

Aus dem Hedwig-von-Rittberg-Zentrum,  
Diabeteszentrum für Kinder und Jugendliche  
an den DRK Kliniken Berlin/ Westend

DISSERTATION

**Insulinantikörper und deren Bindungsverhalten im  
Zusammenhang mit dem Auftreten hypoglykämischer  
Episoden.**

**Eine prospektive Querschnittsstudie  
bei Kindern und Jugendlichen  
mit Typ-1-Diabetes**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Katrin Groß-Riemann  
aus Düsseldorf

Datum der Promotion: 09.09.2016

## INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	4
ABSTRAKT .....	5
ABSTRACT .....	7
<b>1 EINLEITUNG.....</b>	<b>9</b>
<b>1.1 Typ-1-Diabetes im Kindes- und Jugendalter .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2 Hypoglykämien beim T1D im Kindes- und         Jugendalter .....</b>	<b>11</b>
1.2.1 <i>Definition, Ätiologie, Klinik und Schweregrade .....</i>	<i>11</i>
1.2.2 <i>Epidemiologie.....</i>	<i>13</i>
1.2.3 <i>Mögliche Folgen von Hypoglykämien und                 Hypoglykämieangst .....</i>	<i>14</i>
<b>1.3 Insulinantikörper und deren klinische Bedeutsamkeit         beim T1D .....</b>	<b>15</b>
1.3.1 <i>Bildung von Insulinantikörpern .....</i>	<i>15</i>
1.3.2 <i>Interaktion von Insulinantikörpern mit exogen appliziertem                 Insulin .....</i>	<i>17</i>
1.3.3 <i>Klinisch messbare Stoffwechselwirkungen von                 Insulinantikörpern .....</i>	<i>19</i>
1.3.4 <i>Sonstige klinische Effekte von Insulinantikörpern.....</i>	<i>21</i>
<b>2 ZIELSETZUNG UND FRAGESTELLUNGEN .....</b>	<b>22</b>
<b>3 PATIENTEN UND METHODIK .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1 Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien.....</b>	<b>24</b>
<b>3.2 Studienablauf und durchgeführte Untersuchungen .....</b>	<b>26</b>
3.2.1 <i>Auslesung der Glukosemessgeräte und                 Hypoglykämieerfassung .....</i>	<i>26</i>
3.2.2 <i>Weitere zum Untersuchungstermin bestimmte Parameter .....</i>	<i>29</i>
<b>3.3 Insulinantikörper-Diagnostik .....</b>	<b>29</b>
3.3.1 <i>Quantitative Bestimmung der IgG-Insulinantikörper .....</i>	<i>30</i>
3.3.2 <i>Analyse des Antikörper-Bindungsverhaltens und der                 zeitabhängigen Insulin/Antikörper-Dissoziation .....</i>	<i>31</i>
<b>3.4 Dokumentation.....</b>	<b>33</b>
<b>3.5 Statistische Methoden.....</b>	<b>33</b>

<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>Charakterisierung des Patientenkollektivs</b>	<b>35</b>
4.1.1	<i>Klinische Daten</i>	35
4.1.2	<i>Therapie</i>	35
<b>4.2.</b>	<b>Hypoglykämien</b>	<b>38</b>
4.2.1	<i>Häufigkeit und Erklärbarkeit von Hypoglykämien</i>	38
4.2.2	<i>Hypoglykämieeigung</i>	41
<b>4.3</b>	<b>Insulinantikörperstatus</b>	<b>43</b>
4.3.1	<i>Insulinantikörperbefund</i>	43
4.3.2	<i>Bindungs- und Dissoziationsanalyse</i>	46
<b>4.4</b>	<b>Zusammenhänge zwischen Hypoglykämien und Insulinantikörperstatus</b>	<b>49</b>
4.4.1	<i>Hypoglykämien und Insulinantikörperbefund</i>	49
4.4.2	<i>Hypoglykämien und Insulinantikörperbindungskapazität</i>	51
4.4.3	<i>Hypoglykämien und Kinetik der Insulin/Antikörper-Dissoziation</i>	53
<b>4.5</b>	<b>Multivariate Analysen</b>	<b>57</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>62</b>
<b>5.1.</b>	<b>Häufigkeit und Erklärbarkeit von Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D</b>	<b>62</b>
5.1.1	<i>Häufigkeit von Hypoglykämien</i>	62
5.1.2	<i>Nicht-erklärbare Hypoglykämien und Hypoglykämieeigung</i>	65
<b>5.2</b>	<b>IAK als potentielle Einflussfaktoren auf Hypoglykämiehäufigkeit und -neigung</b>	<b>69</b>
5.2.1	<i>Insulinantikörperbefund und Hypoglykämien</i>	69
5.2.2	<i>Insulin-Antikörperbindungskapazität und Hypoglykämien</i>	72
5.2.3	<i>Kinetik der Insulin/Antikörper-Dissoziation und Hypoglykämien</i>	77
<b>5.3</b>	<b>Evaluation und Ausblick</b>	<b>78</b>
	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>82</b>
	<b>EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b>	<b>94</b>
	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>95</b>
	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>96</b>

## **ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

ADA	American Diabetes Association
BMI-SDS	Standard-Deviation-Score des Body-Mass-Index
CGM	continuous Glucose Monitoring
CIPII	continuous intraperitoneal insulin infusion
CSII	continuous subcutaneous insulin infusion
DCCT	Diabetes Control and Complications Trial
DPV	Diabetes-Verlaufs-Daten
DRK	Deutsches Rotes Kreuz
ELISA	Enzym linked immunosorbent - Assay
GAD-AK	Antikörper gegen Glutamat-Decarboxylase
HbA1c	glykiertes Hämoglobin A1c
HLA	human leucocyte antigen
IAA	Insulinautoantikörper
IAK	Insulinantikörper
IAS	Insulinautoimmunsyndrom
IA-2-AK	Antikörper gegen Thyrosinphosphatase IA-2/ IA-2 $\beta$
IDF	International Diabetes Federation
ISIH	increased tendency to hypoglycemia
ISPAD	International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes
KE	Kohlenhydrateinheit
MDI	Multiple Daily Injection Therapy
OGTT	oraler Glukose Toleranz Test
SMBG	self-monitoring of blood glucose
T1D	Typ-1-Diabetes
ZnT-8-AK	Antikörper gegen Zinktransporter

## **ABSTRAKT**

**Einleitung:** Hypoglykämien sind bei Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes (T1D) ein häufiges Phänomen. Die Angst vor Hypoglykämien beeinflusst die Diabetestherapie. Sie ist umso größer, wenn Hypoglykämien auftreten, die nicht durch klassische Ursachen erklärbar sind. Als mögliche Ursache nicht-erklärbarer Hypoglykämien wird eine Interaktion von Insulinantikörpern (IAK) mit exogenem Insulin diskutiert, für ein repräsentatives pädiatrisch-diabetologisches Patientenkollektiv existieren jedoch keine aktuellen Daten. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Häufigkeit von Hypoglykämien, im Besonderen nicht-erklärbaren Hypoglykämien, bei pädiatrischen T1D-Patienten zu erfassen und im Hinblick auf Korrelationen mit Parametern des Insulinantikörperstatus zu untersuchen.

**Methodik:** Von 7/2010 – 01/2012 wurde eine prospektive Querschnittsstudie mit 108 T1D-Patienten des Diabeteszentrums DRK/Westend, Berlin (Altersbereich 3.1 – 20.2 Jahre) durchgeführt. Die Erfassung von Hypoglykämien (kapillärer Glukosewert < 65 mg/dl) erfolgte durch regelmäßige Glukoseselbstmessung (SMBG). Die Messergebnisse des vierwöchigen Studienzeitraums wurden mit DiabassPro dargestellt und hinsichtlich der Erklärbarkeit stattgehabter Hypoglykämien mit den Patienten standardisiert ausgewertet. Das Auftreten nicht-erklärbarer Hypoglykämien  $\geq 0.5$ /Woche wurde als Hypoglykämieeigung definiert. Klinische Kovariablen für die Datenanalyse waren Alter, Manifestationsalter, Geschlecht, BMI-SDS, HbA1c und Insulintherapie. Die Antikörperdiagnostik (quantitative Bestimmung insulinspezifischer IgG-Antikörper, Insulinbindungskapazität, zeitabhängige Insulin/Antikörper-Dissoziation) wurde im Immunologischen Labor der Universität Giessen durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS.

**Ergebnisse:** Bei 95.4 % der Patienten traten im Untersuchungszeitraum  $2.4 \pm 1.7$  Hypoglykämien/Woche (Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung) auf. Eine Hypoglykämieeigung bestand bei 35.2 % der Patienten. 65 Patienten (60.2 %) hatten einen positiven IAK-Befund (IAK  $\geq 2.4$  U/ml). Darunter waren 56 Patienten (86.2 %), bei denen eine erhöhte initiale Insulinbindungskapazität > 15% und 32 Patienten (49.2 %), bei denen eine verzögerte Insulin/Antikörper-Dissoziation (Bindung > 15% nach 30 min)

bestand. Zwischen Hypoglykämiehäufigkeit und -neigung und Insulinantikörperbefund sowie Insulinbindungskapazität bestanden keine signifikanten Zusammenhänge ( $p > .500$ ). Auch hinsichtlich schneller versus verzögerter Insulin/Antikörperdissoziation ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ( $p > .260$ ). Bei der Auswertung des Dissoziationsverlaufs bestand ein Trend zugunsten eines höheren Bindungsniveaus bei Patienten mit Hypoglykämie neigung ( $p = .092$ ). Es bestand ein Zusammenhang zwischen Hypoglykämie neigung und Insulinpumpentherapie (CSII,  $p = .012$ ). Unter CSII war zudem signifikant häufiger eine positive initiale Insulinbindung ( $p = .031$ ) sowie eine verzögerte IAK-Dissoziation ( $p = .008$ ) nachweisbar.

**Schlussfolgerung:** Im gesamten Studienkollektiv zeigten sich keine Zusammenhänge zwischen Insulinantikörperstatus und Hypoglykämiehäufigkeit und -neigung. Für die Patientengruppe mit Hypoglykämie neigung kann jedoch eine pathophysiologische Relevanz der zeitabhängigen Insulin/Antikörper-Dissoziation nicht ausgeschlossen werden. Dies betrifft besonders Patienten mit CSII-Therapie und sollte insbesondere im Hinblick auf die zunehmende Verbreitung von komplexen Pumpensystemen in der Diabetologie weitergehend wissenschaftlich evaluiert werden.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** Hypoglycemia occurs frequently during management of pediatric type 1 diabetes (T1D). Inexplicable hypoglycemia may be due to an interaction of insulin antibodies (IAK) with therapeutical insulin, but data on children with non-severe hypoglycemic events are lacking. The aim of this study was to assess the frequency of hypoglycemia, particularly inexplicable hypoglycemia, in children and adolescents with T1D and to investigate possible associations with insulin antibody status.

**Methods:** 108 patients aged 3.1 – 20.2 years treated for T1D at DRK Westend, Berlin, were included in a prospective cross-sectional study between 07/10 and 01/12. Blood sugar levels were collected over 28 days in each participant using self monitoring of blood glucose (SMBG) and presented using DiabassPro. Hypoglycemia was defined as a capillary blood glucose level < 65 mg/dl and classified regarding its explicability according to patient's recordings. Inexplicable hypoglycemia  $\geq 0.5$  times/week was defined as an increased susceptibility to inexplicable hypoglycemia (ISIH). Clinical co-variables for analysis were age at study entry and diabetes onset, sex, BMI-SDS, HbA1c and therapy. Insulin antibody measurements were performed at the Immunological laboratory of the University of Giessen, Germany. For statistical analysis SPSS was used.

**Results:** Hypoglycemia occurred in 95.4% of patients, with a mean (SD) frequency of 2.4 (1.7)/week. ISIH was present in 35.2 % of patients. 65 patients (60.2%) had insulin specific IgG  $\geq 2.4$  U/ml, of which 56 (86.2%) displayed relevant initial insulin binding (> 15%) and 32 (49.2%) a delayed insulin/antibody dissociation (binding > 15% after 30 min). Frequency of hypoglycemia and ISIH did not correlate with insulin specific IgG or insulin binding ( $p > .500$ ) and did not differ significantly between the groups with fast and delayed insulin/antibody dissociation ( $p > .260$ ). The analysis of the time course of insulin/antibody dissociation showed a minor trend towards a higher insulin antibody binding level in patients with ISIH ( $p = .092$ ). ISIH was associated with continuous subcutaneous insulin infusion (CSII,  $p = .012$ ). Patients treated with CSII had more often relevant initial insulin binding ( $p = .031$ ) and delayed insulin/antibody dissociation ( $p = .008$ ) compared to patients treated with MDI.

**Conclusion:** Insulin antibody status was neither associated with the frequency of hypoglycemia nor ISIH. Based on our study results, a pathophysiological relevance of the time dependent insulin/antibody dissociation cannot be ruled out for patients with ISIH, particularly in patients treated with CSII. In the light of the increasing use of complex pumping systems in diabetes care, this warrants further studying.

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Typ-1-Diabetes im Kindes- und Jugendalter

Die Bezeichnung „Diabetes mellitus“ beschreibt eine Stoffwechselerkrankung mit dem Leitsymptom der chronischen Hyperglykämie infolge einer Störung der Insulinproduktion oder einer mangelnden Insulinwirksamkeit [1]. Es werden verschiedene Formen des Diabetes mellitus unterschieden. Im Kindes- und Jugendalter überwiegt der Typ-1-Diabetes (T1D) in den westlichen Ländern mit > 90 % aller Diabetesfälle. Dieser ist gekennzeichnet durch eine chronische immunvermittelte Zerstörung pankreatischer  $\beta$ -Zellen mit der Folge der absoluten Insulindefizienz. Als serologische Marker dieses Autoimmunprozesses sind diabetesspezifische Antikörper messbar, die gegen verschiedene Elemente der  $\beta$ -Zelle gerichtet sind. Diagnostisch verwendet werden Insulinautoantikörper (IAA), Antikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD-AK), gegen Thyrosinphosphatase IA-2 und IA-2 $\beta$  sowie gegen Zinktransporter (ZnT-8-AK). Die Ätiopathogenese des T1D ist multifaktoriell, sowohl eine genetische Suszeptibilität als auch Umweltfaktoren tragen zu seiner Entstehung bei [2].

Die jährliche Inzidenzrate (Manifestationen/100.000/Jahr) ist weltweit sehr unterschiedlich verteilt mit einem Maximum in Finnland (64/100.000/Jahr [3]), anderen nordeuropäischen Ländern und Kanada und minimaler Inzidenz in asiatischen Ländern. Deutschland liegt mit einer Inzidenzrate von 22/100.000/Jahr im oberen Drittel der Häufigkeiten [2]. Während die Inzidenz des T1D bis vor wenigen Jahren insbesondere bei Kindern unter 5 Jahren weltweit stark steigend war [4,5], wird für einzelne Länder jetzt eine Plateauphase dieser Entwicklung beschrieben [6]. In Deutschland ist dies bisher nicht der Fall [7].

Klassische Symptome einer T1D-Manifestation sind Polyurie, Nykturie und Enuresis, Polydipsie, Gewichtsverlust und Leistungsknick in Kombination mit Hyperglykämie/Glukosurie und Ketonämie/Ketonurie. Die Diagnosestellung des Diabetes erfordert eine typische Symptomatik sowie einen Plasmaglukosewert von  $\geq 200$  mg/dl oder einen Nüchtern-Glukosewert von  $\geq 126$  mg/dl. In definierten

Zweifelsfällen kann die Diagnose durch einen nach WHO-Kriterien durchgeführten oralen Glukose Toleranz Test (OGTT) gestellt werden. Auch ein glykiertes Hämoglobin A1c (HbA1c) von  $> 6.5\%$  gilt als Diagnosekriterium, wobei ein niedrigerer Wert die Diagnose bei entsprechenden Plasmaglukosewerten nicht ausschließt [8, 1].

Die medikamentöse Therapie des T1D besteht in der bedarfsgerechten Insulinsubstitution. Diese wird nach den Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft (DDG) im Konsens mit der International Society for Pediatric and Adolescent Diabetes (ISPAD) in Deutschland in der Regel mit Humaninsulin oder Insulinanaloga als intensivierete Insulintherapie durchgeführt. Die Insulinapplikation erfolgt dabei entweder durch mehrfache tägliche subcutane Injektion von kurzwirksamen Bolusinsulin zu den Mahlzeiten sowie langwirksamen Basalinsulin zur Nacht (Multiple Daily Injections, MDI) oder über eine Insulinpumpe mit subcutan liegendem Katheter (Continuous Subcutaneous Insulin Infusion, CSII), aus der eine kontinuierliche Basalrate sowie individuell gesteuerte Boli abgegeben werden [9, 10]. Alle Therapieregime erfordern regelmäßige selbstständige Glukosekontrollen (self-monitoring of blood glucose, SMBG) und entsprechende Schulung der Patienten und ihrer Eltern im Management der Erkrankung. Ergänzend zu den konventionellen kapillären Glukosemessungen stehen neuerdings Sensoren zur kontinuierlichen subcutanen Glukosemessung (Continuous Glucose Monitoring, CGM) mit Echtzeitanzeige zur Verfügung, welche sich aber trotz vielversprechender Studienergebnisse (nicht zuletzt auch aufgrund der ungeklärten Kostenübernahme durch die Krankenkassen) noch nicht in der Breite durchgesetzt haben [11]. Therapieziel ist die Herstellung einer möglichst normoglykämischen Stoffwechselsituation mit einem HbA1c von  $< 7,5\%$  unter Vermeidung (schwerer) Hypoglykämien [8, 9, 12].

Potentiell lebensgefährliche akute Komplikationen bestehen in der diabetischen Ketoazidose sowie in schweren Hypoglykämien. Langzeitkomplikationen beinhalten die diabetesassoziierte Retinopathie, Nephropathie, Neuropathie, das Diabetische Fußsyndrom sowie kardiovaskuläre Erkrankungen [8]. Es bestehen zudem Komorbiditäten mit anderen Autoimmunerkrankungen, vor allem Zöliakie und Autoimmunthyreoiditis [13].

## 1.2 Hypoglykämien beim T1D im Kindes- und Jugendalter

### 1.2.1 *Definition, Ätiologie, Klinik und Schweregrade*

Hypoglykämien werden von der ISPAD in Anlehnung an die Definition der American Diabetes Association (ADA) sehr allgemein definiert als „ein Absinken des Blutglukosespiegels, welches potentiell zum Schaden eines Patientens sein kann“ [14, 15; Übersetzung der Verfasserin]. Der genaue Glukosemesswert, ab dem eine Hypoglykämie quantitativ biochemisch definiert wird, ist sowohl hinsichtlich der Verwendung in Studien als auch für den klinischen Gebrauch in der Fachdiskussion umstritten, da klinische Symptome und physiologische Reaktionen interindividuell und situationsbedingt unterschiedlich sein können [16, 17] und die gängigen Blutglukosemessgeräte insbesondere bei niedrigen Messwerten mit einer relativ hohen Messungengenauigkeit behaftet sind [14]. Von den Fachgesellschaften werden Grenzwerte zwischen 60 – 70 mg/dl diskutiert [14, 15]. Aus experimentellen Studien mit der hyperinsulinämischen Glukose-Clamp-Technik ist bekannt, dass bei gesunden Erwachsenen bei Unterschreitung eines Glukosewertes von 65 - 70 mg/dl die hormonelle Gegenregulation einsetzt [18]. Im klinischen Alltag ist in der Pädiatrie die Verwendung eines Grenzwertes von 65 mg/dl üblich [15]. Dieser wird auch in der Leitlinie der DDG als biochemisches Kriterium (auch bei Fehlen typischer Hypoglykämiesymptome) festgelegt [9].

Hypoglykämien sind Folge eines Missverhältnisses von Insulinwirkung und Glukoseangebot. Klassische Ursachen für Hypoglykämien im Rahmen der Diabetestherapie bestehen in einer relativ zu hohen Insulinzufuhr (z.B. Berechnungsfehler, zu enge Stoffwechselziele zur Vermeidung von Hyperglykämie, Fehldeutung des gegenregulatorischen Somogyi-Effekts), einer geringeren Glukosezufuhr als berechnet (z.B. ausgelassene Mahlzeit), einem erhöhten Kohlenhydratumsatz (z.B. Sport), reduzierter Glukoneogenese (z.B. nach Alkoholkonsum), erhöhter Insulinsensitivität (z.B. nachts oder bei verbesserter körperlicher Fitness) oder reduzierter Insulinclearance im Rahmen einer Erkrankung [19]. Neben durch obengenannte Zusammenhänge erklärbaren Hypoglykämien treten bei Kindern und Jugendlichen mit T1D jedoch auch Hypoglykämien auf, für die keine der gängigen Erklärungsmuster zutreffen. Diese werden als nicht-erklärbare

Hypoglykämien bezeichnet. Sie finden in Studien bisher nur selten explizite Beachtung. Ihr Anteil an allen schweren Hypoglykämien wird mit 30 - 60 % angegeben [20 - 23].

Die klinischen Zeichen einer Hypoglykämie werden in der Literatur auf pathophysiologischer Grundlage unterteilt in Symptome der vegetativen Aktivierung (Zittern, Palpitationen, Kaltschweißigkeit, Blässe) und Symptome der Neuroglykopenie (Konzentrationsschwierigkeiten, Seh- und Hörstörungen, verwaschene Sprache, Verwirrtheit, Gangunsicherheit, Bewusstseinsverlust, Krampfanfälle und Tod). Für Kinder werden zudem Verhaltensveränderungen, Stimmungsschwankungen/Irritabilität, Alpträume und untröstliches Weinen als neuropsychologische Symptome sowie unspezifische Symptome wie Hunger, Kopf- und Bauchschmerzen, Erbrechen und Müdigkeit beschrieben [15].

Es existieren verschiedene Klassifikationssysteme zur Einteilung des Schweregrades von Hypoglykämien. Für Erwachsene ist die Definition einer schweren Hypoglykämie durch die Notwendigkeit von Fremdhilfe zur Korrektur durch Glukagonapplikation oder Kohlenhydrataufnahme gegeben [14]. Dieses Kriterium kann für Kinder, die altersentsprechend immer unterschiedlich stark auf Fremdhilfe angewiesen sind, nicht angewendet werden. Es existieren verschiedene alternative Definitionen. Der ISPAD-Consensus beschreibt schwere Hypoglykämien dementsprechend offen als „ein Ereignis, welches mit schwerer Neuroglykopenie assoziiert ist, die üblicherweise in Koma oder Krampfanfall resultiert und parenterale Therapie erforderlich macht“ [15; Übersetzung der Verfasserin]. In der DDG-Leitlinie hingegen wird von einer „Bewusstseinsbeschränkung oder Bewusstseinsverlust“ gesprochen und im Schweregrad zwischen der Möglichkeit einer oralen Gabe von Traubenzucker (mit Fremdhilfe) und anderen Applikationsformen unterschieden [9]. In den meisten klinischen Studien werden Koma und Krampfanfall als Kriterien für eine schwere Hypoglykämie verwendet [24, 25], andere Arbeitsgruppen schließen auch weitere Symptome der Neuroglykopenie mit ein [26]. Abzugrenzen von schweren Hypoglykämien sind als milde und moderate Hypoglykämien alle Abweichungen des Blutglukosespiegels unter den Grenzwert ohne obengenannte Symptome, welche nach Empfehlung der ISPAD gemeinsam betrachtet werden sollten. Diese können auch asymptomatisch verlaufen [15].

### 1.2.2 *Epidemiologie*

Es existiert eine Vielzahl von Studien, welche die Epidemiologie von schweren Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen beschreiben. Insgesamt variieren die Inzidenzzahlen zwischen 17 - 36/100 Patientenjahre [26-28], bei Kindern im Vorschulalter liegen diese mit bis zu 60/100 Patientenjahren deutlich höher [25]. Als spezielle Risikofaktoren für das Auftreten schwerer Hypoglykämien wurden Alter < 5 Jahre und Adoleszenz, männliches Geschlecht und eine längere Diabetesdauer identifiziert. Bzgl. weiterer potentieller Einflussfaktoren auf die Hypoglykämiehäufigkeit wie HbA1c und Therapieform ist die Datenlage uneinheitlich [26, 28 - 31].

Die Häufigkeit nicht-schwerer Hypoglykämien zu erfassen ist schwierig, da diese oft unbemerkt bleiben, von Patienten unterschiedlich konsequent dokumentiert und vielfach nicht an den behandelnden Arzt kommuniziert werden [32]. Studien aus der Erwachsenenendokrinologie zufolge liegt diese zwischen 1.5 und 3 Hypoglykämien/Patient/Woche. Etwa 70 – 80 % der Patienten sind regelmäßig von nicht-schweren Hypoglykämien betroffen [32, 33]. Als mögliche Risikofaktoren werden eine größere Blutglukosevariabilität, längere Diabetesdauer, niedriger BMI und exzessive sportliche Aktivität genannt [34]. Für Kinder und Jugendliche mit T1D existieren Daten zur Häufigkeit von nicht-schweren hypoglykämischen Entgleisungen nur aus Studien zur kontinuierlichen subkutanen Glukosemessung. Demnach lag die Gesamtdauer von Glukosewerten  $\leq 70$  mg/dl bei Kindern und Jugendlichen mit T1D im Durchschnitt bei 1,5 Stunden/Tag [35] und mit 2.1 Ereignissen/Tag deutlich höher als für Erwachsene aus SMBG-Daten beschrieben [36].

Die große Häufigkeit von nicht-schweren Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D ist insbesondere auch relevant vor dem Hintergrund, dass das gehäufte Auftreten milder hypoglykämischer Entgleisungen zu schweren Hypoglykämien prädisponiert [27]. Dies geschieht durch einen Anstieg des Schwellenwertes für das Einsetzen der Katecholamin- und Cortisolausschüttung nach stattgehabten Hypoglykämien („hypoglycemia-associated autonomic failure“, [37]). In der Folge fehlen trotz niedriger Blutglukosewerte die klassischen vegetativen Warnsymptome einer Hypoglykämie und es kommt zu einer Hypoglykämie-Wahrnehmungsstörung („hypoglycemia-unawareness“ [38]). Bleiben asymptomatische Hypoglykämien

unentdeckt und unbehandelt, können schwere Hypoglykämien ohne klinische Vorzeichen resultieren. Dieses Phänomen ist durch eine konsequente Vermeidung nicht-schwerer Hypoglykämien reversibel [39].

### 1.2.3 *Mögliche Folgen von Hypoglykämien und Hypoglykämieangst*

Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D stellen ein erhebliches gesundheitsliches Risiko und eine Belastung für die Betroffenen und ihre Familien dar. Dies trifft natürlich besonders für schwere Hypoglykämien zu, welche durch cerebrale Glukoseunterversorgung und Auslösung ventrikulärer Arrhythmien zum Tod führen können [40]. Das „dead-in-bed-syndrome“ beschreibt einen plötzlichen Todesfall eines T1D-Patienten der ein CGM-Gerät trug und bei dem ein zeitlicher Zusammenhang mit niedrigen Blutglukosewerten nachgewiesen wurde [41]. Bis zu 10 % aller diabetesassoziierten Todesfälle werden auf Hypoglykämien zurückgeführt [42, 43]. Die oft dramatisierende Darstellung dieser Gefahren führt bei vielen Patienten und ihren Eltern zu Verunsicherung.

Die Frage, inwieweit Hypoglykämien mit einem Risiko für neurologische Folgeschäden behaftet sind, ist in der Literatur umstritten. Für Erwachsene wurde in der Langzeitauswertung des „Diabetes Control and Complications Trial“ (DCCT) kein langfristiger Verlust kognitiver Funktionen abhängig von der Hypoglykämiehäufigkeit nachgewiesen [44]. Auch für Kinder und Jugendliche ist die Datenlage heterogen. Während für Schulkinder keine Defizite in der kognitiven Leistungsfähigkeit im Zusammenhang mit stattgehabten schweren Hypoglykämien nachgewiesen wurden [45], ist insbesondere für Kinder < 6 Jahre davon auszugehen, dass schwere Hypoglykämien zu kognitiven Einschränkungen und Auffälligkeiten in der Hirnentwicklung führen können [46, 47]. Sicher ist darüber hinaus, dass hypoglykämische Episoden unmittelbar zu Konzentrations- und Lernschwierigkeiten führen [48] und nächtliche Hypoglykämien sich ungünstig auf die Schlafqualität und –quantität auswirken [49], so dass für Kinder und Jugendliche Probleme in der Schule resultieren können. Für Erwachsene wurde diesbezüglich anhand von ökonomischen Kennzahlen ein messbarer Einfluss von Hypoglykämien auf die Leistungsfähigkeit im Beruf und Teilnahme am öffentlichen Leben nachgewiesen [50].

