substituiert mit Pankreasenzympräparaten

Es wurde zusätzlich die Verteilung der Mutationen auf die vier Glukosetoleranzgruppen analysiert. Dazu wurden die Patienten aufgeteilt in $\Delta F508$ Homozygote, $\Delta F508$ Heterozygote, keine $\Delta F508$ Mutation und nicht bekannte Mutation. Mit über 50% war $\Delta F508$ Homozygotie die häufigste Krankheitsursache gefolgt von $\Delta F508$ Heterozygotie mit 24%. Andere Mutationen waren nur bei 9% der Patienten vorhanden. Signifikante Unterschiede in der Glukosetoleranz dieser Gruppen waren nicht zu finden (genaue Verteilung siehe Tabelle 7). Allerdings waren vier der fünf CFRD Patienten homozygot für $\Delta F508$.

Unter einer exokrinen Pankreasinsuffizienz litten 29 der 34 CF Patienten. Waren es bei den NGT Patienten noch 18 % mit einer erhaltenen exokrinen Pankreasfunktion, fand man bei den Patienten mit gestörtem Glukosemetabolismus nur noch 12 %. Nur

ein Patient mit IGT und ein Patient mit CFRD hatten eine suffiziente, exokrine Pankreasfunktion.

CF Mutationen	CF gesamt	NGT	IFG	IGT	CFRD
dF508 homozygot	18 (52,9%)	8 (47%)	3 (75%)	3 (37,5%)	4 (80%)
dF508 heterozygot	8 (23,6%)	5 (29,5%)	1 (25%)	2 (25%)	0 (0%)
andere	3 (8,8%)	1 (5,9%)	0 (0%)	1 (12,5%)	1 (20%)
keine Daten	5 (14,7%)	3 (17,6%)	0 (0%)	2 (25%)	0 (0%)

Tab. 7: Korrelation der CF Mutationen mit der Glukosetoleranz

3.1.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Im Vergleich der CFRD Patienten mit der Kontrollgruppe zeigten sich keine Unterschiede in der Geschlechterverteilung. Die Gruppe der Patienten mit DM2 bestand bis auf eine Teilnehmerin aus acht männlichen Probanden.

Patienten mit DM2 waren mit $65,8 \pm 5,3$ Jahren signifikant älter als die Kontrollgruppe mit $28,3 \pm 11$ Jahren ($p < 0,001$) und auch deutlich älter als die CFRD Patienten mit $35,8 \pm 12$ Jahren. Der Altersunterschied zwischen den beiden letzteren Gruppen war nicht signifikant.

Ähnlich verhielt es sich für den BMI. Die DM2 Patienten waren signifikant schwerer als die anderen Probanden ($p < 0,01$), während zwischen CFRD und Kontrollen kein signifikanter Unterschied zu finden war. Jedoch war zu vermerken, dass CFRD Patienten mit einem BMI von $20,4 \pm 2,2$ kg/m² merklich weniger wogen als die gesunden Probanden mit $21,8 \pm 1,7$ kg/m².

Den höchsten CRP Wert hatten die CFRD Patienten, der mit $1,12 \pm 0,7$ mg/dl deutlich erhöht war. Patienten mit DM2 zeigten Werte von $0,56 \pm 0,6$ mg/dl. Die Kontrollgruppe hatte mit $0,23 \pm 0,2$ mg/dl noch niedrigere CRP Werte und unterschieden sich somit signifikant von den CFRD Patienten ($p < 0,05$) (Tab. 8)

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
Geschlecht: m/w	2 / 3	5 / 5	8 / 1
Alter (Jahre)	35,8 ± 12	28,3 ± 11***	65,8 ± 5,3
BMI (kg/m ²)	20,4 ± 2,2***	21,8 ± 1,7**	28,0 ± 2,7
CRP (mg/dl)	1,12 ± 0,7 [‡]	0,23 ± 0,2	0,56 ± 0,6

Tab. 8: Demografische Daten der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

** vs DM2 p<0,01, *** vs DM2 p<0,001; [‡] vs Kontrolle p<0,05

3.2 Glykämische Parameter

3.2.1 Glukosetoleranz der Patienten mit Cystischer Fibrose

Die Hälfte der CF Patienten hatte eine Störung im Glukosemetabolismus. Die Werte der Nüchternglukose dieser CF Patienten lagen höher als bei den NGT Patienten und den Kontrollpersonen, die identisch hohe Nüchternwerte (86 ± 7,5 mg/dl; 86 ± 8,8 mg/dl) hatten. Für die IGT Gruppe wurden die durchschnittlichen Nüchternwerte im höheren Normalbereich (92 ± 8,3 mg/dl) und für die CFRD Gruppe mit 100 ± 12 mg/dl im Grenzbereich der Normalwerte gemessen.

Im Zweistundenwert des oGTT zeigten sich deutliche Differenzen. Während NGT und auch IFG Probanden sich nach zwei Stunden wieder den Ausgangswerten im Nüchternzustand angenähert hatten, fanden sich bei IGT und CFRD signifikant erhöhte Werte gegenüber NGT (p<0,01 bzw. p<0,001). Entsprechend der Einteilung nach den Klassifikationskriterien lagen die Glukosespiegel für IGT bei im Durchschnitt gemessenen 178 ± 19 mg/dl und für CFRD bei 242 ± 33 mg/dl. Auffällig war zusätzlich, dass NGT Patienten mit 95 ± 27 mg/dl einen höheren Zweistundenwert aufwiesen als die Kontrollen mit 75 ± 18 mg/dl.

Bei den Maximalwerten des Blutzuckers während des oGTT fand sich ein hoch signifikanter Unterschied zwischen CFRD und NGT Patienten (p<0,001). Sowohl CFRD als auch IFG und IGT Patienten lagen im Mittelwert deutlich über 200 mg/dl (CFRD = 288 ± 42 mg/dl; IFG= 228 ± 25 mg/dl; IGT = 221 ± 35 mg/dl), während NGT

Patienten mit 179 ± 30 mg/dl einen weniger starken Anstieg nach Glukosebelastung hatten (Abb. 5). Dennoch war dieser Wert der NGT Patienten gegenüber den Kontrollen mit 130 ± 31 mg/dl erhöht. Alle anderen Patienten mit Glukosestoffwechselstörung hatten einen signifikant höheren Glukosemaximalwert als die gesunden Probanden ($p < 0,01$).

Die AUC's der frühen und der späten Phase, sowie für 60 bis 120 Minuten, wurden zur Bewertung des zeitlichen Glukoseverlaufs berechnet. In der ersten Phase von 0 bis 30 Minuten war bei allen Patienten ein steiler Anstieg der Glukosewerte zu sehen. Die $AUC_{Gluc0-30min}$ der Patienten mit gestörtem Glukosemetabolismus hatten höhere Werte als die der NGT Patienten und bei allen CF Patienten lag die $AUC_{Gluc0-30min}$ höher als bei den Kontrollen. Für IFG und CFRD ergab sich hierfür ein signifikanter Unterschied zu den Kontrollpersonen ($p < 0,05$ bzw. $p < 0,01$), für CFRD zusätzlich auch im Vergleich zu NGT ($p < 0,05$) (Abb. 6).

Im weiteren Verlauf von 30 bis 120 Minuten zeigten sich bei NGT, IFG und IGT Probanden die Spitzenglukosewerte bei 60 Minuten, während für CFRD noch ein leichter Anstieg bis 90 Minuten vorlag. Demzufolge erkannte man einen längeren und höheren Blutzuckeranstieg für alle CF Patienten im Vergleich zu den Kontrollen, die nach 30 Minuten ihren Peak erreichten und daraufhin schon wieder abfallende Werte aufwiesen (Abb. 5).

Bei NGT und IFG kam es folgend in der dritten Stunde des oGTT's zu einem raschen Abfall der Glukosewerte, der bei vier Patienten (drei NGT und ein IFG Patient) bis in eine Hypoglykämie unter 50 mg/dl mündete. Somit unterschritten sie die Endwerte der Kontrollen. Die Glukosespiegel der IGT und CFRD Patienten nahmen nur langsam ab und normalisierten sich wie beschrieben bis 120 Minuten nicht. Nach 180 Minuten entsprachen sie in etwa den nüchternen Ausgangswerten und lagen somit höher als bei NGT Patienten.

Dieser Verlauf spiegelte sich in der $AUC_{Gluc30-120min}$ wieder. IGT und CFRD hatten signifikant erhöhte Werte gegenüber NGT Probanden ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,001$). Die $AUC_{Gluc30-120min}$ für CFRD war doppelt so hoch wie die $AUC_{Gluc30-120min}$ für NGT (12770 ± 2036 mg/dl vs. 23280 ± 2671 mg/dl) (Abb. 7).

Genauso verhielt es sich für die $AUC_{Gluc60-120min}$. Hier zeigten sich ebenfalls für NGT Patienten die geringsten Werte, sowie steigende Werte mit zunehmender Glukoseintoleranz der CF Patienten.

Alle CF Patienten hatten in der $AUC_{\text{Gluc}30-120\text{min}}$ und der $AUC_{\text{Gluc}60-120\text{min}}$ deutlich höhere Werte als die Kontrollen, was für IFG, IGT und CFRD signifikant war (Tab. 9). Die metabolischen Veränderungen der einzelnen Gruppen fanden sich auch in den HbA_{1c} Werten wieder. Schon die NGT und die IFG Gruppe hatten im Vergleich zu den gesunden Probanden erhöhte HbA_{1c} Werte. HbA_{1c} Werte über dem Normalbereich von 6,0% lagen nur bei einem der IGT Patienten und bei zwei der CF Patienten mit Diabetes vor (Tab. 9).

Die HbA_{1c} Werte der CF Patienten korrelierten sowohl mit dem Zweistundenwert ($r_s = 0,4$; KI = 0,1 bis 0,7; $p < 0,02$), als auch dem Maximalwert ($r_s = 0,4$; KI = 0,06 bis ,7; $p < 0,02$) für Glukose im oGTT. Zusätzlich fand sich eine Korrelation mit der FEV1 ($r_s = -0,4$; KI = -0,7 bis -0,1; $p < 0,02$) und dem BMI ($r_s = -0,4$; KI = -0,7 bis -0,01; $p < 0,05$).

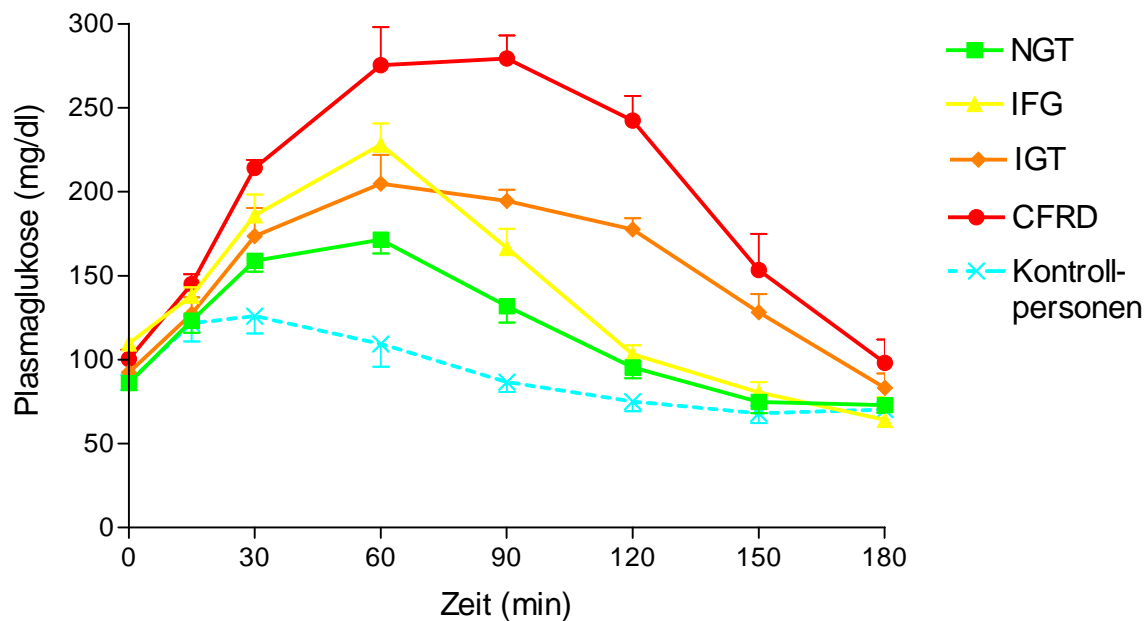


Abb. 5: Blutzuckerungsverlauf während des oGTT der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

Signifikante Unterschiede wurden beobachtet für die Glukosekonzentrationen bei 30 min (CFDR^{###, †}), 60 min (IGT[#], CFRD^{###, †}), 90 min (IGT^{###}, CFRD^{###, ††}), 120 min (IGT^{†, ###}, CFRD^{###, ††}) und 150 min (IGT^{††, ##}, CFRD^{##, ††}).

[†] vs NGT $p < 0,05$, ^{††} vs NGT $p < 0,01$

[#] vs Kontrolle $p < 0,05$, ^{##} vs Kontrolle $p < 0,01$, ^{###} vs Kontrolle $p < 0,001$

	NGT	IFG	IGT	CFRD	Kontroll- personen
HbA1c (%)	5,6 ± 0,3	5,6 ± 0,5	5,8 ± 0,2 ^{##}	6,0 ± 0, ^{††,###}	5,1 ± 0,2
Plasmaglukose nüchtern (mg/dl)	86 ± 8,8	110 ± 8,6 ^{††, #}	92 ± 8,3	100 ± 12	86 ± 7,5
Plasmaglukose 2h-Wert (mg/dl)	95 ± 27	103 ± 11	178 ± 19 ^{††,###}	242 ± 33 ^{†††,###}	75 ± 18
Glukose- maximalwert (mg/dl)	179 ± 30	228 ± 25 ^{##}	221 ± 35 ^{##}	288 ± 42 ^{†††,###}	130 ± 31
AUC Glukose erste Phase 0-30 min (mg/dl)	3667 ± 533	4309 ± 275 [#]	3894 ± 563	4554 ± 150 ^{†,##}	3328 ± 618
AUC Glukose zweite Phase 30-120 min (mg/dl)	12770 ± 2036	16050 ± 1325 [#]	17160 ± 1938 ^{††,###}	23280 ± 2671 ^{†††,###}	8829 ± 2033
AUC Glukose 60-120 min (mg/dl)	7815 ± 1490	9839 ± 742 [#]	11480 ± 727 ^{††,###}	15940 ± 1868 ^{†††,###}	5008 ± 1353

Tab. 9: Glykämische Parameter der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

† vs NGT p<0,05, †† vs NGT p<0,01, †††vs NGT p<0,001

vs Kontrolle p<0,05, ## vs Kontrolle p<0,01, ### vs Kontrolle p<0,001

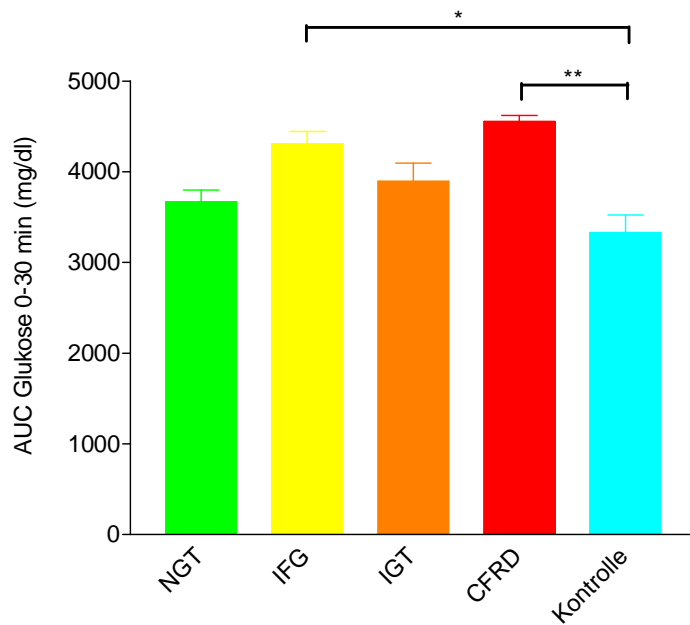


Abb. 6: AUC Glukose 0-30 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
 * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ vs Kontrollpersonen

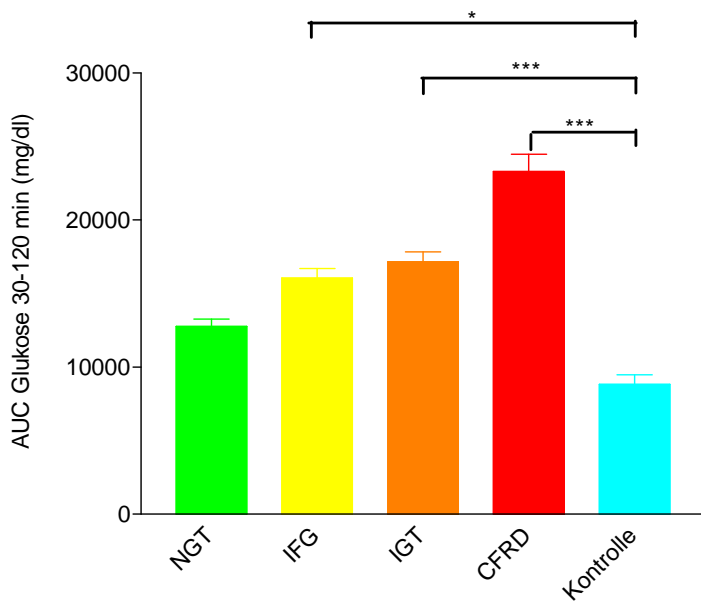


Abb. 7: AUC Glukose 30-120 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
 * $p < 0,05$, *** $p < 0,001$ vs Kontrollpersonen

3.2.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Im Vergleich von CFRD Patienten mit der Kontrollgruppe und Patienten mit DM2, stellte sich deren Blutzuckerlauf sehr ähnlich dem der DM2 Gruppe dar. Die Kontrollpersonen zeigte einen viel flacheren und insgesamt niedrigeren Verlauf (Abb. 8).

Allein die Nüchternwerte lagen bei CFRD mit 100 ± 12 mg/dl niedriger als bei DM2 Patienten mit 124 ± 11 mg/dl. Der daraufhin folgende steile Anstieg der Kurven von CFRD und DM2 Patienten zeigte sich auch in den erhöhten Werten für die $AUC_{\text{Gluc0-30min}}$.

Abgesehen von den verschiedenen Ausgangswerten verhielten sich die Glukosewerte der beiden Diabetes Gruppen nach Zuckerbelastung jedoch sehr ähnlich. Die Zweistundenwerte im oGTT waren für CFRD und DM2 identisch und auch die $AUC_{\text{Gluc30-120min}}$ und die $AUC_{\text{Gluc60-120min}}$ unterschieden sich nur geringfügig. Nur der Glukosemaximalwert wurde mit beinahe 288 ± 42 mg/dl im Vergleich zu 269 ± 40 mg/dl bei den CFRD Patienten etwas höher gemessen (Tab. 10).