Die Angst vor (schweren) Hypoglykämien kann die Lebensqualität betroffener Patienten und ihrer Familien einschränken und eine optimale Stoffwechseleinstellung behindern [51]. Es ist anzunehmen, dass dies insbesondere zutrifft, wenn gehäuft Hypoglykämien auftreten, die nicht durch die üblichen Ursachen wie Fehler in der Insulintherapie, Sport oder akute Krankheit erklärbar sind. Nach Antonovskys Konzept der Salutogenese erleben sich Menschen dann als gesund bzw. sind in der Lage, mit (krankheitsassoziierten) Herausforderungen umzugehen, wenn sie Ereignisse als zusammenhängend und sinnvoll erleben („sense of coherence“). Dieses Kohärenzgefühl wird stabilisiert durch die rationale Erklärbarkeit eines Geschehens („sense of comprehensibility“), das Vorhandensein von Ressourcen und Kompetenzen zur Bewältigung eines Problems („sense of manageability“) sowie die emotionale Sinnhaftigkeit desselben („sense of meaningfulness“) [52]. Das wiederholte Auftreten nicht-erklärbarer Hypoglykämien und das damit einhergehende Fehlen von gezielten Strategien, um diese zu verhindern, kann insofern nach Antonovsky zu einem schwachen Kohärenzgefühl führen, welches das Leben mit der chronischen Erkrankung T1D ungünstig beeinflusst.

### **1.3 Insulinantikörper und deren klinische Bedeutsamkeit beim T1D**

#### *1.3.1 Bildung von Insulinantikörpern*

Unter exogener Insulinapplikation im Rahmen der Behandlung des Typ-1-Diabetes kommt es in der Regel zur Bildung von spezifischen Antikörpern gegen Insulin. Insulinantikörper (IAK) sind das Produkt einer immunologischen Reaktion, die gegen Antigene des exogen applizierten Insulins als Fremdeiweiß gerichtet ist. Bei den IAK handelt es sich vorwiegend um Gammaglobuline vom IgG-Typ [53] sowie um insulinspezifische IgE-Antikörper [54], seltener wurden auch IgM- [55], IgA- [56] und IgD-Antikörper [57], sowie insulinreaktive Globuline der  $\beta$ -Fraktionen [58] nachgewiesen.

Zahlreiche Determinanten sowohl des Insulinmoleküls als auch des aufnehmenden Organismus nehmen Einfluss auf die Art und Intensität der Immunreaktion. Körpereigenes Insulin wird portalvenös sezerniert. Die unphysiologischen

Applikationsformen exogenen Insulins führen zu einer Aktivierung von Makrophagen und Antigenpräsentierenden Zellen im aufnehmenden Gewebe (in der Regel die Subkutis), welche über HLA-Moleküle antigene Peptide präsentieren. Dadurch aktivierte T-Zellen setzen ihrerseits Mediatoren frei, welche zur Proliferation und Differenzierung von B-Zellen zu antikörperproduzierenden Plasmazellen beitragen [59]. Regulatorische T-Zellen induzieren dementsgegen immunologische Toleranz. Im Rahmen des T1D als Autoimmunerkrankung ist dieser Gegenregulationsmechanismus möglicherweise in interindividuell sehr unterschiedlichem Ausmaß eingeschränkt [60]. Die Immunogenität des applizierten Insulins ist zudem abhängig von dessen (Spezies-)Herkunft bzw. der Aminosäuresequenz des jeweiligen Insulinmoleküls. So wurden bei den in der Vergangenheit verwendeten Rinder- und Schweineinsulinen sehr viel stärkere Immunantworten beobachtet, als dies bei den heute verwendeten gentechnisch hergestellten Humaninsulinen und Insulinanaloga der Fall ist [61-64]. Weiterhin wird das Ausmaß der Antikörperantwort durch den Reinheitsgrad und die Zusammensetzung der Insulinpräparation bestimmt. In der Vergangenheit wurden immunologische Komplikationen der Insulintherapie auch häufig auf die für retardierte Insulinformen verwendeten Zink- oder Protaminzusätze sowie andere zusätzliche Bestandteile der jeweiligen Lösungen zurückgeführt und gingen nach Einführung der sogenannten Monokomponenteninsuline deutlich zurück [65 - 68]. Darüber hinaus ist die chemische Struktur des Insulinmoleküls für dessen Immunogenität von Bedeutung. Endogenes Insulin liegt im Plasma biologisch wirksam als Monomer vor [69]. Exogen applizierte Insuline nehmen im Gewebe des Applikationsortes hingegen die Struktur unterschiedlich großer Polymere an, was zu einer verzögerten Absorption und zu einer verstärkten immunologischen Aktivierung führen kann [70]. Dies wird durch Fallberichte über das Insulinanalogon Lispro bestätigt, welches überwiegend als Monomer vorliegt, schnell ansorbiert wird und weniger immunologische Nebenwirkungen zu verursachen scheint als Humaninsulin [71]. Die Applikationsform (CSII versus MDI sowie vor allem im Rahmen von Studien intraperitoneale oder inhalative Applikation) spielt darüber hinaus eine große Rolle für die Intensität der immunologischen Reaktion auf therapeutisches Insulin [72 - 74].

Interindividuelle Unterschiede im HLA-Status (insbesondere die HLA-Molekülen –B15, -DR4 und –DR7 sowie –B8 und –DR3 betreffend) werden in der Literatur mit uneinheitlichem Ergebnis als Einflussfaktoren auf die Intensität der

Insulinantikörperbildung diskutiert [75, 76]. Als weitere patientenbezogene Faktoren werden das Alter [76] sowie das Bestehen weiterer Autoimmunerkrankungen und das Ausmaß der endogenen Insulinproduktionsrestfunktion genannt [59].

Insulinantikörper bei Patienten unter Insulintherapie sind systematisch abzugrenzen von Insulinautoantikörpern (IAA), welche gegen körpereigenes Insulin gerichtet sind. Sie stellen einen Hinweis auf beginnende  $\beta$ -Zell-Autoimmunität im Stadium des Prädiabetes dar und werden zusammen mit anderen Markern für die Prädiktion eines Typ-1-Diabetesrisikos bei Patienten mit einer positiven Familienanamnese für T1D genutzt [77]. IAA sind bei gefährdeten Kindern häufig schon in den ersten Lebensjahren als erster diabetesspezifischer Antikörper nachweisbar [78]. Bei Diabetesmanifestation werden IAA bei ungefähr 50% der Patienten nachgewiesen [79]. Ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von IAA bei Diabetesmanifestation und höheren IAK-Konzentrationen im Verlauf der Erkrankung wird diskutiert, ist aber nicht schlüssig belegt [76]. IAA haben in der Regel keine klinisch relevante metabolische Wirkung. Eine Ausnahme stellt das sogenannte Insulin-Autoimmunsyndrom dar, in dessen Rahmen IAA sehr hochtitrig gebildet werden und zu spontanen Hypoglykämien und gestörter Glukosetoleranz führen können (nach dem Erstbeschreiber auch „Hirata-Syndrom“ genannt [80]). Das Insulin-Autoimmunsyndrom ist vor allem in Japan häufig [81], es wird in Einzelfällen aber auch in den USA und Europa beobachtet [82, 83].

### 1.3.2 *Interaktion von Insulinantikörpern mit exogen appliziertem Insulin*

Insulinantikörper vom IgG-Typ können abhängig von ihrer Konzentration, ihrer Affinität und der Höhe der Insulinspiegel mit Insulin eine reversible Bindung eingehen und Mono- oder Dimere bilden [84]. Diese relativ kleinen Immunkomplexe werden vom Immunsystem nicht umgehend eliminiert. Je nach Avidität der Antikörper und weiteren bisher nur unzureichend beschriebenen Einflussfaktoren persistiert die Insulin-Antikörperbindung über unterschiedlich lange Zeiträume [69].

Inwieweit die Bindung und Dissoziation des Insulins an und von den IAK Bedeutung für die biologische Wirksamkeit des Insulins hat, war in der Vergangenheit Gegenstand von zahlreichen Untersuchungen. Die Entdeckung der Insulinantikörper geht historisch auf die Beobachtung verschiedener unter Insulintherapie auftretender Komplikationen

zurück. Es handelte sich dabei einerseits um ausgeprägte Hypersensitivitätsreaktionen [85], andererseits um das Auftreten eines Insulin-Resistenz-Syndroms, welches mit oder ohne sporadisch auftretende nicht-erklärbare Hypoglykämien (Brittle Diabetes) beschrieben wurde [86 - 88]. Diese klinischen Fälle gaben Anlass zu pharmakodynamischen Studien. Bereits 1944 beschrieb Francis C. Lowell ein Experiment, in welchem er die insulinneutralisierende Aktivität eines Faktors im Blut nachwies, welcher von einem allergie-auslösenden Faktor unterschieden werden könne und Spezifität zeige [89]. 1956 führten Berson und Yalow den experimentellen Nachweis eines „insulin binding globulin“ im Serum insulinbehandelter Erwachsener, welches im Sinne eines „insulin transporting antibody“ wirke und zu einem verzögerten Abbau von markiertem Insulin im Blut der Versuchspersonen führe [87]. In einer Folgeuntersuchung konnten dieselben Autoren 1959 das Bindungsverhalten von Insulinantikörpern genauer charakterisieren und beschrieben erstmals unterschiedliche Bindungskapazitäten und Bindungsaffinitäten der IAK [90], wobei eine hohe Bindungskapazität und eine langsame Dissoziation der IAK-Insulin-Komplexe mit spontanen Hypoglykämien assoziiert wurde [88].

In aufwendigen experimentellen Settings zeigten verschiedene Autoren in den folgenden Jahrzehnten einen verzögerten Anstieg der Konzentration von freiem Insulin im Plasma, eine längere Halbwertszeit desselben und eine insgesamt geringe Wirksamkeit im Sinne höherer postprandialer Glukosespiegel nach standardisierter Insulin- und Glukosezufuhr in Korrelation zur Bindung von Insulinantikörpern an Tracer-Insulin. Sie sahen dadurch die These der Neutralisierung der Insulinwirkung durch IAK auch bei Patienten mit T1D ohne besondere Stoffwechselproblematik im Sinne von Insulinresistenz oder Brittle Diabetes bestätigt [91 - 94]. Bolli et al. zeigten darüber hinaus eine verzögerte adrenerge Gegenregulation und Herstellung von Normoglykämie nach experimentell induzierter Hypoglykämie bei Patienten mit relevanter IAK-Insulinbindung [95]. Im Gegensatz dazu fanden Gardner et al. keine signifikanten Unterschiede der anhand von Glukoseverlaufprofilen beschriebenen Insulinwirkung nach standardisierter Insulin- und Glukoseapplikation bei Diabetespatienten mit und ohne IAK-Nachweis [96]. Auch neuere Clamp-Studien zeigten keine Unterschiede in der Dauer der Insulinwirkung und der postprandialen Glukosetoleranz abhängig von IAK-Parametern [97, 98]. Eine dritte Position wird durch

Autoren vertreten, die Insulinantikörpern eine stoffwechselstabilisierende Funktion im Sinne einer „Pufferwirkung“ zuschreiben [99, 100].

### 1.3.3 *Klinisch messbare Stoffwechselwirkungen von Insulinantikörpern*

Die Häufigkeit und Intensität immunologischer Komplikationen ging mit der Weiterentwicklung der Insulintherapie bis hin zur Verwendung der heute üblichen rekombinanten Humaninsuline und Insulinanaloga deutlich zurück [64]. Insulinantikörper werden jedoch auch bei Patienten unter modernen Therapiebedingungen nachgewiesen [101, 102] und wurden und werden vor allem in Fallberichten immer wieder mit Insulinresistenz und/oder spontanen Hypoglykämien in Zusammenhang gebracht [103 - 111].

Ob Auffälligkeiten im Insulinantikörperstatus auch bei der Allgemeinheit der Patienten unter Insulintherapie jenseits des Phänomens einer ausgeprägten immunologischen Insulinresistenz eine Bedeutung für die glykämische Kontrolle gemessen an HbA1c und/oder Insulindosis haben, ist wissenschaftlich umstritten. Einzelne Autoren konnten Korrelationen zwischen auffälligen Parametern des Insulinantikörperstatus und der Qualität der Stoffwechselkontrolle anhand des HbA1c in größeren Patientengruppen nachweisen, wobei aber in keiner der Studien die Insulindosis Berücksichtigung fand [112-114]. Zusammenhänge punktuell hoher oder im Rahmen einer Therapieveränderung steigender IAK-Werte mit einer höheren Insulindosis (unabhängig vom HbA1c) wurden in mehreren Studien gezeigt [102, 115 - 117]. Die Mehrzahl der publizierten größeren Studien beinhaltet jedoch keine überzeugende Evidenz für durchschnittlich höhere HbA1c-Werte oder höheren Insulinbedarf bei auffälligem Insulinantikörperstatus [20, 73, 74, 76, 98, 115, 118 - 122].

Hinsichtlich des Auftretens hypoglykämischer Episoden wurde jenseits der oben aufgeführten Beschreibungen von Einzelfällen und sehr kleinen Patientengruppen in größeren Studien lange kein signifikanter Zusammenhang mit IAK-Parametern nachgewiesen [30, 72, 102, 115, 117, 120 - 123]. Im Rahmen von Studien zu neuen Verfahren zur Insulinapplikation (intraperitoneal, inhalativ), unter denen sehr viel höhere IAK-Spiegel und –Bindungskapazitäten nachweisbar sind als unter MDI und CSII, wurden überwiegend ebenfalls keine Zusammenhänge zwischen auffälligen

IAK-Parametern und der Hypoglykämiehäufigkeit gefunden [73, 74, 97]. Es existieren jedoch auch Untersuchungen zur intraperitonealen Insulinapplikation, welche ein vermehrtes Auftreten von milden Hypoglykämien bei Patienten mit besonders ausgeprägter IAK-Bildung zeigten [124, 125]. Zwei größere europäische Studien untersuchten in jüngerer Zeit gezielt die Frage nach einem Zusammenhang zwischen einer pathologischen Insulinbindungskapazität und dem Auftreten nicht-erklärbarer schwerer Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D unter MDI/CSII mit Humaninsulin und Insulinanaloga [20, 126]. In beiden Studien wurde ein signifikanter Zusammenhang nachgewiesen. Nach den Ergebnissen von Seewi et al. bestand eine Odds Ratio von 22.1 für das Auftreten von nicht-erklärbaren schweren Hypoglykämien bei relevanter IAK-Bindung. Die Autoren folgern daraus, dass entgegen der vorher überwiegender Lehrmeinung Insulinantikörper mit relevanter Insulinbindung einen unabhängigen biologischen Risikofaktor für schwere Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D darstellen [20].

Es ist anzunehmen, dass es sich bei der Interaktion von Insulinantikörpern und exogenem Insulin sowie deren klinischen Auswirkungen in vivo um ein multifaktorielles Geschehen handelt, für welches sowohl unterschiedliche Antikörpercharakteristika, als auch therapie- und patientenbezogene Faktoren (Suszeptibilität, immunologische Toleranz, verwendetes Insulin und Applikationsform) als auch situative Faktoren (pH, Glukose- und Insulinspiegel, evtl. weitere Kofaktoren der Antigen-Antikörperreaktion) eine Rolle spielen. Dies in Studien eindeutig abzubilden, ist unmöglich. Die Ergebnisse unterschiedlicher Studien sind zudem schwer vergleichbar, da die zur Bestimmung des Insulinantikörperstatus verwendeten Laborverfahren sehr unterschiedlich sind. Während der Nachweis von IAA zunehmend mit standardisierten Methoden erfolgt [127], existieren keine standardisierten Messverfahren und etablierten Normwerte für die Bestimmung von IAK unter Insulintherapie. Hierfür werden in der Regel auch IAA-Tests verwendet, die nicht zwischen IAA und IAK differenzieren können [59, 69]. Verschiedene Arbeitsgruppen besonders in Asien haben Laborverfahren entwickelt, um Unterschiede zwischen Insulinautoantikörpern im Rahmen des Hirata-Syndroms, Insulinantikörpern bei Diabetespatienten mit einer spezifischen Insulinresistenz-/Hypoglykämieproblematik und Diabetespatienten allgemein zu finden. Die Ergebnisse dieser Arbeiten sind aber sehr heterogen und lassen keine verbindlichen Schlüsse zu [11, 109, 128]. Im europäischen Kontext wurde von Jäger et al. ein Verfahren zur

Untersuchung und Darstellung der Insulinantikörperbindung und –dissoziation im Zeitverlauf entwickelt [110], welches in einzelnen neueren Studien bereits in Teilen angewendet wurde [20, 102] und auch dieser Arbeit zugrundeliegt.

#### 1.3.4 *Sonstige klinische Effekte von Insulinantikörpern*

Neben akuten und chronischen Stoffwechsellentgleisungen werden in der Literatur noch verschiedene andere klinische Phänomene als potentiell von Insulinantikörpern verursachte Komplikationen unter Insulintherapie beschrieben.

Am besten untersucht ist hierbei die Verursachung allergischer Reaktionen durch IAK, welche unumstritten scheint. Dies gilt sowohl für Antikörper vom IgE-Typ mit Auslösung von lokalen und systemischen Sofortreaktionen, als auch für IgG-Antikörper, welche Reaktionen vom Typ 3 und Typ 4 nach Coombs und Gell vermitteln können [129, 130]. Allergische Komplikationen waren in den frühen Jahren der Insulintherapie häufig und sind unter modernen Therapiebedingungen mit < 1 % der Patienten selten geworden [64]. Aktuelle Studien hierzu befassen sich vor allem mit den Insulinanaloga, welche Fallberichten zufolge einerseits erfolgreich bei Allergien gegenüber Humaninsulin eingesetzt werden [131, 132], andererseits aber auch selbst allergische Reaktionen auslösen können [133, 134]. Im Kontext mit allergischen Reaktionen wurde auch die Verursachung von Lipoatrophie und Lipohypertrophie bei Patienten unter Insulintherapie mit IAK in Verbindung gebracht [135, 136].

Keine umfassende Evidenz findet sich hingegen für weitere in der Literatur beschriebene mögliche klinische Effekte von Insulinantikörpern wie neonataler Komplikationen durch Antikörpertransmission auf den Feten bei mütterlichem insulinabhängigem Diabetes in der Schwangerschaft [137], ein erhöhtes Risiko für andere Autoimmunerkrankungen [138], oder die Verursachung mikrovaskulärer Langzeitkomplikationen durch Insulin-Antikörper-Komplexe [139].

## 2 ZIELSETZUNG UND FRAGESTELLUNGEN

Wie einleitend dargelegt, wird die Frage eines möglichen Zusammenhangs zwischen verschiedenen Parametern des Insulinantikörperstatus und dem Auftreten von Hypoglykämien im Rahmen der Diabetestherapie schon seit annähernd 100 Jahren wissenschaftlich diskutiert. Die veröffentlichten Daten beruhen jedoch auf sehr unterschiedlichen Voraussetzungen hinsichtlich der jeweils untersuchten Patientengruppen, der verwendeten Insuline, der Therapieformen, der diagnostischen Verfahren und nicht zuletzt auch der jeweiligen Hypoglykämieerfassung.

Eine abschließende Aussage ist hieraus insofern nicht abzuleiten. Die Zusammenschau der Ergebnisse legt jedoch nahe, dass „die Präsenz von IAK üblicherweise nicht mit irgendeinem identifizierbaren Effekt auf den Insulinbedarf, die Stoffwechselstabilität oder hypoglykämische Episoden assoziiert ist“, wie in einem jüngeren Editorial zur Relevanz von IAK formuliert [140; Übersetzung der Verfasserin]. Dieser Gesamteinschätzung steht die 2008 von der Kölner Arbeitsgruppe um Ora Seewi veröffentlichte Studie entgegen, die einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Auftreten nicht-erklärbarer schwerer Hypoglykämien und einer pathologischen Insulinbindung durch IAK bei Kindern und Jugendlichen mit T1D zeigte [20]. In der Arbeit von Seewi et al. wurden allerdings nach dem Kriterium einer innerhalb von 18 Monaten stattgehabten schweren Hypoglykämie präselektierte Patienten einer Gruppe von Patienten, die niemals schwere Hypoglykämien hatte, gegenübergestellt. Aus diesem Studiendesign Aussagen für die Gesamtheit von Kindern und Jugendlichen mit T1D abzuleiten, ist nicht uneingeschränkt möglich.

Unser Anliegen war es deshalb, die Frage nach einem möglichen Zusammenhang zwischen Parametern des Insulinantikörperstatus (Insulinantikörpertiter, initiale Insulin-Antikörperbindung und Insulin/Antikörper-Dissoziation im Zeitverlauf gemäß dem von Jäger et al. 2004 publizierten diagnostischen Algorithmus, [110]) und der Häufigkeit nicht nur von schweren Hypoglykämien, sondern von allen Hypoglykämien  $< 65$  mg/dl, differenziert nach deren klinischer Erklärbarkeit, in einem unselektierten repräsentativen Patientenkollektiv von Kindern und Jugendlichen mit T1D zu untersuchen.

Die primäre Studienhypothese der vorliegenden Arbeit lautete: Kinder mit Auffälligkeiten im Insulinantikörperstatus (erhöhter Insulinantikörpertiter, erhöhte initiale Insulin-Antikörperbindung und/ oder verzögerte Insulin/Antikörper-Dissoziation im Zeitverlauf) haben häufiger nicht-erklärbare Hypoglykämien als Kinder mit einem unauffälligen Insulinantikörperstatus.

Zur Überprüfung dieser Hypothese wurden im Detail folgende Fragen bearbeitet:

- 1) Wie häufig treten Hypoglykämien < 65 mg/dl bei Kindern- und Jugendlichen mit T1D auf und welchen Anteil nehmen dabei nicht-erklärbare Hypoglykämien und nicht-erklärbar langanhaltende Hypoglykämien (> eine Stunde Dauer trotz adäquater Korrektur) ein? Bestehen hinsichtlich der Hypoglykämiehäufigkeit Korrelationen mit klinischen Basisparametern (Alter, Geschlecht, Diabetesdauer, BMI-SDS, HbA1c, Therapieform, verwendetes Insulin, Insulindosis sowie Hypoglykämieanamnese)?
- 2) Wie groß ist der Anteil von Patienten mit einer besonderen Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien < 65 mg/dl (Hypoglykämieeigung) und worin unterscheiden sich diese klinisch von anderen Patienten?
- 3) Wie häufig lassen sich erhöhte Insulinantikörpertiter, eine erhöhte initiale Insulin-Antikörperbindung und eine verzögerte Insulin/Antikörper-Dissoziation bei Kindern und Jugendlichen mit T1D nachweisen und bestehen Korrelationen der Ergebnisse der Antikörperdiagnostik mit den oben genannten klinischen Basisparametern?
- 4) Lässt sich ein Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von Hypoglykämien bzw. einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien einerseits und Insulinantikörperkonzentration, initialer Insulin-Antikörperbindung und Dissoziationsverlauf andererseits darstellen?
- 5) Haben die oben genannten klinischen Basisparameter einen Einfluss auf diesen Zusammenhang?

### **3 PATIENTEN UND METHODIK**

Die Untersuchung wurde als prospektive Querschnittsstudie im Zeitraum von Juli 2010 bis Januar 2012 im Hedwig-von-Rittberg-Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Diabeteszentrum für Kinder und Jugendliche der DRK Kliniken Berlin/Westend durchgeführt. Das Diabeteszentrum ist als Diabetologikum DDG mit diabetesspezifischem Qualitätsmanagement zertifiziert.

Das Einverständnis der zuständigen Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin zur Durchführung der Studie lag vor (Projekt Nr EA2/031/10).

#### **3.1 Patientenkollektiv, Ein- und Ausschlusskriterien**

Das Patientenkollektiv des Diabeteszentrums für Kinder und Jugendliche der DRK Kliniken Berlin/Westend bestand zum Zeitpunkt der Planung der Untersuchung aus 216 Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes, die durch Herrn Prof. Dr. W. Burger und sein Team ambulant betreut wurden.

Voraussetzung für die Studienteilnahme waren: Alter bei Studieneintritt zwischen 3-20 Jahren, gesicherter Typ-1-Diabetes, Diabetesdauer bei Studieneintritt mindestens ein Jahr, regelmäßige Durchführung von kapillären Glukoseeigenmessungen entsprechend des Standards<sup>1</sup>, Durchführung der Messungen mit einem Messgerät mit Datenspeicher und Auswertung derselben in der Sprechstunde, Durchführung einer Blutentnahme zur Antikörperdiagnostik im zeitlichen Abstand von maximal einem Jahr zum Studieneintritt sowie schriftliche Einwilligung der Sorgeberechtigten und ggf. des Patienten nach einer altersgerechten mündlichen und schriftlichen Aufklärung.

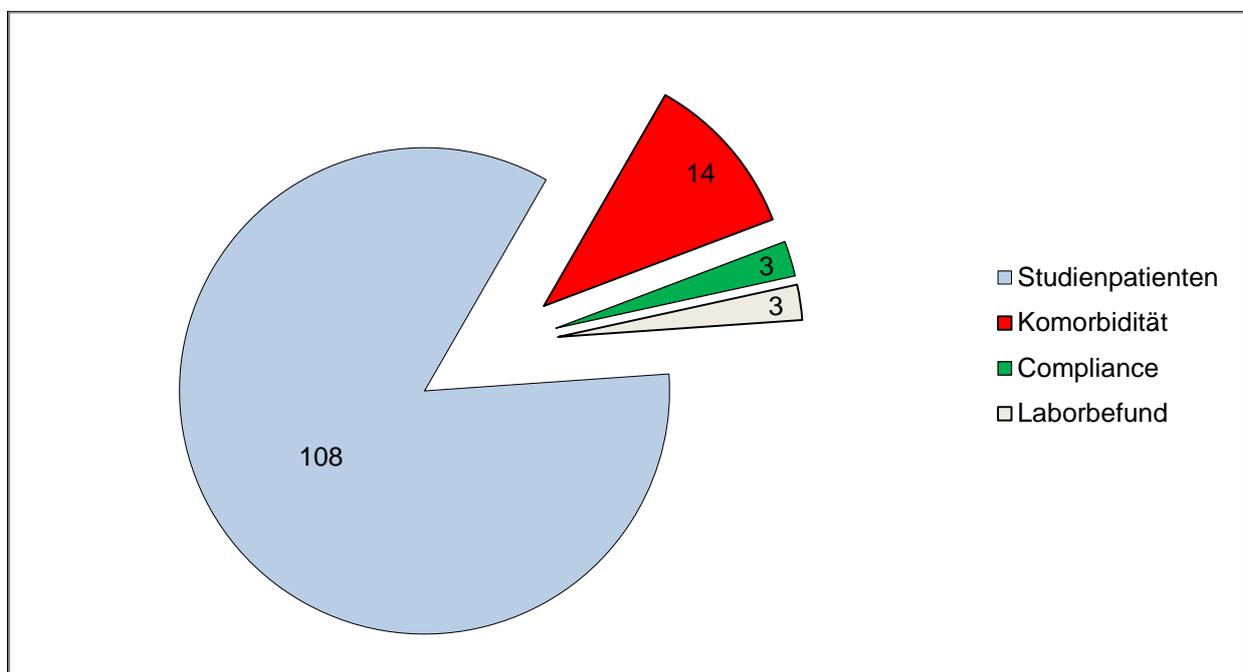
Als Ausschlusskriterien wurden aufgrund eines möglichen nicht-quantifizierbaren Einflusses auf die Hypoglykämieeigung oder die Antikörperbildung definiert: komorbide Autoimmunthyreoiditis, Zöliakie, gastrointestinale Malabsorption anderer Ursache, Morbus Addison, Essstörungen, Alkohol- oder Drogenmissbrauch, Nierenversagen, Einnahme von Medikamenten mit möglichem Einfluss auf die Bildung von Insulinantikörpern (z.B. Thyreostatika, Immunsuppressiva), Schwangerschaft, kognitive oder sprachliche Einschränkungen, die eine ordnungsgemäße Studienteilnahme

---

<sup>1</sup>Der Standard des Diabeteszentrums für Kinder und Jugendliche an den DRK Kliniken Berlin sieht als Basisdokumentation Blutglukosemessungen vor jeder Hauptmahlzeit, vor dem Nachtschlaf sowie einmal wöchentlich postprandial vor.

behindern, mangelnde Adhärenz bei der Glukoseeigenmessung und Hypoglykämiedokumentation.