Der HbA_{1c} Wert lag mit $6,0 \pm 0,1$ % für die CFRD Patienten genau am oberen Grenzwert des Normalbereichs. Der Durchschnittswert von $6,3 \pm 0,6$ % der DM2 Patienten war leicht erhöht.

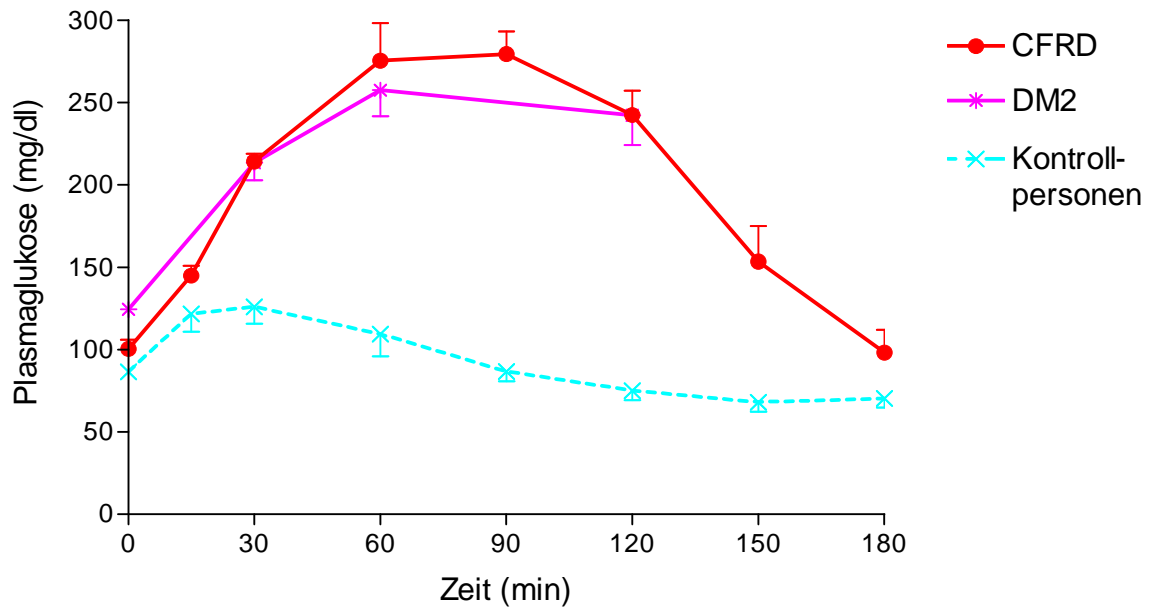


Abb. 8: Blutzuckerverlauf während des oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Signifikante Unterschiede wurden beobachtet für die Glukosekonzentrationen bei 30 min (CFDR^{‡‡}, Kontrolle^{**}), 60 min (CFDR^{‡‡}, Kontrolle^{**}), 120 min (CFDR^{‡‡}, Kontrolle^{***}).

** vs DM2 $p < 0,01$, *** vs DM2 $p < 0,001$, ‡‡ vs Kontrolle $p < 0,01$

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
HbA1c (%)	6,0 ± 0,1 [‡]	5,1 ± 0,2 ^{***}	6,3 ± 0,6
Plasmaglukose nüchtern (mg/dl)	100 ± 12	86 ± 7,5 ^{***}	124 ± 11
Plasmaglukose 2h-Wert (mg/dl)	242 ± 33 ^{‡‡}	75 ± 18 ^{***}	242 ± 54
Glukose-maximalwert (mg/dl)	288 ± 42 ^{‡‡}	130 ± 31 ^{**}	269 ± 40
AUC Glukose erste Phase 0-30 min (mg/dl)	4554 ± 150	3328 ± 618 ^{***}	5067 ± 511
AUC Glukose zweite Phase 30-120 min (mg/dl)	23280 ± 2671 ^{‡‡}	8829 ± 2033 ^{**}	22050 ± 3484
AUC Glukose 60-120 min (mg/dl)	15940 ± 1868 ^{‡‡}	5008 ± 1353 ^{**}	14980 ± 2599

Tab. 10: Glykämische Parameter der CF Patienten mit Diabetes, gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit DM2;

** vs DM2 p<0,01, *** vs DM2 p<0,001;

‡ vs Kontrolle p<0,05, ‡‡ vs Kontrolle p<0,01

3.3 Insulinsekretion während des oGTT's

3.3.1 Insulinsekretion der Patienten mit Cystischer Fibrose

Die Nüchternwerte des Insulins unterschieden sich zwischen den vier Glukosetoleranzklassen der CF Patienten nicht signifikant und waren durchschnittlich im Bereich von 3,2 $\mu\text{U/ml}$ bis 4,0 $\mu\text{U/ml}$ angesiedelt. CFRD Probanden zeigten mit $4,0 \pm 1,1 \mu\text{U/ml}$ den höchsten basalen Spiegel. Auch die Kontrollen lagen mit $3,1 \pm 2,2 \mu\text{U/ml}$ in dieser Größenordnung.

Mit Beginn der Glukosebelastung stiegen bei allen Patienten die Insulinwerte an, wobei der Anstieg bei Patienten mit NGT und IFG am größten und bei CFRD Patienten am geringsten war.

Den Insulinpeak erreichten die NGT Gruppe nach 60 Minuten im Gegensatz zu IFG und IGT Gruppe, deren Insulinpeak erst bei 90 Minuten lag. Am spätesten fand sich der Insulinpeak bei der CFRD Gruppe mit 120 Minuten. Besonders auffällig dabei war die zunehmende Verzögerung der Insulinausschüttung gegenüber den Kontrollpersonen, deren Insulinpeak nach einem steilen Anstieg der Werte schon bei 30 Minuten lag (Abb. 9).

Die maximalen Werte des Insulins während des oGTT's lagen für NGT, IFG und IGT Patienten im Durchschnitt um die 45 $\mu\text{U/ml}$ (NGT = $43 \pm 30 \mu\text{U/ml}$; IFG = $47 \pm 19 \mu\text{U/ml}$; IGT = $45 \pm 27 \mu\text{U/ml}$) und demzufolge niedriger als bei den Kontrollpersonen mit $50 \pm 18 \mu\text{U/ml}$. CFRD Patienten hatten im Gegensatz dazu mit $29 \pm 6 \mu\text{U/ml}$ noch deutlich geringere Maximalwerte.

Der nach dem Peak anschließende Abfall des Insulins verlief bei NGT und IFG Probanden am schnellsten, während bei IGT Patienten noch länger erhöhte Werte zu sehen waren. Dies spiegelte sich auch im Vergleich der Zweistundenwerte des Insulins während des oGTT's wieder. Der Insulinzweistundenwert der IGT Gruppe von $42 \pm 28 \mu\text{U/ml}$ war mehr als doppelt so hoch wie der Wert der NGT Gruppe mit $18 \pm 13 \mu\text{U/ml}$ und ebenfalls merklich größer als bei den Kontrollpersonen mit $20 \pm 13 \mu\text{U/ml}$. Auch der Insulinzweistundenwert der IFG Patienten mit $30 \pm 15 \mu\text{U/ml}$ war signifikant höher als der Wert der NGT Patienten ($p < 0,05$) und größer als bei den gesunden Probanden. Der Zweistundenwert des Insulins der CFRD Patienten lagen mit $27 \pm 5,5 \mu\text{U/ml}$ zwischen denen der NGT und IFG Patienten. Dabei ist jedoch

zusätzlich zu bedenken, dass dieser Wert wie beschrieben dem Insulinpeak der CFRD Patienten bei 120 Minuten und somit beinahe dem Maximalwert entsprach.

Diese Verhältnisse gingen ebenfalls in die Berechnung der AUC's der frühen und späten Phase für Insulin ein. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier CF Gruppen, jedoch war bei allen AUC's ein Trend abzulesen.

Mit zunehmender Störung der Glukosetoleranz sanken die Werte der $AUC_{Ins0-30min}$. Somit war die $AUC_{Ins0-30min}$ für CFRD Patienten am geringsten, was deren geringem Insulinanstieg gleichzusetzen war. Daraus entstand auch der signifikante Unterschied zwischen CFRD Patienten und Kontrollen ($p < 0,05$). Die gesunden Probanden hatten im Vergleich zu allen CF Patienten eine stärkere erste Phase der Insulinsekretion gemessen an der $AUC_{Ins0-30min}$ (Abb. 10).

Die $AUC_{Ins30-120min}$ zeigte sich bei IGT und vor allem bei IFG Patienten im Gegensatz zu NGT Patienten erhöht. Bei CF Patienten mit Diabetes dagegen war sie vermindert (Abb. 11).

Die verzögerte Insulinausschüttung der IFG und IGT Patienten war noch deutlicher in der $AUC_{Ins60-120min}$ zu sehen. Auch hier zeigten sich erhöhte Werte gegenüber den NGT Probanden. Allerdings hatten im Vergleich zu den Kontrollpersonen nicht nur die IFG und die IGT Gruppe, sondern auch die NGT Gruppe erhöhte Werte. Die CFRD Patienten hatten wiederum eine erniedrigte $AUC_{Ins60-120min}$, was mit dem generellen Insulinmangel zu vereinbaren ist.

Nach 180 min erkannte man bei allen CF Patienten wieder gesunkene Insulinwerte, die allerdings höher als die Nüchterwerte lagen. IGT und CFRD Probanden hatten dabei die höheren Endwerte im oGTT. Die Insulinspiegel der NGT und IFG Patienten lagen unter denen der Kontrollpersonen.

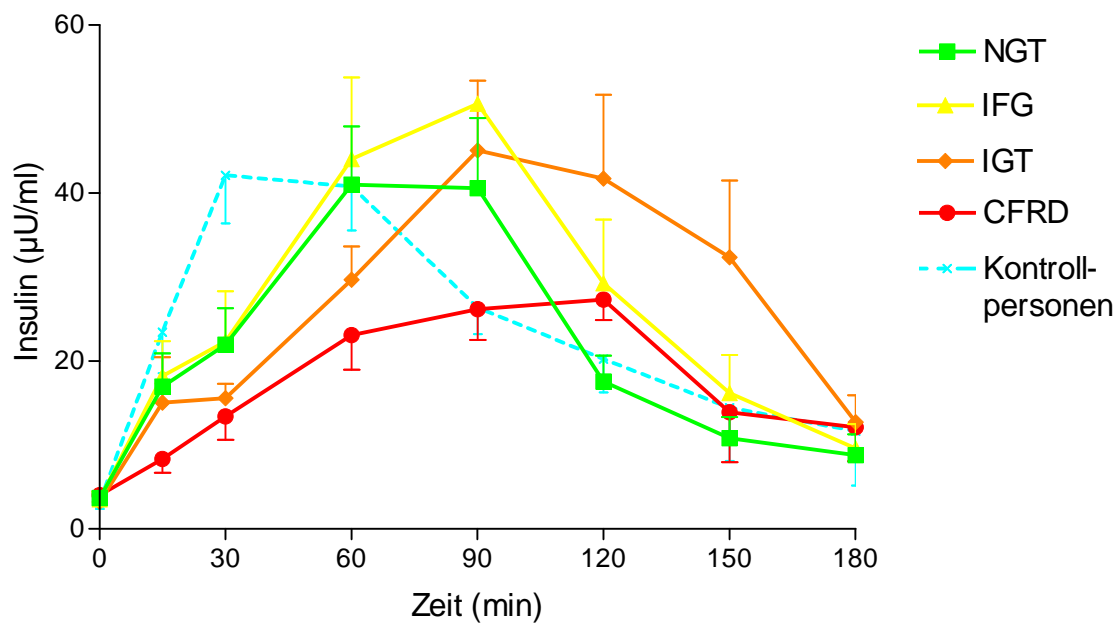


Abb. 9: Insulinverlauf während des oGTT der CF Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen;

Signifikante Unterschiede wurden beobachtet für die Insulinkonzentrationen bei 30 min (IFG^{††, +}, IGT^{†††, ++}), 60 min (IFG^{††, +}, IGT^{††, #, ++}), 90 min (IGT^{†††, ##, ++}), 120 min (IGT[†]), 150 min (IGT^{†††, ###}) und 180 min (IFG^{*}, IGT^{†††, ###}).

[†] vs NGT p<0,05, ^{††} vs NGT p<0,01, ^{†††}vs NGT p<0,001

[#] vs Kontrolle p<0,05, ^{##} vs Kontrolle p<0,01, ^{###} vs Kontrolle p<0,001

⁺⁺ p<0,01 vs CFRD, ⁺⁺⁺ p<0,001 vs. CFRD

	NGT	IFG	IGT	CFRD	Kontroll- personen
Insulin nüchtern ($\mu\text{U/ml}$)	$3,7 \pm 1,1$	$3,5 \pm 1,9$	$3,2 \pm 1,7$	$4,0 \pm 1,1$	$3,1 \pm 2,2$
Insulin 2h-Wert ($\mu\text{U/ml}$)	18 ± 13	$29 \pm 15^\dagger$	42 ± 28	$27 \pm 5,5$	20 ± 13
Insulin- maximalwert ($\mu\text{U/ml}$)	43 ± 30	47 ± 19	45 ± 27	29 ± 6	50 ± 18
AUC Insulin erste Phase 0-30 min ($\mu\text{U/ml}$)	419 ± 337	401 ± 200	330 ± 208	$258 \pm 93^\#$	732 ± 290
AUC Insulin zweite Phase 30-120 min ($\mu\text{U/ml}$)	$2878 \pm$ 1965	$3293 \pm$ 1424	$3007 \pm$ 1452	2129 ± 628	2972 ± 846
AUC Insulin 60-120 min ($\mu\text{U/ml}$)	$1933 \pm$ 1337	2297 ± 984	$2329 \pm$ 1237	1582 ± 417	1729 ± 474

Tab. 11: Insulinwerte der CF Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen;

[#] vs Kontrolle $p < 0,05$

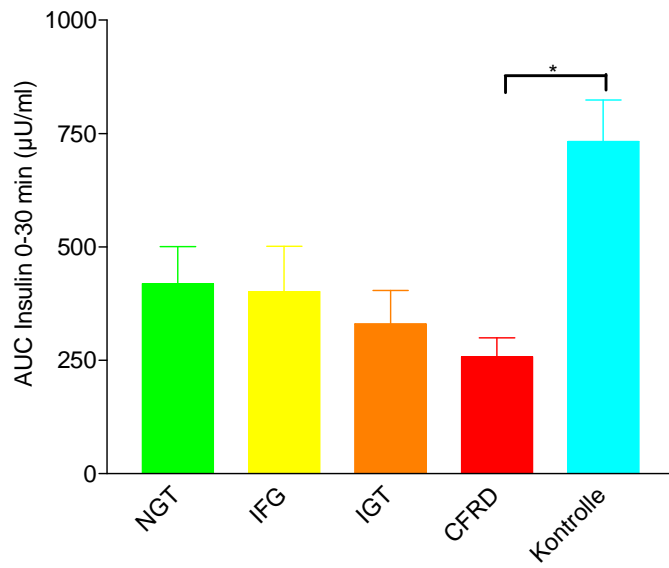


Abb. 10: AUC Insulin 0-30 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
* $p < 0,05$ vs Kontrollpersonen

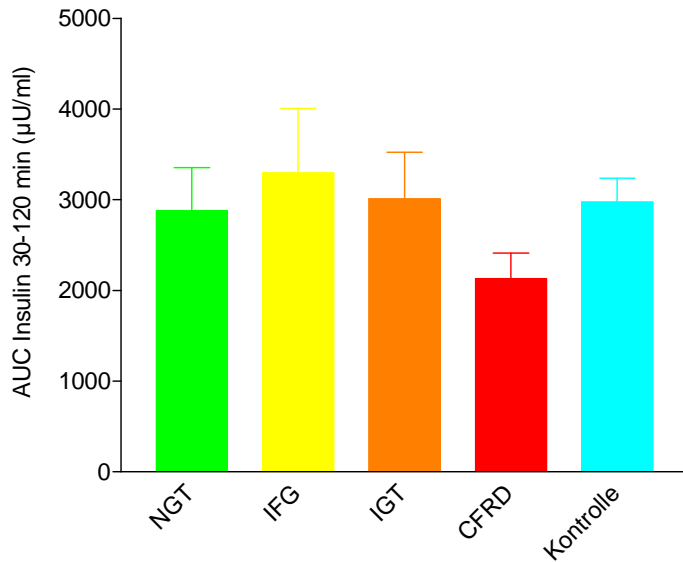


Abb. 11: AUC Insulin 30-120 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

3.3.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Im Vergleich zwischen Kontrollgruppe, CFRD und DM2 Patienten zeigten sich deutliche Unterschiede im Insulinverlauf.

Während sich CFRD Patienten und Kontrollen mit durchschnittlich $4,0 \pm 1,1 \mu\text{U/ml}$ und $3,1 \pm 2,2 \mu\text{U/ml}$ in den Nüchternwerten kaum unterschieden, hatten DM2 Patienten mit einem Mittelwert von $9,2 \pm 5,1 \mu\text{U/ml}$ signifikant höhere Werte als die Kontrollen ($p < 0,01$).

Im Verlauf der Glukosebelastung sah man bei den gesunden Probanden einen steilen Anstieg der Insulinwerte mit einem Peak bei 30 Minuten. Nach einer Plateauphase fielen ihre Werte ab 60 Minuten allmählich wieder ab. Dagegen stiegen die Werte der CFRD und DM2 Patienten nur langsam an. Während folgend die CFRD Patienten nur einen flachen Anstieg der Insulinspiegel bis 120 Minuten zeigten, stiegen die Werte der DM2 Patienten bis zum Zweistundenwert stark an und ließen auch dann noch kein Abflachen der Kurve erkennen (Abb. 12).

Dementsprechend verhielten sich die Zweistundenwerte im oGTT. Mit $20 \pm 13 \mu\text{U/ml}$ für die Kontrollepersonen war der Mittelwert der DM2 Patienten mit $64 \pm 24 \mu\text{U/ml}$ im Vergleich signifikant erhöht ($p < 0,001$). Die CFRD Patienten lagen als Ausdruck Ihres Insulinmangels mit $27 \pm 5,5 \mu\text{U/ml}$ eher im niedrigen Bereich. Dieser Mangel spiegelte sich zusätzlich in den Maximalwerten des Insulins wieder, die bei CFRD mit $29 \pm 6,0 \mu\text{U/ml}$ signifikant niedriger waren als die $64 \pm 24 \mu\text{U/ml}$ der DM2 Patienten. Die Kontrollpersonen hatten mit $50 \pm 18 \mu\text{U/ml}$ ebenfalls größere Insulinmaximalwerte als CFRD Patienten.

Auch in den AUC Werten zeigten sich Differenzen zwischen den drei Gruppen. Die $\text{AUC}_{\text{Ins}0-30\text{min}}$ war bei den CFRD Patienten signifikant niedriger als bei den Kontrollen ($p < 0,01$) und auch niedriger als bei den DM2 Patienten. Dagegen glichen sich die Werte der $\text{AUC}_{\text{Ins}30-120\text{min}}$ bei CFRD und Kontrollgruppe wieder eher an. Sie waren allerdings beide deutlich niedriger als bei DM2 Patienten, was für CFRD signifikant war ($p < 0,01$). Dieses Verhältnis zeigte sich auch in der $\text{AUC}_{\text{Ins}60-120\text{min}}$, die für beide Gruppen signifikant erniedrigt gegenüber DM2 war ($p < 0,01$).

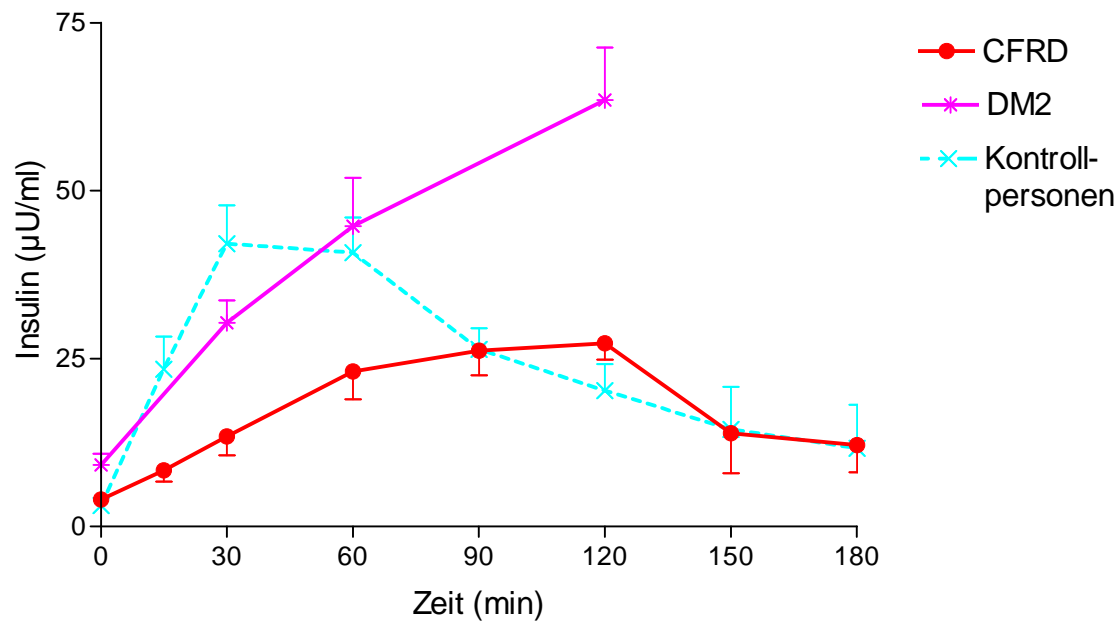


Abb. 12: Insulinverlauf während des oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Signifikante Unterschiede wurden beobachtet für die Insulinkonzentrationen bei 30 min (CFDR^{‡‡}), 60 min (CFDR^{*}), 120 min (Kontrolle^{***}).

* vs DM2 $p < 0,05$, *** vs DM2 $p < 0,001$, ‡‡ vs Kontrolle $p < 0,01$

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
Insulin nüchtern (μU/ml)	4,0 ± 1,1	3,1 ± 2,2**	9,2 ± 5,1
Insulin 2h-Wert (μU/ml)	27 ± 5,5	20 ± 13***	64 ± 24
Insulin- maximalwert (μU/ml)	29 ± 6,0**	50 ± 18	64 ± 24
AUC Insulin erste Phase 0-30 min (μU/ml)	258 ± 93 [‡]	732 ± 290	592 ± 185
AUC Insulin zweite Phase 30-120 min (μU/ml)	2129 ± 628**	2972 ± 846	4371 ± 1708
AUC Insulin 60-120 min (μU/ml)	1582 ± 417**	1729 ± 474**	3246 ± 1266

Tab. 12: Insulinwerte der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

** vs DM2 p<0,01, *** vs DM2 p<0,001;

3.4 Bewertung der β -Zell Funktion

3.4.1 β -Zell Leistung der Patienten mit Cystischer Fibrose

Zur Bewertung der β -Zell Leistung wurden drei Indizes berechnet.

Die β -Zell Funktion im nüchternen Zustand wurde durch den HOMA-%B beurteilt. IGT und CFRD Patienten hatten deutlich niedrigere HOMA-%B Werte als NGT Patienten. Noch einmal um die Hälfte geringere Werte fanden sich bei Patienten mit IFG. Die Kontrollgruppe entsprach in etwa den Werten der NGT Patienten und es ergibt sich demzufolge eine Verschlechterung der basalen β -Zell Funktion bei IFG, IGT und CFRD Patienten (Tab. 13).

Zur Bewertung der β -Zell Funktion unter Belastung dienten der Insulinogenic Index und die Stumvoll's First Phase Insulin Secretion.

Beim Insulinogenic Index war der Wert der IGT Patienten und vor allem auch der Wert der CFRD Patienten verglichen mit der NGT Gruppe erniedrigt. Im Vergleich mit den Kontrollpersonen zeigte sich eine signifikant schlechtere β -Zell Funktion der CFRD Patienten ($p < 0,01$).

Der Stumvoll's Index zur Bewertung der frühen Insulinsekretion zeigte sowohl für IFG, als auch IGT Patienten niedrigere Werte als für NGT Patienten an. Einen deutlichen und signifikanten Unterschied fand man zwischen der NGT und CFRD Gruppe, deren Wert mit 18 ± 41 um mehr als das Hundertfache geringer war als die 450 ± 291 für NGT ($p < 0,01$). Mit einem Wert von 950 ± 388 hatten die Kontrollpersonen nicht nur eine signifikant bessere β -Zell Funktion als die CFRD Patienten ($p < 0,001$), sondern auch deutlich bessere Werte als die NGT Patienten.

Sowohl der Insulinogenic Index ($r_s = 0,36$; KI = 0,01 bis 0,63; $p < 0,04$), als auch Stumvoll's First Phase Insulin Secretion ($r_s = 0,42$; KI = 0,67 bis 0,83; $p < 0,02$) korrelierten mit der FEV1 der Patienten.

	NGT	IFG	IGT	CFRD	Kontroll- personen
HOMA-%B	71 ± 57	27 ± 12	40 ± 17	41 ± 14	68 ± 82
Insulinogenic Index	5,1 ± 3,9	4,9 ± 3,2	3,7 ± 2,3	1,6 ± 1,2 ^{##}	19 ± 14
Stumvoll's First Phase Insulin Secretion	450 ± 291	252 ± 203	309 ± 254	18 ± 41 ^{††,###}	950 ± 388

Tab. 13: Indizes der β -Zell-Funktion der CF Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen

†† vs NGT $p < 0,01$, ## vs Kontrolle $p < 0,01$, ### vs Kontrolle $p < 0,001$

3.4.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

In der Bewertung der β -Zell Funktion zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen CFRD Patienten, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2.

Schon die basale β -Zell Funktion, bewertet durch den HOMA-%B, war für die CFRD Patienten am schlechtesten. DM2 Patienten hatten etwas geringere Werte als die Kontrollen (Tab. 14).

Die beiden dynamischen Indizes zeigten für CFRD eine signifikant niedrigere Insulinsekretion als für die Kontrollen ($p < 0,01$) und auch im Vergleich zu den DM2 Patienten erniedrigte Werte. Die Verschlechterung der Sekretionsleistung bei DM2 im Vergleich zu den gesunden Probanden war nicht ganz so stark ausgeprägt wie bei CFRD und deshalb nur für den Stumvoll Index signifikant ($p < 0,05$).

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
HOMA-%B	41 ± 14	68 ± 82	58 ± 41
Insulinogenic Index	1,6 ± 1,2 ^{##}	19 ± 14	4,5 ± 1,8
Stumvoll's First Phase Insulin Secretion	18 ± 41 ^{###}	950 ± 388*	286 ± 240

Tab. 14: Indizes der β -Zell-Funktion der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

* vs DM2 $p < 0,05$, ^{##} vs Kontrolle $p < 0,01$, ^{###} vs Kontrolle $p < 0,001$

3.5 Bewertung der Insulinresistenz

3.5.1 Insulinsensitivität der Patienten mit Cystischer Fibrose

Die Insulinresistenz, bzw. Insulinsensitivität, wurde ebenfalls mit Hilfe dreier Indizes bewertet. Der HOMA-IR gibt die Insulinresistenz im nüchternen Zustand wieder. Es ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den vier CF Gruppen. Jedoch zeigten IFG und die CFRD Patienten leicht erhöhte Werte im Vergleich zu NGT und IGT Patienten. Die Kontrollpersonen hatten die niedrigsten Werte für die Insulinresistenz, die sich aber ebenfalls nicht signifikant von den Werten der CF Patienten unterschieden.

Etwas deutlichere Abweichungen sah man beim Matsuda Index. Den niedrigsten Wert für die Insulinsensitivität wiesen die CFRD Patienten auf, gefolgt von IFG und IGT. Der Mittelwert der NGT Probanden war für diesen Index gemeinsam mit den Kontrollen am größten. Allerdings fanden sich auch hier keine signifikanten Unterschiede.

Keine nennenswerten Differenzen zwischen den vier Gruppen zeigten sich im Stumvoll's Index zur Bewertung der Insulinsensitivität. Hier wurden auch das Alter und der BMI mit in die Beurteilung mit einbezogen.

Keiner der drei Indizes zeigte für die CF Patienten eine Korrelation mit dem CRP Wert.

	NGT	IFG	IGT	CFRD	Kontroll- personen
HOMA-IR	0,79 ± 0,5	0,97 ± 0,6	0,75 ± 0,4	1,01 ± 0,3	0,64 ± 0,4
ISI _{est}	15 ± 6,9	10 ± 5,8	12 ± 6,8	9,2 ± 3,5	16 ± 7,6
ISI _{Stumvoll}	0,13 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,12 ± 0,02	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01

Tab. 15: Indizes der Insulinresistenz der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

3.5.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

In der Beurteilung der Insulinsensitivität ergaben sich keine großen Abweichungen zwischen CFRD Patienten und Kontrollpersonen. Sie entsprachen sich weitgehend in den Werten sowohl des basalen, als auch der dynamischen Indizes. Es ist somit von keiner deutlich gesteigerten Insulinresistenz der CFRD Patienten auszugehen.

Hoch signifikante Unterschiede fanden sich dagegen zwischen Kontrollen und DM2 Patienten ($p < 0,001$). Die basale Insulinresistenz der DM2 Patienten war merklich erhöht. Vor allem auch in den dynamischen Indizes zur Bewertung der Insulinsensitivität hatten die Kontrollen und auch die CFRD Patienten signifikant höhere Werte. Demnach scheint keine deutliche Insulinresistenz entsprechend den DM2 Patienten bei den CFRD Patienten vorzuliegen.

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
HOMA-IR	1,01 ± 0,3	0,64 ± 0,4 ^{***}	2,76 ± 1,4
ISI _{est}	9,2 ± 3,5	16 ± 7,6 ^{***}	1,0 ± 0,4
ISI _{Stumvoll}	0,12 ± 0,01 ^{**}	0,13 ± 0,01 ^{***}	0,08 ± 0,04

Tab. 16: Indizes der Insulinresistenz der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

** vs DM2 $p < 0,01$, *** vs DM2 $p < 0,001$

3.6 Sekretion des intakten Proinsulins während des oGTT's

3.6.1 Proinsulinwerte der Patienten mit Cystischer Fibrose

Die Nüchternwerte des Proinsulins waren für alle CF Patienten (NGT = $3,2 \pm 3,2$ pmol/l; IFG = $2,3 \pm 0,8$ pmol/l; IGT = $2,8 \pm 2,1$ pmol/l; CFRD = $1,9 \pm 1,1$ pmol/l) und die Kontrollpersonen ($2,1 \pm 2,0$ pmol/l) niedrig. Der Anstieg des Proinsulins nach Glukosebelastung verlief für alle CF Patienten ähnlich langsam. NGT und IFG Probanden erreichten Ihren Maximalwert nach 90 Minuten, während die Werte der IGT und CFRD Patienten noch weiter bis zum Peak bei 150 Minuten anstiegen. Auch hier fand man wie beim Insulin die verzögerte Ausschüttung gegenüber den Kontrollen, deren Peak bei 60 Minuten lag und der in eine Plateauphase bis 120 Minuten mündete (Abb. 13).

Somit zeigte der Zweistundenwert im oGTT bei NGT und IFG Patienten schon wieder abfallende Werte im Gegensatz zu noch steigenden Werten der IGT und CFRD Probanden und dem Plateau der Kontrollgruppe. Trotzdem fand man bei NGT, IFG, CFRD und Kontrollen einen ähnlichen Proinsulinspiegel von circa 11 bis 13 pmol/l, indessen bei IGT ein erhöhter Durchschnittswert von 21 ± 17 pmol/l vorlag.

Betrachtete man die Maximalwerte für Proinsulin im oGTT, verhielten sich die Werte annähernd den Zweistundenwerten. Wiederum hatten NGT, IFG, CFRD Patienten und Kontrollen einen ähnlichen Proinsulinspiegel zwischen circa 12 und 14 pmol/l, während IGT Patienten mit 21 ± 17 pmol/l darüber lagen. Auffallend ist dabei zusätzlich der Vergleich mit den Insulinmaximalwerten, die bei NGT, IFG und IGT Patienten ähnlich waren. Somit zeigten IGT Patienten auch einen im Verhältnis zum Insulinwert höheren Proinsulinanstieg.

Die AUC Werte des Proinsulins waren nicht signifikant unterschiedlich.

Die $AUC_{\text{Proins0-30min}}$ verhielt sich ähnlich den Nüchternwerten des Proinsulins und war demzufolge für NGT Patienten am größten und für CFRD Patienten am kleinsten. Die $AUC_{\text{Proins0-30min}}$ der Kontrollpersonen war etwas niedriger als für die NGT Patienten.

Die höchsten Werte der $AUC_{\text{Proins30-120min}}$ erreichten wie schon bei den Maximalwerten die IGT Patienten, die niedrigsten die CFRD Patienten. NGT und IFG Probanden, sowie die Kontrollen lagen mit Ihren Werten dazwischen.

Nach 180 Minuten waren bei keiner Gruppe die Werte auf den Ausgangsspiegel zurückgesunken. Für NGT, IFG und CFRD lagen die Proinsulinwerte um die 9 pmol/l und für IGT Probanden um 16 pmol/l.

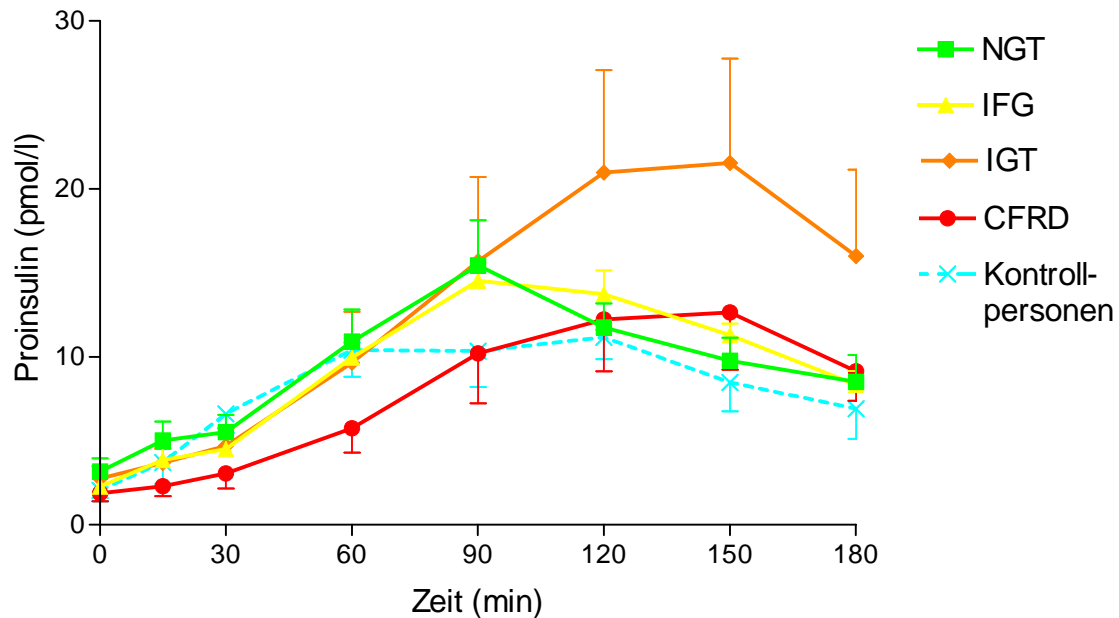


Abb. 13: Proinsulinverlauf während des oGTT der CF Patienten und gesunden Kontrollpersonen

Ein signifikanter Unterschied wurde beobachtet für die Proinsulinkonzentration bei 150 min (IGT[#]).

[#] vs Kontrolle $p < 0,05$

	NGT	IFG	IGT	CFRD	Kontroll- personen
Proinsulin nüchtern (pmol/l)	3,2 ± 3,2	2,3 ± 0,8	2,8 ± 2,1	1,9 ± 1,1	2,1 ± 2,0
Proinsulin 2h-Wert (pmol/l)	12 ± 5,9	14 ± 2,8	21 ± 17	12 ± 6,9	11 ± 4,1
Proinsulin- maximalwert (pmol/l)	14 ± 8,4	14 ± 2,8	21 ± 17	12 ± 6,8	13 ± 5,1
AUC Proinsulin erste Phase 0-30 min (pmol/l)	132 ± 107	103 ± 19	103 ± 64	70 ± 39	126 ± 82
AUC Proinsulin zweite Phase 30-120 min (pmol/l)	991 ± 620	961 ± 171	1133 ± 918	690 ± 381	904 ± 404
Proinsulin/Insulin Ratio	0,13 ± 0,1	0,11 ± 0,06	0,12 ± 0,05	0,07 ± 0,03	0,11 ± 0,06

Tab. 17: Proinsulinwerte der CF Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen

3.6.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Der Kurvenverlauf des Proinsulins war für CFRD Patienten und Kontrollgruppe ähnlich (Abb. 14). Insgesamt hatten die CFRD Patienten etwas höhere Werte und einen deutlich verschobenen Peak von 60 auf 150 Minuten. Es ergaben sich beinahe gleiche Werte für den Nüchternproinsulinspiegel ($1,9 \pm 1,1$ pmol/l; $2,1 \pm 2,0$ pmol/l), Zweistundenwert ($12 \pm 6,9$ pmol/l; $11 \pm 4,1$ pmol/l) und Proinsulinmaximalwert ($12 \pm 6,8$ pmol/l; $13 \pm 5,1$ pmol/l), allerdings unterschieden sich die beiden Gruppen in den AUC's. Sowohl die Werte der $AUC_{\text{Proins0-30min}}$, als auch der $AUC_{\text{Proins30-120min}}$ waren für CFRD Patienten erniedrigt, was durch die Verschiebung ihres Peaks nach 150 Minuten zu erklären ist.