Allen Patienten des Diabeteszentrums mit gesichertem T1D mindestens ein Jahr nach Manifestation und im entsprechenden Altersrahmen wurde die Teilnahme an der Studie angeboten. 128 Patienten wurden primär rekrutiert. Aufgrund von Komorbiditäten bzw. mangelnder Adhärenz in der Glukosedokumentation oder Nichterfolgen der Blutentnahme zur Antikörperdiagnostik innerhalb des vorgesehenen Zeitfensters mussten 20 Patienten im Verlauf der Untersuchung nachträglich ausgeschlossen werden (Abb. 1). Die Zahl der ausgewerteten Studienpatienten betrug daher 108.



**Abb. 1: Zustandengekommen des Patientenkollektivs aus n = 128 primär rekrutierten Patienten**

Bei den vierzehn wegen Komorbidität ausgeschlossenen Patienten handelt es sich um zehn Fälle von Autoimmunthyreoiditis, zwei Fälle mit Zöliakie, einen Fall mit einer chronisch-atrophischen Gastritis und einen Fall von Thyreostatiktherapie.

### 3.2 Studienablauf und durchgeführte Untersuchungen

Im Rahmen eines regulären Sprechstundentermins wurde den Patienten und ihren Sorgeberechtigten die Studie mündlich erläutert und die Teilnehmerinformation sowie die Einwilligungserklärung ausgehändigt. Nach Besprechung von Rückfragen und Unterzeichnung der Einwilligung wurde einer der folgenden regelhaft alle 3 - 6 Monate stattfindenden Sprechstundentermine als Untersuchungsdatum für die Studie festgelegt. Mit den Patienten und/oder ihren Eltern wurde entsprechend den Empfehlungen der ISPAD eine regelmäßige Glukoseeigenmessung (Messungen vor den Hauptmahlzeiten, vor dem Nachtschlaf, vor sportlicher Betätigung, bei Symptomen einer Hypoglykämie sowie einmal wöchentlich postprandial, [12]) über einen Zeitraum von mindestens vier Wochen vor diesem Termin vereinbart. Bei Messwerten außerhalb des Zielbereichs wurde eine Protokollierung der jeweiligen Umstände (Nahrungsaufnahme, vorangegangene Insulingabe, sonstige mögliche Einflussfaktoren und Besonderheiten) im Tagebuchformat durch Patienten und/oder Eltern gefordert. Weiterhin wurde ein Termin zur Nüchterblutentnahme für die Materialgewinnung zur Antikörperdiagnostik und jährliche Routinelaboruntersuchungen festgelegt.

#### 3.2.1 Auslesung der Glukosemessgeräte und Hypoglykämieerfassung

Zum Untersuchungstermin wurden die Glukosemessgeräte mit dem Computerprogramm DiabassPro ausgelesen und der Glukoseverlauf über den oben definierten Zeitraum in graphischer Darstellung ausgedruckt (Abb. 2).

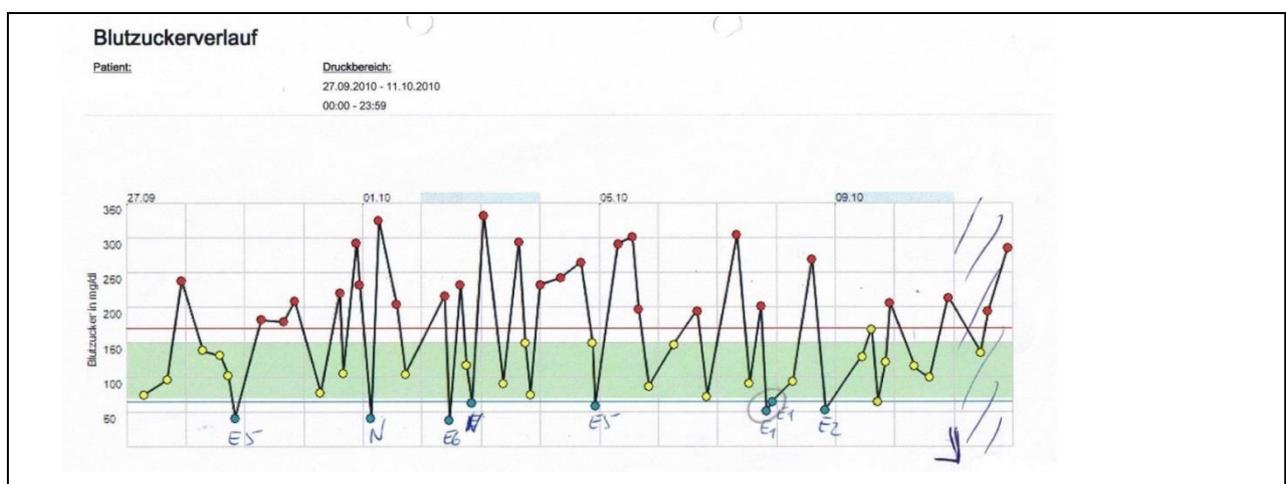


Abb. 2: Auszug Glukoseverlaufsprofil in DiabassPro, Markierung von Werten < 65 mg/dl (Beispiel)

Die Messfrequenz lag im Studienkollektiv durchschnittlich bei  $5.8 \pm 2.5$  Glukoseeigenmessungen pro Tag mit einem Minimum von 2.1 Messungen und einem Maximum von 15.2 täglichen Messungen (Median 5.4). Von allen ausgewerteten Patienten wurden an  $27.9 \pm 0.4$  Tagen des 28-tägigen Untersuchungszeitraums Glukosemessungen durchgeführt (Bereich 26 – 28 Tage).

Alle Auswertungsgespräche erfolgten im gleichen Setting und durch den gleichen Untersucher nach einem standardisierten Procedere im Rahmen der Diabetessprechstunde. Alle gemessenen Glukosewerte  $< 65$  mg/dl wurden gemäß der einleitend dargestellten laut ISPAD-Konsensus klinisch üblichen Definition [15] als Hypoglykämien gekennzeichnet und hinsichtlich möglicher Ursachen hinterfragt. Als standardisiert abgefragte Ursachen wurden hierfür in Anlehnung an die ISPAD-Empfehlungen zur Auswertung von Hypoglykämien [141] definiert:

E1 – weniger Kohlenhydrateinheiten (KE)-Aufnahme als geplant oder berechnet

E2 – versehentliche oder manipulative Insulinüberdosierung

E3 – striktes Therapieregime mit niedrigen Glukose/ HbA1c-Werten

E4 – akuter Infekt

E5 – sportliche Betätigung im Zeitraum 12 Stunden vor der Messung

E6 – Alkoholkonsum im Zeitraum 24 Stunden vor der Messung

Als E7 wurden Sonstige, dann näher schriftlich auf dem Ausdruck zu spezifizierende Gründe angegeben. Alle nach diesen klassischen Kriterien erkläraren Hypoglykämien wurden für die statistische Auswertung unter der Kategorie  $H_E$  zusammengefasst.

Als weitere Kategorie wurden nicht durch die klassischen Ursachen erklärare Hypoglykämien mit  $H_N$  dokumentiert und ausgewertet. Die Klassifikation als nicht-erklärare Hypoglykämie setzte eine genaue Erinnerung an das Ereignis und die Nicht-Erklärbarkeit desselben voraus, d.h. es handelte sich um hypoglykämische Episoden, die den Patienten und/oder ihren Eltern bewusst als überraschende, nicht-erklärare Entgleisungen aufgefallen waren.

Alle hypoglykämischen Werte, deren genauere Umstände nicht zu rekonstruieren waren, wurden mit U für „unkown“ als  $H_U$  dokumentiert und ausgewertet.

Gesondert ausgewertet wurden darüber hinaus prolongierte hypoglykämische Episoden, deren Behebung trotz standardgemäßen Vorgehens<sup>2</sup> aus nicht erklärbaren Ursachen länger als eine Stunde andauerte ( $H_L$ ).

Kontrollmessungen, die innerhalb von < 60 Minuten nach Dokumentation einer Hypoglykämie durchgeführt wurden, gingen nicht in die Auswertung ein.

Die Anzahl der Glukosemessungen im Studienzeitraum sowie die Anzahl der nach  $H_N$ ,  $H_E$  und  $H_U$  sowie  $H_L$  unterschiedenen hypoglykämischen Episoden sowie die Anzahl der Tage, an denen die entsprechenden Episoden auftraten, wurden standardisiert auf dem Dokumentationsbogen erfasst. Die Auswertung erfolgte einerseits in Anzahl der Hypoglykämien pro Woche, andererseits wurde der prozentuale Anteil der Tage, an denen Hypoglykämien auftraten, berechnet.

Alle Patienten, bei denen mindestens einmal innerhalb von 14 Tagen nicht-erklärbare Hypoglykämien auftraten ( $H_N \geq 0.5/\text{Woche}$ ), wurden als Patienten mit einer besonderen Hypoglykämieeigung zusätzlich als eigene Gruppe ausgewertet.

Zusätzlich wurde eine gesonderte Dokumentation schwerer Hypoglykämien im Studienzeitraum vorgesehen. Um eine gute Vergleichbarkeit zu anderen Studienergebnissen zu ermöglichen, wurde die Definition hierfür eng gefasst und erforderte das Auftreten von Krampfanfall, Koma oder Krankenhausaufnahme im Zusammenhang mit Glukosemesswerten < 65 mg/dl. Aufgrund des kurzen Studienzeitraums (28 Tage) und der erwartbar geringen Anzahl von schweren Hypoglykämien in diesem Zeitfenster wurden zur Ergänzung dieser Daten zudem in einer separaten Auswertungskategorie retrospektiv Angaben zu schweren Hypoglykämien im Vorjahr der Untersuchung aus den Patientenakten übernommen. Abweichend von der oben genannten Studiendefinition für schwere Hypoglykämien umfasste diese retrospektive Dokumentation auch Episoden mit Blutglukosewerten < 65 mg/dl und Symptomen der Neuroglykopenie ohne Bewusstseinsstörung und ohne Notwendigkeit einer stationären Behandlung. Die retrospektive Erhebung enthielt als einen weiteren Parameter auch Phasen mit anhaltend niedrigen Glukosewerten

---

<sup>2</sup> Der Standard „Vorgehen bei Hypoglykämie“ des Diabeteszentrums für Kinder und Jugendliche an den DRK Kliniken Berlin sieht eine nach Blutglukosespiegel, Alter, Tageszeit und zeitlicher Relation zur nächsten geplanten Mahlzeit differenzierte Gabe von 1-2 schnell- und  $\geq 12$  Jahre auch langwirkenden KE vor.

von > 24 Stunden Dauer („Hypophasen“). Retrospektive Daten und Daten aus dem Studienzeitraum wurden separat dokumentiert und ausgewertet.

### 3.2.2 *Weitere zum Untersuchungstermin bestimmte Parameter*

Folgende weiteren klinischen Parameter wurden im Rahmen des Studiensprechstundentermins bestimmt bzw. erfragt: Alter und Geschlecht der Patienten, Alter bei Diabetesmanifestation, Gewicht, Größe, Body Mass Index - Standard Deviation Score (BMI-SDS), Art der Insulintherapie (CSII oder MDI), Anzahl der Boli/ Injektionen pro Tag, verwendetes Prandial- und Basalinsulin und Insulindosierung.

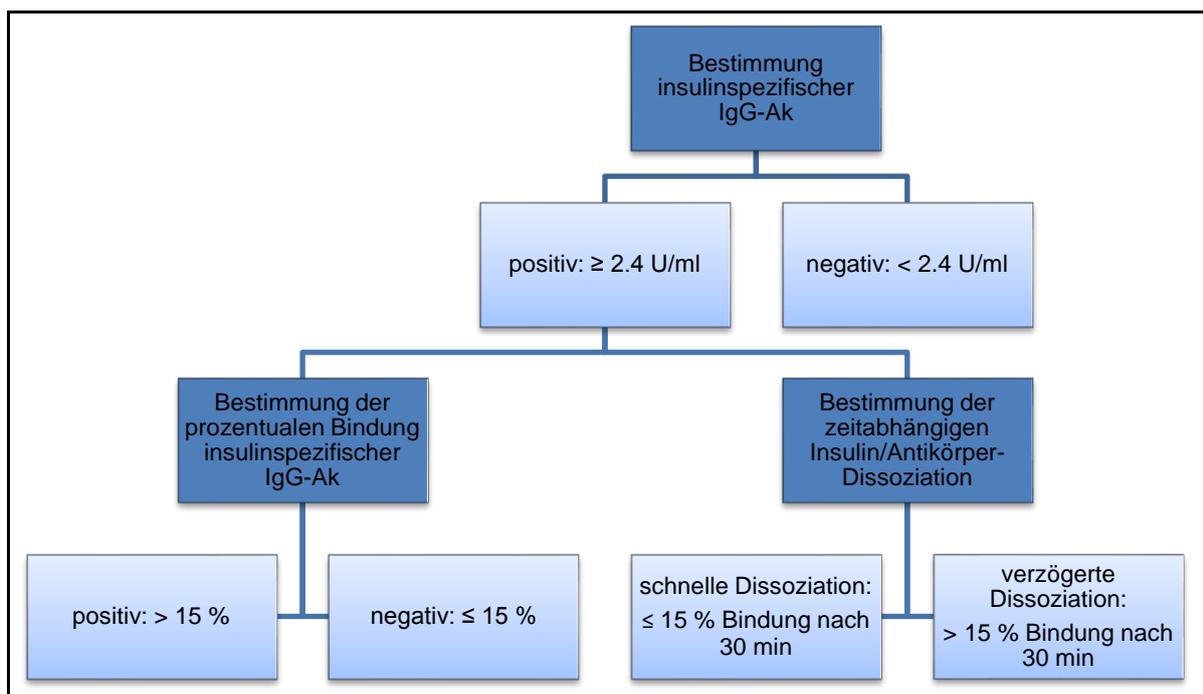
Bei jedem Patienten wurde zudem am Untersuchungstermin in der Diabetesambulanz ein kapillärer HbA1c-Wert gemessen. Dies erfolgte mit dem DCA Vantage<sup>TM</sup> Analyser der Firma Siemens Healthcare Diagnostics. Das DCA System ist als in-vitro-Diagnostikum zur quantitativen Untersuchung von HbA1c vorgesehen. Es werden sowohl die spezifische Hämoglobin A1c-Konzentration als auch die Gesamtkonzentration an Hämoglobin spektrophotometrisch gemessen und das Verhältnis als Prozentwert für Hämoglobin A1c angegeben. Die Angabe des HbA1c in Prozent Hb war zum Zeitpunkt der Datenerhebung entgegen der heute etablierten Verwendung der Einheit mmol/mol klinisch üblich. Als Referenzbereich galt ein mittlerer HbA1c-Wert von  $5.0 \pm 0.35\%$  (95% Konfidenzgrenzen 4.3 – 5.7 %). Der Messbereich des Geräts liegt für Patientenproben zwischen 2.5 – 14.0 % und für Kontrollproben zwischen 2.5 – 16.0 %. Der Test ist im gesamten Bereich linear [142].

### 3.3 **Insulinantikörper-Diagnostik**

Die für die Antikörperdiagnostik erforderliche venöse Blutentnahme (0.5 ml Serum) wurde bei allen Patienten mit der in der Diabetessprechstunde routinemäßig durchgeführten jährlichen Nüchternblutentnahme verknüpft. Diese fand bei allen ausgewerteten Patienten in einem Zeitfenster von maximal einem Jahr vor oder nach dem Untersuchungstermin, aber mindestens ein Jahr nach Manifestation der Erkrankung statt. Die Vollblutproben wurden unmittelbar nach Abnahme in das klinikeigene Labor verbracht, wo sie zunächst bei 3500 Umdrehungen für sieben Minuten zentrifugiert wurden. Das anschließend abgetrennte Serum wurde sodann bei

-20 °C eingefroren und im Verlauf der Studiendauer in insgesamt zwei Sendungen auf Trockeneis versandt.

Die gesamte Labordiagnostik der Insulinantikörper wurde im Immunologischen Labor (Bereich Immunendokrinologie/Gastroenterologie, Leiter: Prof. Dr. med. C. Jäger) der Medizinischen Klinik und Poliklinik III des Zentrums für Innere Medizin (Leiter: Prof. Dr. med. R.G. Bretzel), Justus-Liebig Universität in Giessen mit der von der dortigen Arbeitsgruppe etablierten Methodik durchgeführt. Bestimmt wurde dem von Jäger et al. publizierten Algorithmus folgend zunächst die Konzentration der insulinspezifischen IgG-Antikörper (Suchtest). Bei IAK-Konzentrationen oberhalb des Normwertes wurde dann in einem zweiten Schritt das Bindungs- und Dissoziationsverhalten dieser Antikörper untersucht ([110], vgl. Abb. 3).



**Abb. 3: Stufendiagnostik der Insulinantikörper**

### 3.3.1 Quantitative Bestimmung der IgG-Insulinantikörper

Die quantitative Bestimmung der IgG-Antikörper gegen Insulin im Humanserum erfolgte mit dem kommerziell verfügbaren Enzymimmunoassay (ELISA) Medizym® IAA der Firma Medipan, Berlin. Das Testprinzip beruht auf der Bindung der Insulinantikörper aus verdünntem Patientenserum an auf der Oberfläche einer Mikrotiterplatte beschichtetes

humanes rekombinantes Insulin. Nach Inkubation für 60 min werden ungebundene Komponenten durch einen Waschschrift entfernt. Dann wird anti-human-IgG-Peroxidase-Konjugat hinzugegeben. Nach erneuter Inkubation für 15 min wird überschüssiges Konzentrat mit einem Waschpuffer entfernt. Durch Zugabe von Meerettichperoxidase wird in einer weiteren Inkubationsphase enzymatisch eine Blaufärbung hervorgerufen. Diese Reaktion wird durch Zugabe von Schwefelsäure nach 15 min gestoppt. Alle Inkubationsschritte werden bei 37 °C und im Dunkeln durchgeführt. Es entsteht ein gelbes Endprodukt. Die Absorption des Endprodukts wird innerhalb von 30 min nach Zugabe der Stopplösung bei 450 nm gegen 620 nm mit einem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen. Die erhaltene Extinktion ist dabei direkt proportional zur Antikörperkonzentration. Die Berechnung der Ergebnisse erfolgt automatisch unter Zugrundelegung einer Standardkurve.

Als Referenzwerte werden vom Hersteller ein Wert von  $\geq 2.4$  U/ml als positives Testergebnis angegeben, ein Wert von  $< 2.4$  U/ml gilt als negativ. Alle Patientenserum werden parallel zu Kontrollserum untersucht.

Die Testresultate haben laut Herstellerangaben eine relative Sensitivität von 60 % bei einer relativen Spezifität von 90 % im Verhältnis zu Ergebnissen des IAA-Radioimmunoassay als Goldstandard. Die untere Nachweisgrenze liegt bei 0.08 U/ml. Der obere Messbereich endet bei 20 U/ml, höhere Werte können nicht weiter quantifiziert werden [143].

### *3.3.2 Analyse des Antikörper-Bindungsverhaltens und der zeitabhängigen Insulin/Antikörper-Dissoziation*

Zur Untersuchung des Antikörper-Bindungsverhaltens und der zeitabhängigen Insulin/Antikörper-Dissoziation wurde ein ex vivo/in vitro Assay durchgeführt. Hierbei wird das Patientenserum nach Aliquotierung mit  $J^{125}$ -markiertem rekombinantes Humaninsulin inkubiert. Die Probe wird angesäuert und Methylcellulose zur Adsorption freien Insulins hinzugegeben. Zum Zeitpunkt 0, 30, 60, 90 und 240 Minuten wird durch Zentrifugation das freie Insulin vom antikörpergebundenen Insulin getrennt und beide Anteile im Gamma-Counter quantifiziert. Das Verhältnis beider Anteile (in Prozent) gibt den Anteil an zum jeweiligen Zeitpunkt noch gebundenen Insulin an. In der

Verlaufsbeurteilung über mehrere Messzeitpunkte hinweg kann so die zeitabhängige Dissoziation der Insulin-Antikörperkomplexe dokumentiert werden. Damit ist es möglich, die individuelle Insulinbindungskapazität der IAK im Zeitverlauf darzustellen (Abb. 4) und anhand dieser qualitative Rückschlüsse auf die klinische Relevanz derselben zu ziehen.

Insulin - Dissoziation							
Patientennr.: _____		Eingangsdatum: <u>20.5.11</u>					
Arzt/Station: _____							
Name: _____				Geb.dat.: _____			
Abnahme		0 min.	30 min.	60 min	90 min	120 min	240 min
<b>Normalpatient</b>	Gesamtaktivität						
freies Insulin	Pellet						
gebund. Ins.	Überstand						
Quotient	geb Ins/freies Ins.						
%	geb. Ins/Gesamtakt.						
<b>Patient</b>	Gesamtaktivität	1333,02	1474,03	1572,69	1593,23	1576,84	1566,30
freies Insulin	Pellet	888,30	1265,55	1446,56	1497,58	1484,49	1503,07
gebund. Ins.	Überstand	444,72	213,48	126,13	95,65	89,05	63,23
Quotient	geb Ins/freies Ins.	0,50	0,17	0,08	0,06	0,06	0,04
%	geb. Ins/Gesamtakt.	33%	14%	8%	6%	5,6%	4%

Beurteilung:

Abb. 4: Exemplarische Darstellung der IAK-Bindungs- und Dissoziationsanalyse (Originalbefund)

Als Normalwert wird eine initiale Bindung (Zeitpunkt 0) von 4,3 % (Konfidenzintervall 2.9 – 5.7 %) angenommen. Dieser Normwert ist durch eine Referenzuntersuchung an 158 Diabetespatienten, die ausschließlich mit subcutan verabreichtem Humaninsulin behandelt wurden, validiert [110].

Als unterer Grenzwert für eine mögliche klinische Relevanz der Antikörperbindung wurde im Konsens mit den bisher auf der Grundlage dieser Methode durchgeführten publizierten Untersuchungen eine initiale Bindung von > 15 % angenommen [20, 102, 110].

Eindeutige zeitpunktbezogene Cut-off-Werte zur Festlegung einer pathologischen Dissoziation liegen von Seiten der Giessener Arbeitsgruppe aufgrund von zu geringen Patientenzahlen bisher nicht vor. In den von ihr publizierten Fallbeispielen wurden die Befunde zweier Patienten als eindeutig pathologisch klassifiziert, bei denen der Anteil antikörpergebundenen Insulins nach 30 min noch > 50% und nach 120 min weiterhin

um 40% lag. Dementgegen wurde das Dissoziationsverhalten der IAK bei einer Patientin mit ebenfalls moderat erhöhter initialer Bindung von 24 %, bei der jedoch nach 30 min nur noch 10% des Insulin des Insulins gebunden waren, als schnell klassifiziert. Hieraus abgeleitet werteten wir die Dissoziation als schnell, wenn der prozentuale Anteil gebundenen Insulins zum Zeitpunkt 30 Minuten  $\leq 15$  % lag. Anteile gebundenen Insulins von  $> 15$  % führten zu einer Einstufung des Ergebnis als Nachweis einer verzögerten Dissoziation. Hierbei unterschieden wir in der Auswertung nach Rücksprache mit der Arbeitsgruppe um Prof. Jäger anhand der jeweiligen Insulinbindungskapazität zwischen einer leicht verzögerten Dissoziation (Anteil gebunden vorliegender Insulin-IAK-Komplexe 16 -25 % bei Messung nach 30 min) und einer stark verzögerten Dissoziation (Anteil gebunden vorliegender Insulin-IAK-Komplexe  $> 25$  % bei Messung nach 30 min).

### **3.4 Dokumentation**

Alle oben genannten Parameter wurden auf dem Dokumentationsbogen der Studie (CRF) anonymisiert zusammenfassend dokumentiert. Diese Dokumentationsbögen wurden gemeinsam mit den in Diabass-Pro generierten Glukoseverlaufsprofilen und den Originalen der Laborbefunde aus der Insulinantikörperdiagnostik systematisch abgelegt. Darüber hinaus erfolgte analog zum üblichen Vorgehen im Diabeteszentrum eine elektronische Dokumentation im Diabetes-Patienten-Verlaufsdaten (DPV) Programm [144]. Die Daten unterliegen so einem regelmäßigen bundesweiten externen Benchmarking zur Qualitätskontrolle.

### **3.5 Statistische Methoden**

Die elektronische Erfassung und statistische Auswertung der Daten dieser Arbeit erfolgte mithilfe des Programms „Statistical Package for the Social Sciences“ (SPSS, Version 14.0). Entsprechend der Anzahl der auswertbaren Patienten des Studienkollektivs standen 108 Datensätze zur Verfügung.

Deskriptive Ergebnisse wurden wenn nicht anders vermerkt als prozentuale Anteile für Parameter mit nomineller Ausprägung und als Median mit Bereichsangabe

(Minimum - Maximum) für Parameter mit metrischen oder mindestens ranggeordneten Werten vorgestellt. Die Angabe von Mittelwerten  $\pm$  Standardabweichung (SD) dient insbesondere bei den klinischen Daten dem Vergleich der Ergebnisse mit anderen Publikationen bzw. Kollektiven.

Für statistische Testverfahren wurden ausschließlich Standardprozeduren verwendet, in aller Regel nichtparametrische Verfahren wie der Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben bei zwei Untersuchungszeitpunkten sowie der Mann-Whitney-U-Test für unabhängige Stichproben, um die Verteilung von nicht normalverteilten quantitativen Variablen zwischen zwei Gruppen zu vergleichen, z. B. Hypoglykämiehäufigkeiten. Bei normalverteilten Parametern, wie z. B. HbA1c, wurde zusätzlich der parametrische T-Test durchgeführt, allerdings wurde auf die Angabe der p-Werte des parametrischen Tests verzichtet, da bei keiner der Analysen abweichende Signifikanzniveaus zu den nichtparametrischen Testergebnissen auftraten. Beim Vergleich von Parametern mit kategorialer Ausprägung wurden Unterschiede zwischen den Gruppen mittels Kreuztabellierung und Kontingenzanalyse untersucht und mit Pearson's oder Fisher's Exakt Test auf Signifikanz geprüft. Zur Untersuchung des Zusammenhangs zweier metrischer Variablen wurde die Spearman-Korrelation verwendet.

Um den unabhängigen Einfluss von erklärenden Variablen (Confounder) auf das Vorhandensein einer Hypoglykämieeigung zu untersuchen, wurde die logistische Regressionsanalyse verwendet. Die entsprechende Fragestellung bzgl. der Hypoglykämiehäufigkeiten wurde mithilfe von multivariaten linearen Regressionsanalysen untersucht.

Geprüft wurde in allen Fällen die zweiseitige Fragestellung. Ein Testunterschied mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $p < .05$  wird als signifikant und im Bereich von  $p = .10$  als grenzgradig signifikant bezeichnet.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

#### 4.1.1 Klinische Daten

Das Studienkollektiv bestand aus 108 Kindern und Jugendlichen mit T1D. Die Patienten waren bei Studieneintritt im Durchschnitt  $11.3 \pm 4.3$  Jahre alt (Median 10.6 Jahre, Bereich 3.1 – 20.2 Jahre). Das Alter bei Diabetesmanifestation lag durchschnittlich bei  $6.7 \pm 4.0$  Jahren (Median 5.9 Jahre, Bereich 1.1 – 16.3 Jahre). Die Diabetesdauer betrug im Mittel  $4.5 \pm 3.6$  Jahre (Median 3.5 Jahre, Bereich 1.0 – 17.7 Jahre).

Das Kollektiv setzte sich aus 56 Mädchen (52 %) und 52 Jungen (48 %) zusammen. Der BMI-SDS betrug durchschnittlich  $0.21 \pm 0.85$  (Median 0.21, Bereich -1.66 - +2.40). Bei insgesamt vier der 108 Patienten (3.7 %) lag definitionsgemäß (BMI-SDS 2.00 – 2.50) eine Adipositas vor. Der durchschnittliche HbA1c des Studienkollektivs lag bei  $7.9 \pm 0.9$  % (Median 7.8 %, Bereich 5.7 – 11.1).