Einen deutlich und signifikant anderen Proinsulinverlauf zeigten die Patienten mit DM2. Schon der Nüchternwert von $8,3 \pm 4,9$ pmol/l war im Vergleich zu CFRD Gruppe und Kontrollpersonen erhöht. Während sowohl bei den Kontrollen als auch den Patienten mit DM2 die Insulinwerte anstiegen, zeigten nur die letzteren einen steilen, dem Insulin ähnlichen Verlauf des Proinsulins. Bei den Kontrollpersonen war nur eine minimale Erhöhung des Proinsulins zu sehen (Abb. 15).

Bei einem Zweistundenwert von 44 ± 26 pmol/l der DM2 Patienten im Gegensatz zu $12 \pm 6,9$ pmol/l und $11 \pm 4,1$ pmol/l für CFRD Patienten und Kontrollen, war noch mit einem weiteren Anstieg des Verlaufs zu rechnen. Entsprechend höhere Werte fanden sich bei der $AUC_{\text{Proins0-30min}}$ und der $AUC_{\text{Proins30-120min}}$, sowie beim Maximalproinsulinwert.

Das Proinsulin zu Insulin Verhältnis war bei den DM2 Patienten mit $0,15 \pm 0,1$ leicht erhöht.

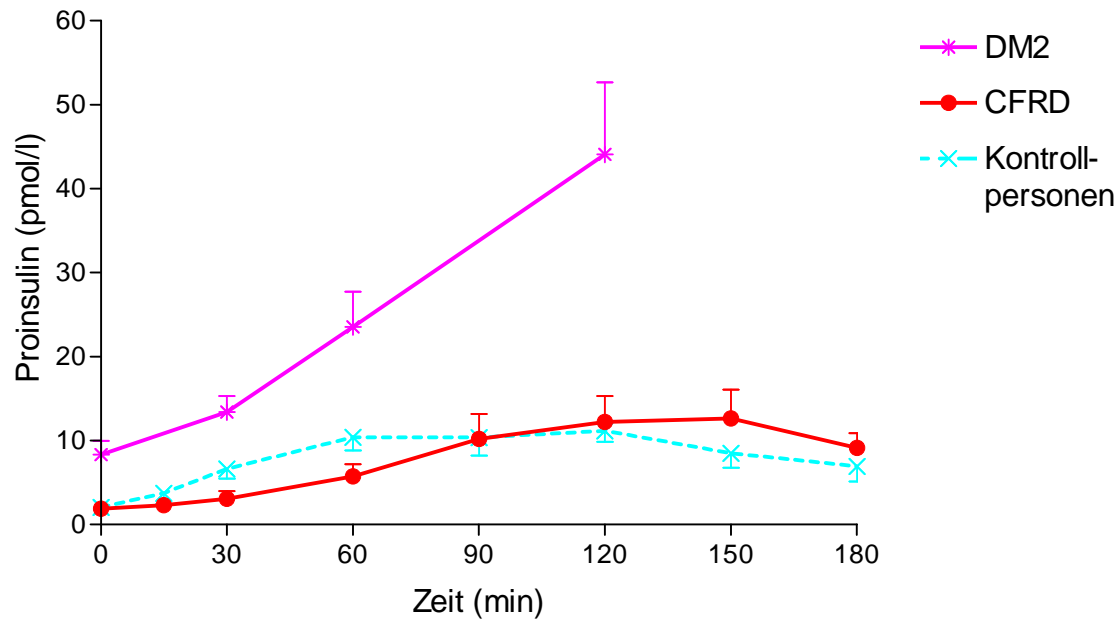


Abb. 14: Proinsulinverlauf während oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Signifikante Unterschiede wurden beobachtet für die Proinsulinkonzentrationen bei 30 min (CFDR**), 60 min (CFDR**), 120 min (CFDR*, Kontrolle**).

* vs DM2 $p < 0,05$, ** vs DM2 $p < 0,01$

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
Proinsulin nüchtern (pmol/l)	1,9 ± 1,1	2,1 ± 2,0*	8,3 ± 4,9
Proinsulin 2h-Wert (pmol/l)	12 ± 6,9*	11 ± 4,1**	44 ± 26
Proinsulin- maximalwert (pmol/l)	12 ± 6,8*	13 ± 5,1**	44 ± 26
AUC Proinsulin erste Phase 0-30 min (pmol/l)	70 ± 39**	126 ± 82*	326 ± 151
AUC Proinsulin zweite Phase 30-120 min (pmol/l)	690 ± 381**	904 ± 404*	2583 ± 1389
Proinsulin/Insulin ratio	0,07 ± 0,03	0,11 ± 0,06	0,15 ± 0,1

Tab. 18: Proinsulinwerte der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

* vs DM2 p<0,05, ** vs DM2 p<0,01

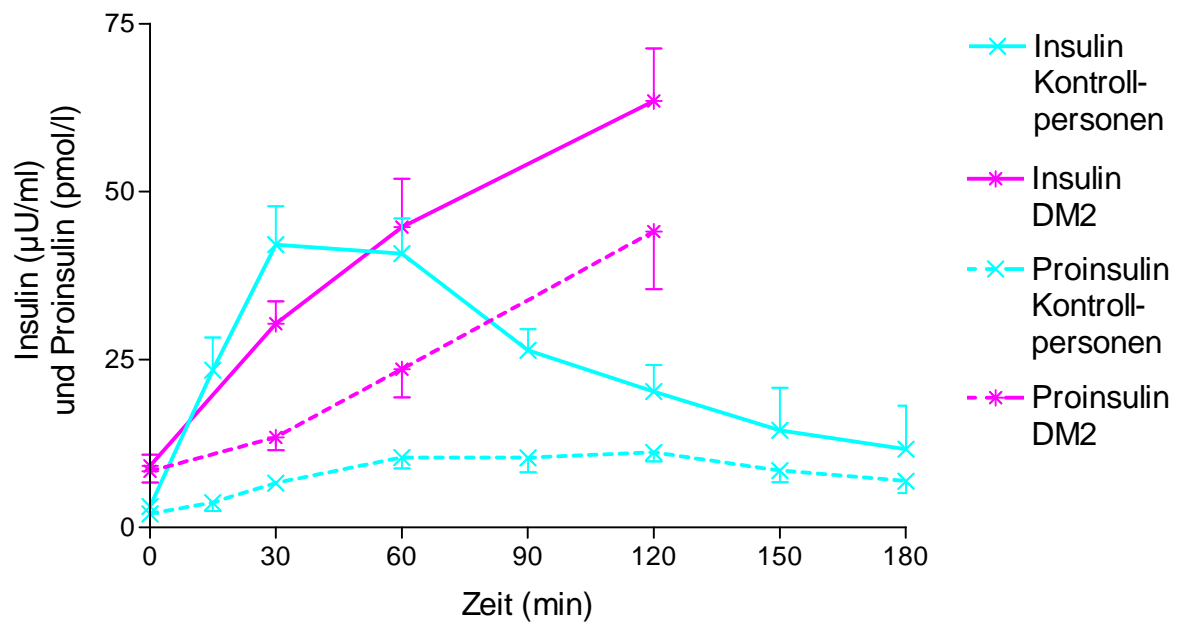


Abb. 15: Verhältnis der Insulin- und Proinsulinverläufe der Kontrollpersonen und Patienten mit DM2 im Vergleich

Signifikante Unterschiede wurden beobachtet für das Verhältnis der Insulin- und Proinsulinkonzentration (Insulin/Proinsulin) bei 30 min ($p < 0,001$) und 60 min ($p < 0,05$).

3.7 GLP-1 Spiegel während des oGTT's

3.7.1 GLP-1 Werte der Patienten mit Cystischer Fibrose

Die Nüchternwerte des aktiven GLP-1 der CF Patienten schwankten um die 5 pmol/l, wobei die NGT Gruppe mit $8,1 \pm 12$ pmol/l den höchsten und die CFRD Patienten mit $3,1 \pm 4,8$ pmol/l den niedrigsten Mittelwert hatten. Auch die Spiegel der Kontrollen fanden sich mit $5,5 \pm 4,6$ pmol/l in diesem Bereich.

Mit Beginn der Glukosebelastung zeigten alle Patienten einen Anstieg von GLP-1. Dieser war am schnellsten für die IFG Gruppe mit einem Peak bei 15 Minuten. Zu diesem Zeitpunkt fand man ebenfalls den eher kleinen Peak der Kontrollen. Der Maximalwert von NGT und CFRD lag für beide Gruppen bei 30 Minuten. Zwar zeigte sich bei IGT Patienten der Peak erst bei 60 Minuten, doch hatte diese Gruppe insgesamt die höchsten Werte.

So war der GLP-1 Maximalwert des während des oGTT für IGT Patienten mit 21 ± 17 pmol/l am größten und für CFRD Patienten mit $11 \pm 7,6$ pmol/l am niedrigsten. Die Kontrollen hatten mit $12 \pm 8,8$ pmol/l ebenfalls eher niedrige Werte.

Auch im Zweistundenwert fand man für die IGT Gruppe mit im Mittel 11 ± 10 pmol/l den höchsten Wert gefolgt von der NGT Gruppe mit $8,5 \pm 10$ pmol/l, der IFG Gruppe mit $6,2 \pm 5,7$ pmol/l und der CFRD Gruppe mit $2,2 \pm 1,5$ pmol/l. Dies war ein signifikanter Unterschied zwischen IGT und CFRD Patienten ($p < 0,05$). Die Kontrollpersonen lagen mit $7,4 \pm 4,2$ pmol/l zwischen den Werten der CF Patienten.

Während sich die NGT und IGT Gruppe in der $AUC_{GLP0-30min}$ noch glichen, war der Wert der $AUC_{GLP30-120min}$ für IGT Patienten eindeutig höher. IFG Patienten hatten für beide AUC's ähnliche hohe Werte wie die NGT Gruppe. Somit fand man die Werte der Kontrollen gegenüber diesen beiden Gruppen erniedrigt. Die GLP-1 AUC Werte der CFRD Patienten lagen um die Hälfte tiefer als für NGT Patienten und waren somit wieder von allen Probanden am niedrigsten.

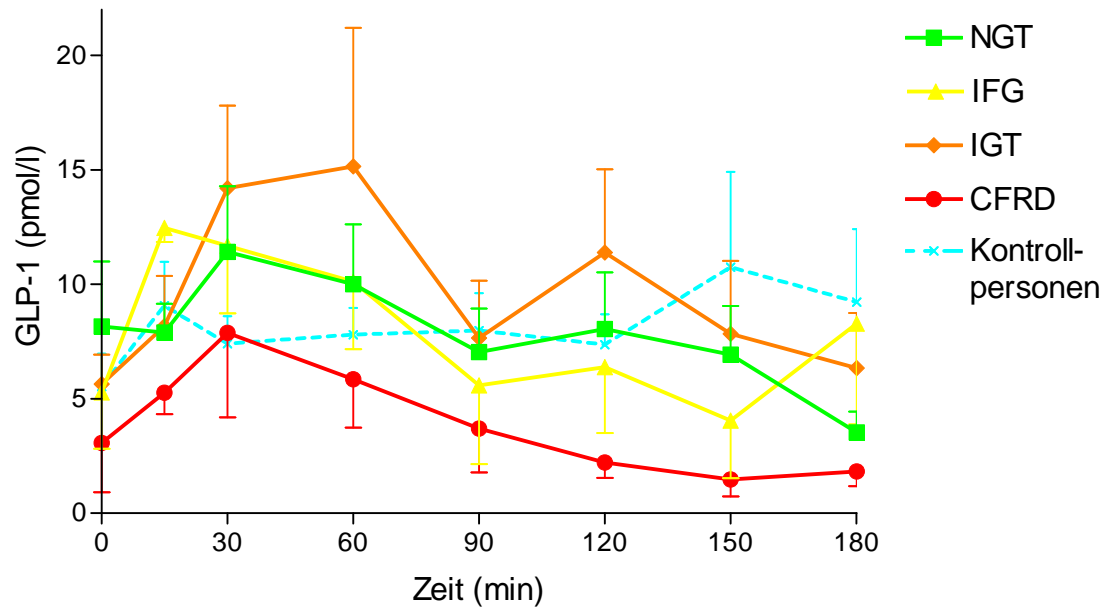


Abb. 16: GLP-1 Verlauf während des oGTT der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

Ein signifikanter Unterschied wurde beobachtet für die GLP-1 Konzentration bei 150 min (CFRD[#]).

[#] vs Kontrolle p<0,05

	NGT	IFG	IGT	CFRD	Kontrollpersonen
GLP-1 nüchtern (pmol/l)	8,1 ± 12	5,3 ± 4,9	5,6 ± 3,6	3,1 ± 4,8	5,5 ± 4,6
GLP-1 2h-Wert (pmol/l)	8,5 ± 10	6,2 ± 5,7	11 ± 10	2,2 ± 1,5 [#]	7,4 ± 4,2
GLP-1 Maximalwert (pmol/l)	13 ± 12	14 ± 2,8	21 ± 17	10 ± 7,6	12 ± 8,8
AUC GLP-1 erste Phase 0-30 min (pmol/l)	304 ± 323	267 ± 133	299 ± 177	173 ± 86	215 ± 116
AUC GLP-1 zweite Phase 30-120 min (pmol/l)	856 ± 945	809 ± 416	1206 ± 1238	469 ± 338	667 ± 317

Tab. 19: GLP-1 Werte der CF Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen

[#] vs IGT p<0,05

3.7.2 Vergleich der CF Patienten mit Diabetes mit den Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Ein Patient mit DM2 zeigte im Vergleich zu allen anderen Patienten und den gesunden Kontrollpersonen sehr stark erhöhte GLP-1 Spiegel im oGTT (0min = 13,5 pmol/l; 30min = 32,5 pmol/l; 60min = 9,7 pmol/l; 120min = 7,3 pmol/l). Da diese Werte zu einer Verzerrung der Daten von Patienten mit DM2 geführt hätten, wurde dieser Patient aus der Berechnung für die Statistik der GLP-1 Werte herausgenommen.

Die CFRD und DM2 Patienten hatten mit $3,1 \pm 4,8$ pmol/l bzw. $2,2 \pm 2,3$ pmol/l erniedrigte basale GLP-1 Werte gegenüber den Kontrollen mit $5,5 \pm 4,6$ pmol/l.

Im folgenden Anstieg der Werte nach Beginn des oGTT's zeigten die gesunden Probanden nur einen kleinen Peak nach 15 Minuten, dann aber eine Plateauphase mit erhöhten Werten bis 120 Minuten. Bei den Patienten mit CFRD und DM2 stiegen die Werte bis 30 Minuten. Anschließend fielen die Werte der DM2 Patienten wieder schnell auf den Ausgangsspiegel zurück, indessen bei CFRD Patienten die Werte langsam und auf tiefere Spiegel als im Nüchternzustand absanken.

Demzufolge konnte im Zweistundenwert der höchste GLP-1 Wert mit $7,4 \pm 4,2$ pmol/l für die Kontrollen vermerkt werden, der sich signifikant von dem der CFRD Patienten mit $2,2 \pm 1,5$ pmol/l unterschied ($p < 0,05$). Die $4,0 \pm 2,5$ pmol/l der DM2 Patienten lagen zwischen diesen Werten. Die Maximalwerte von GLP-1 waren dagegen bei den Patienten mit DM2 am niedrigsten.

Bei der $AUC_{GLP0-30min}$ und der $AUC_{GLP30-120min}$ fanden sich für die Patienten mit CFRD und DM2 verminderte Werte gegenüber den Kontrollpersonen (Tab. 20).

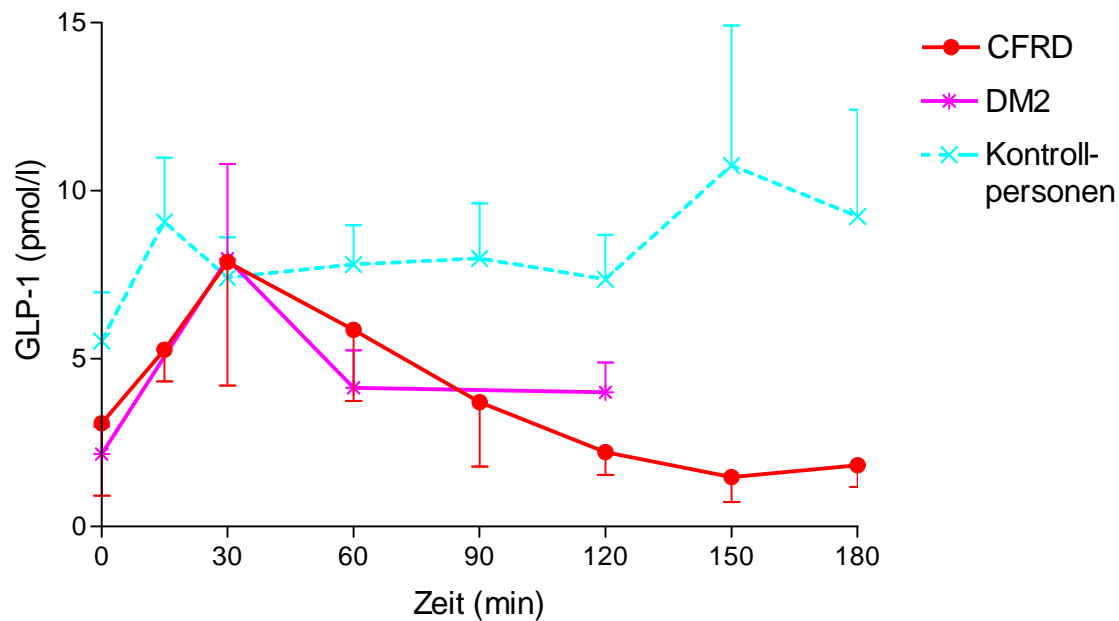


Abb. 17: GLP-1 Verlauf während des oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

Es wurden keine signifikanten Unterschiede bei den GLP-1 Konzentrationen festgestellt.