Retrospektiv war im Vorjahr der Untersuchung bei sieben der 108 Studienpatienten (6.5 %) mindestens eine schwere Hypoglykämie aufgetreten, wobei hierzu auch Episoden mit niedrigen Blutglukosewerten und Symptomen der Neuroglykopenie ohne Bewusstseinsstörung gezählt wurden. Bei 33 der 108 Studienpatienten (30.6 %) wurden im Vorjahr Phasen mit anhaltend niedrigen Glukosewerten von > 24 Stunden Dauer dokumentiert (in den folgenden Tabellen als „Hypophasen“ aufgeführt).

#### 4.1.2 Therapie

60 der 108 Studienpatienten (55.6 %) wurden mit einer Insulinpumpentherapie (CSII), 48 Patienten (44.4 %) mit einer konventionell-intensivierten Therapie mit mehrfach täglichen Injektionen (MDI) behandelt.

Tabelle 1 gibt die klinischen Daten der Patienten aufgeschlüsselt auf diese beiden Therapiegruppen wieder.

**Tab. 1: Klinische Daten der Patienten mit CSII und MDI (n = 108)**

Parameter	CSII (n = 60)	MDI (n = 48)	Signifikanz (p)
Alter (Jahre)	10.1 ± 4.5	12.7 ± 3.7	<b>.002</b>
Manifestationsalter (Jahre)	5.2 ± 3.1	8.7 ± 4.2	<b>.000</b>
Diabetesdauer (Jahre)	4.9 ± 3.5	4.0 ± 3.6	.196
Geschlecht (m/w)	30/30	22/26	.667
BMI-SDS	0.20 ± 0.73	0.23 ± 0.99	.901
HbA1c (%)	7.9 ± 0.9	7.8 ± 1.0	.543
Schwere Hypo im Vorjahr	5 (8.3%)	2 (4.2%)	.382
Hypophasen im Vorjahr	23 (38.3%)	10 (20.8%)	<b>.050</b>

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung bzw. Fallzahl (Prozent)

Patienten, die mit CSII behandelt wurden, waren im Durchschnitt bei Studienbeginn signifikant jünger, als die mit MDI behandelten. Sie hatten zudem ein signifikant niedrigeres Manifestationsalter. Die Anzahl der Glukosemessungen pro Tag während des Studienzeitraumes war bei den CSII-Patienten mit durchschnittlich  $6.5 \pm 2.7$  Messungen/Tag (Median 6.3, Bereich 2.3 – 15.2) signifikant höher, als bei den MDI-Patienten ( $5.0 \pm 2.0$  Messungen/Tag, Median 4.8, Bereich 2.1 – 10.3;  $p = .001$ ). Hinsichtlich Diabetesdauer, Geschlecht, BMI-SDS und HbA1c bestanden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Therapiegruppen. Schwere Hypoglykämien im Vorjahr traten in beiden Gruppen ohne signifikanten Unterschied der Häufigkeit auf. Länger als 24 Stunden andauernde Hypophasen wurden in der Gruppe der mit CSII behandelten Patienten mit grenzwertiger Signifikanz häufiger dokumentiert.

Die zur Therapie verwendeten Insulinarten gibt Tabelle 2 wieder. Im Rahmen der CSII wurden ausschließlich kurzwirksame Insulinanaloga eingesetzt, wobei überwiegend Insulin Aspart und an zweiter Stelle Insulin Lispro zum Einsatz kam. Bei einem Patienten wurde die Insulinpumpentherapie mit Insulin Glulisine durchgeführt (in der Tabelle unter sonstige aufgeführt). Bei den mit MDI behandelten Patienten wurde als Prandialinsulin ebenfalls am häufigsten Insulin Aspart eingesetzt. An zweiter Stelle stand die Kombinationstherapie mit Insulin Aspart und Normalinsulin, die klinisch besonders bei Schulkindern zur Abdeckung der vormittäglichen Zwischenmahlzeit eingesetzt wird. Als Basalinsulin im Rahmen der MDI wurde überwiegend Insulin

Detemir, gefolgt von Glargin verwendet. In wenigen Fällen wurden im Rahmen der MDI auch NPH-Insuline verwendet (in der Tabelle unter sonstige aufgeführt).

**Tab. 2: Verwendete Insuline der Patienten mit CSII und MDI (n = 108)**

Insulin	CSII (n = 60)	MDI (n = 48)
<b>Prandialinsulin</b>		
(bei CSII Boli und Basalrate)		
Aspart	37 (61.7%)	23 (47.9%)
Lispro	22 (36.7%)	5 (10.4%)
Aspart/ Actrapid	0	15 (31.3%)
sonstige	1 (1.7%)	5 (10.4%)
<b>Basalinsulin</b>		
(für CSII nicht zutreffend)		
Detemir	-	35 (72.9%)
Glargin	-	6 (12.5%)
sonstige	-	7 (14.6%)

Angaben in Fallzahl (Prozent)

Die tägliche Insulindosis betrug im gesamten Patientenkollektiv durchschnittlich  $0.8 \pm 0.2$  U/kg/d (Median 0.8, Bereich 0.4 – 1.3). Sie war bei den mit CSII behandelten Patienten mit  $0.7 \pm 0.2$  U/kg/d (Median 0.7, Bereich 0.4 – 1.2) signifikant niedriger, als bei den mit MDI behandelten Patienten ( $0.9 \pm 0.2$  U/kg/d, Median 0.9, Bereich 0.5 – 1.3,  $p < .001$ ). Bei den mit CSII behandelten Patienten wurden im Durchschnitt  $0.27 \pm 0.09$  U/kg/d als Basalrate und  $0.47 \pm 0.15$  U/kg/d als Boli abgegeben. Die Patienten mit MDI erhielten  $0.43 \pm 0.16$  U/kg/d Basalinsulin und  $0.47 \pm 0.16$  U/kg/d Prandialinsulin. Für die durchschnittliche Anzahl der Boli pro Tag bei CSII lagen nur für 40 der 60 Patienten (66.6 %) Daten vor. Sie betrug  $7.5 \pm 2.5$  (Median 7.0, Bereich 4.0 – 15.0). Bei den mit MDI behandelten Patienten waren für 47 von 48 Patienten (97.9 %) Angaben für die Anzahl der Injektionen pro Tag vorhanden. Diese lag im Durchschnitt bei  $4.8 \pm 0.8$  (Median 5.0, Bereich 3.0 – 7.0).

## 4.2 Hypoglykämien

### 4.2.1 Häufigkeit und Erklärbarkeit von Hypoglykämien

Insgesamt traten bei 103 von 108 Studienpatienten (95.4 %) Hypoglykämien auf. 99 Patienten (91.7 %) hatten Hypoglykämien, denen eine Ursache zugeordnet werden konnte (erklärbare Hypoglykämien). Bei 73 der 108 Patienten (67.6 %) wurden nicht-erklärbare Hypoglykämien dokumentiert. Für die nachfolgende Auswertung wurde die durchschnittliche Anzahl der Hypoglykämien pro Woche und die durchschnittliche Anzahl der Tage im Untersuchungszeitraum, an denen Hypoglykämien auftraten, verwendet. Die so ermittelten Hypoglykämiefrequenzen sind in den Tabellen 3 und 4 angegeben.

**Tab. 3: Anzahl der Hypoglykämien pro Woche (nach Erklärbarkeit) bei n = 108 Studienpatienten**

	gesamt	erklärbar	nicht-erklärbar	unbekannt
<b>Mittelwert ± SD</b>	2.4 ± 1.7	1.6 ± 1.3	0.7 ± 0.9	0.1 ± 0.2
<b>Median (Bereich)</b>	2.3 (0-10)	1.3 (0-8)	0.3 (0-5)	0.0 (0-1)

SD: Standardabweichung (Standard Deviation)

**Tab. 4: Anteil der Tage mit Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum (nach Erklärbarkeit) bei n = 108 Studienpatienten**

	gesamt	erklärbar	nicht-erklärbar	unbekannt
<b>Mittelwert ± SD</b>	28.4 ± 17.4	20.3 ± 14.4	8.0 ± 10.0	1.0 ± 2.4
<b>Median (Bereich)</b>	25.0 (0-82)	17.9 (0-71)	3.6 (0-54)	0.0 (0-11)

SD: Standardabweichung (Standard Deviation), Angaben in %

Bei 36 der 108 Patienten (33.3 %) traten Hypoglykämien von über einer Stunde Dauer auf, die wiederholte Kohlenhydratgaben jenseits der üblichen Korrekturregeln erforderlich machten. Die Häufigkeit solch langanhaltender Hypoglykämien betrug im Durchschnitt  $0.2 \pm 0.3$  (Median 0.0, Bereich 0-1) pro Woche. Sie traten an  $2.4 \pm 4.1$  % (Median 0.0, Bereich 0-18) der ausgewerteten Tage auf.

Schwere Hypoglykämien mit Krampfanfall, Koma oder Krankenhausaufenthalt traten im Untersuchungszeitraum nicht auf.

Die Hypoglykämiehäufigkeit insgesamt sowie die Häufigkeit der erklärbaren und langanhaltenden Hypoglykämien unterschied sich zwischen den Geschlechtern in keiner der beiden Auswertungen signifikant ( $p > .500$  in allen Auswertungen). Nicht-erklärbare Hypoglykämien traten bei weiblichen Patienten mit grenzgradiger Signifikanz häufiger auf, als bei männlichen ( $p = .111$  in der Auswertung der Anzahl nicht-erklärbarer Hypoglykämien/Woche und  $p = .065$  bzgl. des Anteils von nicht-erklärbaren Hypoglykämien betroffener Tage).

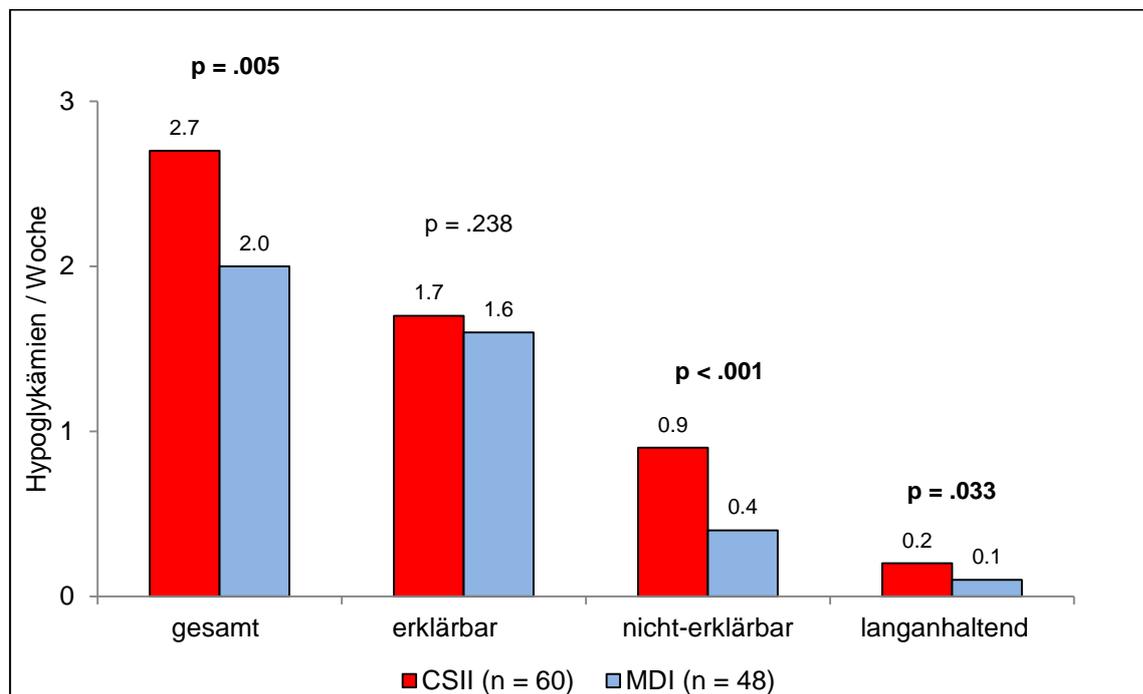
Das Alter bei Studieneintritt korrelierte signifikant negativ mit der Häufigkeit aller untersuchten Hypoglykämiekategorien. Mit der Diabetesdauer bestanden keine signifikanten Einzelkorrelationen. Hinsichtlich des BMI-SDS ergaben sich signifikante negative Einzelkorrelationen mit der Häufigkeit von allen Hypoglyämien insgesamt sowie von nicht-erklärbaren Hypoglykämien. Es bestanden zudem signifikante Korrelationen zwischen einem niedrigeren HbA1c und der Gesamt-Hypoglykämiefrequenz sowie der Häufigkeit erklärbarer Hypoglykämien, nicht jedoch hinsichtlich der nicht-erklärbaren und der langanhaltenden Hypoglykämien. Die Insulindosis korrelierte ebenfalls negativ mit der Häufigkeit aller Hypoglykämien insgesamt sowie der erklärbaren und der langanhaltenden Hypoglykämien. Die entsprechenden Korrelationskoeffizienten und Signifikanzen sind in Tabelle 5 angegeben.

**Tab. 5: Korrelationen der Anzahl der Hypoglykämien pro Woche und des Anteils von Hypoglykämien betroffener Tage (nach Erklärbarkeit und Dauer) mit klinischen Basisvariablen bei  $n = 108$  Studienpatienten**

	gesamt	erklärbar	nicht-erklärbar	langanhaltend
<b>Alter (Jahre)</b>	-0.385 ( <b>&lt; .001</b> )	-0.251 ( <b>.009</b> )	-0.317 ( <b>.001</b> )	-0.316 ( <b>.001</b> )
	-0.373 ( <b>&lt; .001</b> )	-0.267 ( <b>.005</b> )	-0.280 ( <b>.003</b> )	-0.319 ( <b>.001</b> )
<b>Diabetesdauer (Jahre)</b>	-0.099 (n.s.)	-0.074 (n.s.)	-0.013 (n.s.)	-0.047 (n.s.)
	-0.087 (n.s.)	-0.063 (n.s.)	-0.001 (n.s.)	-0.049 (n.s.)
<b>BMI-SDS</b>	-0.267 ( <b>.005</b> )	-0.131 (n.s.)	-0.248 ( <b>.010</b> )	-0.150 (n.s.)
	-0.237 ( <b>.014</b> )	-0.091 (n.s.)	-0.244 ( <b>.011</b> )	-0.158 (n.s.)
<b>HbA1c (%)</b>	-0.311 ( <b>.001</b> )	-0.340 ( <b>&lt; .001</b> )	-0.060 (n.s.)	-0.152 (n.s.)
	-0.293 ( <b>.002</b> )	-0.327 ( <b>.001</b> )	-0.045 (n.s.)	-0.151 (n.s.)
<b>Insulin (U/kg/d)</b>	-0.308 ( <b>.001</b> )	-0.241 ( <b>.012</b> )	-0.172 (n.s.)	-0.381 ( <b>&lt; .001</b> )
	-0.295 ( <b>.002</b> )	-0.250 ( <b>.009</b> )	-0.170 (n.s.)	-0.384 ( <b>&lt; .001</b> )

Alle Angaben als Korrelationskoeffizient Spearman-Rho und Signifikanz (p), n.s.: nicht signifikant  
Angaben in Normalschrift betreffen die Hypoglykämien / Woche, in *Kursivschrift* den prozentualen Anteil betroffener Tage.

Signifikante Unterschiede in der Hypoglykämiefrequenz bestanden zudem hinsichtlich der Therapieform. Bei den mit CSII behandelten Patienten traten durchschnittlich  $2.7 \pm 1.6$  Hypoglykämien (gesamt)/Woche auf (Median 2.5, Bereich 0 – 7), bei den mit MDI behandelten Patienten  $2.0 \pm 1.7$  Hypoglykämien (gesamt)/Woche (Median 1.8, Bereich 0 – 10,  $p = .005$ ). Die Anzahl der erklärbaren Hypoglykämien unterschied sich nicht signifikant ( $1.7 \pm 1.2$  Hypoglykämien/Woche, Median 1.5, Bereich 0-6 (CSII) versus  $1.6 \pm 1.5$  Hypoglykämien/Woche, Median 1.3, Bereich 0 – 8 (MDI),  $p = .238$ ). Nicht-erklärbare Hypoglykämien waren bei mit CSII behandelten Patienten signifikant häufiger (Mittelwert  $0.9 \pm 1.0$  nicht-erklärbare Hypoglykämien/Woche, Median 0.5, Bereich 0 – 5) als bei mit MDI behandelten Patienten (Mittelwert  $0.4 \pm 0.6$  nicht-erklärbare Hypoglykämien/Woche, Median 0.3, Bereich 0 – 2,  $p < .001$ ). Langanhaltende Hypoglykämien traten unter CSII ebenfalls signifikant häufiger auf (Mittelwert  $0.2 \pm 0.3$  langanhaltende Hypoglykämien/Woche, Median 0.0, Bereich 0 – 1) als unter MDI (Mittelwert  $0.1 \pm 0.3$  langanhaltende Hypoglykämien/Woche, Median 0.0, Bereich 0 – 1,  $p = .033$ ). Die Ergebnisse sind in Abbildung 5 graphisch dargestellt.



**Abb. 5: Anzahl der Hypoglykämien / Woche (Mittelwert) bei CSII und MDI (n = 108)**

Die Auswertung des Anteils der Tage mit Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum bei CSII und MDI im Vergleich bestätigt diese Ergebnisse. Die Daten sind Tabelle 6 zu entnehmen.

**Tab. 6: Anteil der Tage mit Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum (nach Erklärbarkeit und Dauer) bei n = 60 Patienten mit CSII und n = 48 Patienten mit MDI**

	gesamt		erklärbar		nicht-erklärbar		langanhaltend	
	CSII	MDI	CSII	MDI	CSII	MDI	CSII	MDI
<b>Mittelwert ±</b>	32.0 ±	23.7 ±	21.4 ±	18.8 ±	10.5 ±	4.9 ±	3.0 ±	1.7 ±
<b>SD</b>	17.3	16.6	13.8	15.3	11.2	7.1	4.3	3.7
<b>Median</b>	32.1	23.2	21.4	17.9	7.1	3.6	0.0	0.0
<b>Bereich</b>	0-79	0-82	0-57	0-71	0-54	0-29	0-18	0-14
<b>p</b>	<b>.008</b>		.183		<b>&lt; .001</b>		<b>.030</b>	

SD: Standardabweichung (Standard Deviation), Angaben in %

Im Hinblick auf die Hauptfragestellungen dieser Arbeit ergaben die Auswertungen, dass Hypoglykämien bei fast allen untersuchten Patienten auftraten. Hypoglykämien insgesamt waren signifikant häufiger bei Patienten mit CSII sowie bei jüngeren Patienten, Patienten mit niedrigerem BMI-SDS und Patienten mit niedrigerem HbA1c und niedrigerer Insulindosis. Nicht-erklärbare Hypoglykämien im Besonderen waren signifikant häufiger unter CSII, bei geringerem Alter und geringerem BMI-SDS sowie nur grenzgradig signifikant häufiger bei Mädchen. Ungewöhnlich lang anhaltende Hypoglykämien traten ebenfalls signifikant häufiger bei Patienten unter CSII und bei jüngeren Patienten sowie bei niedrigerer durchschnittlicher Insulindosis auf.

#### 4.2.2 Hypoglykämieeigung

Eine Hypoglykämieeigung, definiert als Häufigkeit von nicht-erklärbaren Hypoglykämien  $\geq 0.5$ /Woche, bestand bei 38 der 108 Studienpatienten (35.2 %). Patienten mit einer Hypoglykämieeigung bestimmten ihren Glukosewert im Studienzeitraum durchschnittlich  $6.8 \pm 3.0$  Mal pro Tag (Median 6.7, Bereich 2.1 – 15.2) und damit signifikant häufiger als Patienten ohne Hypoglykämieeigung ( $5.3 \pm 2.1$ , Median 4.9, Bereich 2.1 – 12.2 Mal/d,  $p = .003$ ).

Die durchschnittliche Insulindosis unterschied sich bei den Patientengruppen mit und ohne Hypoglykämieeigung nicht signifikant ( $p = .419$ ). Sie betrug bei Patienten mit einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien  $0.8 \pm 0.2$  U/kg/d (Median 0.8, Bereich 0.45 – 1.3) und bei Patienten ohne Hypoglykämieeigung  $0.8 \pm 0.2$  U/kg/ml (Median 0.8, Bereich 0.4 – 1.3). Auch bzgl. des HbA1c, der Diabetesdauer, des

Geschlechterverhältnisses und der Anzahl als schwer gewerteter Hypoglykämien im Vorjahr bestanden keine Unterschiede (Tabelle 7).

Patienten mit Hypoglykämieeigung waren mit nur grenzgradiger Signifikanz jünger als Patienten ohne Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien. Sie hatten durchschnittlich ein signifikant niedrigeres Manifestationsalter und einen niedrigeren BMI-SDS als die Vergleichsgruppe. Anamnestisch bestanden bei Patienten mit Hypoglykämieeigung signifikant häufiger längerdauernde Hypoglykämiephasen im Vorjahr als bei Patienten ohne Hypoglykämieeigung.

**Tab. 7: Klinische Daten von Patienten mit und ohne Hypoglykämieeigung (n = 108)**

<b>Parameter</b>	<b>Hypoglykämieeigung (n = 38)</b>	<b>Keine Hypoglykämieeigung (n = 70)</b>	<b>Signifikanz (p)</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	10.4 ± 4.7	11.8 ± 4.1	.112
<b>Manifestationsalter (Jahre)</b>	5.6 ± 3.5	7.4 ± 4.2	<b>.025</b>
<b>Diabetesdauer (Jahre)</b>	4.8 ± 3.7	4.4 ± 3.5	.567
<b>Geschlecht (m/w)</b>	17/21	35/35	.601
<b>BMI-SDS</b>	-0.09 ± 0.75	0.38 ± 0.86	<b>.005</b>
<b>HbA1c (%)</b>	7.9 ± 0.9	7.9 ± 1.0	.962
<b>Schwere Hypo im Vorjahr</b>	2 (5.3%)	5 (7.1%)	.705
<b>Hypophasen im Vorjahr</b>	18 (47.4%)	15 (21.4%)	<b>.005</b>

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung bzw. Fallzahl (Prozent)

Unter Therapie mit einer Insulinpumpe war der Anteil der Patienten mit Hypoglykämieeigung mit 45.0 % (27 von 60 Patienten) signifikant höher als in der Gruppe der mit MDI behandelten Patienten (22.9 %, 11 von 48 Patienten, p = .017). Bei den 40 Patienten mit CSII, für die Daten zur Anzahl der Boli pro Tag vorlagen, unterschied sich diese nicht signifikant zwischen Patienten mit Hypoglykämieeigung (n = 20, 7.4 ± 2.5 Boli pro Tag) und ohne Hypoglykämieeigung (n = 20, 7.6 ± 2.0 Boli pro Tag, p = .852). Bei den 47 mit MDI behandelten Patienten, für die Daten zur Anzahl der Injektionen pro Tag vorlagen, war die durchschnittliche Anzahl der Injektionen bei den Patienten mit Hypoglykämieeigung signifikant niedriger als in der Vergleichsgruppe. Patienten mit Hypoglykämieeigung erhielten im Durchschnitt 4.4 ± 0.7 Injektionen pro Tag, Patienten ohne Hypoglykämieeigung 4.9 ± 0.8 Injektionen pro Tag, p = .033. Hinsichtlich der verwendeten Insuline bestanden

keine signifikanten Unterschiede in Bezug auf die Hypoglykämieeigung (Basalinsuline  $p = .065$ , Prandialinsuline  $p = .170$ ).

Zusammenfassend bestand bei etwa einem Drittel der untersuchten Patienten eine Hypoglykämieeigung. Diese Patienten waren mit grenzgradiger Signifikanz jünger als Patienten ohne Hypoglykämieeigung. Signifikante Unterschiede bestanden zudem hinsichtlich der Therapieform (zugunsten CSII bei Hypoglykämieeigung), des Manifestationsalters, des BMI-SDS und dem Auftreten längerdauernden Hypoglykämiephasen im Vorjahr.

### 4.3 Insulinantikörperstatus

#### 4.3.1 Insulinantikörperbefund

Von den 108 Studienpatienten hatten 65 einen positiven Insulinantikörperbefund (IAK-Befund) von  $\geq 2.4$  U/ml und 43 Patienten einen negativen IAK-Befund (Abb. 6).

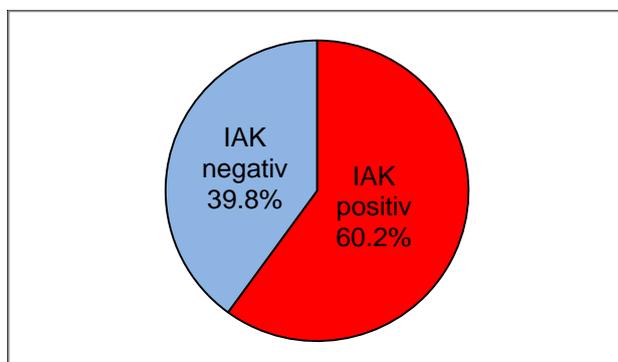
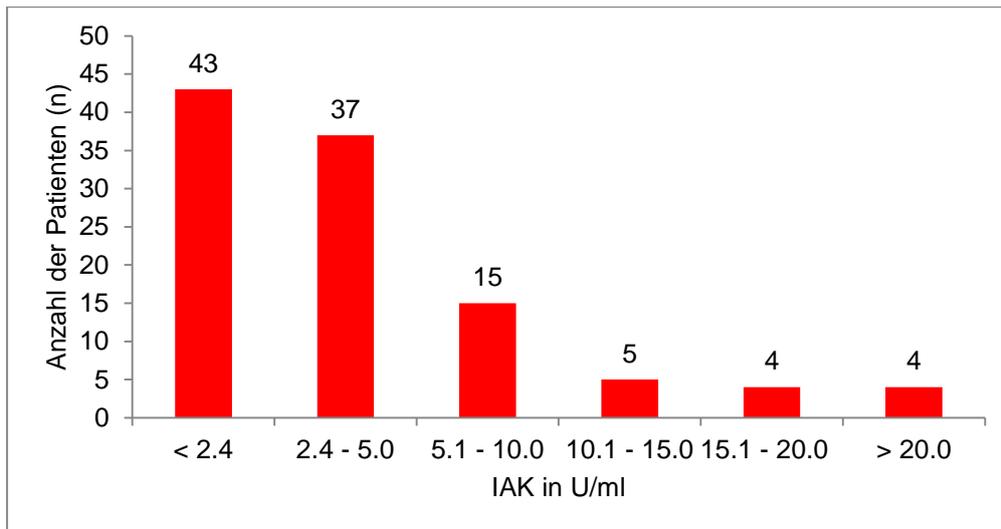


Abb. 6: Verteilung der IAK-positiven und IAK-negativen Patienten (n = 108)

Die IAK-Konzentration lag bei allen 108 Studienpatienten im Mittelwert bei  $4.6 \pm 5.0$  U/ml bzw. im Median bei 2.9 U/ml (Bereich 0.1 – 20.0 U/ml). Dabei ist zu beachten, dass bei insgesamt vier Patienten auch Messwerte  $> 20.0$  U/ml vorlagen, diese jedoch im Labor nicht genau quantifiziert werden konnten und daher als Maximalwert von 20.0 U/ml ausgewertet wurden. Die Verteilung der Ergebnisse der IAK-Bestimmung über den Messbereich ist Abb. 7 zu entnehmen.



**Abb. 7: Messwerte der IAK-Konzentration (U/ml) von n = 108 Studienpatienten**

Patienten mit positivem IAK-Befund waren mit grenzgradiger Signifikanz um durchschnittlich 1.4 Jahre jünger als IAK-negative Patienten,  $p = .100$ . Das Manifestationsalter unterschied sich nicht. Dementsprechend war die Diabetesdauer der Patienten mit positivem Befund durchschnittlich um 1.4 Jahre kürzer (Tab. 8).

**Tab. 8: Altersparameter der IAK-positiven und IAK-negativen Patienten (n = 108)**

Parameter	IAK-positiv (n = 65)	IAK-negativ (n = 43)	Signifikanz (p)
Alter (Jahre)	10.7 ± 3.4	12.1 ± 5.1	.100
Manifestationsalter (Jahre)	6.7 ± 3.5	6.8 ± 4.7	.935
Diabetesdauer (Jahre)	4.0 ± 3.2	5.4 ± 4.0	.057

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung

Die weiteren anamnestischen und klinischen Daten sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Der Anteil der positiven IAK-Befunde war ohne statistische Signifikanz unter den weiblichen Patienten mit 62.5 % etwas höher als unter den männlichen (57.7 %). Der BMI-SDS unterschied sich nicht. Die HbA1c-Werte waren bei den Patienten mit positivem IAK-Befund um 0.2 % geringfügig, aber nicht signifikant niedriger als bei den Patienten mit negativem IAK-Befund. Schwere Hypoglykämien im Vorjahr der Untersuchung wurden in beiden Gruppen ohne signifikanten Unterschied dokumentiert. Auch das Auftreten längerer Phasen mit niedrigen Glukosewerten wurde in beiden Gruppen mit annähernd gleicher Häufigkeit angegeben.

**Tab. 9: Klinische Daten der IAK-positiven und IAK-negativen Patienten (n = 108)**

Parameter	IAK-positiv (n = 65)	IAK-negativ (n = 43)	Signifikanz (p)
Geschlecht (m/w)	30/35	22/21	.610
BMI-SDS	0.20 ± 0.88	0.24 ± 0.80	.803
HbA1c (%)	7.8 ± 0.8	8.0 ± 1.08	.257
Schwere Hypo im Vorjahr	4 (6.2%)	3 (7.0%)	.865
Hypophasen im Vorjahr	23 (30.8%)	10 (30.2%)	.953

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung bzw. Fallzahl (Prozent)

Die Häufigkeit positiver IAK-Befunde unterschied sich in den beiden Therapiegruppen nicht signifikant. Sie lag in der CSII-Gruppe bei 60.0 % versus 60.4 % in der MDI-Gruppe (p = .965). Die durchschnittliche IAK-Konzentration betrug bei Patienten mit CSII 5.1 ± 5.4 U/ml (Median 2.7, Bereich 0.1 – 20.0 U/ml), bei Patienten mit MDI 4.1 ± 4.7 U/ml (Median 3.2, Bereich 0.1 – 20.0 U/ml, p = .335). Hinsichtlich der verwendeten Insuline, der Insulindosis und der Häufigkeit der Insulinapplikation bestand kein signifikanter Unterschied zwischen IAK-positiven und IAK-negativen Patienten (Tab. 10).

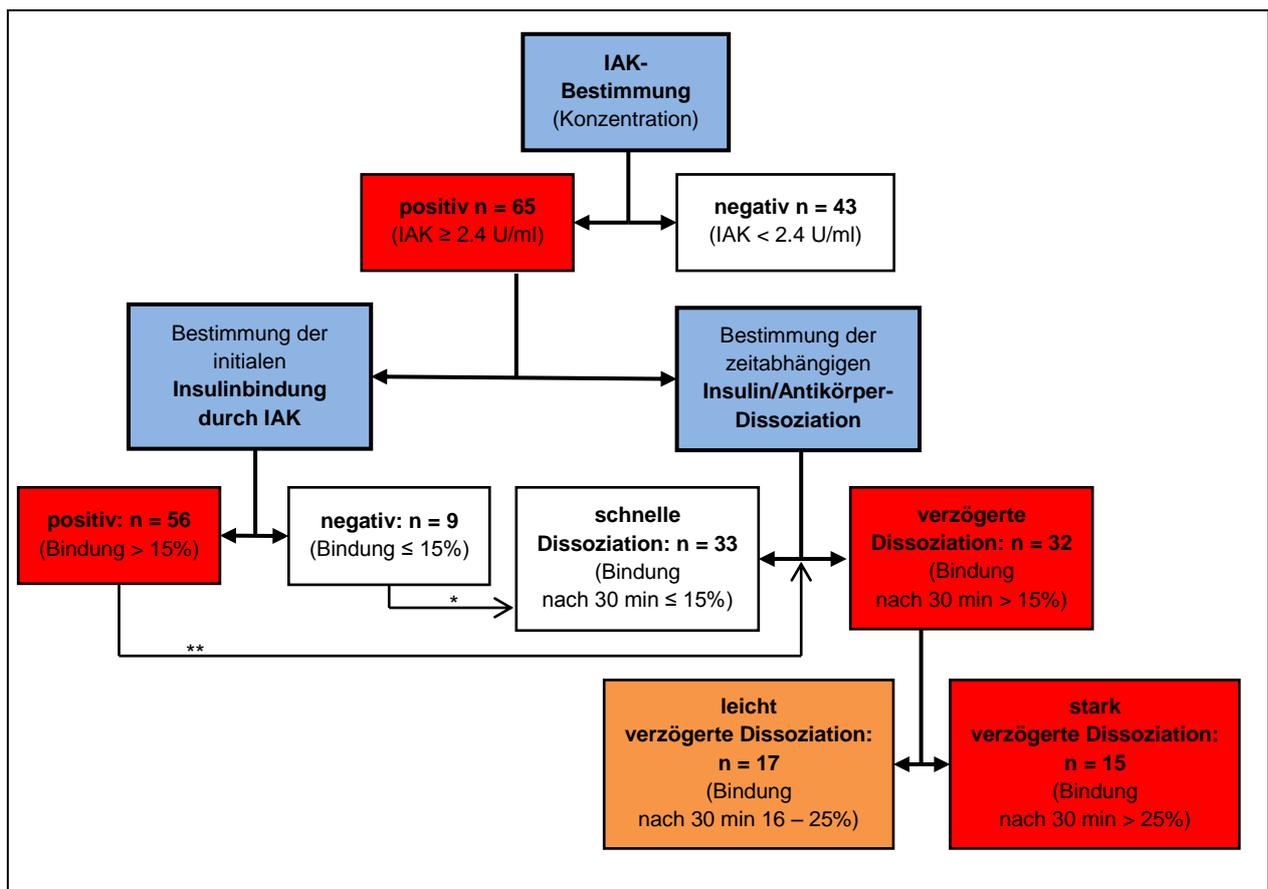
**Tab. 10: Therapiedaten der IAK-positiven und IAK-negativen Patienten (n = 108)**

Parameter		IAK-positiv (n = 65)	IAK-negativ (n = 43)	Signifikanz (p)
<b>Therapieform</b>	CSII (n = 60)	36 (60.0%)	24 (40.0%)	.965
	MDI (n = 48)	29 (60.4%)	19 (39.6%)	
<b>Insulinapplikation</b>	Boli/d (CSII) (n = 40)	7.9 ± 2.2	6.8 ± 2.8	.175
	Injektionen/d (MDI) (n = 47)	4.8 ± 0.8	4.8 ± 0.8	.895
<b>Insulindosis (U/kg/d)</b> (n = 108)		0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.3	.623
<b>Art des Prandialinsulins</b> (n = 108)	Aspart	38	22	.768
	Lispro	14	13	
	Aspart/Normalinsulin	9	6	
	sonstige	4	2	
<b>Art des Basalinsulins/</b> <b>Insulin der Basalrate bei</b>	Aspart	24	13	.155
<b>CSII</b>	Lispro	11	11	
(n = 108)	Detemir	25	10	
	Glargin	2	4	
	sonstige	3	5	

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung bzw. Fallzahl (% von Therapieform)

#### 4.3.2 Bindungs- und Dissoziationsanalyse

Um die Wertigkeit des positiven Insulinantikörperbefundes näher zu differenzieren, wurden bei den 65 Patienten mit positivem IAK-Befund auch das Bindungsverhalten der Antikörper und die zeitabhängige Insulin/Antikörperdissoziation untersucht. Bei 86.2 % der Patienten (56 von 65) bestand eine positive initiale Bindung (> 15% des Insulins zu Beginn der Messung durch IAK gebunden). Bei 49.2 % der Patienten (32 von 65) lag eine verzögerte Insulin/Antikörper-Dissoziation vor (zum 2. Messzeitpunkt nach 30 Minuten noch > 15 % des Insulins an IAK gebunden). Unter diesen 32 Patienten waren 17 Patienten (53.1 %), bei denen nach 30 min noch 16 – 25 % der IAK gebunden waren (leicht verzögerte Dissoziation) und 15 Patienten (46.9 %), bei denen zu diesem Zeitpunkt noch mehr als 25 % der IAK in gebundener Form vorlagen (stark verzögerte Dissoziation). Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Insulinantikörperdiagnostik gibt Abbildung 8.



**Abb. 8: Übersicht der Ergebnisse der Insulinantikörperdiagnostik von n = 108 Studienpatienten**

■ blau hinterlegt: durchgeführte Untersuchungen

□ weiß hinterlegt: negative Befunde ■ rot hinterlegt: positive Befunde unterschiedlichen Grades

\* Per Definition liegt bei Patienten mit negativer initialer Bindung ( $\leq 15\%$ ) eine schnelle Dissoziation vor.

\*\* Bei Patienten mit positiver initialer Bindung besteht eine schnelle oder eine verzögerte Dissoziation.

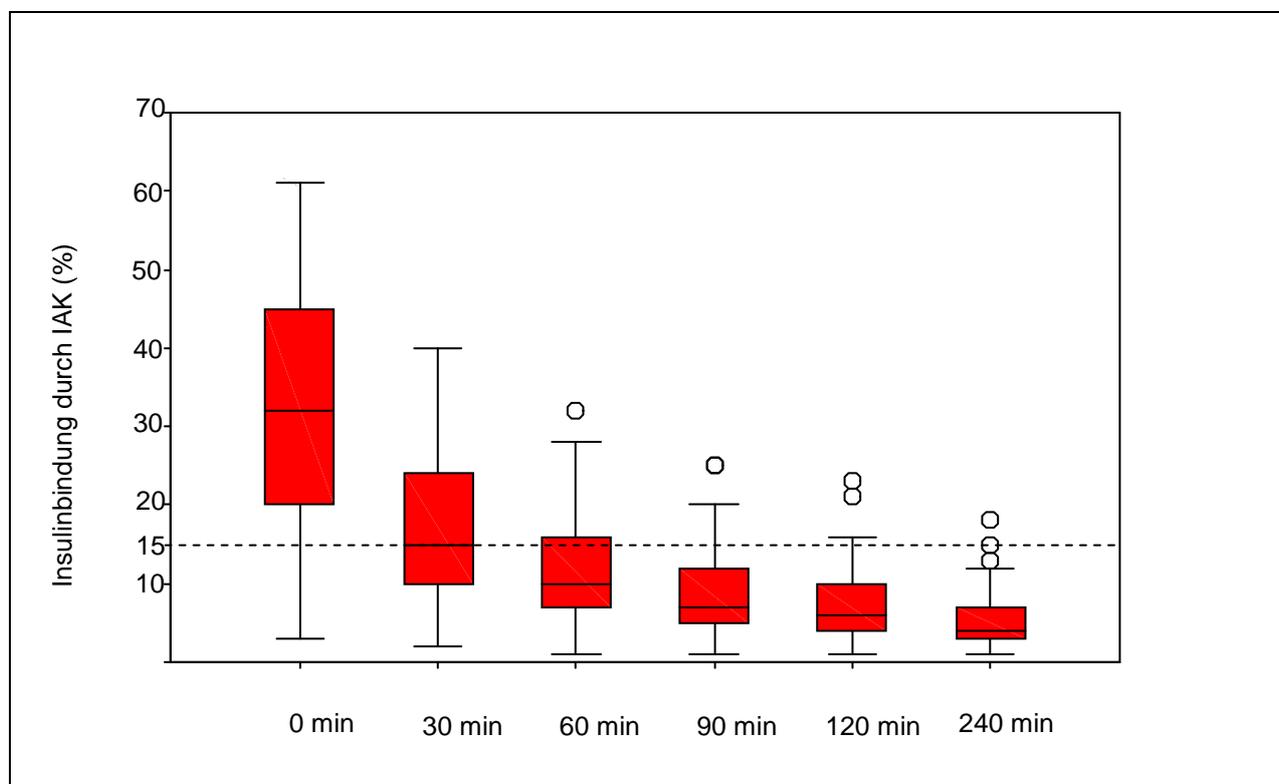
Die Durchschnittswerte der Insulinbindung zu den verschiedenen Messzeitpunkten sind in Tabelle 11 aufgeführt.

**Tab. 11: Messung der prozentualen Insulinbindung durch IAK im Zeitverlauf (n = 65)**

	initial	30 min	60 min	90 min	120 min	240 min
<b>Mittelwert ± SD</b>	32.4 ± 15.1	17.4 ± 9.4	11.8 ± 6.7	9.2 ± 5.4	7.6 ± 4.6	5.4 ± 3.4
<b>Median (Bereich)</b>	32 (3-61)	15 (2-40)	10 (1-32)	7 (1-25)	6 (1-3)	4 (1-18)

SD: Standardabweichung (Standard Deviation)

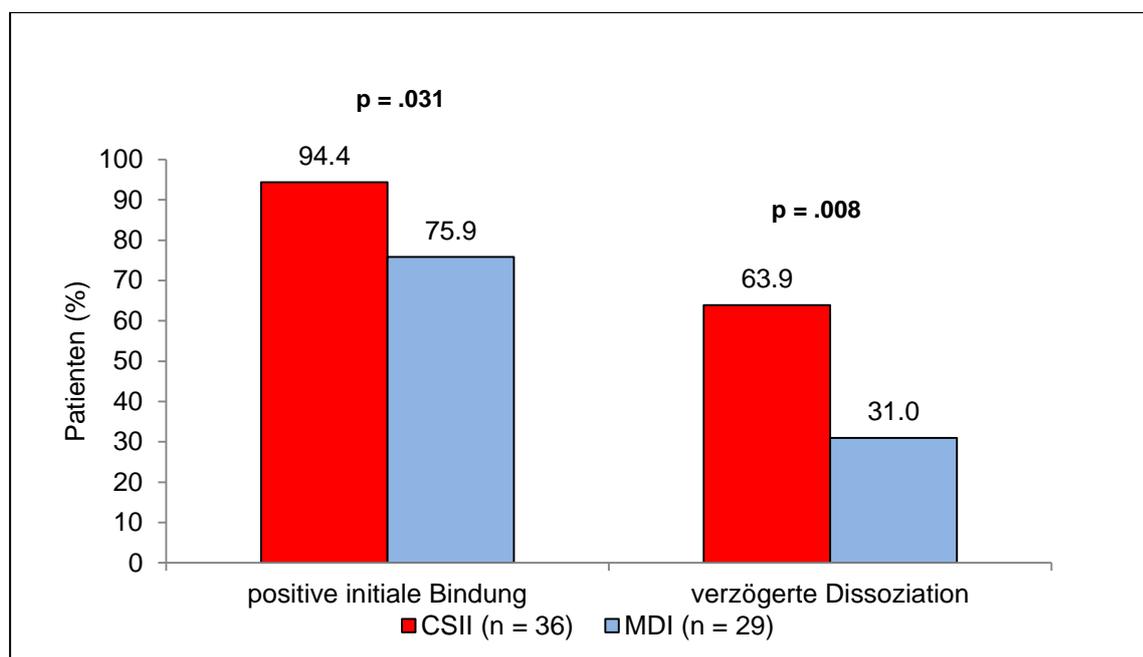
Dieser durchschnittliche Dissoziationsverlauf ist in Abbildung 9 anhand eines Box-Whisker-Plots dargestellt. Es ergibt sich ein typischer Kurvenverlauf mit einem zunächst schnellen Absinken der prozentualen Insulinbindung. Diese fällt durchschnittlich zum zweiten Messzeitpunkt (30 min) unter den Grenzwert von 15 %. Im Zeitverlauf nimmt die Bindung dann immer langsamer ab. Ab dem 4. Messzeitpunkt (90 min) sind nur noch bei einzelnen Ausreißern mehr als 15 % des Insulins an IAK gebunden.



**Abb. 9: Prozentuale IAK-Bindung im Zeitverlauf von n = 65 Patienten.**

Die horizontale Linie in der Box gibt den Median, die Länge der Box den Interquartilabstand und die Whisker den 95. Perzentilenbereich an. Ausreißer sind als Kreise dargestellt. Die gestrichelte Linie zeigt den cut-off für ein positives Testergebnis.

Von den 65 Patienten, bei denen eine Bindungs- und Dissoziationsanalyse der IAK durchgeführt wurde, waren 36 Patienten mit CSII und 29 mit MDI behandelt. Die initiale Insulinbindung war bei CSII-Patienten mit 94,4 % (34 Patienten) signifikant häufiger positiv, als bei MDI-Patienten (75,9 %, 22 Patienten). Eine verzögerte Dissoziation der Bindung trat bei 23 der mit CSII behandelten Patienten (63,9 %) versus 9 der mit MDI behandelten Patienten (31,0 %) auf und war damit ebenfalls signifikant häufiger in der CSII-Gruppe. Die Unterschiede sind in Abbildung 10 dargestellt.



**Abb. 10: Ergebnisse der Bindungs- und Dissoziationsanalyse bzgl. der Therapieform (n = 65)**

Hinsichtlich der klinischen Basisdaten (Altersparameter, Geschlecht, BMI-SDS, HbA1c, verwendetes Insulin, Häufigkeit der Insulinapplikation und Insulindosis) und der Anamnese von schweren Hypoglykämien und Hypoglykämiephasen von > 24h Dauer im Vorjahr ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit positiver und negativer initialer Bindung. Zu berücksichtigen ist hierbei die kleine Fallzahl (n = 9) in der Gruppe der Patienten mit negativer initialer Bindung.

## 4.4 Zusammenhänge zwischen Hypoglykämien und Insulinantikörperstatus

### 4.4.1 Hypoglykämien und Insulinantikörperbefund

Die Gesamtzahl der Hypoglykämien/Woche betrug bei den 65 Patienten mit positivem Antikörperbefund durchschnittlich  $2.4 \pm 1.8$  (Median 2.0, Bereich 0 – 10) und bei den 43 Patienten mit negativem Antikörperbefund  $2.3 \pm 1.6$  (Median 2.3, Bereich 0 – 7). Erklärbare Hypoglykämien traten bei Patienten mit positivem Antikörperbefund  $1.7 \pm 1.4$  Mal/Woche (Median 1.3, Bereich 0 – 8) auf, bei Patienten mit negativem Antikörperbefund  $1.6 \pm 1.3$  Mal/Woche (Median 1.3, Bereich 0 – 6). Die Anzahl der nicht-erklärbaren Hypoglykämien betrug in der Gruppe der Patienten mit positivem Antikörperbefund  $0.6 \pm 0.9$  Hypoglykämien/Woche (Median 0.3, Bereich 0 – 4) und in der Gruppe der Patienten mit negativem Antikörperbefund  $0.7 \pm 0.9$  Hypoglykämien/Woche (Median 0.5, Bereich 0 – 5). Langanhaltende Hypoglykämien wurden bei Patienten mit positivem Antikörperbefund  $0.2 \pm 0.3$  Mal/Woche (Median 0.0, Bereich 0 – 1) und bei jenen mit negativem Antikörperbefund  $0.2 \pm 0.3$  Mal/Woche (Median 0.0, Bereich 0 – 1) dokumentiert. Die Unterschiede waren in keiner der Hypoglykämiekategorien signifikant. Die p-Werte sind Abbildung 11 zu entnehmen.

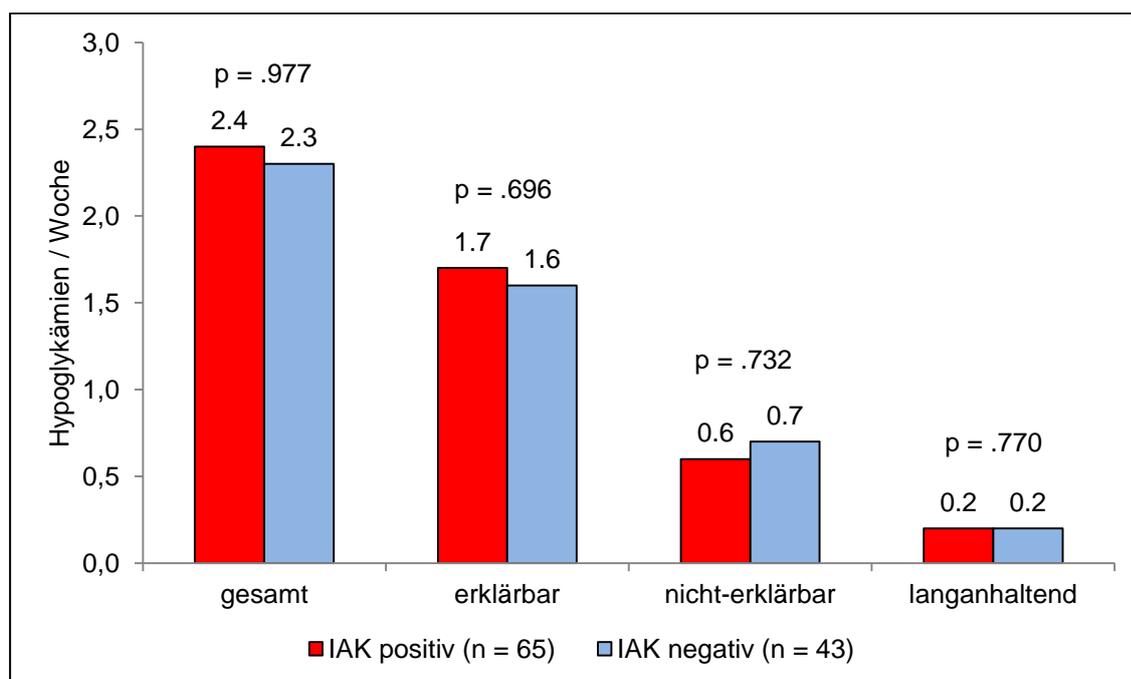


Abb. 11: Anzahl der Hypoglykämien / Woche (Mittelwert) hinsichtlich Antikörperbefund (n = 108)

Die Auswertung der prozentualen Häufigkeit der von Hypoglykämien betroffenen Tage im Untersuchungszeitraum bestätigte die oben dargestellten Ergebnisse bzgl. des Vergleichs der Patienten mit positivem und negativem Antikörperbefund. Die Daten sind in Tabelle 12 aufgeführt.

**Tab. 12: Prozentualer Anteil der Tage mit Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum (nach Erklärbarkeit) für Patienten mit positivem (n = 65) und negativem (n = 43) Insulinantikörperbefund**

	gesamt		erklärbar		nicht-erklärbar		langanhaltend	
	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ
<b>Mittelwert</b>	28.9	27.5	20.8	19.5	7.9	8.2	2.6	2.2
<b>± SD</b>	± 18.0	± 16.7	± 14.6	± 14.3	± 9.8	± 10.3	± 4.3	± 3.7
<b>Median</b>	25.0	25.0	17.9	17.9	3.6	3.7	0.0	0.0
<b>Bereich</b>	0-82	0-58	0-71	0-57	0-46	0-54	0-18	0-14
<b>Signifikanz</b>	p = .826		p = .664		p = .863		p = .759	

SD: Standardabweichung (Standard Deviation), Angaben in %

Es bestanden keine signifikanten Korrelationen zwischen der Hypoglykämiehäufigkeit (sowohl gemessen in Anzahl/Woche als auch in Prozent der betroffenen Tage) und der Höhe des Insulinantikörpertiters (für Hypoglykämien gesamt, erklärbar, nicht-erklärbar und langanhaltend  $p > .300$  in allen Korrelationsanalysen).

Eine Hypoglykämieeignung bzgl. der nicht-erklärbaren Hypoglykämien bestand bei 32.3 % der Patienten mit positivem Antikörperbefund (21 von 65) und bei 39.5 % (17 von 43) der Patienten mit negativem Antikörperbefund. Ein positiver Insulinantikörperbefund lag bei 55.3 % der Patienten mit Hypoglykämieeignung (21 von 38) und bei 62.9 % (44 von 70) ohne Hypoglykämieeignung vor. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen Insulinantikörperbefund und Hypoglykämieeignung ( $p = .441$ ).

Die Konzentration an Insulinantikörpern betrug bei den Patienten mit Hypoglykämieeignung im Mittelwert  $3.6 \pm 4.2$  mU/l (Median 2.5, Bereich 0.1 – 20.0), bei den Patienten ohne Hypoglykämieeignung  $5.1 \pm 5.4$  mU/l (Median 3.4, Bereich 0.1 – 20.0). Der Unterschied war nicht signifikant ( $p = 0.160$ ).

Zusammenfassend konnten in keiner der Analysen signifikante Zusammenhänge zwischen der Hypoglykämiehäufigkeit bzw. –neigung und dem Insulinantikörperbefund nachgewiesen werden.

#### 4.4.2 Hypoglykämien und Insulinantikörperbindungskapazität

Für die Patientengruppe mit positivem Insulinantikörperbefund (n = 65) wurde zusätzlich eine Analyse der Hypoglykämiedaten hinsichtlich der initialen Insulinantikörperbindung durchgeführt (siehe Kapitel 4.3.2). Bei den 56 Patienten mit positiver initialer Bindung wurden durchschnittlich  $2.4 \pm 1.9$  (Median 2.0, Bereich 0 – 10) Hypoglykämien/Woche dokumentiert. Bei den 9 Patienten mit negativer initialer Bindung traten  $2.2 \pm 1.0$  Hypoglykämien/Woche (Median 2.0, Bereich 1 – 4) auf. Die durchschnittliche Anzahl erklärbarer Hypoglykämien/Woche betrug bei den Patienten mit positiver initialer Bindung  $1.7 \pm 1.4$  (Median 1.3, Bereich 0 - 8), bei den Patienten mit negativer initialer Bindung  $1.6 \pm 0.9$  (Median 1.5, Bereich 1 – 4). Nicht-erklärbare Hypoglykämien traten bei Patienten mit positiver initialer Bindung im Durchschnitt  $0.7 \pm 0.9$  Mal/Woche auf (Median 0.4, Bereich 0 – 4), in der Vergleichsgruppe  $0.4 \pm 0.5$  Mal/Woche (Median 0.3, Bereich 0 – 2). Die Anzahl langanhaltender Hypoglykämien/Woche lag für die bindungspositiven Patienten bei  $0.2 \pm 0.3$  (Median 0.0, Bereich 0 – 1), für die bindungsnegativen Patienten bei  $0.1 \pm 0.3$  (Median 0.0, Bereich 0 – 1). Signifikante Unterschiede bestanden weder für die Gesamtzahl der Hypoglykämien noch für die Untergruppen (Abbildung 12).

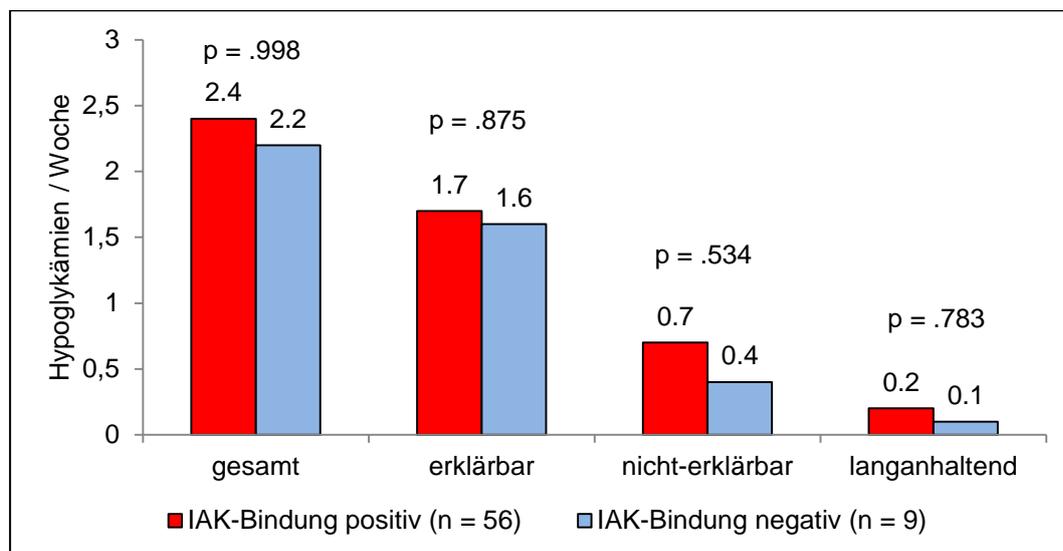


Abb. 12: Anzahl der Hypoglykämien / Woche hinsichtlich IAK-Bindung (Mittelwerte), n = 65

Die Auswertung des Anteils der von Hypoglykämien betroffenen Tage im Untersuchungszeitraum ergab ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit positiver und negativer initialer Insulin-Antikörperbindung. Die Daten sind in Tabelle 13 aufgeführt.