	CFRD	Kontrollpersonen	DM2
GLP-1 nüchtern (pmol/l)	3,1 ± 4,8	5,5 ± 4,6	2,2 ± 2,3
GLP-1 2h-Wert (pmol/l)	2,2 ± 1,5 [‡]	7,4 ± 4,2	4,0 ± 2,5
GLP-1 Maximalwert (pmol/l)	11 ± 7,6	12 ± 8,8	8,8 ± 7,4
AUC GLP-1 erste Phase 0-30 min (pmol/l)	173 ± 86	215 ± 116	152 ± 151
AUC GLP-1 zweite Phase 30-120 min (pmol/l)	469 ± 338	667 ± 317	426 ± 300

Tab. 20: GLP-1 Werte der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

[‡] vs Kontrolle p<0,05

4. Diskussion

Aufgrund der gestiegenen Lebenserwartung von Menschen mit CF spielt die Entstehung von Folgeerkrankungen wie zum Beispiel eines Diabetes mellitus eine immer größere Rolle. In der vorliegenden Studie konnte in einer nicht-vorselektierten Kohorte einer CF Ambulanz eine sehr hohe Prävalenz von Glukosestoffwechselstörungen festgestellt werden. Die Bestimmung der Hormonsekretion während des oGTT zeigte, dass viele CF Patienten bereits in einer sehr frühen Phase der Diabetesentstehung eine β -Zell Dysfunktion (vor allem ein Defizit der frühen Insulinsekretion) aufwiesen. Mit Fortschreiten der Erkrankung trat der Insulinmangel aufgrund der chronischen Pankreatitis immer mehr in den Vordergrund. Dagegen lag eine normale Insulinsensitivität vor und es konnte kein Hinweis auf eine Störung der enteropankreatischen Achse gefunden werden. Die hier festgestellte Korrelation zwischen Glukosemaximalwerten und dem Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index im oGTT mit der FEV1 könnte darauf hinweisen, dass eine frühzeitige Diagnose und ggf. die Einleitung einer Therapie bereits im Stadium der gestörten Glukosetoleranz den Zustand der Patienten bessern und das Auftreten von Komplikationen verzögern könnte.

4.1 Prävalenz und Screening des CFRD

Das erste Ziel dieser Arbeit war die Klärung der Prävalenz von Glukosestoffwechselstörungen in unserer CF Studienpopulation und die Frage nach der Notwendigkeit eines Screenings bzw. der dafür geeigneten Methode.

Von den 34 getesteten CF Patienten hatten 50% einen pathologischen Glukosemetabolismus. Das entsprach 12% mit einer gestörten Nüchternglukose, 23% mit einer gestörten Glukosetoleranz und 15% mit einem CF assoziierten Diabetes. Diese Daten decken sich mit der in aktuellen Studien beschriebenen Prävalenz von 40 - 50% für Glukosestoffwechselstörung bei adulten CF Patienten. (47) Allerdings war anamnestisch nur bei 8 Patienten, also 23%, eine solche Störung vor der Testung vermutet worden. Daher erscheint ein geeignetes Screening als absolut notwendig.

Im nicht aktualisierten Consensus Conference Report „Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus“ von 1999 wurde die gelegentliche Messung des Nüchternglukosespiegels als ausreichendes Mittel zum Screening genannt. (41) Bei Werten unter 126 mg/dl sei nicht von einer gestörten Nüchternglukose und somit einem Diabetes auszugehen und eine weitere dahingehende Diagnostik unnötig. Eine Ausnahme wäre das zusätzliche Vorhandensein von CFRD typischen Symptomen wie Polyurie und Polydipsie, Gewichtsverlust oder keine Gewichtszunahme unter optimierter, hochkalorischer Ernährung, Gedeihstörungen und verzögerte Pubertät, sowie unerklärbare Verschlechterung der Lungenfunktion. Andererseits wird in diesem Consensus Conference Report der CFRD in die zwei Kategorien CFRD mit (≥ 126 mg/dl) und ohne erhöhte Nüchternglukose (< 126 mg/dl) eingeteilt. Diese Unterteilung widerspricht der genannten Screeningmethode, da dabei CFRD Patienten mit normaler Nüchternglukose nicht diagnostiziert werden. So hatten auch alle von uns im oGTT durch den Zweistundenwert identifizierten CFRD Patienten keine über 126 mg/dl erhöhten Nüchternwerte, was diese Unterteilung in unserem Fall nicht notwendig machte. Auch bei den Patienten mit IGT fanden sich keine erhöhten Nüchternwerte. Somit hätte ein alleiniges Testen der Nüchternwerte mit dem Grenzwert < 126 mg/dl alle Patienten mit einer gestörten Glukosetoleranz übergangen. Zudem zeigten die 12% der CF Patienten mit erhöhter Nüchternglukose keine pathologischen Zweistundenwerte im oGTT. Auch mit diesem niedrigeren Grenzwert wären nur rund 40% der Patienten mit einer Glukoseintoleranz identifiziert worden. Demzufolge erscheint die jährliche Testung mit dem oGTT, der auch die Glukosetoleranz unter Belastung evaluiert, ratsam. Er gilt mittlerweile weitestgehend als Goldstandard zur Diagnostik einer Glukosestoffwechselstörung bei CF. (50) Im ISPAD Clinical Practice Consensus von 2008 wird ebenfalls zu einem jährlichen oGTT bei CF Patienten ab 10 Jahren geraten. (109)

Ein weiterer Diskussionspunkt ist der Einsatz des HbA_{1c} Wertes. Das Problem bei der Messung des HbA_{1c} Wertes ergibt sich vor allem aus der Tatsache, dass auch bei schon manifesten Diabetes mellitus die Werte noch im oberen Normbereich liegen können. Da auf Grund der nicht ständig vorhandenen Hyperglykämie (normale Nüchternwerte) und des erhöhten Turnover der Erythrozyten (Hypoxie, chronische Entzündung) eine veränderte Glykolysierung des Hämoglobins bei CF Patienten vorhanden ist, wird der HbA_{1c} Wert meist zu niedrig gemessen. (110) Dies war

ebenfalls in unserer Studienpopulation zu sehen. CF Patienten mit Diabetes hatten mit durchschnittlich $6,0 \pm 0,1$ % Werte am oberen Grenzbereich. Nur 3 CF Patienten wiesen einen erhöhten HbA_{1c} über dem Normwert auf. Somit wäre ein Screening mit dem HbA_{1c} fast nutzlos gewesen und hätte 80% der Patienten mit gestörtem Glukosemetabolismus übersehen. Allerdings spiegelte sich die Glukosetoleranz in der Höhe des HbA_{1c} wieder. CFRD Patienten hatten signifikant höhere Werte als NGT Patienten oder Kontrollen. Weiterhin korrelierte der HbA_{1c} mit dem Zweistunden- und Maximalwert der Glukose im oGTT. Es fand sich zusätzlich eine Korrelation zwischen HbA_{1c} und FEV₁ bzw. BMI, die eine Verschlechterung dieser klinischen Parameter mit steigendem HbA_{1c} Wert anzeigte. In der Literatur gilt der HbA_{1c} ebenfalls nicht als geeignete Methode zum Screening des CFRD, jedoch als probates Mittel zur Bewertung des Therapieverlaufs. (52)

Trotz der großen Aussagekraft des oGTT's wird immer wieder der hohe personelle und zeitliche Aufwand kritisiert. Ebenfalls ein Problem kann die mangelnde Compliance der Patienten darstellen. Ein vorheriges Einschätzen des Risikoprofils der Patienten wäre daher wünschenswert. Zum einen könnten dazu die oben beschriebenen für den CFRD typischen, klinischen Symptome dienen. Außerdem ist eine gestörte Glukosetoleranz bei CF mit weiteren Faktoren assoziiert:

- CF Patienten mit einer exokrinen Pankreasinsuffizienz haben ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Diabetes (111), während selten eine endokrine Pankreasinsuffizienz bei bestehender exokriner Funktion zu finden ist. (112) In unserem Patientengut war kein signifikanter Unterschied in der exokrinen Pankreasfunktion zwischen den verschiedenen Glukosetoleranzklassen zu sehen. Allerdings bestand noch bei 18% der NGT Patienten eine exokrine Pankreasfunktion, dagegen waren es bei den Patienten mit Glukosestoffwechselstörung nur noch 12%. Zudem erfolgte die Diagnosestellung einer exokrinen Pankreasinsuffizienz aus Daten der Krankenakte und wurde nicht durch zusätzliche Tests ausgeschlossen.
- Weiterhin ist ein Zusammenhang zwischen Mutationsklasse des CFTR Gens und Auftreten eines Diabetes beschrieben. Patienten mit der klassischen $\Delta F508$ Mutation haben ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer Glukoseintoleranz. (43) Die Aufteilung unserer Patienten nach den

Mutationsklassen ließ keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Glukosetoleranz erkennen. Jedoch könnte die begrenzte Anzahl der Patienten im studierten Kollektiv für den Beleg dieses Zusammenhangs zu klein gewesen sein. Auch der prozentuale Anteil der $\Delta F508$ Homozygoten mit 50% erschien verglichen mit den in der Literatur angegebenen 70% nicht repräsentativ. (14)

- Es ist beschrieben, dass mit zunehmendem Alter die Prävalenz des CFRD steigt. (39) Dies war auch bei unseren Patienten zu sehen. CF Patienten mit Diabetes waren um durchschnittlich sechs Jahre älter als NGT Patienten. Darüber hinaus korrelierte der Glukosemaximalwert im oGTT positiv mit dem Alter.
- In der Literatur wird für weibliche CF Patienten ein erhöhtes Risiko an Diabetes zu erkranken angegeben. (46) Laut dieser Studie erkrankten Frauen häufiger und früher an einem CFRD. In einer neuen Studie von Moran et al. konnte dieser Trend nicht mehr nachgewiesen werden. (47) Auch bei unserem Patientengut ergab sich kein Hinweis darauf, dass CF Patientinnen gefährdeter sind an einem Diabetes zu erkranken als männliche CF Patienten.

Demzufolge sollte bei exokriner Pankreasinsuffizienz, klassischer $\Delta F508$ Mutation und mit zunehmendem Alter der CF Patienten ein besonderes Augenmerk auf den Glukosestoffwechsel gerichtet werden.

Die Mortalität der Patienten mit CF assoziiertem Diabetes ist sechsmal höher als für Patienten mit normaler Glukosetoleranz. (41) Die ist unter anderem in der zunehmenden Verschlechterung der Lungenfunktion und des Ernährungszustandes durch den CFRD und seinen Vorstufen begründet. (48, 113) Der frühe Beginn einer Insulintherapie, auch schon in Stadien des Prädiabetes, kann diesen Progress aufhalten. (49, 114) Somit scheint es dringend nötig, die Diagnose einer Glukosestoffwechselstörung bei CF frühzeitig zu stellen. In Zusammenschau mit der in der vorliegenden Studie gefundenen hohen Prävalenz der Glukoseintoleranz unserer Studienpopulation und der geringen Aussagekraft von Nüchternwerten und

HbA_{1c} muss zu einem jährlich durchgeführten oGTT bei allen CF Patienten geraten werden.

4.2 Pathophysiologie des CFRD

Eine weitere Fragestellung dieser Arbeit war die Pathophysiologie des CF assoziierten Diabetes. Eine Störung der Insulinsekretion, eine Insulinresistenz und ein Defekt in der enteropankreatischen Achse standen zur Diskussion.

Bei allen CF Patienten konnten wir eine Störung der ersten Phase der Insulinsekretion mit zeitlicher Verschiebung des Insulinpeaks feststellen. Normalerweise erfolgt bei gesunden Menschen die Insulinsekretion biphasisch mit einer sehr schnellen postprandialen Insulinfreisetzung aus den Insulingranula, gefolgt von einer zweiten Phase der Steigerung der Insulinproduktion und -sekretion in Abhängigkeit von der Höhe des Glukosespiegels. Sehr interessant war, dass sowohl die Nüchtern Insulin- und Proinsulinspiegel als auch die maximalen Insulinspiegel und die gesamte Insulinsekretionsrate ($AUC_{\text{Insulin}0-120 \text{ min}}$) während des oGTT nicht unterschiedlich waren zwischen den Kontrollen und den CF Patienten mit NGT, IFG oder IGT. Nur bei den Patienten mit CFRD wurden verminderte Insulinmaximalwerte und AUC-Werte als Ausdruck des generellen Defizits an Insulin beobachtet. Dieser Befund zeigt klar, dass in der Frühphase der Diabetesentwicklung bei CF kein absoluter Insulinmangel sondern eine Störung der Insulinsekretion vorliegt.

Auch bei den DM2 Patienten fand sich erwartungsgemäß nur ein relativer Insulinmangel mit gegenüber den Kontrollen und CF Patienten erhöhten Insulinwerten. In der Literatur wird meist die Zerstörung der β -Zellen als Hauptursache dieses Insulinmangels bei CFRD genannt. (41) Durch die chronische Pankreatitis mit Fibrosierung und Verfettung gehen im Verlauf der Grunderkrankung immer mehr Langerhans'sche Inseln zugrunde. Es kommt zur Insulinpflichtigkeit vergleichbar mit dem Typ 1 Diabetes (DM1), bei dessen Manifestation eine Zerstörung der β -Zellen von 80 – 90 % vorliegt und nur noch eine kleine Insulinrestsekretion vorhanden ist. Zwar korreliert bei CF Patienten eine abnehmende Anzahl an Inselzellen mit einer zunehmenden Glukoseintoleranz (64), jedoch bleibt anders als beim DM1 ein Rest an β -Zellen bestehen. (115) Eine

autoimmune Genese wie beim DM1 besteht bei CF Patienten mit Diabetes nicht. Weder eine genetische Assoziation mit HLA Klasse II Molekülen (DR3 und DR4), noch immunologische Marker wie spezifische Autoantikörper, die den Autoimmunprozess bei DM1 anzeigen, konnten bei CFRD Patienten nachgewiesen werden. (116)

Auch scheint die Entwicklung des Diabetes bei CF ähnlich dem DM2 über die Vorstufe der pathologischen Glukosetoleranz vonstatten zu gehen. Schon bei den laut oGTT in die NGT Gruppe eingestuften Patienten konnten wir Störungen im Glukosemetabolismus finden, wie zum Beispiel gegenüber den Kontrollpersonen erhöhte Glukosemaximalwerte. Denn bei allen CF Patienten war eine verminderte Insulinsekretion in der ersten Phase des oGTT zu beobachten, was sich insbesondere in den erniedrigten Werten der $AUC_{Ins0-30min}$, sowie dem Insulinogenic Index und dem Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index im Vergleich zur Kontrollgruppe widerspiegelte. Zwar hatten bei diesen Indizes unsere CF Patienten mit Diabetes die schlechtesten Werte, trotzdem konnte auch für die übrigen CF Gruppen, insbesondere für die IGT Patienten, eine Abnahme der β -Zell-Funktion in der frühen Sekretionsphase festgestellt werden.

Andere Studien haben die frühe Störung der Insulinsekretion bei CF auch bei Testungen mit dem ivGTT nachgewiesen. (117) Dieses Defizit in der ersten Phase wurde bei unseren Patienten nicht durch eine verzögerte Glukoseresorption im Sinne einer bei CF beschriebenen Gastroparese (118) vorgetäuscht. Alle Probanden hatten einen gleich schnellen und starken Anstieg der Blutzuckerkurve nach Glukosebelastung im oGTT, der auch bei den CF Patienten zu einer schnellen Insulinantwort hätte führen müssen. Dagegen erhöhte sich bei den CF Patienten die Verzögerung der Insulinausschüttung mit zunehmender Glukoseintoleranz. Der Insulinpeak der Kontrollpersonen lag nach einem raschen Anstieg bei 30 Minuten. Er verschob sich bei NGT Patienten nach 60 Minuten, bei IFG und IGT Patienten nach 90 Minuten und bei CFRD Patienten sogar bis nach 120 Minuten. Diese Daten decken sich gut mit in der Literatur beschriebenen Werten. Moran et al. fanden eine Verzögerung der Insulinsekretion auf 30 - 120 Minuten bei NGT, 60 - 120 Minuten bei IGT und 150 Minuten bei CFRD Patienten im Gegensatz zum Insulinpeak der Kontrollen bei 20 - 60 Minuten. (63) Die erste Phase der Insulinsekretion als schnelle Antwort circa 5 Minuten nach einer Glukosebelastung dient vor allem der Unterdrückung der Glukoneogenese in der Leber, sowie der Stimulation der

peripheren Glukoseaufnahme. (119, 120) Demzufolge kam es bei unseren CF Patienten zu einem stärkeren Anstieg der Blutzuckerwerte als bei den Kontrollpersonen, was schon für die NGT Patienten zu bemerken war. Als Reaktion auf diese erhöhten Blutzuckerspiegel könnte es zu einer anschließend inadäquat vermehrten Ausschüttung von Insulin und folgend zu den beobachteten Hypoglykämien gekommen sein. Zusätzlich könnte bei der Entstehung dieser postprandialen Hypoglykämien der bei CF beschriebene Mangel an Glucagon eine Rolle gespielt haben. (63)

Diese Hypothesen können durch Befunde von Patienten mit einem durch chronische Pankreatitis induzierten Diabetes unterstützt werden. In diesem Patientengut wurde ebenfalls eine hohe Prävalenz des Diabetes von 40 – 70% mit einer steigenden Inzidenz im Verlauf von 10 Jahren nach Diagnose der chronischen Pankreatitis beschrieben. (121) Bei chronischer Pankreatitis besteht ein enger Zusammenhang zwischen der verminderten Insulinsekretion und der morphologischen Zerstörung des Pankreas sowie der exokrinen Funktion. Durch die Zerstörung des Pankreasparenchyms kommt es zum Verlust der β -Zellen und die Empfindlichkeit gegen Glukose ist aufgrund einer verminderten perisinuoidalen Diffusion herabgesetzt. (121) Schon bei Patienten mit unauffälliger oGTT Testung zeigte sich eine verminderte Insulinsekretion, gemessen am C-Peptid Wert. (123) Trotzdem ist wie bei CFRD Patienten die β -Zell Funktion und Glukoseregulation bei Patienten mit chronischer Pankreatitis besser erhalten als bei DM1 Patienten. (122) Wie bei CF Patienten leiden Patienten mit chronischer Pankreatitis ebenfalls an häufigen Hypoglykämien, die eventuell aufgrund eines Glucagonmangels auftreten.