**Tab. 13: Prozentualer Anteil der Tage mit Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum (nach Erklärbarkeit) für Patienten mit positiver (n = 56) und negativer (n = 9) initialer IAK-Bindung**

	gesamt		erklärbar		nicht-erklärbar		langanhaltend	
	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ	positiv	negativ
<b>Mittelwert</b>	29.2	27.0	20.7	21.4	8.4	4.8	2.7	2.0
<b>± SD</b>	± 18.7	± 13.6	± 14.9	± 13.7	± 10.2	± 6.2	± 4.4	± 4.0
<b>Median</b>	25.0	25.0	17.9	17.9	3.8	3.6	0.0	0.0
<b>Bereich</b>	0-82	11-54	0-71	11-54	0 - 46	0-18	0-18	0-11
<b>Signifikanz</b>	p = .944		p = .909		p = .567		p = .774	

SD: Standardabweichung (Standard Deviation), Angaben in %

Eine Hypoglykämie neigung bzgl. nicht-erklärbarer Hypoglykämien wurde für 33.9 % der IAK-bindungspositiven Patienten (19 von 56) und für 22.2 % (2 von 9) der IAK-bindungsnegativen Patienten dokumentiert. Eine positive initiale Insulin-Antikörperbindung bestand bei 90.5 % der Patienten mit Hypoglykämie neigung (19 von 21) und bei 84.1 % (37 von 44) ohne Hypoglykämie neigung. Es bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen initialer Insulin-Antikörperbindung und Hypoglykämie neigung ( $p = .486$ ).

Der Messwert der initialen Insulin-Antikörperbindung lag bei den Patienten mit Hypoglykämie neigung bei durchschnittlich  $34.4 \pm 13.9$  % (Median 36, Bereich 11 – 56 %). Er betrug bei den Patienten ohne Hypoglykämie neigung durchschnittlich  $31.4 \pm 15.7$  % (Median 31, Bereich 3 – 61 %). Dieser Unterschied war nicht signifikant ( $p = .392$ ).

Zusammenfassend bestanden bei den Patienten mit positivem IAK-Befund keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Hypoglykämie häufigkeit bzw. –neigung und der Insulin-Antikörperbindungskapazität.

#### 4.4.3 Hypoglykämien und Kinetik der Insulin/Antikörper-Dissoziation

Die Untersuchung der zeitabhängigen Insulin/Antikörper-Dissoziation bei den 65 Patienten mit positivem IAK-Befund ergab für 32 Patienten eine verzögerte Dissoziation (vgl. Kapitel 4.3.2). In dieser Patientengruppe mit verzögerter Dissoziation traten durchschnittlich  $2.4 \pm 1.8$  Hypoglykämien/Woche (Median 2.0, Bereich 0 – 10) auf. In der Gruppe der Patienten mit schneller Dissoziation ( $n = 33$ ) wurden  $2.4 \pm 1.7$  Hypoglykämien/Woche (Median 2.0, Bereich 0 – 7) dokumentiert. Die Anzahl der erklärbaren Hypoglykämien/Woche betrug bei den Patienten mit verzögerter Dissoziation  $1.6 \pm 1.5$  erklärbare Hypoglykämien/Woche (Median 1.5, Bereich 0 – 8) versus  $1.7 \pm 1.3$  (Median 1.3, Bereich 0 – 6) in der Patientengruppe mit schneller Dissoziation. Nicht-erklärbare Hypoglykämien traten bei Patienten mit verzögerter Dissoziation  $0.7 \pm 0.8$  Mal/Woche (Median 0.5, Bereich 0 – 3) auf, bei Patienten mit schneller Dissoziation  $0.6 \pm 0.9$  Mal/Woche (Median 0.3, Bereich 0 – 4). Die Anzahl langanhaltender Hypoglykämien war in beiden Patientengruppen mit  $0.2 \pm 0.3$  Mal/Woche (Median 0.0, Bereich 0 – 1) gleich. In keiner der Analysen konnte ein signifikanter Unterschied bzgl. der Häufigkeit von Hypoglykämien zwischen Patienten mit verzögerter oder schneller IAK-Dissoziation nachgewiesen werden ( $p \geq .260$ ).

Die Ergebnisse wurden bestätigt durch die Auswertung des prozentualen Anteils der von Hypoglykämien betroffenen Tage (Tabelle 14).

**Tab. 14: Prozentualer Anteil der Tage mit Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum (nach Erklärbarkeit) für Patienten mit schneller ( $n = 33$ ) und verzögerter ( $n = 32$ ) IAK-Dissoziation**

	gesamt		erklärbar		nicht-erklärbar		langanhaltend	
	verzögert	schnell	verzögert	schnell	verzögert	schnell	verzögert	schnell
<b>Mittelwert</b>	29.5	28.4	20.1	21.4	9.0	6.9	2.9	2.3
<b>± SD</b>	± 17.3	± 18.9	± 14.2	± 15.2	± 9.4	± 10.3	± 4.6	± 4.1
<b>Median</b>	25.5	25.0	21.4	17.9	7.1	3.6	0.0	0.0
<b>Bereich</b>	0-82	4-79	0-71	0-57	0-36	0-46	0-18	0-18
<b>Signifikanz</b>	p = .832		p = .900		p = .296		p = .633	

SD: Standardabweichung (Standard Deviation), Angaben in %

Die Ergebnisse der Subgruppenanalyse von Patienten mit leicht verzögerter IAK-Dissoziation (n = 17) und stark verzögerter IAK-Dissoziation (n = 15) sind in den folgenden Tabellen 15 und 16 zusammengefasst.

**Tab. 15: Anzahl der Hypoglykämien/Woche (nach Erklärbarkeit) hinsichtlich der IAK-Dissoziationsgeschwindigkeit bei n = 65 IAK-positiven Patienten**

	gesamt	erklärbar	nicht-erklärbar	langanhaltend
<b>schnelle Dissoziation</b>	2.4 ± 1.7	1.7 ± 1.3	0.6 ± 0.9	0.2 ± 0.3
<b>(n = 33)</b>	2.0 (0-7)	1.2 (0-6)	0.3 (0-4)	0.0 (0-1)
<b>leicht verzögerte Dissoziation</b>	2.1 ± 1.3	1.4 ± 0.9	0.7 ± 0.9	0.2 ± 0.2
<b>(n = 17)</b>	2.0 (0-5)	1.5 (0-3)	0.3 (0-3)	0.0 (0-1)
<b>stark verzögerte Dissoziation</b>	2.8 ± 2.3	1.9 ± 2.0	0.8 ± 0.8	0.2 ± 0.4
<b>(n = 15)</b>	2.0 (1-10)	1.3 (0-8)	0.5 (0-3)	0.0 (1-15)
<b>Signifikanz (p)</b>	.608	.588	.702	.870

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung bzw. Median (Bereich)

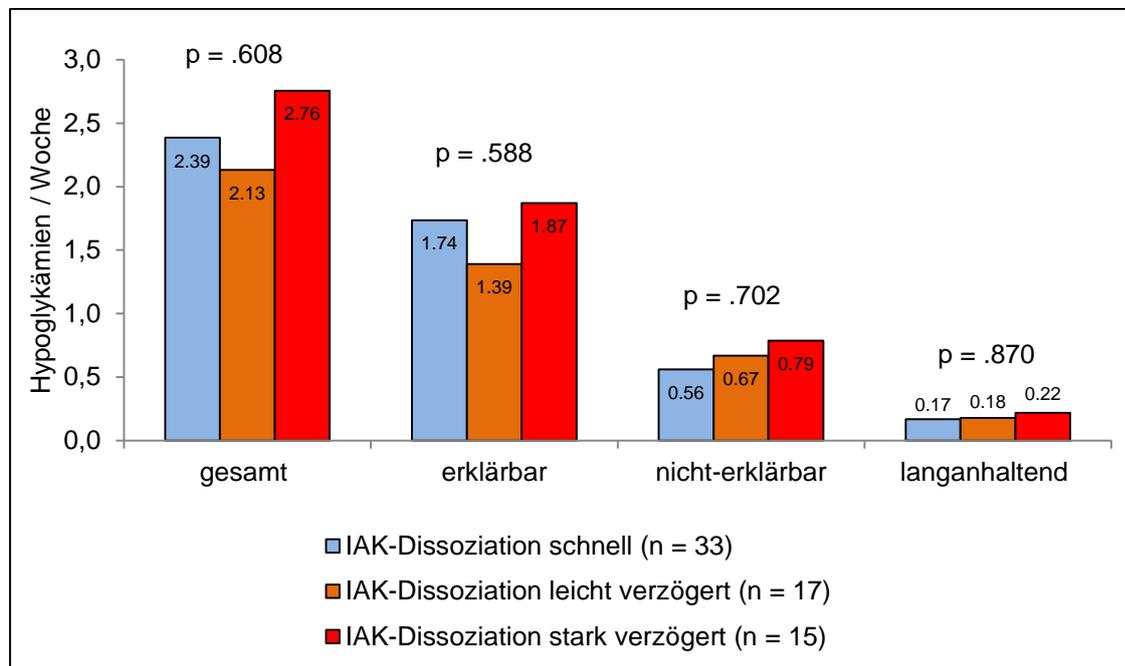
**Tab. 16: Prozentualer Anteil der Tage mit Hypoglykämien (nach Erklärbarkeit) hinsichtlich der IAK-Dissoziationsgeschwindigkeit bei n = 65 IAK pos. Patienten**

	gesamt	erklärbar	nicht-erklärbar	langanhaltend
<b>schnelle Dissoziation</b>	28.4 ± 18.9	21.4 ± 15.2	6.9 ± 10.3	2.3 ± 4.1
<b>(n = 33)</b>	25.0 (4-79)	17.9 (0-57)	3.6 (0-46)	0.0 (0-11)
<b>leicht verzögerte Dissoziation</b>	27.3 ± 16.8	18.4 ± 11.8	8.7 ± 10.4	2.7 ± 3.5
<b>(n = 17)</b>	25.0 (0-50)	21.4 (0-39)	3.8 (0-36)	0.0 (0-18)
<b>stark verzögerte Dissoziation</b>	32.0 ± 18.0	22.0 ± 16.8	9.3 ± 8.4	3.1 ± 5.7
<b>(n = 15)</b>	25.9 (11-82)	18.5 (0-71)	7.1 (0-32)	0.0 (0-18)
<b>Signifikanz (p)</b>	.744	.742	.697	.817

Angaben in Form von Mittelwert ± Standardabweichung bzw. Median (Bereich)

Signifikante Unterschiede bzgl. der Hypoglykämiehäufigkeit konnten nicht nachgewiesen werden. Die Anzahl nicht-erklärbarer Hypoglykämien nahm jedoch vom Trend her mit dem Grad der verzögerten Dissoziation zu. Patienten mit leicht verzögerter Dissoziation hatten in der Tendenz durchschnittlich mehr nicht-erklärbare Hypoglykämien als Patienten mit schneller Dissoziation. Patienten mit stark verzögerter Dissoziation hatten wiederum etwas häufiger nicht-erklärbare Hypoglykämien als Patienten mit leicht verzögerter Dissoziation. Diese Beobachtung trifft auch für die Kategorie der langanhaltenden Hypoglykämien zu, hier sind die Unterschiede jedoch noch diskreter. Hinsichtlich der Gesamtzahl der Hypoglykämien sowie der Anzahl

erklärbarer Hypoglykämien bestand dieser Trend nicht. Die Ergebnisse sind in Abbildung 13 veranschaulicht.



**Abb. 13: Anzahl der Hypoglykämien/Woche (Mittelwerte) hinsichtlich der IAK-Dissoziationsgeschwindigkeit bei n = 65 IAK-positiven Patienten**

Eine Hypoglykämie neigung bzgl. nicht-erklärbarer Hypoglykämien wurde für 40.6 % der Patienten mit verzögerter Insulin/Antikörper-Dissoziation (13 von 32) und für 24.2 % der Patienten mit schneller IAK-Dissoziation (8 von 33) dokumentiert. Eine verzögerte Dissoziation bestand bei 61.9 % der Patienten mit Hypoglykämie neigung (13 von 21) und 43.2 % (19 von 44) der Patienten ohne Hypoglykämie neigung. Obwohl bei verzögerter IAK-Dissoziation ein Trend zur Hypoglykämie neigung bestand, war ein statistisch signifikanter Zusammenhang nicht nachweisbar ( $p = .158$ ).

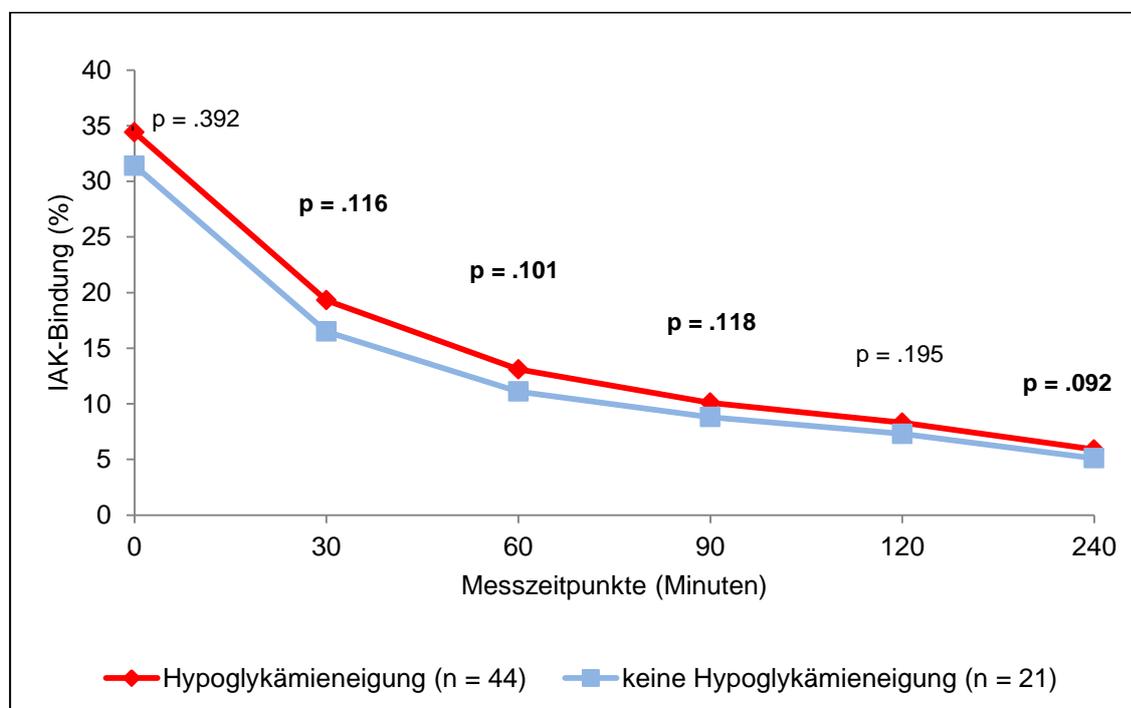
Der Vergleich der prozentualen IAK-Bindung zu den sechs verschiedenen Messzeitpunkten ermöglicht eine detailliertere Auswertung des IAK-Dissoziationsverlaufs bei Patienten mit und ohne Hypoglykämie neigung. Die Daten sind in Tabelle 17 angegeben.

**Tab. 17: Insulin-Antikörperbindung (%) zu sechs Messzeitpunkten hinsichtlich der Hypoglykämie neigung bei 65 Patienten mit positivem IAK-Befund**

Messzeitpunkt (Minuten)	gesamt (n = 65)	Hypoglykämie- neigung (n = 21)	keine Hypoglykämie- neigung (n = 44)	Signifikanz (p)
0	32.4 (1.9)	34.4 (3.0)	31.4 (2.4)	.392
30	17.4 (1.2)	19.3 (1.7)	16.5 (1.5)	.116
60	11.8 (0.8)	13.1 (1.2)	11.1 (1.1)	.101
90	9.2 (0.7)	10.1 (0.9)	8.8 (0.9)	.118
120	7.6 (0.6)	8.3 (0.8)	7.3 (0.8)	.195
240	5.4 (0.4)	5.9 (0.6)	5.1 (0.6)	.092

Angaben in Form von Mittelwert und Standardfehler des Mittelwerts

Eine Gegenüberstellung der Kurvenverläufe der beiden Patientengruppen mit und ohne Hypoglykämie neigung ist in Abbildung 14 gegeben. Beide Kurven haben einen nahezu identischen Verlauf. Allerdings liegt die Kurve der Patienten mit Hypoglykämie neigung insgesamt etwas höher als diejenige der Patienten ohne Hypoglykämie neigung. Dieser Unterschied ist zu den Messzeitpunkten 30, 60, 90 und 240 Minuten nur grenzgradig signifikant.



**Abb. 14: Verlauf der Insulin/Antikörper-Dissoziation bei Patienten mit und ohne Hypoglykämie neigung, n = 65 (Mittelwerte).**

Zusammenfassend ist bei den Patienten mit positivem IAK-Befund kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl von Hypoglykämien sowie der Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien und dem Befund einer verzögerten Insulinantikörperdissoziation nachweisbar. Es bestand ohne statistische Signifikanz nur ein geringer Trend zugunsten eines vermehrten Auftretens nicht-erklärbarer und langanhaltender Hypoglykämien und einer Hypoglykämieeigung im Zusammenhang mit einer verzögerten IAK-Dissoziation. Auch für den Dissoziationsverlauf waren neben einem geringen Trend zu einem durchgehend höheren IAK-Bindungslevel bei Patienten mit einer Hypoglykämieeigung keine statistisch signifikanten Unterschiede messbar.

#### 4.5 Multivariate Analysen

In multivariaten Analysen wurde untersucht, für welche der aufgrund der vorangegangenen Einzelanalysen relevanten Einflussfaktoren statistisch unabhängige Zusammenhänge sowohl mit der Hypoglykämiehäufigkeit als auch mit der Hypoglykämieeigung bestehen. In die Auswertung wurden 10 Faktoren einbezogen. Sie sind in Tabelle 18 aufgeführt.

**Tab. 18: In die multivariate Regressionanalyse einbezogene Variablen**

---

Geschlecht (m/w)
Alter (Jahre)
Diabetesdauer (Jahre)
BMI-SDS
HbA1c (%)
Therapieform (MDI/CSII)
Insulindosis (U/kg/d)
Insulinantikörperbefund (negativ/positiv)
Insulinantikörperbindung (negativ/positiv)
Insulinantikörperdissoziation (negativ/schnell/verzögert)

---

Der Einfluss dieser Parameter auf das Bestehen einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien wurde mit der logistischen Regressionanalyse untersucht (Tabelle 19). Weiterhin wurden mit diesen Parametern multivariate lineare Regressionsanalysen durchgeführt, um ihren Einfluss auf die Häufigkeit aller Hypoglykämien sowie der

erklärbaren, nicht-erklärbaren und langanhaltenden Hypoglykämien zu prüfen. Die Analysen wurden sowohl für die Zielvariable Hypoglykämiehäufigkeit gemessen in Anzahl/Woche als auch für die Zielvariable relative Hypoglykämiehäufigkeit gemessen in Prozent der Tage des Untersuchungszeitraums durchgeführt.

Für den Insulinantikörperbefund, die Insulin-Antikörperbindung und die Insulin/Antikörper-Dissoziation bestand in keiner der multivariaten Analysen ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Hypoglykämieeignung oder der Hypoglykämiehäufigkeit. Hingegen ergab sich ein signifikanter unabhängiger Einfluss des BMI-SDS sowie der Therapieform (MDI/CSII) auf die Hypoglykämieeignung. Je kleiner der BMI-SDS, d.h. je schlanker die Patienten waren, desto häufiger bestand eine Hypoglykämieeignung ( $\text{Exp}(B) = 0.432$ ,  $p = .005$ ). Die Therapie mit einer Insulinpumpe war gegenüber der Therapie mit MDI mit einem mehr als dreifach erhöhten Risiko für das Bestehen einer Hypoglykämieeignung verbunden ( $\text{Exp}(B) = 3.171$ ,  $p = .012$ ). Die in der Einzelanalyse aufgefallene Korrelation mit dem Manifestationsalter und die nur grenzgradig signifikante Korrelation mit dem Alter bei Studieneintritt bestätigte sich in der logistischen Regression nicht (Aussagen zum Manifestationsalter sind hier aus den Variablen Alter und Diabetesdauer abzuleiten). Keinen statistisch signifikanten unabhängigen Einfluss auf die Hypoglykämieeignung hatten zudem die Variablen Geschlecht, HbA1c und Insulindosis.

**Tab. 19: Ergebnisse der logistischen Regressionanalyse, Zielvariable: Hypoglykämieeignung**

Variablen	Signifikanz (p)	Standardisierter Regressionskoeffizient $\text{Exp}(B)$	95%-CI für $\text{Exp}(B)$
<b>aufgenommen</b> BMI-SDS	.005	0.432	[0.240, 0.778]
Therapieform	.012	3.171	[1.284, 7.828]
<b>nicht aufgenommen</b> Geschlecht	.343		
Alter	.411		
Diabetesdauer	.470		
HbA1c	.857		
Insulindosis	.817		
Insulinantikörperbefund	.382		
Insulinantikörperbindung	.424		
Insulinantikörperdissoziation	.715		

Die Ergebnisse für die Hypoglykämiehäufigkeit gemessen in Anzahl pro Woche sind in Tabelle 20 dargestellt. Die gesamte Hypoglykämiehäufigkeit wurde statistisch signifikant unabhängig von den anderen Variablen beeinflusst durch das Alter, den HbA1c und den BMI-SDS. Bei allen drei Parametern bestand eine negative Korrelation mit der Hypoglykämiehäufigkeit, d.h. je jünger die Kinder waren (Beta -0.298,  $p = .001$ ), je niedriger ihr HbA1c war (Beta -0.267,  $p = .002$ ) und je niedriger ihr BMI-SDS war (Beta -0.258,  $p = .003$ ), desto häufiger traten Hypoglykämien auf. Die in den Einzelanalysen gefundenen Zusammenhänge mit der Therapieform und der Insulindosis bestätigten sich in der multivariaten Analyse nicht. Die Häufigkeit erklärbarer Hypoglykämien korrelierte ebenfalls signifikant mit dem HbA1c (Beta -0.298,  $p = .001$ ) und mit dem Alter (Beta -0.210,  $p = .023$ ). Durch die Insulindosis bestand auch hier anders als in der Einzelanalyse kein signifikanter unabhängiger Einfluss. Bei den nicht-erklärbaren Hypoglykämien bestätigte sich (wie auch in der Zielvariablen Hypoglykämieeigung abgebildet) ein signifikanter unabhängiger Einfluss nur durch den BMI-SDS (Beta -0.291,  $p = .002$ ) und die Therapieform (MDI/CSII, Beta 0.273,  $p = .003$ ). Die in den Einzelanalysen aufgefallenen Korrelationen mit dem weiblichen Geschlecht und dem Alter bestanden in der multivariaten Analyse nicht. Die Häufigkeit langanhaltender Hypoglykämien wurde statistisch signifikant unabhängig nur durch die Insulindosis beeinflusst (Beta -0.295,  $p = .002$ ), d.h. je niedriger die Insulindosis, desto häufiger traten langanhaltende Hypoglykämien auf.

**Tab. 20: Multivariate lineare Regressionsanalyse, Zielvariable: Hypoglykämiehäufigkeit (n/w)**

Zielvariable	Ausgeschlossene Variablen (Signifikanz)	Aufgenommene Variablen	Signifikanz (p)	Standardisiert. Koeffizient Beta	95%-CI für Beta
<b>Hypoglykämien gesamt (n/w)</b>	Geschlecht (p = .950)	<b>Alter</b>	.001	-0.298	[-0.183, -0.510]
	Diabetesdauer (p = .216)	<b>HbA1c</b>	.002	-0.267	[-0.797, -0.180]
	Therapieform (p = .094)	<b>BMI-SDS</b>	.003	-0.258	[-0.855, -0.181]
	Insulindosis (p = .157)				
	IAK-Befund (p = .447)				
	IAK-Bindung (p = .413)				
	IAK-Dissoziation (p = .442)				
<b>Hypoglykämien erklärbar (n/w)</b>	Geschlecht (p = .294)	<b>HbA1c</b>	.001	-0.298	[-0.693, -0.171]
	Diabetesdauer (p = .526)	<b>Alter</b>	.023	-0.210	[-0.121, -0.009]
	BMI-SDS (p = .110)				
	Therapieform (p = .900)				
	Insulindosis (p = .345)				
	IAK-Befund (p = .659)				
	IAK-Bindung (p = .585)				
IAK-Dissoziation (p = .533)					
<b>Hypoglykämien nicht-erklärbar (n/w)</b>	Geschlecht (p = .143)	<b>BMI-SDS</b>	.002	-0.291	[-0.489, -0.119]
	Alter (p = .053)	<b>Therapieform</b>	.003	0.273	[0.169, 0.798]
	Diabetesdauer (p = .482)				
	HbA1c (p = .321)				
	Insulindosis (p = .492)				
	IAK-Befund (p = .803)				
IAK-Bindung (p = .907)					
IAK-Dissoziation (p = .813)					
<b>Hypoglykämien langanhaltend (n/w)</b>	Geschlecht (p = .777)	<b>Insulindosis</b>	.002	-0.295	[-0.606, -0.141]
	Alter (p = .084)				
	Diabetesdauer (p = .800)				
	BMI-SDS (p = .109)				
	HbA1c (p = .389)				
	Therapieform (p = .649)				
	IAK-Befund (p = .690)				
IAK-Bindung (p = .701)					
IAK-Dissoziation (p = .737)					

n/w: Anzahl/Woche

Die Ergebnisse für die relative Hypoglykämiehäufigkeit gemessen in prozentualem Anteil der untersuchten Tage sind in Tabelle 21 zusammengefasst. Die Analysen bestätigen weitgehend die im vorhergehenden Absatz beschriebenen Ergebnisse bzgl. der in Anzahl pro Woche gemessenen Hypoglykämiehäufigkeit. Es wurden zusätzliche linear unabhängige Zusammenhänge, allerdings nur mit statistisch schwacher Signifikanz, zwischen allen Hypoglykämien und der Therapieform, den nicht erklärbaren

Hypoglykämien und dem Geschlecht sowie langanhaltenden Hypoglykämien und dem BMI-SDS gefunden (in der Tabelle *kursiv* gedruckt). Ein Zusammenhang der relativen Hypoglykämiehäufigkeit mit den Parametern des Insulinantikörperstatus bestand auch in diesen Auswertungen nicht.

**Tab. 21: Multivariate lineare Regressionsanalyse, Zielvariable: relative Hypoglykämiehäufigkeit**

Zielvariable	Ausgeschlossene Variablen (Signifikanz)	Aufgenommene Variablen	Signifikanz (p)	Standardisiert. Koeffizient Beta	95%-CI für Beta
<b>Hypoglykämien gesamt (% Tage)</b>	Geschlecht (p = .860)	<b>Alter</b>	.008	-0.244	[-1.689, -0.262]
	Diabetesdauer (p = .334)	<b>HbA1c</b>	.001	-0.282	[-8.464, -2.122]
	Insulindosis (p = .262)	<b>BMI-SDS</b>	.011	-0.220	[-7.965, -1.069]
	IAK-Befund (p = .686)	<b>Therapieform</b>	.046	0.179	[0.100, 12.376]
	IAK-Bindung (p = .556)				
	IAK-Dissoziation (p = .568)				
<b>Hypoglykämien erklärbar (% Tage)</b>	Geschlecht (p = .294)	<b>HbA1c</b>	.001	-0.312	[-7.644, -2.078]
	Diabetesdauer (p = .526)	<b>Alter</b>	.021	-0.212	[-1.298, -0.109]
	BMI-SDS (p = .110)				
	Therapieform (p = .900)				
	Insulindosis (p = .345)				
	IAK-Befund (p = .659)				
	IAK-Bindung (p = .585)				
IAK-Dissoziation (p = .533)					
<b>Hypoglykämien nicht-erklärbar (% Tage)</b>	Alter (p = .115)	<b>BMI-SDS</b>	.000	-0.321	[-5.821, -1.717]
	Diabetesdauer (p = .513)	<b>Therapieform</b>	.002	0.284	[2.204, 9.145]
	HbA1c (p = .442)	<b>Geschlecht</b>	.049	0.176	[0.022, 6.965]
	Insulindosis (p = .424)				
	IAK-Befund (p = .764)				
	IAK-Bindung (p = .809)				
IAK-Dissoziation (p = .808)					
<b>Hypoglykämien langanhaltend (% Tage)</b>	Geschlecht (p = .729)	<b>Insulindosis</b>	.001	-0.320	[-8.973, -2.487]
	Alter (p = .120)	<b>BMI-SDS</b>	.047	-0.183	[-1.740, -0.012]
	Diabetesdauer (p = .947)				
	HbA1c (p = .379)				
	Therapieform (p = .584)				
	IAK-Befund (p = .727)				
	IAK-Bindung (p = .749)				
IAK-Dissoziation (p = .713)					

## 5 DISKUSSION

Die primäre Studienhypothese der vorliegenden Arbeit bestand in der Annahme, dass bei Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes ein Zusammenhang zwischen dem gehäuften Auftreten von Hypoglykämien, insbesondere dem vermehrten Auftreten von mit den in der Diabetestherapie geläufigen Ursachen nicht-erklärbaren Hypoglykämien, und Parametern des Insulinantikörperstatus bestehen könnte. Diese Vorannahme beruhte unter anderem auf den Ergebnissen der Kölner Arbeitsgruppe um Seewi, welche einen solchen Zusammenhang für das Auftreten schwerer nicht-erklärbarer Hypoglykämien beschrieben hatte [20]. Im Unterschied zu Seewi et al. untersuchten wir jedoch nicht nur schwere Hypoglykämien, sondern alle Hypoglykämien mit einem Grenzwert von  $< 65$  mg/dl. Die Ausgangshypothese wurde durch unsere Untersuchung insgesamt nicht bestätigt. In keiner der untersuchten Hypoglykämiekategorien (gesamt, erklärbar, nicht-erklärbar, langanhaltend) bestand ein eindeutiger statistisch signifikanter Zusammenhang mit einem positiven Insulinantikörperbefund, einer positiven initialen Insulin-Antikörperbindung oder einer verzögerten Insulin/Antikörper-Dissoziation. Es zeigte sich lediglich ein schwacher Trend zugunsten eines im gesamten Zeitverlauf erhöhten IAK-Bindungsniveaus bei Patienten mit einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien. Die detaillierten Ergebnisse unserer Arbeit werden im Folgenden im Kontext der Literatur diskutiert.

### 5.1. Häufigkeit und Erklärbarkeit von Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D

#### 5.1.1 Häufigkeit von Hypoglykämien

In unserem Studienkollektiv traten bei 95 % der Patienten im Untersuchungszeitraum Hypoglykämien auf, durchschnittlich waren es 2.4 Ereignisse pro Woche. Ein Viertel (Median 25 %) aller Tage im Untersuchungszeitraum waren von Hypoglykämien betroffen. Bei einzelnen Patienten betraf dies sogar bis zu 82 % der Tage. Hypoglykämien sind bei Kindern und Jugendlichen mit T1D insofern ein alltägliches Ereignis und scheinen der Preis für eine am Ziel der Normoglykämie orientierte Behandlung zu sein. Allerdings ergeben neuere integrierte Systeme, in denen kontinuierliche Glukosemessungen (continuous glucose monitoring, CGM) eine

prädiktive Insulinabschaltung über die Insulinpumpe ermöglichen (predictive low-glucose suspend) möglicherweise für die Zukunft neue Wege, Hypoglykämien trotz nahe-normoglykämischer Stoffwechselführung zu vermeiden [145].

Vergleichbare, im Alltagssetting durch SMBG erhobene Daten zur Häufigkeit von milden und moderaten Hypoglykämien bei Kindern und Jugendlichen mit T1D sind der Verfasserin nicht bekannt. Eine aktuelle Studie zum Vergleich der Messergebnisse von SMBG und CGM ergab erwartungsgemäß höhere Hypoglykämiefrequenzen von 2.1 Hypoglykämien/d (entsprechend 14.7/Woche) bei CGM, der Grenzwert zur Hypoglykämiedetektion wurde hier allerdings mit 70 mg/dl etwas höher gesetzt, als die von uns verwendete Grenze von 65 mg/dl [36]. Für erwachsene Patienten mit T1D liegen von mehreren Arbeitsgruppen Vergleichsdaten vor, die in einem ambulanten Alltagssetting mit SMBG erhoben wurden. Östenson et al. fanden bei 1631 Patienten mit T1D aus sieben europäischen Ländern durchschnittlich 1.8 nicht-schwere Hypoglykämien/Woche (definiert als Glukosewerte < 56 mg/dl mit oder ohne Symptome einer Hypoglykämie). 87 % der Patienten in dieser Studie hatten anamnestisch Hypoglykämien im Untersuchungszeitraum von vier Wochen [32]. Kulzer et al. beschrieben bei 207 Patienten in Deutschland mit der gleichen Hypoglykämiedefinition eine Rate von 1.6 Hypoglykämien/Woche [33]. Die etwas geringeren Werte im Vergleich zu den im Rahmen unserer Arbeit erhobenen Daten sind zu erklären durch die niedrigere quantitative Hypoglykämiedefinition und die insgesamt niedrigere Hypoglykämierate bei Erwachsenen. Insgesamt sehen wir die von uns erhobenen Daten aber durch diese Arbeiten bestätigt.

Schwere Hypoglykämien mit Krampfanfall, Koma oder Krankenhausaufnahme traten bei den eingeschlossenen Patienten im Studienzeitraum nicht auf. Retrospektiv wurden im Vorjahr der Untersuchung bei 6.5 % der Patienten als „schwer“ gewertete hypoglykämische Ereignisse dokumentiert, die aber nach unserer für den Vorjahreszeitraum weitgefassten Definition auch moderate Hypoglykämien mit Symptomen der Neuroglykopenie einschlossen. Dies ist eine im nationalen und internationalen Vergleich niedrige Rate [24, 26, 146], die durch das Nichtauftreten von schweren Hypoglykämien mit Krampfanfall und Koma im Untersuchungszeitraum bestätigt wurde.

Bei der Analyse potentieller Einflussfaktoren auf die Hypoglykämiehäufigkeit (gesamt) bestanden signifikante unabhängige Zusammenhänge mit dem Alter, HbA1c, BMI-SDS und der Therapieform. Hypoglykämien waren häufiger bei jüngeren Patienten, schlankeren Patienten, niedrigerem HbA1c und unter Insulinpumpentherapie (letzteres in der multivariaten Analyse nur bei der prozentualen Auswertung). Der in der Einzelanalyse gefundene Zusammenhang einer größeren Hypoglykämiehäufigkeit mit einer niedrigeren Insulindosis ließ sich in der multivariaten Analyse nicht nachweisen, wäre aber plausibel, da die Insulindosis beim vermehrten Auftreten von Hypoglykämien angepasst wird.

Die größere Häufigkeit von Hypoglykämien in jüngerem Alter hängt vermutlich vor allem mit dem unregelmäßigeren Ess- und Aktivitätsverhalten, den eingeschränkten Kommunikationsmöglichkeiten bei Wahrnehmung beginnender Hypoglykämien sowie den geringeren Glykogenreserven in jüngerem Alter zusammen. Dieser Zusammenhang wird auch von der ISPAD als gegeben angenommen [15]. Er wird in zahlreichen Studien beschrieben, wobei sich diese mit Ausnahme von Östenson et al. ausschließlich auf die Identifikation von Einflussfaktoren auf die Häufigkeit schwerer Hypoglykämien beziehen [22-26, 28, 32, 147].

Hinsichtlich des BMI-SDS ist vermutlich von einer besseren Insulinsensitivität im Zusammenhang mit einem möglicherweise unterschiedlichen Bewegungsverhalten bei den schlankeren Patienten als Ursache für die häufigeren Hypoglykämien auszugehen. Auch dieser Zusammenhang wurde bereits von anderen Arbeitsgruppen berichtet [28, 32, 34].

Bezüglich des Zusammenhangs zwischen HbA1c und Hypoglykämiefrequenz ist die Datenlage uneinheitlich. Der im DCCT für Erwachsene beschriebene starke Zusammenhang zwischen einer durch intensivierte Therapie verbesserten Stoffwechselkontrolle und einer höheren Inzidenz schwerer Hypoglykämien [148] wurde auch in einigen pädiatrischen Arbeiten insbesondere für jüngere Kinder bestätigt [22, 28]. Verschiedene Studien wiesen jedoch seitdem nach, dass die Behandlung von Patienten mit T1D in spezialisierten Zentren [25] und die Behandlung mit einer Insulinpumpe [29, 149] diesen Zusammenhang deutlich relativieren. Verbesserte Betreuungsstrategien mit flexibleren Kommunikationssystemen zwischen Diabetesberater und Patient, einer intensiveren Schulung der Patienten und Betreuungspersonen, die auch selbstständige Therapieanpassungen ermöglicht, sowie einer besseren Dokumentation und Auswertbarkeit von Glukosemesswerten durch

technologischen Fortschritt haben in vielen Zentren eine immer bessere Stoffwechselkontrolle ohne Zunahme der Inzidenz von schweren Hypoglykämien ermöglicht. So zeigten Karges et al. in einer großen DPV-basierten Studie (gut 37.500 Patienten) über die Jahre 1995 – 2011 einen starken Rückgang des Zusammenhangs von HbA1c und schweren Hypoglykämien [147]. Dass sich in unserer Untersuchung dennoch ein Zusammenhang zwischen HbA1c und Hypoglykämiehäufigkeit darstellt, ist vermutlich durch die Ausrichtung unserer Arbeit auf milde und moderate Hypoglykämien begründet. Diese sind offenbar auch im Rahmen einer flexiblen und modernen Therapieführung bei relativ niedrigen Glukosezielwerten weniger gut zu vermeiden, als schwere Stoffwechselentgleisungen.

Der in unserer Untersuchung dokumentierte Zusammenhang einer höheren Hypoglykämiefrequenz (gesamt) mit der Insulinpumpentherapie ist vermutlich vor allem durch ein vermehrtes Auftreten insbesondere nicht-erklärbarer Hypoglykämien unter CSII bedingt und wird daher im folgenden Kapitel 5.1.2 diskutiert.

### *5.1.2 Nicht-erklärbare Hypoglykämien und Hypoglykämieeigung*

Ein besonderes Interesse unserer Arbeit bestand darin, Hypoglykämien, für die es bei Betrachtung typischer Hypoglykämieursachen keine plausible Erklärung gab, differenziert als solche zu erfassen und die von ihnen betroffenen Patienten näher zu charakterisieren.

Nicht-erklärbare Hypoglykämien traten in unserer Studienpopulation bei 68 % der Patienten auf. Ein Drittel der Patienten beschrieb darüber hinaus Hypoglykämien von nicht-erklärbar langer Dauer trotz adäquater KE-Zufuhr. Der Anteil nicht-erklärbarer Hypoglykämien an der Gesamtzahl der Hypoglykämien lag durchschnittlich bei 13 %. Vergleichbare Daten liegen in der Literatur wiederum nur für schwere Hypoglykämien vor. Schwere Hypoglykämien wurden in verschiedenen Studien in 30 – 60 % der Fälle als nicht-erklärbar klassifiziert [20-23]. Es scheint naheliegend, hieraus zu schließen, dass schwere Hypoglykämien häufiger ohne nachvollziehbare Ursache auftreten, als milde und moderate Hypoglykämien. Möglicherweise spielt aber auch die Genauigkeit der Dokumentation für diese Diskrepanz eine Rolle. In unserer Untersuchung war die gründliche und systematische Abfrage möglicher typischer Hypoglykämieursachen durch das Studienprotokoll vorgegeben und klinisch aufgrund der geringeren akuten Bedrohlichkeit der Ereignisse auch gut umsetzbar. Bei der Erfassung schwerer

Hypoglykämien im Rahmen von Studien handelt es sich jedoch per Definition um schwerwiegende, potentiell lebensbedrohliche Ereignisse. Daraus ergibt sich, dass eine systematische Ursachenforschung ggf. erst mit einer zeitlichen Latenz erfolgen kann und die Fähigkeit zur sachlichen Rekonstruktion möglicher Erklärungen für die Stoffwechsellentgleisung eventuell bei den Betroffenen durch das schwerwiegende Erlebnis an sich und die psychische Verarbeitung desselben eingeschränkt ist. Aus dieser Konstellation heraus werden möglicherweise mehr Ereignisse als nicht-erklärbar klassifiziert.

Bei 35 % unserer Patienten bestand eine Hypoglykämieeigung (definiert als nicht-erklärbare Hypoglykämien  $\geq 0.5$  Mal/Woche). Damit wird in dieser Arbeit erstmalig eine Subgruppe von Kindern und Jugendlichen mit T1D mit einem besonderen Gefährdungspotential und besonderer Belastung durch milde und moderate Hypoglykämien detailliert beschrieben. Die Messhäufigkeit lag in dieser Patientengruppe vermutlich aufgrund der größeren Stoffwechsellabilität mit durchschnittlich 6.8 Messungen/d signifikant höher, als bei Patienten ohne Hypoglykämieeigung (5.3 Messungen/d,  $p = .003$ ). Dies ist bei der Interpretation der Daten zu berücksichtigen. Die nachgewiesene Korrelation zwischen dem Bestehen einer Hypoglykämieeigung im Studienzeitraum und dem Auftreten von längeren Phasen mit niedrigen Blutglukosemessungen im Vorjahr der Untersuchung spricht dafür, dass die Problematik bei der betroffenen Patientengruppe nicht nur temporär auftritt, sondern längerfristig relevant ist.

Die Insulindosis korrelierten in keiner der Analysen mit der Häufigkeit nicht-erklärbarer Hypoglykämien oder der Hypoglykämieeigung. Der Maximalwert der Insulindosis in der Gruppe der Patienten mit Hypoglykämieeigung lag bei 1.3 U/kg/d und war identisch mit dem Maximalwert in der Vergleichsgruppe. Dies zeigt, dass es sich bei den in dieser Arbeit beschriebenen Patienten mit einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien nicht um Fälle einer ausgeprägten Insulinresistenz, wie in den zahlreichen Einzelfallpublikationen [104-111] handelt. Auch der HbA1c war bei Patienten mit und ohne Hypoglykämieeigung nahezu identisch und lag mit durchschnittlich  $7.9 \pm 0.9$  % in der Gruppe der Patienten mit Hypoglykämieeigung geringfügig oberhalb des allgemeinen Therapieziels ( $< 7.5$  % laut ISPAD [12]).

Die Hypoglykämieeigung dieser Patienten ist demnach auch nicht durch eine besonders ehrgeizige Stoffwechselführung mit sehr niedrigem HbA1c gekennzeichnet.

Das Bestehen einer Hypoglykämieeigung und die Häufigkeit nicht-erklärbarer Hypoglykämien korrelierten in den multivariaten Analysen signifikant positiv mit der Insulinpumpentherapie. Patienten mit einer Insulinpumpentherapie hatten dreimal so häufig eine Hypoglykämieeigung, wie Patienten unter MDI. Auch bei den mit einer Insulinpumpe versorgten Patienten ist eine Überrepräsentation pathologischer Werte durch eine im Vergleich zur MDI-Gruppe größere Messhäufigkeit (6.5 versus 5.0 Messungen/d,  $p = .001$ ) zu vermuten. Die größere Anzahl von Glukosemessungen/d unter Insulinpumpentherapie erklärt sich klinisch dadurch, dass die Therapie mit einer Insulinpumpe eine häufigere mahlzeitenbezogene Insulingabe ermöglicht, die entsprechend den Therapieempfehlungen jeweils auf der Basis einer aktuellen Glukosemessung vorgenommen wird. Dies wird in unserer Untersuchung abgebildet durch die Anzahl der Boli/d, welche mit durchschnittlich 7.5 deutlich höher lag, als die durchschnittliche Anzahl der Injektionen/d (4.8) bei den MDI-Patienten. Die größere Messhäufigkeit unter Insulinpumpentherapie wurde auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben [150]. Interessant ist jedoch, dass die Häufigkeit erklärbarer Hypoglykämien (die ja von der Messhäufigkeit in gleicher Weise beeinflusst sein müsste, wie die Häufigkeit nicht-erklärbarer Hypoglykämien) in keiner der Analysen mit der Therapieform korrelierte, sondern unter CSII und MDI nahezu gleich war. Der auch im Hinblick auf die Gesamtzahl von Hypoglykämien abgebildete Zusammenhang zwischen CSII und Hypoglykämiehäufigkeit (vgl. Kapitel 5.1.1) scheint also vor allem durch ein gehäuftes Auftreten nicht-erklärbarer Hypoglykämien und damit einer Hypoglykämieeigung bei Patienten mit Insulinpumpentherapie bedingt zu sein. Die CSII-Patienten unterschieden sich im untersuchten Patientenkollektiv von den Patienten mit MDI in folgenden Parametern: Sie waren durchschnittlich jünger, hatten eine frühere Diabetesmanifestation und erhielten weniger Insulin/Tag in mehr Einzelabgaben als die Patienten mit MDI. Diese Ergebnisse sind durch die Indikationen zur Insulinpumpentherapie und die klinischen Erfahrungen mit ihr gut begründbar [10, 72, 151]. Der Zusammenhang zwischen Hypoglykämieeigung und Insulinpumpentherapie bestand nach den vorliegenden Daten der multivariaten Analysen jedoch unabhängig von den klinischen Parametern Geschlecht, Alter, Diabetesdauer, HbA1c und Insulindosis. Auch eine besonders labile Stoffwechselsituation stellt eine Indikation zur

Therapie mit einer Insulinpumpe dar [9]. Dieser Aspekt könnte sich in den beschriebenen Daten zur Hypoglykämie neigung widerspiegeln. Dafür spricht zudem, dass Patienten in der mit CSII behandelten Gruppe signifikant häufiger längere Phasen mit ungewöhnlich niedrigen Glukosewerten im Vorjahr der Untersuchung hatten, als mit MDI behandelte Patienten (47 versus 21 %,  $p = .005$ ).

Weiterhin ergaben sich für die Hypoglykämie neigung und die Häufigkeit nicht-erklärbarer Hypoglykämien negative Korrelationen mit dem BMI-SDS. Für die Häufigkeit nicht-erklärbarer Hypoglykämien bestand auch eine schwach signifikante Korrelation mit dem weiblichen Geschlecht, die sich jedoch in der Gruppe der Patienten mit Hypoglykämie neigung nicht darstellte und nur in der relativen, nicht jedoch der absoluten Hypoglykämiehäufigkeit in der Regressionsanalyse bestätigt wurde. Für beide Zusammenhänge liegt keine plausible klinische Begründung vor. Für die langanhaltenden Hypoglykämien ließ sich eine Korrelation mit der Insulindosis im Sinne eines häufigeren Auftretens bei geringerer Insulindosis nachweisen. Vermutlich spiegelt die niedrigere Dosis in diesen Fällen bereits die therapeutische Reaktion auf das Auftreten entsprechender Hypoglykämien wider. Der für Hypoglykämien insgesamt etablierte Zusammenhang mit dem Lebensalter bestand hinsichtlich der nicht-erklärbaren Hypoglykämien und der Hypoglykämie neigung nur in den Einzelanalysen, nicht jedoch in der Regressionsanalyse.

Eine Neigung zu nicht-erklärbaren milden und moderaten Hypoglykämien stellt demnach ein klinisches Phänomen dar, welches etwa ein Drittel der Kinder- und Jugendlichen mit T1D altersunabhängig betrifft und unter Insulinpumpentherapie gehäuft auftritt. Die Patienten sind nicht durch eine Insulinresistenz oder eine besonders strenge Stoffwechselführung (soweit dies am HbA1c ablesbar ist) gekennzeichnet. Mit Ausnahme des BMI-SDS bestehen keine Zusammenhänge mit den entscheidenden durch therapeutisches und eigenes Handeln beeinflussbaren Variablen der Diabetestherapie. Vermutlich handelt es sich um Patienten mit einer besonders labilen Stoffwechsellage, für welche eine pathophysiologische Begründung bisher fehlt. Vergleichsdaten aus der Literatur liegen bisher nicht vor. Aus unserer Sicht besteht aufgrund der großen Zahl und der alltäglichen Belastung der betroffenen Patienten und Eltern, die trotz der ständigen Konfrontation mit nicht-erklärbaren und dementsprechend nicht beherrschbaren Stoffwechselentgleisungen den Mut zu einer konsequenten am

Ziel der Normoglykämie orientierten Therapieführung aufbringen müssen (vgl. die einleitenden Ausführungen zu Antonovsky), eine hohe Forschungsrelevanz.

## **5.2 IAK als potentielle Einflussfaktoren auf Hypoglykämiehäufigkeit und -neigung**

Wie einleitend in die Diskussion bereits dargelegt, beruhte unsere Untersuchung auf der Hypothese, Auffälligkeiten im Insulinantikörperstatus könnten möglicherweise dazu beitragen, die obengenannte Gruppe von Patienten mit einer besonderen Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien näher zu charakterisieren. Diese Hypothese bestätigte sich insgesamt nicht. In der detaillierten Betrachtung der Einzelergebnisse der drei untersuchten IAK-Parameter (IAK-Befund, -Bindung und –Dissoziation) ergaben sich jedoch interessante und neue Erkenntnisse, die bisher publizierte Arbeiten zu dieser Thematik ergänzen.

### *5.2.1 Insulinantikörperbefund und Hypoglykämien*

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bestimmung des Insulinantikörperbefundes (der IAK-Konzentration) gemäß dem von Jäger et al. publizierten diagnostischen Algorithmus als Suchtest [110] bei allen Studienpatienten verwendet. In unserer Studienpopulation von 108 Kindern und Jugendlichen mit T1D hatten 60.2 % (65 Patienten) einen positiven IAK-Befund. Aktuelle Studiendaten zur Häufigkeit eines positiven IAK-Befundes bei Kindern- und Jugendlichen mit T1D liegen nach Kenntnis der Verfasserin nicht vor. Überblicksarbeiten zu immunologischen Fragestellungen in der Diabetologie gehen von Prävalenzen um 50 % aus [64, 110]. Winter et al. untersuchten 86 Erwachsene mit T1D und T2D unter den Bedingungen einer modernen Insulintherapie mit einem IAK-RIA (aktueller Goldstandard der IAK-Testung) und kamen auf eine Häufigkeit positiver IAK-Befunde von nur 22 % [102]. Dieser deutlich geringere Wert ist möglicherweise durch die Altersabhängigkeit der IAK-Prävalenz mit vermehrtem Auftreten bei jüngeren Patienten zu erklären. Innerhalb unseres Patientenkollektivs mit einem Altersspektrum von 3-20 Jahren spiegelte sich diese Altersabhängigkeit nur mit grenzgradiger Signifikanz wider ( $p = .100$ ). Studien, die Patienten mit einem größeren Altersspektrum untersucht haben, bestätigen diese jedoch eindeutig. Ziegler et al. wiesen in einer großen Studie zur Häufigkeit

diabetesspezifischer Antikörper bei Diabetesmanifestation bei > 90% aller Kinder < 5 Jahre und nur bei < 20% der Patienten ≥ 30 Jahre Insulinautoantikörper nach [152], ähnlich auch Salardi et al. [76]. Auch andere ältere Studien zeigten bereits die größere Neigung zur IAK-Produktion bei jüngeren Patienten mit T1D [66, 153].

Der Mittelwert der IAK-Konzentration aller von uns untersuchten Patienten lag bei  $4.6 \pm 5.0$  U/ml bzw. einem Median von 2.9 U/ml mit einer sehr hohen Streubreite von 0.1 bis > 20 U/ml. 4 Patienten (6.2 % der positiv getesteten Patienten) wiesen extrem hohe Werte jenseits des oberen Messbereichs von 20 U/ml auf. Es fällt auf, dass Mittelwert und Median in der Gesamtpopulation klar über dem cut-off für einen positiven Testbefund liegen. Dies kann vor dem Hintergrund der starken Altersabhängigkeit des Parameters dadurch erklärt werden, dass keine altersbezogenen Referenzwerte für den Test vorliegen.

Der in unserer Studie beobachtete grenzgradig signifikante Zusammenhang zwischen positivem IAK-Befund und einer kürzeren Diabetesdauer ( $p = .057$ ) könnte durch eine Kumulation von bereits aus der prädiabetischen Phase bestehenden IAA und nach Beginn der Insulintherapie hochtitrig gebildeten IAK erklärt werden, das diese durch den Test nicht differenziert werden. Salardi et al. zeigten in einer longitudinalen Untersuchung über acht Jahre nach Diabetesmanifestation einen Gipfel des Anteils IKA-positiver Patienten zwischen dem ersten und zweiten Erkrankungsjahr [76]. Bei Winter et al. bestand in der Studienpopulation aus Erwachsenen ein gegenteiliger Zusammenhang von einer länger bestehenden Insulintherapie (22.7 versus 14.4. Jahre im Durchschnitt) bei Patienten mit einem positiven IAK-Befund [102]. Dies könnte auf einen zweigipfligen Verlauf der IAK-Bildung hinweisen. Longitudinale Daten über entsprechend lange Zeitverläufe sind der Verfasserin jedoch nicht bekannt.

Im Gegensatz zu unseren Daten bestand bei Winter et al. zudem ein Zusammenhang zwischen IAK-Befund und Insulindosis. Die durchschnittliche Insulindosis lag aber bei unseren Patienten mit 0.8 U/kg/d sowohl bei den IAK-positiven als auch bei IAK-negativen Patienten geringfügig höher als bei den von Winter et al. untersuchten Patienten (0.527 vs 0.668 U/kg/d). Winter et al. interpretieren den höheren Insulinbedarf der Patienten mit positiven IAK als Ausdruck einer Insulinresistenz durch IAK [102]. Dies lässt sich durch unsere Daten nicht unterstützen. Erwartungsgemäß ergaben sich in unserer Untersuchung auch keine Zusammenhänge mit dem HbA1c, da die

Insulindosierung nicht vorgegebenen Dosisempfehlungen folgt, sondern individuell flexibel dem an der Stoffwechsellage abgelesenen Bedarf angepasst wird. Auch zwischen der Therapieform und dem Insulinantikörperbefund bestanden keine Zusammenhänge.

Ein Zusammenhang zwischen dem IAK-Befund und der Häufigkeit von Hypoglykämien insgesamt, der Häufigkeit nicht-erklärbarer oder langanhaltender Hypoglykämien oder dem Bestehen einer Hypoglykämieeigung bestand in unserer Studie entgegen der Ausgangshypothese nicht ( $p > .400$ ). Nicht-erklärbare Hypoglykämien und Hypoglykämieeigung traten vielmehr bei Patienten mit negativem IAK-Befund häufiger auf als bei Patienten mit positivem IAK-Befund, allerdings auch dies ohne statistische Signifikanz. Auch zwischen der Höhe des Insulinantikörpertiters und der Hypoglykämiehäufigkeit gab es keine signifikante Korrelation ( $p > .300$ ). Dies entspricht den Daten von Winter et al. [102] wie auch einer älteren Studie aus der Schweiz, welche vor allem die Epidemiologie schwerer Hypoglykämien untersuchte [30]. In einer Untersuchung zur Bildung von Insulinantikörpern und deren klinischer Bedeutsamkeit unter Therapie mit einer implantierten intraperitonealen Insulinpumpe (CIPII) sahen die Autoren ebenfalls keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen den unter dieser Therapieform im Vergleich zu MDI oder CSII deutlich höheren Insulinantikörperspiegeln und metabolischen Parametern, insbesondere der Hypoglykämiehäufigkeit [74]. Eine weitere Arbeit aus den achtziger Jahren, in deren Rahmen 158 Kinder- und Jugendliche mit T1D nach mindestens zwei Jahren Insulintherapie (z.T. noch mit Rinder- und Schweineinsulin) hinsichtlich der IAK-Konzentration und metabolischer Parameter untersucht wurden, kam zu einem ähnlichen Ergebnis: Es bestand kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen IAK-Befund und nächtlichen Hypoglykämien, Insulinbedarf und Glukoseprofilen [121]. Allerdings korrelierte bei Hübinger et al. die Höhe der IAK-Titer mit dem gemessenen Gesamtinsulin (bei konstantem freiem Insulin). In der Patientengruppe mit den höchsten Gesamtinsulinspiegeln wurde zudem eine um den Faktor 2.3 höhere Frequenz nächtlicher Hypoglykämien (Glukose  $< 50$  mg/dl) beobachtet. Dieses Ergebnis, welches unseren Daten zum Insulinantikörpertiter widersprechen würde, war jedoch nicht statistisch signifikant [121]. Ein ähnliches Ergebnis wurde in einer aktuellen chinesischen Fall-Kontroll-Studie beschrieben [103]. Quan untersuchte elf Patienten unter Insulintherapie (ohne Angabe des Diabetestyps), die mit dem klinischen Bild

„unerwarteter Hypoglykämien“ vorstellig wurden und bei denen positive IAK-Befunde nachgewiesen wurden. Bei diesen Patienten bestanden trotz einer niedrigeren durchschnittlichen Insulindosis höhere Gesamtinsulinspiegel und häufigere Hypoglykämien (3 Episoden/Woche im Vergleich zu 1 Episode/Woche, keine Definition angegeben) als in einer Kontrollgruppe. Dies werteten die Autoren als Bestätigung der Hypothese, dass IAK Insulin temporär binden und neutralisieren sowie bei Dissoziation dieser Bindung zu unerwarteten Hypoglykämien führen. Einschränkend ist zu dieser Arbeit neben der kleinen Fallzahl anzumerken, dass die Kontrollgruppe nur aus Patienten ohne Hypoglykämieproblematik und mit negativen IAK-Befunden bestand und Patienten mit positiven IAK-Befunden ohne klinische Symptomatik nicht untersucht wurden [103].