Aufgrund unserer Daten ist zu vermuten, dass der Insulinmangel aufgrund von β -Zell Destruktion den zentralen Punkt in der Pathogenese des CF assoziierten Diabetes darstellt. Dennoch lassen sich die genannten Störungen in der frühen Phase der Insulinsekretion bei CF Patienten dadurch nicht vollständig erklären und auch die Ergebnisse der $AUC_{Ins30-120}$ sprechen gegen einen absoluten Insulinmangel als einzigen Pathomechanismus. Vor allem IFG und IGT Patienten zeigten nach dem anfänglich zu geringen Insulianstieg eine gegenüber den Kontrollpersonen vermehrte Sekretion in der späten Phase. Sogar bei den CFRD Patienten war noch ein leichter Anstieg der Insulinwerte zu sehen, der bei einem absoluten Insulinmangel wie beim Typ 1 Diabetes oder kompletten Pankreasdestruktion nicht

mehr möglich wäre. Daher scheint ein weiterer Pathomechanismus vorhanden zu sein, der vor allem in den frühen Stadien der Glukoseintoleranz zum Tragen kommt. Neuere Studien versuchen die Entstehung des CFRD und seiner Vorstufen auf zellulärer Ebene zu erklären. 2007 konnten Boom et al. die Expression des CFTR in Inseln des Pankreas von Ratten mittels mRNA aus isolierten Inseln und durch Immunhistologie beweisen. (124) Mit immunzytochemischen Methoden wurde gezeigt, dass das CFTR-Protein vor allem in Alpha-Zellen und weniger in β -Zellen vorhanden ist. Trotz der geringeren Expression in β -Zellen könnte CFTR über seine regulatorische Wirkung auf andere Chlorid- und Natriumkanäle und den intrazellulären Vesikeltransport (23-25) Einfluss auf die Insulinsekretion haben. Die fehlende Funktionalität oder das Defizit des CFTR Proteins bei Mukoviszidose könnte zum Beispiel durch gestörte Kanalfunktionen zu einer Änderung des Membranpotentials führen, die sich direkt auf die Freisetzung der Insulingranula auswirkt. (67) Die Insulinfreisetzung ist abhängig von einem Calciumeinstrom durch spannungsabhängige Calciumkanäle, welcher durch eine Membrandepolarisation ausgelöst wird. Zusätzlich konnten Stalvey et. al. nachweisen, dass ein Fehlen des CFTR in den Inselzellen in direktem Zusammenhang mit einer β -Zell Dysfunktion steht. (67) Sie induzierten sowohl in CFTR knockout Mäusen ($CFTR^{-/-}$) als auch in zwei Kontrollstämmen (C57BL/6J und FVB/NJ Mäuse) mit einer geringen Dosis von Streptozotocin (STZ) eine inflammatorische Reaktion mit daraus folgendem β -Zell Schaden. Obwohl bei allen drei Stämmen die Anzahl der Inseln durch STZ Gabe vermindert wurde, war nur die Nüchternglukose bei den $CFTR^{-/-}$ Mäusen erhöht und nur bei diesem Stamm war eine negative Korrelation der Nüchternglukose mit der Inselzellanzahl zu finden. Auch in einem intraperitonealen Glukosetoleranztest zeigten die mit STZ behandelten $CFTR^{-/-}$ Mäuse deutlich höhere Glukosewerte als die Kontrollstämmen. Die Veränderung der Glukosetoleranz durch andere CF spezifische Probleme, wie eine Entzündung der Luftwege, wurde ausgeschlossen. Somit gehen die Autoren von einer Störung der β -Zell Funktion, begründet allein im Fehlen des CFTR Proteins, aus. Auf dieser Grundlage könnten die in der vorliegenden Studie beobachteten β -Zell Dysfunktionen der NGT und vor allem der IGT Patienten erklärt werden, bei denen noch kein absoluter Insulinmangel zu finden ist.

Eine weitere Studie von Ntimbane et al. stellt einen Zusammenhang zwischen β -Zell Dysfunktion und vermehrtem oxidativen Stress bei CF her. (125) Durch die

Ernährungsproblematik bei Mukoviszidose mit exokriner Pankreasinsuffizienz kann es trotz Enzymsubstitution zu einem Mangel an fettlöslichen, antioxidativen Vitaminen kommen. (126) Zusätzlich dient CFTR als Transporter für das wichtige Antioxidans Gluthation (GSH) (127) und es wurde ein systemischer Mangel an GSH bei CF Patienten gefunden. (128) Das aus diesen Faktoren entstehende Ungleichgewicht zwischen Pro- und Antioxidantien könnte zu Funktionsstörung und letztlich Zerstörung der empfindlichen β -Zellen führen und eine frühe Glukoseintoleranz bei CF Patienten vermitteln.

Ebenfalls auf zellulärer Ebene spielt sich die Problematik der Amyloidablagerung ab, die wie beim DM2 auch bei CF Patienten beschrieben sind. (65) Die zytotoxischen Effekte des Amyloids durch Zerstörung der Zellmembranen und Induktion der Apoptose (129) könnten zur weiteren β -Zell Destruktion beitragen.

Die Störung in der frühen Phase der Insulinsekretion und der darauf reaktive starke Anstieg der Insulinausschüttung bei den IGT Patienten erinnern ebenfalls an die Pathogenese des DM2 und waren auch bei unseren DM2 Patienten zu beobachten. Der Verlauf der Proinsulinwerte zeigte ebenfalls Ähnlichkeiten zwischen IGT und DM2 Patienten. Beide Gruppen hatten im Verhältnis zu den Insulinwerten erhöhte Proinsulinwerte im Vergleich zu Kontrollpersonen und NGT Patienten. Zwar überschritten die gemessenen Nüchternwerte des Proinsulins nicht den Grenzwert von 10 pmol/l, jedoch kann die gefundene Erhöhung der Proinsulinwerte nach Glukosebelastung trotzdem als Hinweis auf eine qualitative Sekretionsstörung im Sinne einer Prozessierungsstörung des Insulins gewertet werden. Diese Störungen treten beim DM2 im Rahmen von β -Zell Stress und Dysfunktion begründet in der Insulinresistenz auf. Die Insulinresistenz, ein weiterer, wichtiger Faktor in der Entstehung des DM2, könnte auch bei CF Patienten neben Insulinmangel und Sekretionsstörung zur Manifestation einer Glukoseintoleranz beitragen.

Alle Indizes zur Bewertung der Insulinsensitivität zeigten eine erhöhte Insulinresistenz unserer getesteten DM2 Patienten an. Auch ihre erhöhten Glukose- und Insulinnüchternwerte deuteten auf das Problem der mangelnden Sensitivität hin. Dagegen konnten wir bei unseren CF Patienten mit keinem Index eine Insulinresistenz nachweisen. Dies deckt sich gut mit den Ergebnissen einer neueren Studie von Mohan et. al. (72) Die Frage nach der Insulinresistenz bei CF ist immer noch umstritten und verschiedene Studien kamen zu den unterschiedlichen

Ergebnissen. Einige Studien berichten über eine erniedrigte Insulinsensitivität bei CF (69, 70), andere über eine normale (71, 72) oder sogar erhöhte Insulinresistenz. (73, 74) Die Unterschiede der Ergebnisse entstehen wahrscheinlich durch verschiedene Testmethoden und der fehlenden Einheitlichkeit der Studiengruppen. Eine Insulinresistenz bei CF Patienten könnte jedoch auch intermittierend bei physischem Stress wie Infektionen oder Steroid-Behandlungen auftreten. (42) Bei Nicht-CF Patienten ist eine Kopplung der Insulinresistenz an eine systemische Entzündung, gemessen am CRP Wert, beschrieben. (130) Für unsere CF Patienten zeigte sich zwar keine Korrelation des CRP Wertes mit den drei Insulinsensitivitätsindizes aber eine Assoziation zwischen CRP und den Glukosemaximalwerten. Die erhöhten CRP Werte der glukoseintoleranten Patienten gegenüber der NGT Gruppe und den Kontrollpersonen könnten auch einem allgemeinen Fortschreiten der Grunderkrankung und einer dabei bestehenden chronischen Entzündungsreaktion der Lungen entsprechen. Zusätzlich könnten in der vorliegenden Studie durch die Ausschlusskriterien orale Steroidbehandlung und akute Exazerbation der Lungenerkrankung der Problematik einer durch Stress induzierten Insulinresistenz entgegengewirkt haben. Auch wenn nur die Patienten mit erhöhter Nüchternglukose betrachtet wurden, bei denen eine basale Insulinresistenz zu den pathologischen Werten geführt haben könnte, wurden keine höheren CRP Werte oder veränderte Resistenzindizes im Vergleich zur den gesunden Kontrollen beobachtet. Insgesamt sprechen all diese Ergebnisse gegen eine große Bedeutung einer Insulinresistenz in der Pathogenese der Diabetesentwicklung bei CF Patienten.

Neben Sekretionsstörungen und Insulinresistenz ist ein weiterer Pathomechanismus bei der Entstehung des DM2 die Störung der enteropankreatischen Achse. Die durch GLP-1 und GIP vermittelte Insulinausschüttung nach einer Glukosebelastung oder Mahlzeit, der sogenannte Inkretineffekt, kann bei DM2 Patienten um bis zu 50% vermindert sein und führt so zu postprandialen Hyperglykämien. (95, 96) Auch dieser Mechanismus kommt für den Verlust der Glukosetoleranz bei CF in Betracht, vor allem da bei CF Patienten vielfältige Probleme im Magen-Darm-Trakt wie Entzündungen und Motilitätsstörungen bekannt sind. (131) Zudem wäre es möglich, dass das defekte CFTR Gen auch in den enteroendokrinen Zellen des Darmes exprimiert wird.

In unserer Studie konnte kein signifikanter Unterschied in den nüchtern und oGTT GLP-1 Konzentrationen zwischen Kontrollpersonen und CF Patienten gefunden werden. Auffällig war allerdings, dass CFRD Patienten niedrigere Werte als die Kontrollen hatten, während alle anderen CF Gruppen höhere Werte als die Kontrollen aufwiesen. Wie erwartet lagen die GLP-1 Spiegel der DM2 Patienten unter denen der Kontrollpersonen. Insgesamt waren die GLP-1 Werte jedoch niedrig. In der Literatur werden Nüchternspiegel mit 5 – 10 pmol/l und postprandiale Spiegel mit 15 – 50 pmol/l angegeben. (92) Unsere Patienten lagen mit einem Mittelwert der Nüchternspiegel von 3 – 8 pmol/l und der Maximalwerte von 10 – 21 pmol/l im unteren Bereich. Das Problem der kurzen Halbwertszeit von GLP-1 könnte dabei eine Rolle gespielt haben. Das aktive GLP-1 wird mit einer Halbwertszeit von ein bis zwei Minuten durch die DPP-IV abgebaut. Wir haben versucht, durch Hinzufügen des Proteasenhemmers Aprotinin und eines DPP-IV-Inhibitors sowie möglichst raschem Kühlen und Einfrieren des Plasmas den rapiden Abbau des GLP-1 zu unterbrechen. Trotzdem besteht die Möglichkeit falsch niedriger Messungen durch zu schnelle Degradation des Darmpeptids. Dennoch lassen die gemessenen Werte den Rückschluss zu, dass bei CF Patienten mit normaler oder leicht gestörter Glukosetoleranz die Funktionalität der enteropankreatischen Achse erhalten ist. Die verminderten Werte bei CFRD Patienten bedürfen einer weiteren Evaluierung an einem größeren Patientengut. Weiterhin könnte ein Assay zur Messung der gesamten GLP-1 Werte inklusive der inaktiven Metabolite Aufschluss über die allgemeine Sekretionsleistung der L-Zellen geben.

Zusammenfassen weisen die Daten unsere Studie darauf hin, dass die Glukoseintoleranz bei CF Patienten nicht auf Grund einer Insulinresistenz oder einer Störung der enteropankreatischen Achse entsteht. Im Vordergrund steht die chronische Destruktion der β -Zellen und die bereits in sehr frühen Phasen auftretende Dysfunktion der Betazellen im Sinne einer Störung der ersten Phase der Insulinsekretion.

4.3 Klinischer Einfluss und Diagnose des CFRD

In vorangehenden Studien wurde oftmals beschrieben, dass die Glukosestoffwechselstörungen bei CF den klinischen Zustand der Patienten deutlich verschlechtern. (44, 45) Daher war es ein weiteres Ziel unserer Studie den Einfluss der Glukosetoleranz auf die Lungenfunktion und den Ernährungszustand unserer CF Patienten zu bestimmen.

Aufgrund der relativ kleinen Fallzahlen konnte keine signifikante Korrelation zwischen den verschiedenen Stadien der Glukosetoleranz bei CF Patienten und dem Ernährungszustand, gemessen am BMI, oder der Lungenfunktion, gemessen als FEV1, nachgewiesen werden. Es zeigte sich aber ein Trend zwischen der Stärke der Störung im Glukosemetabolismus und erniedrigtem BMI sowie reduzierter FEV1.

Patienten mit CF haben schon aufgrund Ihrer Grunderkrankung mit chronischer Entzündung und vor allem erhöhter Atemarbeit einen gesteigerten Energiebedarf. Außerdem kann es durch eine unzureichende Enzymsubstitution bei exokriner Pankreasinsuffizienz zu einer Mangelernährung kommen. Durch hyperglykämische Blutzuckerwerte kann es bei Überschreiten der Nierenschwelle zur Ausscheidung von Glukose und damit Energieverlust kommen. Der CFRD verursacht durch das Defizit an dem anabolen Hormon Insulin zusätzlich eine Störung des Proteinmetabolismus. Der resultierende Proteinabbau führt zu weiterem Gewichtsverlust. (132) Durch eine adäquate Insulintherapie kann diesem Fortschreiten der Erkrankung entgegen gewirkt werden. (49)

Die Verschlechterung der Lungenfunktion (FEV1) bei Patienten mit gestörter Glukosetoleranz korrelierte signifikant sowohl mit dem Insulinogenic Index, als auch mit dem Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index. Hyperglykämien können durch zellulären Stress und Struktur-änderungen des Gewebes einen direkten Lungenschaden nach sich ziehen. (39) Dies wurde auch schon für DM2 Patienten nachgewiesen. (133) Eine Abnahme der Lungenfunktion ist bis zu sechs Jahre vor der Diagnose eines CFRD zu messen. (48) Außerdem kann eine frühzeitige Insulintherapie schon in der prädiabetischen Phase das Fortschreiten der Lungenbeteiligung aufhalten. (114) Daher wäre es von Vorteil möglichst früh eine Störung in der Glukosetoleranz der CF Patienten zu erkennen. Eine aktuelle Studie zeigt, dass die Aussagekraft des Zweistundenwertes im oGTT bei CF nicht unbedingt

mit den typischen Komplikationen wie schlechtem Ernährungszustand und verminderter Lungenfunktion korreliert. (134) Eine subkutane, kontinuierliche Blutzuckermessung bzw. die Maximalwerte im oGTT sind anscheinend besser geeignet. Diese Korrelation zwischen Maximalwerten der Glukose im oGTT und Abfall der Lungenfunktion war auch in unserer CF Gruppe zu sehen. Gleichzeitig traten bei einzelnen Patienten, die laut oGTT in die NGT Gruppe eingeteilt wurden, in der frühen Phase des oGTT stark erhöhte Glukosemaximalwerte über 200 mg/dl auf. Für CF Patienten mit laut Diagnosekriterien normaler Glukosetoleranz sind schon in der Literatur veränderte Blutzucker- und Insulinspiegel beschrieben worden. (135) Die Einteilung in die verschiedenen Kategorien der Glukosetoleranz für CF Patienten mittels oGTT wurde 1999 im Consensus Conference Report der Cystic Fibrosis Foundation festgelegt. (41) Die Klassen wurden entsprechend der Definitionen für DM2 Patienten der American Diabetes Association erstellt. Diese Grenzwerte beziehen sich auf den Blutzuckerspiegel, ab dem Komplikationen, vor allem die mikrovaskulären Erkrankungen (Retinopathie, Nephropathie), zu erwarten sind. (136) Mikroangiopathien wurden auch bei CFRD Patienten berichtet. (55-57) Da aber bei CF Patienten andere Parameter wie das Gesamtkörpergewicht entscheidend sind für die Prognose, sind die bei DM1 oder DM2 etablierten Grenzwerte für Patienten mit CF nicht sicher belegt. Einerseits erscheint es sinnvoll, diese allgemein gängigen Werte auch bei CF zu nutzen, da es eine Vergleichbarkeit zwischen den verschiedenen Studien zum Thema Diabetes mellitus schafft. Andererseits wären spezifisch auf CF typische Komplikationen zugeschnittene Diagnosekriterien wünschenswert. Einige Studien haben sich bei CF mit der oben genannten Möglichkeit der kontinuierlichen, subkutanen Blutzuckermessung beschäftigt. (137, 138) Diese neue Methode scheint Glukosestoffwechselstörungen schon früh zu erkennen, auch wenn Patienten im oGTT noch als normal einzustufen sind. Allerdings stellt sich die Frage, ob die Methode zum routinemäßigen Gebrauch in einer Ambulanz geeignet ist.

Unsere Daten und die Ergebnisse anderer Studien weisen darauf hin, dass dringend notwendig ist Untersuchungen über die Grenzwerte für die Diagnose dieses komplexen Krankheitsbildes bei CF durchzuführen. Momentan scheint es ratsam bei CF Patienten nicht nur die Standardwerte des oGTT, sondern den kompletten Blutzuckerverlauf während der Glukosebelastung zu bewerten. Dadurch könnte ggf. eine Gruppe von CF Patienten identifiziert werden, die von einer frühzeitigen

Therapie mit Insulin hinsichtlich einer Verbesserung des klinischen Zustands und der Vermeidung von Komplikationen profitieren könnte. Diese Hypothese muss natürlich in prospektiven klinischen Studien untersucht werden.

5. Zusammenfassung

Die Cystische Fibrose ist mit einer Inzidenz von circa 1 zu 2500 die häufigste autosomal rezessive Erbkrankheit in der weißen Bevölkerung. Sie entsteht durch eine Mutation im CFTR-Gen, die zum Funktionsverlust eines Chloridkanals in der apikalen Zellmembran von Epithelzellen führt. Da die Lebenserwartung von CF Patienten steigt, entwickeln immer mehr Patienten chronische Komplikationen wie z.B. den CF-assoziierten Diabetes (CFRD). Der CFRD ist zur häufigsten Komorbidität der CF geworden und wird vor allem durch den negativen Einfluss auf Lungenfunktion und Ernährungszustand der Patienten problematisch.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Prävalenz von Glukosestoffwechselstörungen in einer nicht vorselektionierten Gruppe von erwachsenen CF Patienten (n=34) im Vergleich zu neu-diagnostizierten Patienten mit Typ 2 Diabetes (n=9) und gesunden Kontrollpersonen (n=10) mittels oGTT untersucht. Desweiteren wurde durch Messung von Insulin, intaktem Proinsulin, intaktem GLP1 und der Bestimmung verschiedener Indices für die β -Zellfunktion und die Insulinresistenz mögliche pathophysiologische Mechanismen in verschiedenen Stadien der Glukosetoleranzstörung untersucht.

Bei den CF Patienten (Alter $30,2 \pm 8$ Jahre, BMI $20,9 \pm 2,5$ kg/m²) zeigten 50% der Patienten eine gestörte Glukosetoleranz (12% IFG, 23% IGT, 15% neu diagnostizierter CFRD). Im oGTT war der maximale Insulinpeak und die totale Insulinsekretionskapazität nicht unterschiedlich in den CF-Gruppen ($AUC_{\text{insulin}0-120\text{min}}$ NGT: 3296 ± 547 $\mu\text{U/ml}$, IFG: 3694 ± 809 $\mu\text{U/ml}$, IGT: 3337 ± 535 $\mu\text{U/ml}$, CFRD: 2387 ± 318 $\mu\text{U/ml}$) und den Kontrollpersonen (3704 ± 335 $\mu\text{U/ml}$).

Bei CF-Patienten war ähnlich wie bei DM2 Patienten eine verminderte erste Phase der Insulinsekretion und eine zeitliche Verschiebung des Insulinpeaks nachweisbar, die mit der Verschlechterung der Glukosetoleranz assoziiert war (Stumvoll-FPIR NGT: 450 ± 291 ; IFG: 252 ± 203 ; IGT: 309 ± 254 ; CFRD: 18 ± 41 ; Kontrollen: 950 ± 388). Die Insulinsekretion korrelierte invers mit dem Glukoseprofil, so dass bei IFG und IGT hohe postprandiale Glukosespiegel innerhalb der ersten 60 Minuten und ein Blutzuckerabfall nach 120-180 min zu beobachten waren. Die Proinsulinspiegel und die GLP-1 Spiegel im oGTT waren nicht unterschiedlich im Vergleich zu den gesunden Kontrollen. Im Gegensatz zu den DM2 Patienten konnte bei CF Patienten keine deutliche Insulinresistenz festgestellt werden. Bei den CF Patienten war eine

Verschlechterung der Lungenfunktion und des Ernährungszustandes mit zunehmender Glukoseintoleranz zu sehen. Hohe maximale Glukosespiegel ($r_s = -0,50$, $p = 0,002$), der Insulinogenic Index ($r_s = 0,36$, $p < 0,04$) und der Stumvoll's First Phase Insulin Secretion Index ($r_s = 0,42$, $p < 0,02$) korrelierten mit einer verminderten FEV1.

Unsere Daten zeigen, dass die Prävalenz einer IGT und eines CFRD noch immer unterschätzt wird, so dass ein Routinescreeningprogramm mittels oGTT unbedingt durchgeführt werden sollte. Bei CF liegt keine klassische absolute Insulinopenie sondern eine Störung der Betazellfunktion bei normaler GLP-1 Sekretion vor. Die Kinetik der Insulinsekretion erklärt den klinischen Phänotyp mit sehr hohen postprandialen Glukosewerten und der Neigung zu niedrigen bis hypoglykämischen Werten in der späten postprandialen Phase. Der beobachtete Trend zwischen einer Glukosetoleranzstörung und einem verschlechtertem klinischen Status (FEV1, BMI) könnte bedeuten, dass CF-Patienten früher behandelt werden sollten und evtl. bereits in der IGT-Phase von einer Insulintherapie profitieren. Dies muss in klinischen Studien untersucht werden.

6. Abkürzungsverzeichnis

Abb. = Abbildung

ADA = American Diabetes Association

AG = Antigen

AK = Antikörper

Anti-IA-2-AK = Antikörper gegen die Tyrosinphosphatase 2

AUC = Area under the curve

BMI = Body Mass Index

cAMP = cyclisches Adenosinmonophosphat

CF = Cystische Fibrose

CFRD = CF assoziierter Diabetes mellitus, CF related diabetes (engl.)

CFTR = Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

CRP = C-reaktives Protein

CT = Computertomographie

DDG = Deutsche Diabetes Gesellschaft

DM1 = Diabetes mellitus Typ 1

DM2 = Diabetes mellitus Typ 2

DPPIV = Dipeptidyl Peptidase IV

ECFS = European Cystic Fibrosis Society

ECFTN = European Cystic Fibrosis Thematic Network

EDTA = Ethylendiamintetraessigsäure

ELISA = Enzyme-linked Immunosorbent Assay

engl. = englisch

FEV1 = Einsekundenkapazität, Forced Expiratory Volume in 1 second (engl.)

frz. = französisch

GADA = Glutaminsäure Decarboxylase-AK

GIP = Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide

GLP-1 = Glucagon Like Peptide 1

GLP-2 = Glucagon Like Peptide 2

GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase

GRPP = Glicentin-related Pancreatic Polypeptide

GSH = Gluthation

HbA_{1c} = Glykosyliertes Hämoglobin A1

HLA = Human Leukocyte Antigene
HOMA = Homeostatic Model Assessment
IAA = Insulin-Auto-AK
ICA = cytoplasmatische Inselzell-AK
ICF (M) = International Cystic Fibrosis (Mucoviscidosis) Association
IFG = gestörter Nüchternblutglukose, impaired fasting glucose (engl.)
IGT = gestörter Glukosetoleranz, impaired fasting glucose (engl.)
ISPAD = International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes
 ISI_{est} = Index nach Matsuda
 $ISI_{stummvoll}$ = Stummvoll's Insulin Sensivity Index
ivGTT = intravenöser Glukosetoleranztest
KI = Konfidenzintervall
LMU = Ludwig-Maximilians-Universität
MPF = Major Proglucagon Fragment
NGT = normale Glukosetoleranz, normal glucose tolerance (engl.)
oGTT = oraler Glukosetoleranztest
Rö-Thorax = Röntgen Thorax
 r_s = Spearman's Korrelationsindex
SI = Internationale Einheitensystem, Système international d'unités (frz.)
STZ = Streptozotocin
Tab. = Tabelle
WHO = World Health Organization
 γ GT = γ -Glutamyltransferase

7. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** Weltweite Inzidenz der Cystischen Fibrose aus "The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. Report of a joint meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)/ECFS" (6)
- Abb. 2:** Mutationsklassen der Cystischen Fibrose aus Zielenski J et al. (11)
- Abb. 3:** Alternative posttranslationale Prozessierung von Proglukagon in Pankreas, Darm und Gehirn; aus Kieffer T. J. und Habener J. F. (99)
- Abb. 4:** Blutzuckerlauf während eines oGTT bei einer gesunden Person
- Abb. 5:** Blutzuckerlauf während des oGTT der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 6:** AUC Glukose 0-30 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 7:** AUC Glukose 30-120 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 8:** Blutzuckerlauf während des oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit DM2
- Abb. 9:** Insulinverlauf während des oGTT der CF Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 10:** AUC Insulin 0-30 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 11:** AUC Insulin 30-120 min der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 12:** Insulinverlauf während des oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2
- Abb. 13:** Proinsulinverlauf während des oGTT der CF Patienten und gesunden Kontrollpersonen
- Abb. 14:** Proinsulinverlauf während oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2
- Abb. 15:** Verhältnis der Insulin- und Proinsulinverläufe der Kontrollpersonen und Patienten mit DM2 im Vergleich
- Abb. 16:** GLP-1 Verlauf während des oGTT der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen

Abb. 17: GLP-1 Verlauf während des oGTT bei CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2

8. Tabellenverzeichnis

- Tab. 1:** Manifestationen der Cystischen Fibrose, modifiziert nach Farrell P. et al. (20)
- Tab. 2:** Diagnosekriterien des Diabetes mellitus bei CF Patienten laut Consensus Conference Report der Cystic Fibrosis Foundation von 1999 (41)
- Tab. 3:** Vergleich des Diabetes bei CF (CFRD) mit Diabetes Typ 1 (DM1) und Typ 2 (DM2), modifiziert nach Costa M. et al. (40)
- Tab. 4:** In der Studie benutzte Materialien
- Tab. 5:** In der Studie benutzte Gerätschaften
- Tab. 6:** Demografische Daten der CF Patienten
- Tab. 7:** Korrelation der CF Mutationen mit der Glukosetoleranz
- Tab. 8:** Demografische Daten der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; ** vs DM2 $p < 0,01$, *** vs DM2 $p < 0,001$; † vs Kontrolle $p < 0,05$
- Tab. 9:** Glykämische Parameter der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen; † vs NGT $p < 0,05$, †† vs NGT $p < 0,01$, ††† vs NGT $p < 0,001$; # vs Kontrolle $p < 0,05$, ## vs Kontrolle $p < 0,01$, ### vs Kontrolle $p < 0,001$
- Tab. 10:** Glykämische Parameter der CF Patienten mit Diabetes, gesunden Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; ** vs DM2 $p < 0,01$, *** vs DM2 $p < 0,001$; † vs Kontrolle $p < 0,05$, †† vs Kontrolle $p < 0,01$
- Tab. 11:** Insulinwerte der CF Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen; # vs Kontrolle $p < 0,05$
- Tab. 12:** Insulinwerte der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; ** vs DM2 $p < 0,01$, *** vs DM2 $p < 0,001$
- Tab. 13:** Indizes der β -Zell-Funktion der CF Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen; †† vs NGT $p < 0,01$; ## vs Kontrolle $p < 0,01$, ### vs Kontrolle $p < 0,001$
- Tab. 14:** Indizes der β -Zell-Funktion der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; * vs DM2 $p < 0,05$; †† vs Kontrolle $p < 0,01$, ††† vs Kontrolle $p < 0,001$

- Tab. 15:** Indizes der Insulinresistenz der CF Patienten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen
- Tab. 16:** Indizes der Insulinresistenz der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; ** vs DM2 $p < 0,01$, *** vs DM2 $p < 0,001$
- Tab. 17:** Proinsulinwerte der CF Patienten im Vergleich zu den gesunden Kontrollpersonen
- Tab. 18:** Proinsulinwerte der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; * vs DM2 $p < 0,05$, ** vs DM2 $p < 0,01$
- Tab. 19:** GLP-1 Werte der CF Patienten im Vergleich mit gesunden Kontrollpersonen; # vs IGT $p < 0,05$
- Tab. 20:** GLP-1 Werte der CF Patienten mit Diabetes, Kontrollpersonen und Patienten mit DM2; † vs Kontrolle $p < 0,05$

9. Literaturverzeichnis

1. **Fanconi G, Uehlinger E, Knauer C** 1936 Das Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiektasen. Wien Med Wochenschr 86:753-756
2. **Busch R** 1990 On the history of cystic fibrosis. Acta Univ Carol Med (Praha) 36:13-15
3. **Littlewood J** 2009 A History of Cystic Fibrosis. <http://www.cfmedicine.com/history/index.htm>
4. **Anderson DH** 1938 Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: clinical and pathological study. Am J Dis Child 56:344-399
5. **Walters S, Mehta A** 2007 Epidemiology of cystic fibrosis. 3th edition. London
6. **Anonymous** 2004 The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. Report of a joint meeting of WHO/ECFTN/ICF(M)/ECFS: Human Genetics Programme, Chronic Diseases and Health Promotion, World Health Organization
7. **Powers CA, Potter EM, Wessel HU, Lloyd-Still JD** 1996 Cystic fibrosis in Asian Indians. Arch Pediatr Adolesc Med 150:554-555
8. **Anonymous** 2007 2006 annual data report to the center directors. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry, Bethesda, MD
9. **Pfeffer PE, Pfeffer JM, Hodson ME** 2003 The psychosocial and psychiatric side of cystic fibrosis in adolescents and adults. J Cyst Fibros 2:61-68
10. **Bear CE, Li CH, Kartner N, Bridges RJ, Jensen TJ, Ramjeesingh M, Riordan JR** 1992 Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). Cell 68:809-818
11. **Zielenski J, Tsui LC** 1995 Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. Annu Rev Genet 29:777-807
12. **Lao O, Andres AM, Mateu E, Bertranpetit J, Calafell F** 2003 Spatial patterns of cystic fibrosis mutation spectra in European populations. Eur J Hum Genet 11:385-394
13. **Base CFMD** The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium
14. **Stuhrmann-Spangenberg M, Aulehla-Scholz C, Dworniczak B, Reiss J** 1997 Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Humangenetik e. V. - Molekulargenetische Diagnostik der Cystischen Fibrose. medgen 9:553-559

15. **Slieker MG, Sanders EA, Rijkers GT, Ruven HJ, van der Ent CK** 2005 Disease modifying genes in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 4 Suppl 2:7-13
16. **Drumm ML, Konstan MW, Schluchter MD, Handler A, Pace R, Zou F, Zariwala M, Fargo D, Xu A, Dunn JM, Darrah RJ, Dorfman R, Sandford AJ, Corey M, Zielenski J, Durie P, Goddard K, Yankaskas JR, Wright FA, Knowles MR** 2005 Genetic modifiers of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 353:1443-1453
17. **Blackman SM, Deering-Brose R, McWilliams R, Naughton K, Coleman B, Lai T, Algire M, Beck S, Hoover-Fong J, Hamosh A, Fallin MD, West K, Arking DE, Chakravarti A, Cutler DJ, Cutting GR** 2006 Relative contribution of genetic and nongenetic modifiers to intestinal obstruction in cystic fibrosis. *Gastroenterology* 131:1030-1039
18. **Castellani C, Cuppens H, Macek M, Jr., Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Ferec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS** 2008 Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 7:179-196
19. **De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, Sinaasappel M** 2006 Cystic fibrosis: terminology and diagnostic algorithms. *Thorax* 61:627-635
20. **Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, Durie PR, Legrys VA, Massie J, Parad RB, Rock MJ, Campbell PW, 3rd** 2008 Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *J Pediatr* 153:S4-S14
21. **Gibson LE, Cooke RE** 1959 A test for concentration of electrolytes in cystic fibrosis using pilocarpine by electrophoresis. *Pediatrics* 23:549-563
22. **Knowles M, Gatzky J, Boucher R** 1981 Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 305:1489-1495
23. **Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, Hamrick M, Cohn JA, Rossier BC, Boucher RC** 1995 CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels. *Science* 269:847-850

24. **Schwiebert EM, Egan ME, Hwang TH, Fulmer SB, Allen SS, Cutting GR, Guggino WB** 1995 CFTR regulates outwardly rectifying chloride channels through an autocrine mechanism involving ATP. *Cell* 81:1063-1073
25. **Reisin IL, Prat AG, Abraham EH, Amara JF, Gregory RJ, Ausiello DA, Cantiello HF** 1994 The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is a dual ATP and chloride channel. *J Biol Chem* 269:20584-20591
26. **Quinton PM** 2008 Cystic fibrosis: impaired bicarbonate secretion and mucoviscidosis. *Lancet* 372:415-417
27. **Ratjen F, Döring G** 2003 Cystic Fibrosis. *Lancet* 361(9358):681-9
28. **Matsui H, Grubb BR, Tarran R, Randell SH, Gatzky JT, Davis CW, Boucher RC** 1998 Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 95:1005-1015
29. **Widdicombe JH** 2001 Altered NaCl concentration of airway surface liquid in cystic fibrosis. *Pflugers Arch* 443 Suppl 1:S8-10
30. **Goldman MJ, Anderson GM, Stolzenberg ED, Kari UP, Zasloff M, Wilson JM** 1997 Human beta-defensin-1 is a salt-sensitive antibiotic in lung that is inactivated in cystic fibrosis. *Cell* 88:553-560
31. **Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, Welsh MJ** 1996 Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell* 85:229-236
32. **Tirouvanziam R, de Bentzmann S, Hubeau C, Hinrasky J, Jacquot J, Peault B, Puchelle E** 2000 Inflammation and infection in naive human cystic fibrosis airway grafts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 23:121-127
33. **Machen TE** 2006 Innate immune response in CF airway epithelia: hyperinflammatory? *Am J Physiol Cell Physiol* 291:C218-230
34. **Freedman SD, Blanco PG, Zaman MM, Shea JC, Ollero M, Hopper IK, Weed DA, Gelrud A, Regan MM, Laposata M, Alvarez JG, O'Sullivan BP** 2004 Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism. *N Engl J Med* 350:560-569
35. **Zaman MM, Gelrud A, Junaidi O, Regan MM, Warny M, Shea JC, Kelly C, O'Sullivan BP, Freedman SD** 2004 Interleukin 8 secretion from monocytes of subjects heterozygous for the deltaF508 cystic fibrosis transmembrane

- conductance regulator gene mutation is altered. *Clin Diagn Lab Immunol* 11:819-824
36. **Rottner M, Kunzelmann C, Mergey M, Freyssinet JM, Martinez MC** 2007 Exaggerated apoptosis and NF-kappaB activation in pancreatic and tracheal cystic fibrosis cells. *FASEB J* 21:2939-2948
 37. **Campodonico VL, Gadjeva M, Paradis-Bleau C, Uluer A, Pier GB** 2008 Airway epithelial control of *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis. *Trends Mol Med* 14:120-133
 38. **Imundo L, Barasch J, Prince A, Al-Awqati Q** 1995 Cystic fibrosis epithelial cells have a receptor for pathogenic bacteria on their apical surface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:3019-3023
 39. **Brennan AL, Geddes DM, Gyi KM, Baker EH** 2004 Clinical importance of cystic fibrosis-related diabetes. *J Cyst Fibros* 3:209-222
 40. **Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Chiasson J, Rabasa-Lhoret R** 2005 Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 31:221-232
 41. **Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, Brunzell C, Campbell PW, 3rd, Chesrown SE, Duchow C, Fink RJ, Fitzsimmons SC, Hamilton N, Hirsch I, Howenstine MS, Klein DJ, Madhun Z, Pencharz PB, Quittner AL, Robbins MK, Schindler T, Schissel K, Schwarzenberg SJ, Stallings VA, Zipf WB, et al.** 1999 Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 45:61-73
 42. **Marshall BC, Butler SM, Stoddard M, Moran AM, Liou TG, Morgan WJ** 2005 Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr* 146:681-687
 43. **Preumont V, Hermans MP, Lebecque P, Buyschaert M** 2007 Glucose homeostasis and genotype-phenotype interplay in cystic fibrosis patients with CFTR gene deltaF508 mutation. *Diabetes Care* 30:1187-1192
 44. **Bismuth E, Laborde K, Taupin P, Velho G, Ribault V, Jennane F, Grasset E, Sermet I, de Blic J, Lenoir G, Robert JJ** 2008 Glucose tolerance and insulin secretion, morbidity, and death in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 152:540-545, 545 e541

45. **Finkelstein SM, Wielinski CL, Elliott GR, Warwick WJ, Barbosa J, Wu SC, Klein DJ** 1988 Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *J Pediatr* 112:373-377
46. **Milla CE, Billings J, Moran A** 2005 Diabetes is associated with dramatically decreased survival in female but not male subjects with cystic fibrosis. *Diabetes Care* 28:2141-2144
47. **Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W** 2009 Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care* 32:1626-1631
48. **Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C** 1992 Influence of the development of diabetes mellitus on clinical status in patients with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 151:684-687
49. **Mohan K, Israel KL, Miller H, Grainger R, Ledson MJ, Walshaw MJ** 2008 Long-term effect of insulin treatment in cystic fibrosis-related diabetes. *Respiration* 76:181-186
50. **Mackie AD, Thornton SJ, Edenborough FP** 2003 Cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med* 20:425-436
51. **Mueller-Brandes C, Holl RW, Nastoll M, Ballmann M** 2005 New criteria for impaired fasting glucose and screening for diabetes in cystic fibrosis. *Eur Respir J* 25:715-717
52. **De Schepper J, Dab I, Derde MP, Loeb H** 1991 Oral glucose tolerance testing in cystic fibrosis: correlations with clinical parameters and glycosylated haemoglobin determinations. *Eur J Pediatr* 150:403-406
53. **O'Riordan SM, Robinson PD, Donaghue KC, Moran A** 2009 Management of cystic fibrosis-related diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes* 10 Suppl 12:43-50
54. **Battezzati A, Battezzati PM, Costantini D, Seia M, Zazzeron L, Russo MC, Dacco V, Bertoli S, Crosignani A, Colombo C** 2007 Spontaneous hypoglycemia in patients with cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol* 156:369-376
55. **Andersen HU, Lanng S, Pressler T, Laugesen CS, Mathiesen ER** 2006 Cystic fibrosis-related diabetes: the presence of microvascular diabetes complications. *Diabetes Care* 29:2660-2663

56. **van den Berg JM, Morton AM, Kok SW, Pijl H, Conway SP, Heijerman HG** 2008 Microvascular complications in patients with cystic fibrosis-related diabetes (CFRD). *J Cyst Fibros* 7:515-519
57. **Schwarzenberg SJ, Thomas W, Olsen TW, Grover T, Walk D, Milla C, Moran A** 2007 Microvascular complications in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 30:1056-1061
58. **Mellitus TECotDaCoD** 2002 Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus
Diabetes Care 25 (Suppl. 1):S5-20
59. **Alves Cde A, Aguiar RA, Alves AC, Santana MA** 2007 Diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis. *J Bras Pneumol* 33:213-221
60. **Elder DA, Wooldridge JL, Dolan LM, D'Alessio DA** 2007 Glucose tolerance, insulin secretion, and insulin sensitivity in children and adolescents with cystic fibrosis and no prior history of diabetes. *J Pediatr* 151:653-658
61. **Lohr M, Goertchen P, Nizze H, Gould NS, Gould VE, Oberholzer M, Heitz PU, Kloppel G** 1989 Cystic fibrosis associated islet changes may provide a basis for diabetes. An immunocytochemical and morphometrical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 414:179-185
62. **Kopito LE, Shwachman H** 1976 The pancreas in cystic fibrosis: chemical composition and comparative morphology. *Pediatr Res* 10:742-749
63. **Moran A, Diem P, Klein DJ, Levitt MD, Robertson RP** 1991 Pancreatic endocrine function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 118:715-723
64. **Soejima K, Landing BH** 1986 Pancreatic islets in older patients with cystic fibrosis with and without diabetes mellitus: morphometric and immunocytologic studies. *Pediatr Pathol* 6:25-46
65. **Couce M, O'Brien TD, Moran A, Roche PC, Butler PC** 1996 Diabetes mellitus in cystic fibrosis is characterized by islet amyloidosis. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1267-1272
66. **Stalvey MS, Flotte TR** 2009 Endocrine parameters of cystic fibrosis: Back to basics. *J Cell Biochem* 108:353-361
67. **Stalvey MS, Muller C, Schatz DA, Wasserfall CH, Campbell-Thompson ML, Theriaque DW, Flotte TR, Atkinson MA** 2006 Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficiency exacerbates islet cell dysfunction after beta-cell injury. *Diabetes* 55:1939-1945

68. **Hardin DS, Leblanc A, Marshall G, Seilheimer DK** 2001 Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281:E1022-1028
69. **Austin A, Kalhan SC, Orenstein D, Nixon P, Arslanian S** 1994 Roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction in the pathogenesis of glucose intolerance in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 79:80-85
70. **Langg S, Thorsteinsson B, Roder ME, Nerup J, Koch C** 1994 Insulin sensitivity and insulin clearance in cystic fibrosis patients with normal and diabetic glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 41:217-223
71. **Yung B, Noormohamed FH, Kemp M, Hooper J, Lant AF, Hodson ME** 2002 Cystic fibrosis-related diabetes: the role of peripheral insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Diabet Med* 19:221-226
72. **Mohan K, Miller H, Dyce P, Grainger R, Hughes R, Vora J, Ledson M, Walshaw M** 2009 Mechanisms of glucose intolerance in cystic fibrosis. *Diabet Med* 26:582-588
73. **Lombardo F, De Luca F, Rosano M, Sferlazzas C, Lucanto C, Arrigo T, Messina MF, Crisafulli G, Wasniewska M, Valenzise M, Cucinotta D** 2003 Natural history of glucose tolerance, beta-cell function and peripheral insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with fasting euglycemia. *Eur J Endocrinol* 149:53-59
74. **Wilmshurst EG, Soeldner JS, Holsclaw DS, Kaufmann RL, Shwachman H, Aoki TT, Gleason RE** 1975 Endogenous and exogenous insulin responses in patients with cystic fibrosis. *Pediatrics* 55:75-82
75. **Daneman D** 2006 Type 1 diabetes. *Lancet* 367:847-858
76. **Butler AE, Janson J, Bonner-Weir S, Ritzel R, Rizza RA, Butler PC** 2003 Beta-cell deficit and increased beta-cell apoptosis in humans with type 2 diabetes. *Diabetes* 52:102-110
77. **Lencioni C, Lupi R, Del Prato S** 2008 Beta-cell failure in type 2 diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 8:179-184
78. **Porte D, Jr., Kahn SE** 1995 The key role of islet dysfunction in type II diabetes mellitus. *Clin Invest Med* 18:247-254
79. **Weir GC, Bonner-Weir S** 2004 Five stages of evolving beta-cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes* 53 Suppl 3:S16-21

80. **Hoppener JW, Lips CJ** 2006 Role of islet amyloid in type 2 diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol* 38:726-736
81. **Hayden MR, Tyagi SC** 2002 Islet redox stress: the manifold toxicities of insulin resistance, metabolic syndrome and amylin derived islet amyloid in type 2 diabetes mellitus. *JOP* 3:86-108
82. **Kahn SE** 2001 Clinical review 135: The importance of beta-cell failure in the development and progression of type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 86:4047-4058
83. **Leahy JL** 2005 Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Arch Med Res* 36:197-209
84. **Zethelius B, Byberg L, Hales CN, Lithell H, Berne C** 2002 Proinsulin is an independent predictor of coronary heart disease: Report from a 27-year follow-up study. *Circulation* 105:2153-2158
85. **Pfutzner A, Weber MM, Forst T** 2008 A biomarker concept for assessment of insulin resistance, beta-cell function and chronic systemic inflammation in type 2 diabetes mellitus. *Clin Lab* 54:485-490
86. **Pfutzner A, Kann PH, Pfutzner AH, Kunt T, Larbig M, Weber MM, Forst T** 2004 Intact and total proinsulin: new aspects for diagnosis and treatment of type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Clin Lab* 50:567-573
87. **McIntyre N, Holdsworth CD, Turner DS** 1964 New interpretation of oral glucose tolerance. *Lancet* 2:20-21
88. **Baggio LL, Drucker DJ** 2007 Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132:2131-2157
89. **Holst JJ, Orskov C, Nielsen OV, Schwartz TW** 1987 Truncated glucagon-like peptide I, an insulin-releasing hormone from the distal gut. *FEBS Lett* 211:169-174
90. **Nauck MA** 2009 Unraveling the science of incretin biology. *Eur J Intern Med* 20 Suppl 2:S303-308
91. **Holst JJ** 2007 The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol Rev* 87:1409-1439
92. **Drucker DJ, Nauck MA** 2006 The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet* 368:1696-1705

93. **Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF** 1987 Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84:3434-3438
94. **Drucker DJ** 2003 Glucagon-like peptides: regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. *Mol Endocrinol* 17:161-171
95. **Nauck M, Stockmann F, Ebert R, Creutzfeldt W** 1986 Reduced incretin effect in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes. *Diabetologia* 29:46-52
96. **Knop FK, Vilsboll T, Hojberg PV, Larsen S, Madsbad S, Volund A, Holst JJ, Krarup T** 2007 Reduced incretin effect in type 2 diabetes: cause or consequence of the diabetic state? *Diabetes* 56:1951-1959
97. **Lang S, Thorsteinsson B, Roder ME, Orskov C, Holst JJ, Nerup J, Koch C** 1993 Pancreas and gut hormone responses to oral glucose and intravenous glucagon in cystic fibrosis patients with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Acta Endocrinol (Copenh)* 128:207-214
98. **Orskov C, Jeppesen J, Madsbad S, Holst JJ** 1991 Proglucagon products in plasma of noninsulin-dependent diabetics and nondiabetic controls in the fasting state and after oral glucose and intravenous arginine. *J Clin Invest* 87:415-423
99. **Kieffer TJ, Habener JF** 1999 The glucagon-like peptides. *Endocr Rev* 20:876-913
100. **Young DS** 1987 Implementation of SI units for clinical laboratory data. Style specifications and conversion tables. *Ann Intern Med* 106:114-129
101. **McAuley KA, Mann JI, Chase JG, Lotz TF, Shaw GM** 2007 Point: HOMA--satisfactory for the time being: HOMA: the best bet for the simple determination of insulin sensitivity, until something better comes along. *Diabetes Care* 30:2411-2413
102. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC** 1985 Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28:412-419
103. **Wallace TM, Levy JC, Matthews DR** 2004 Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 27:1487-1495
104. **Muscelli E, Mari A, Natali A, Astiarraga BD, Camastra S, Frascerra S, Holst JJ, Ferrannini E** 2006 Impact of incretin hormones on beta-cell function

- in subjects with normal or impaired glucose tolerance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291:E1144-1150
105. **Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haefen T, Renn W, Gerich J** 2000 Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23:295-301
 106. **Hammana I, Potvin S, Tardif A, Berthiaume Y, Coderre L, Rabasa-Lhoret R** 2009 Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*
 107. **Stumvoll M, Van Haefen T, Fritsche A, Gerich J** 2001 Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times. *Diabetes Care* 24:796-797
 108. **Matsuda M, DeFronzo RA** 1999 Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care* 22:1462-1470
 109. **O'Riordan SM, Robinson PD, Donaghue KC, Moran A** 2008 Management of cystic fibrosis-related diabetes. *Pediatr Diabetes* 9:338-344
 110. **Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT** 2004 Understanding cystic-fibrosis-related diabetes: best thought of as insulin deficiency? *J R Soc Med* 97 Suppl 44:26-35
 111. **Peraldo M, Fasulo A, Chiappini E, Milio C, Marianelli L** 1998 Evaluation of glucose tolerance and insulin secretion in cystic fibrosis patients. *Horm Res* 49:65-71
 112. **Krueger LJ, Lerner A, Katz SM, Mack R, Holsclaw DS, Jr., Lebenthal E** 1991 Cystic fibrosis and diabetes mellitus: interactive or idiopathic? *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 13:209-219
 113. **Milla CE, Warwick WJ, Moran A** 2000 Trends in pulmonary function in patients with cystic fibrosis correlate with the degree of glucose intolerance at baseline. *Am J Respir Crit Care Med* 162:891-895
 114. **Dobson L, Hattersley AT, Tiley S, Elworthy S, Oades PJ, Sheldon CD** 2002 Clinical improvement in cystic fibrosis with early insulin treatment. *Arch Dis Child* 87:430-431
 115. **Abdul-Karim FW, Dahms BB, Velasco ME, Rodman HM** 1986 Islets of Langerhans in adolescents and adults with cystic fibrosis. A quantitative study. *Arch Pathol Lab Med* 110:602-606

116. **Lanng S, Thorsteinsson B, Pociot F, Marshall MO, Madsen HO, Schwartz M, Nerup J, Koch C** 1993 Diabetes mellitus in cystic fibrosis: genetic and immunological markers. *Acta Paediatr* 82:150-154
117. **Tofe S, Moreno JC, Maiz L, Alonso M, Escobar H, Barrio R** 2005 Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol* 152:241-247
118. **Tonelli AR, Drane WE, Collins DP, Nichols W, Antony VB, Olson EL** 2009 Erythromycin improves gastric emptying half-time in adult cystic fibrosis patients with gastroparesis. *J Cyst Fibros* 8:193-197
119. **Del Prato S** 2003 Loss of early insulin secretion leads to postprandial hyperglycaemia. *Diabetologia* 46 Suppl 1:M2-8
120. **Pratley RE, Weyer C** 2001 The role of impaired early insulin secretion in the pathogenesis of Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 44:929-945
121. **Raue G, Keim V** 1999 [Secondary diabetes in chronic pancreatitis]. *Z Gastroenterol Suppl* 1:4-9
122. **Larsen S** 1993 Diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis. *Dan Med Bull* 40:153-162
123. **Perusicova J** 2002 [Diabetes mellitus associated with chronic pancreatitis]. *Vnitr Lek* 48:898-905
124. **Boom A, Lybaert P, Pollet JF, Jacobs P, Jijakli H, Golstein PE, Sener A, Malaisse WJ, Beauwens R** 2007 Expression and localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in the rat endocrine pancreas. *Endocrine* 32:197-205
125. **Ntimbane T, Comte B, Mailhot G, Berthiaume Y, Poitout V, Prentki M, Rabasa-Lhoret R, Levy E** 2009 Cystic Fibrosis-Related Diabetes: From CFTR Dysfunction to Oxidative Stress. *Clin Biochem Rev* 30:153-177
126. **Wood LG, Gibson PG, Garg ML** 2005 Circulating markers to assess nutritional therapy in cystic fibrosis. *Clin Chim Acta* 353:13-29
127. **Linsdell P, Hanrahan JW** 1998 Glutathione permeability of CFTR. *Am J Physiol* 275:C323-326
128. **Roum JH, Buhl R, McElvaney NG, Borok Z, Crystal RG** 1993 Systemic deficiency of glutathione in cystic fibrosis. *J Appl Physiol* 75:2419-2424

129. **Janson J, Ashley RH, Harrison D, McIntyre S, Butler PC** 1999 The mechanism of islet amyloid polypeptide toxicity is membrane disruption by intermediate-sized toxic amyloid particles. *Diabetes* 48:491-498
130. **McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, Liang L, Reaven G, Schaaf P, Reaven P** 2002 Differentiation between obesity and insulin resistance in the association with C-reactive protein. *Circulation* 106:2908-2912
131. **Wilschanski M, Durie PR** 2007 Patterns of GI disease in adulthood associated with mutations in the CFTR gene. *Gut* 56:1153-1163
132. **Rafii M, Chapman K, Stewart C, Kelly E, Hanna A, Wilson DC, Tullis E, Pencharz PB** 2005 Changes in response to insulin and the effects of varying glucose tolerance on whole-body protein metabolism in patients with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 81:421-426
133. **Walter RE, Beiser A, Givelber RJ, O'Connor GT, Gottlieb DJ** 2003 Association between glycemic state and lung function: the Framingham Heart Study. *Am J Respir Crit Care Med* 167:911-916
134. **Hameed S, Morton JR, Jaffe A, Field PI, Belessis Y, Yoong T, Katz T, Verge CF** 2009 EARLY GLUCOSE ABNORMALITIES IN CYSTIC FIBROSIS ARE PRECEDED BY POOR WEIGHT GAIN. *Diabetes Care*
135. **Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT** 2004 Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients. *Diabet Med* 21:691-696
136. 2003 Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26 Suppl 1:S5-20
137. **Khammar A, Stremler N, Dubus JC, Gross G, Sarles J, Reynaud R** 2009 [Value of continuous glucose monitoring in screening for diabetes in cystic fibrosis.]. *Arch Pediatr*
138. **Moreau F, Weiller MA, Rosner V, Weiss L, Hasselmann M, Pinget M, Kessler R, Kessler L** 2008 Continuous glucose monitoring in cystic fibrosis patients according to the glucose tolerance. *Horm Metab Res* 40:502-506

10. Publikationen

Folgende Publikation geht von dieser Dissertation aus:

Anzeneder L, Kircher F, Feghelm N, Fischer R, Seissler J 2011 Kinetics of insulin secretion and glucose intolerance in adult patients with cystic fibrosis. *Horm Metab Res* 43(5):355-60

11. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei meinem Doktorvater, Herr Prof. Jochen Reißler, für die Überlassung des Themas bedanken, sowie für die kontinuierliche Betreuung und Förderung meiner Arbeit.

Dank gilt auch dem Team der Mukoviszidose-Ambulanz der Med. Klinik, insbesondere Herrn PD Dr. Rainald Fischer und Sr. Maria, für die enorme Hilfe bei der Rekrutierung der Patienten.

Frau Baumann und dem Team des endokrinologisch-diabetologischen Funktionsraums danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der oralen Glukosetoleranzteste.

Ganz herzlich möchte ich Frau Monika Offers meinen Dank aussprechen, die bei allen Arbeiten im Labor immer ein offenes Ohr für mich hatte.

Ein ganz besonderer Dank gilt Frau Nina Feghelm für die komplette Einarbeitung und hilfreiche Zusammenarbeit. Ihre freundschaftliche Unterstützung ermöglichte das Zustandekommen dieser Arbeit.

Meinem lieben Bruder danke ich für alle Motivation, Anregung und Ratschläge während meines Studiums und dem Erstellen dieser Dissertation.

Meinen lieben Eltern, denen diese Arbeit auch gewidmet ist, danke ich für Ihre uneingeschränkte Unterstützung, Förderung und Geduld.

Zuletzt gilt mein Dank allen Patienten und Probanden, die durch ihre Teilnahme diese Studie erst möglich gemacht haben.

12. Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name Laura Tonia Anzeneder
Anschrift Haeckerstraße 6, 84489 Burghausen
Geburtsort Burghausen
Geburtstag 12.12.1984

Schullaufbahn:

09/1991 – 07/2004 Grundschole und Gymnasium, Burghausen
Abschluss: Abitur

Studium:

10/2004 – 07/2006 Vorklinischer Abschnitt des Medizinstudiums,
LMU/TU München

09/2006 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

10/2006 – 02/2010 Klinischer Abschnitt des Medizinstudiums, LMU München

02/2010 – 01/2011 Praktisches Jahr des Medizinstudiums
- Terial Innere Medizin, Medizinische Klinik –
Innenstadt, LMU München
- Terial Chirurgie, GZO Spital Wetzikon, Schweiz
- Terial Wahlfach Psychiatrie, Klinik und Poliklinik für
Psychiatrie und Psychotherapie, LMU München

05/2011 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

06/2011 Präsentation der Dissertation auf der 46. Jahrestagung
der Deutschen Diabetes-Gesellschaft, Leipzig

München, den 01.08.2011

Laura Anzeneder