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass in Übereinstimmung mit unseren Daten in keiner der veröffentlichten Arbeiten ein systematischer statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von Insulinantikörpern und der Häufigkeit von Hypoglykämien nachgewiesen wurde.

### *5.2.2 Insulin-Antikörperbindungskapazität und Hypoglykämien*

In der Annahme, dass mögliche metabolische Effekte weniger aufgrund des bloßen Vorhandenseins von Insulinantikörpern als aufgrund deren Reagibilität mit dem zugeführten Insulin entstehen könnten [110], führten wir bei allen 65 Patienten mit positivem IAK-Befund eine Messung der initialen Insulin-Antikörperbindung durch. Bei 86.2 % der Patienten wurde die initiale Insulinbindung mit > 15 % gemäß dem Protokoll von Jäger et al. als positiv gewertet [110]. Die Spannweite der prozentualen initialen Insulinbindung durch IAK lag in unserer Untersuchung zwischen 3 – 61 %, der Mittelwert bei 32.4 % und damit wie auch beim IAK-Befund deutlich über dem angenommenen cut-off für ein positives Testergebnis. Wahrscheinlich sind der im Vergleich zu anderen Arbeiten [20, 102] große Anteil positiver Ergebnisse wie auch die hohen prozentualen Bindungswerte wiederum vor allem durch das Alter unserer Patienten bedingt. Entsprechende Korrelationen zu prüfen war in unserer Untersuchung aufgrund der geringen Fallzahl in der Patientengruppe mit negativem Befund in der Bindungsanalyse statistisch nicht sinnvoll möglich. Daten aus anderen Studien

sprechen jedoch auch für eine ausgeprägtere IAK-Bindungskapazität in jüngerem Alter [20, 115].

Positive Ergebnisse waren signifikant häufiger in der Gruppe der mit CSII behandelten Patienten als bei den Patienten mit MDI (94.4 % versus 75.9 %,  $p = .031$ ). Dies wird so auch von anderen Arbeitsgruppen berichtet [72, 115]. Möglicherweise besteht durch den längerfristigen Kontakt mit verschiedenen Fremdmaterialien in den Insulinpumpen eine größere Aggregationsneigung des Insulins, die zu einer höheren Immunogenität führt [154]. Interessant ist, dass sich dieser Unterschied nur beim Parameter der Insulinbindungskapazität, nicht jedoch beim Insulinantikörperbefund (siehe oben) auswirkt. Die gebildeten Antikörper scheinen demnach qualitative Unterschiede aufzuweisen.

Wie eingangs bereits zusammengefasst, bestand entgegen unserer Studienhypothese kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der initialen Insulinbindungskapazität und der Häufigkeit von Hypoglykämien aller Kategorien oder dem Bestehen einer Hypoglykämieeigung, sowie dem Auftreten von schweren Hypoglykämien oder Hypoglykämiephasen im Vorjahr. Unsere Arbeit befindet sich damit in Übereinstimmung mit einigen Untersuchungen, die primär andere Fragestellungen verfolgen, aber auch Ergebnisse zur Hypoglykämiehäufigkeit präsentieren. In einer Arbeit zum Vergleich der IAK-Entwicklung und etwaiger klinischer Folgen derselben unter Therapie mit gereinigtem Schweineinsulin versus nur teilweise gereinigtem Schweine- und Rinderinsulin bei Kindern mit T1D sah Asplin 1987 keine Unterschiede in der Hypoglykämiefrequenz trotz höherer IAK-Bindungswerte in der mit weniger gereinigtem Insulin behandelten Patientengruppe [122]. Im Rahmen von klinischen Studien mit inhalativem Insulin bei Erwachsenen zeigten zwei Arbeitsgruppen in jüngerer Zeit, dass es unter dieser Therapieform zu einer im Vergleich zur subcutanen Insulintherapie signifikant höheren Insulin-Antikörperbindung bis hin zu 200-fach höheren Werten kommt. In beiden Studien korrelierten diese zum Teil exzessiv hohen Werte der Insulinbindungskapazität jedoch nicht mit der Anzahl hypoglykämischer Episoden, schwerer Hypoglykämien und anderen metabolischen Parametern [73, 97].

Als Beobachtung ohne statistische Signifikanz zeigte sich in unseren Daten, dass die Hypoglykämiefrequenzen insgesamt, insbesondere aber die Anzahl der nicht-erklärbaren Hypoglykämien pro Woche sowie der prozentuale Anteil der Tage mit nicht-erklärbaren Hypoglykämien im Studienzeitraum in der Gruppe der Patienten mit positiver IAK-Bindung etwas höher lagen als bei den Patienten mit negativer IAK-Bindung. Fast alle (90.5 %) der Patienten mit Hypoglykämieeigung hatte eine positive initiale IAK-Bindung. Die Grundidee, eine positive initiale Insulinbindung könnte bei Kindern und Jugendlichen mit T1D einen Hinweis auf eine besondere Hypoglykämieeigung geben, spiegelt sich in dieser Beobachtung wider. Da jedoch keine statistische Signifikanz gegeben ist, können hieraus für die Gesamtheit der Patienten keine generalisierten klinisch bedeutsamen Konsequenzen gezogen werden. Für Einzelfälle kann ein Zusammenhang nicht ausgeschlossen werden.

Ähnliche Beobachtungen werden auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben. So ergab eine Studie zur IAK-Bildung und deren klinischen Folgen unter MDI- und CSII-Therapie im Vergleich ebenfalls als ein Hauptergebnis keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl hypoglykämischer Episoden trotz signifikant höherer IAK-Bindungslevel in der CSII-Gruppe. Die Patienten mit positiver IAK-Bindung hatten jedoch in dieser Arbeit signifikant niedrigere postprandiale Blutglukosewerte als die Vergleichsgruppe [72]. In einer französischen Studie wurden 62 Patienten unter CIPII-Therapie zwei Jahre lang hinsichtlich metabolischer Parameter und der Insulinbindungskapazität verfolgt. In der Auswertung wurde hinsichtlich der IAK-Bindung zwischen Respondern (Bindung > 15 %) und Non-Respondern unterschieden. Während die Anzahl schwerer Hypoglykämien in beiden Gruppen deutlich rückläufig war, lag die Häufigkeit gemessener Glukosewerte < 65 mg/dl (ohne Angaben zur Signifikanz) in der Gruppe der Responder höher, als in der Vergleichsgruppe [124]. Wredling et al. untersuchten fast 500 insulinbehandelte Erwachsene mit Typ-1- und Typ-2-Diabetes in Gruppen eingeteilt nach dem Kriterium anamnestisch stattgehabter schwerer oder rezidivierender schwerer Hypoglykämien. Die Durchschnittswerte der prozentualen Insulin-Antikörperbindung lagen in den Gruppen mit stattgehabten schweren und rezidivierenden schweren Hypoglykämien in der skandinavischen Arbeit durchschnittlich geringfügig höher als in den Kontrollgruppen, dieser Unterschied war jedoch nicht statistisch signifikant. In einer Subgruppe von Patienten mit als sehr hoch gewerteter Insulinbindungskapazität stellten Wredling et al. zudem einen um 10 % höheren durchschnittlichen Insulinbedarf fest [115]. Dies deckt sich mit den aktuelleren Daten

von Winter et al., die bei 63 % ihrer Patienten eine positive Insulinbindung fanden und bei diesen Patienten einen signifikant höheren durchschnittlichen Insulinbedarf im Vergleich zu Patienten mit negativer initialer Insulinbindung sahen. Interessanterweise unterschied sich die Insulindosis bei Patienten mit positivem Insulinantikörperbefund und negativer Insulinbindung hingegen nicht von der Insulindosis bei Patienten bei denen sowohl IAK-Befund als auch IAK-Bindung negativ waren [102]. Dies weist ebenso wie unsere Ergebnisse darauf hin, dass die Insulinbindungskapazität im Vergleich zum IAK-Befund der sensitivere Test sein könnte, um mögliche klinische Auswirkungen von IAK zu untersuchen. Dies wird auch in Überblicksarbeiten postuliert [59]. Insgesamt lässt sich jedoch weder aus unseren Daten noch aus einer der genannten Arbeiten ein signifikanter Zusammenhang zwischen Insulinantikörperbindung und Hypoglykämien ableiten.

Im Gegensatz hierzu steht die bereits erwähnte Arbeit von Seewi et al. mit der Feststellung eines signifikanten Zusammenhangs zwischen dem Auftreten von schweren Hypoglykämien und einer Insulin-Antikörperbindung von > 15 %. In dieser wird zudem wie auch in unserer Herangehensweise differenziert hinsichtlich der Erklärbarkeit der Hypoglykämien. Es wird dargestellt, dass eine Insulin-Antikörperbindung von > 15 % mit einem deutlich erhöhten Risiko für nicht-erklärbare schwere Hypoglykämien (odds ratio von 22.1,  $p < .0001$ ) assoziiert sei [20]. Die Arbeit von Seewi et al. wurde in Zusammenarbeit mit der gleichen Gießener Arbeitsgruppe durchgeführt, die auch unsere Labordiagnostik übernommen hat. Anders als in unserem Studienprotokoll wurde die Bestimmung der Insulinbindungskapazität in der Arbeit von Seewi et al. jedoch primär bei allen Patienten durchgeführt und nicht nur in der präselektierten Patientengruppe mit positivem IAK-Befund. In der Kölner Untersuchung bestand bei 52 % der Patienten und damit deutlich seltener als in unserem Patientenkollektiv eine positive Insulin-Antikörperbindung von > 15 %. Möglicherweise hängt dies mit dem Unterschied im diagnostischen Ablauf, aber auch mit einer anderen Zusammensetzung des Patientenkollektivs zusammen: Während bei uns die Mehrheit der Patienten mit einer Insulinpumpe versorgt war (und CSII als Therapieform mit einer signifikant höheren Rate positiver IAK-Bindungswerte einherging), waren bei Seewi et al. bis auf einen Patienten alle mit MDI behandelt. Das Durchschnittsalter der Patienten lag zudem mit 13.5 Jahren etwas höher als in unserer Untersuchung (11.5 Jahre). Zudem war das Patientenkollektiv der Kölner Arbeitsgruppe nach dem Kriterium von

stattgehabten schweren Hypoglykämien vorselektiert. 43 % (22 von 73) dieser Patienten hatten innerhalb von 18 Monaten schwere Hypoglykämien im Vergleich zu nur 6.5 % im Vorjahr der Untersuchung mit einer zudem weitergefassten Definition bei unserer Studienpopulation. Es liegt nahe zu vermuten, dass es sich bei den Patienten von Seewi et al. um eine Gruppe mit einer besonderen Hypoglykämieproblematik handelt. Bei diesen Patienten wären aber in logischer Konsequenz auch entsprechend hohe prozentuale Insulin-Antikörperbindungswerte zu erwarten. Die durchschnittliche Insulinbindungskapazität in der Gruppe der Patienten mit schweren nicht-erklärbaren Hypoglykämien wird von Seewi et al. jedoch mit 27.1 % (versus 7.0 % in der Gruppe mit erklärbaren schweren Hypoglykämien und 11.2 % in der Gruppe ohne jegliche schwere Hypoglykämien,  $p = .0003$ ) angegeben. Diese Werte liegen insgesamt deutlich unter den von uns erhobenen Ergebnissen (34.4 % in der Patientengruppe mit Hypoglykämieeigung, 31.4 % in der Patientengruppe ohne Hypoglykämieeigung). Sie unterscheiden sich noch gravierender von den Extremwerten, die in Fallbeispielen von Patienten mit einer ausgeprägten Hypoglykämieproblematik im Zusammenhang mit IAK angegeben werden wie etwa bei Jäger (2 Patienten mit initialer Insulinbindung von 68 % und 70 %, Jäger 2004). In allen drei Untersuchungen wurde das gleiche Laborverfahren genutzt. Festzuhalten ist, dass Seewi et al. bei insgesamt nur moderat erhöhten Bindungswerten klare Gruppenunterschiede fanden, während in unserem Patientengut insgesamt höhere, sich aber in den Gruppen weniger stark unterscheidende Werte der initialen Insulin-Antikörperbindung erhoben wurden.

Die Daten von Seewi et al. werden gestützt durch eine ältere Arbeit, die jedoch nur in polnischer Sprache publiziert wurde und daher nur eingeschränkt für die Literaturanalyse berücksichtigt werden konnte [126]. Die polnische Arbeitsgruppe untersuchte IAK-Bindungsniveaus bei 33 Kindern und Jugendlichen mit T1D unmittelbar nach einer stattgehabten schweren Hypoglykämien im Vergleich zu 30 Kontrollpatienten ohne schwere Hypoglykämien in der Eigenanamnese und fand eine signifikante positive Korrelation zwischen dem Auftreten schwerer Hypoglykämien und höheren IAK-Bindungslevel (IAK-Bindung von 30.6 % nach bzw. 35.9 % vor schweren Hypoglykämien versus 19.5 % in der Kontrollgruppe,  $p = 0.04$ , [126]). Auch in dieser Arbeit wurden Patienten untersucht, die älter waren als in unserer Studienpopulation (durchschnittlich 13.2 Jahre). Möglicherweise spielt das unterschiedliche Studiendesign mit der Präselektion von Patienten mit (nicht-erklärbaren) schweren Hypoglykämien bei Seewi et al. und Mianowska et al. eine Rolle für das Studienergebnis. Andererseits kam

eine rumänische Arbeitsgruppe mit einem ähnlichen Gruppenvergleich bei erwachsenen T1D-Patienten mit und ohne stattgehabte schwere Hypoglykämien (allerdings ohne Berücksichtigung von deren Erklärbarkeit) ebenfalls zu einem negativen Ergebnis [120]. Auch die oben vorgestellten Ergebnisse von Wredling et al. wurden in einem ähnlichen Studienprotokoll erhoben [115]. Die Diskrepanz zwischen den Ergebnissen von Seewi und Mianowska einerseits und unseren Daten sowie den vorgestellten anderen Publikationen andererseits lässt sich insofern nicht abschließend erklären.

### *5.2.3 Kinetik der Insulin/Antikörper-Dissoziation und Hypoglykämien*

Die als dritter Schritt der Insulinantikörperdiagnostik in unserer Arbeit durchgeführte Untersuchung der zeitabhängigen Insulin/Antikörper-Dissoziation nach Jäger [110] stellt eine Ergänzung der bisherigen Untersuchungsmethoden zur Beschreibung des Insulinantikörperstatus dar, die bisher in wissenschaftlichen Untersuchungen keine systematische Anwendung gefunden hat.

In der oben vorgestellten Arbeit von Seewi et al. zu nicht-erklärbaren schweren Hypoglykämien und Insulin-Antikörperbindung wurde sie zwar durchgeführt, die Daten werden aber nicht vollständig dargestellt. Seewi et al. geben an, dass in der Patientengruppe mit positiver initialer Bindung bei 74 % der Patienten nach 60 Minuten die IAK-Bindung auf < 15 % gesunken war und nach 240 Minuten bei allen Patienten eine IAK-Bindung von < 15 % gemessen wurde. Dies entspricht in etwa dem von uns erhobenen Dissoziationsverlauf (vgl. Tabelle 11 und Abbildung 9) und unterstützt damit die Reproduzierbarkeit der Untersuchungsmethode. Detaillierte Daten insbesondere für Patienten mit und ohne nicht-erklärbare schwere Hypoglykämien im Vergleich sind jedoch nicht angegeben, so dass im Hinblick auf die Fragestellung nach einem etwaigen Zusammenhang zwischen Hypoglykämien und IAK-Dissoziationsverlauf keine Aussagen abgeleitet werden können [20].

Gemäß der von Jäger et al. im Zusammenhang mit der Methode publizierten Fallbeschreibungen [110] war unsere Annahme, dass vor allem bei Patienten mit stark verzögerten Insulin/Antikörper-Dissoziation aufgrund der großen zeitlichen Latenz zur letzten Mahlzeit und letzten Insulingabe vermehrt nicht-erklärbare Hypoglykämien

auftreten könnten. In unserer Untersuchung bestand bei 32 von 65 Patienten (49 %) eine verzögerte Dissoziation der Insulin-Antikörperbindung (nach 30 min noch > 15%). Bei knapp der Hälfte dieser Patienten (15 von 32) betrug der prozentuale Anteil gebundenen Insulins zu diesem Zeitpunkt noch > 25 % (stark verzögerte Dissoziation). Der Befund einer verzögerten Dissoziation war mit 63.9 % signifikant häufiger bei Patienten mit Insulinpumpentherapie als bei MDI-Patienten (31.0 %). Dies ergänzt die hinsichtlich der häufigeren positiven initialen Insulinbindung unter CSII geäußerte Vermutung der Unterschiede im Reaktionsverhalten zwischen den unter beiden Therapieformen gebildeten Antikörper.

Ein Zusammenhang zwischen einer verzögerten Insulin/Antikörper-Dissoziation und vermehrten Hypoglykämien oder einer Hypoglykämieeigung ließ sich nicht mit statistischer Signifikanz nachweisen. Es fiel jedoch auf, dass die Häufigkeit nicht-erklärbarer Hypoglykämien und nicht-erklärbar langanhaltender Hypoglykämien mit dem Grad der Verzögerung der IAK-Dissoziation stetig zunahm. Dies war in den Kategorien der erklärbaren Hypoglykämien und der Gesamtzahl der Hypoglykämien nicht der Fall. Zudem bestanden bei der Patientengruppe mit einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien im Verlauf durchgehend über alle Messzeitpunkte höhere Werte der prozentualen Insulin-Antikörperbindung. Da auch diese Unterschiede allenfalls grenzwertige Signifikanz hatten, sind daraus keine allgemeinen Aussagen abzuleiten. Dennoch können systematische Unterschiede in der Art und Dauer der Insulin-Antikörperbindung zwischen Patienten mit und ohne eine Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien angesichts dieser Daten nicht vollständig ausgeschlossen werden.

### **5.3 Evaluation und Ausblick**

Die vorliegende Untersuchung wurde als prospektive Querschnittsstudie an einem hinsichtlich der klinischen Basisdaten repräsentativen Patientenkollektiv in einem zertifizierten Diabeteszentrum durchgeführt. Mit 108 eingeschlossenen Studienpatienten lag die Fallzahl höher als in den meisten aktuellen klinischen Studien mit ähnlichen Fragestellungen [20, 72, 126] und nach anerkannten Regeln der Statistik

ausreichend hoch, um bestehende Unterschiede nachzuweisen. Durch den von uns verwendeten diagnostischen Algorithmus und die insgesamt unerwartet hohe Rate positiver Ergebnisse des Insulinantikörperbefunds und der initialen Insulinantikörperbindung ergaben sich in den einzelnen Subgruppen, besonders bei der Patientengruppe mit negativer initialer Insulin-Antikörperbindung (n = 9) dennoch sehr kleine Fallzahlen, welche die Möglichkeiten Detailaussagen zu treffen etwas einschränkten.

Die unserer Arbeit zugrundeliegende Datenerhebung durch Glukoseeigenmessungen (SMBG) im häuslichen Umfeld unterliegt methodischen Besonderheiten, da sie nur punktuelle Werte und insbesondere kaum nächtliche Daten wiedergibt („underreporting“). Aus aktuellen CGM-Studien lässt sich entnehmen, dass nur etwa ein Drittel aller mit CGM gemessenen Glukosewerte < 70 mg/dl durch regelmäßige SMBG auch dokumentiert wurden [36]. Durch eindeutige Vorgaben zu den minimal erforderlichen Messungen im Studienprotokoll, digitale Speicherung aller gemessenen Werte und strukturierte und vollständige Auswertung derselben mit Nichtberücksichtigung unmittelbarer Kontrollmessungen vor Korrektur, wurde diesen methodischen Limitationen in unserer Untersuchung systematisch begegnet. Mit durchschnittlich 5.8 Messungen pro Tag und auswertbaren Messungen an durchschnittlich 27.9 (Bereich 26-28) Tagen im 28-tägigen Untersuchungszeitraum gelang insgesamt eine sehr umfassende Dokumentation. Insgesamt und in beiden Therapiegruppen liegen die Messfrequenzen in unserer Untersuchung höher als im Durchschnitt der in der DPV-Datenbank dokumentierten Werte ( $4.7 \pm 1.6$  Messungen/d bei allen Patienten,  $5.3 \pm 1.8$  Messungen/d bei Patienten mit Insulinpumpentherapie und  $4.7 \pm 1.5$  Messungen/d unter MDI, [150]). Dennoch ist bei der Interpretation der Daten aus SMBG zu beachten, dass bei auffälligen Messwerten eine klinische Indikation zu weiteren Kontrollmessungen gegeben ist und insofern Extremwerte überrepräsentiert sein können („overreporting“, [150]). Dies spiegelt sich in unserer Untersuchung in der größeren Messhäufigkeit bei Patienten mit Hypoglykämieeigung ( $6.8 \pm 3.0$  Messungen/d) wider. Auch in Zeiten zunehmender technischer Möglichkeiten in der Glukosekontrolle ist die punktuelle Selbstkontrolle der Glukosewerte aktuell weiterhin der Standard in der ambulanten Diabetestherapie bei Kindern und Jugendlichen [15, 151]. Wir sind deshalb der Überzeugung, dass die im Rahmen

unserer Untersuchung durch SMBG erhobenen Daten aufgrund ihrer Realitätsnähe eine hohe klinische Aussagekraft besitzen.

In der Fokussierung auf Hypoglykämien mit einem Grenzwert von 65 mg/dl unterscheidet sich unsere Arbeiten grundsätzlich von der Mehrzahl der publizierten Arbeiten, welche überwiegend Einflussfaktoren auf die Häufigkeit schwerer Hypoglykämien untersuchen. Schwere Hypoglykämien sind jedoch in der Diabetestherapie bei Kindern und Jugendlichen glücklicher Weise ein sehr seltenes klinisches Problem. Unser Anliegen war es, für die deutlich größere Gruppe von Kindern mit T1D, bei denen in der Diabetessprechstunde stark schwankende Glukosewerte mit häufigen Abweichungen unterhalb des Zielbereichs ohne plausible Erklärung auffallen zu evaluieren, ob dieses Phänomen einen Zusammenhang mit Parametern des Insulinantikörperstatus haben könnte. Diese Gruppe von Patienten mit einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien erstmalig systematisch beschrieben zu haben, ist ein Verdienst dieser Arbeit.

Die Auswertung der gespeicherten Glukosemesswerte im Hinblick auf ihre Erklärbarkeit erfolgte auf der Grundlage von mit DiabassPro generierten Grafiken in einem strukturierten Patientengespräch, welches bei allen Patienten von dem gleichen Untersucher in gleicher Systematik geführt wurde auf der Basis der häuslichen Dokumentation. Dieses Procedere schließt Fehlinterpretationen und Erinnerungsdefizite nicht aus. Der geringe Anteil als unbekannt gewerteter Hypoglykämien (3.4 % der Hypoglykämien/gesamt), die nicht eindeutig als erklärbar oder nicht-erklärbar eingestuft werden konnten, spricht aber für eine sehr umfassende Dokumentation. Die Auswertung der Hypoglykämiedaten in drei verschiedenen Herangehensweisen (Anzahl/Woche, prozentualer Anteil betroffener Tage und Gruppenvergleich Hypoglykämieeignung versus keine Hypoglykämieeignung) mit einander bestätigenden Einzelergebnissen unterstützt zusätzlich die Qualität unserer Daten.

Im Hinblick auf die Insulinantikörperdiagnostik ergaben sich trotz des negativen Gesamtergebnisses interessante neue Erkenntnisse. Die signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit Insulinpumpentherapie einerseits und MDI andererseits in den Ergebnissen der Insulinantikörperbindung und -dissoziation werfen Fragen auf, denen es sich möglicherweise in weiteren Studien nachzugehen lohnt. Worin unterscheiden

sich die Insulinantikörper von Patienten mit CSII und MDI immunologisch? Gibt es bei Insulinpumpen bestimmte Materialeigenschaften, welche die Bildung besonders stark reagibler IAK begünstigen und sich in der Folge ungünstig für die Stoffwechselkontrolle auswirken könnten? Angesichts des rasanten technologischen Fortschritts in der Diabetestherapie mit immer komplexeren implantierbaren Glukosesensoren und Pumpensystemen, die den Einsatz verschiedener Fremdmaterialien erfordern, könnte dies von hoher Relevanz sein.

Bei der Bewertung unserer Ergebnisse zum Insulinantikörperbefund ist zu berücksichtigen, dass in unserer Untersuchung nicht der testdiagnostische Goldstandard (Radioliganden-Assay), sondern ein ELISA zum Einsatz kam. Nach Angaben des Herstellers ist die Sensitivität dieses Tests deutlich geringer. Dennoch sahen wir mit 60 % eine sehr hohe Rate positiver Befunde. Aus unseren Daten ergibt sich kein Anhaltspunkt für einen weiteren Einsatz dieses Tests bei Kindern und Jugendlichen mit T1D unter Insulintherapie.

Im Rahmen von klinischen Studien erhobene Daten für die Insulinantikörperbindung und deren Dissoziationsverlauf bei Kindern und Jugendlichen mit Diabetes wurden vor dieser Arbeit noch von keiner anderen Arbeitsgruppe vergleichbar detailliert publiziert. Zusammenhänge der Ergebnisse dieses diagnostischen Verfahrens mit der Hypoglykämiehäufigkeit ließen sich in unserer Arbeit nicht mit überzeugender Signifikanz nachweisen, insofern können auf der Grundlage unserer Daten keine Empfehlungen zum Einsatz des Tests im klinischen Alltag der Diabetestherapie gegeben werden. Der dargestellte Trend zu einer prozentual höheren Insulinbindungskapazität der IAK im Verlauf der gesamten Messzeit bei Patienten mit einer Neigung zu nicht-erklärbaren Hypoglykämien sollte jedoch aus unserer Sicht Anlass zu einer weiteren wissenschaftlichen Beschäftigung mit diesem Parameter geben. Im Rahmen von Studien mit CGM-Verfahren könnte dieser Aspekt noch wesentlich präzisiert werden. Möglicherweise liegen hier weitere Ansatzpunkte zum besseren Verständnis des nach unseren Daten mehr als ein Drittel der Patienten betreffenden belastenden klinischen Phänomens einer Hypoglykämieeigung.

## LITERATURVERZEICHNIS

- 1 World Health Organization/ International Diabetes Federation: Definition and Diagnosis of Diabetes Mellitus and Intermediate Hyperglycaemia. Report of a WHO/IDF Consultation. Hg. v. World Health Organization, 2006. Online verfügbar unter [http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes\\_new.pdf](http://www.who.int/diabetes/publications/Definition%20and%20diagnosis%20of%20diabetes_new.pdf), zuletzt geprüft am 12.10.2015.
- 2 Craig ME, Jefferies C, Dabelea D, Balde N, Seth A, Donaghue KC: ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Definition, epidemiology, and classification of diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes Suppl* 2014;15(20),4-17.
- 3 Harjutsalo V, Sund R, Knip M, Groop PH: Incidence of type 1 diabetes in Finland. *JAMA* 2013;310(4),427–8.
- 4 Patterson CC, Dahlquist CG, Gyürüs E, Green A, Soltész G, the EURODIAB Study Group: Incidence trends for childhood type 1 diabetes in Europe during 1989–2003 and predicted new cases 2005–20: a multicentre prospective registration study. *Lancet* 2009;373(9680),2027-33.
- 5 Neu A, Eehalt S, Willasch A, Kehrner M, Hub R, Ranke MB: Rising incidence of type 1 diabetes in Germany: 12-year trend analysis in children 0-14 years of age. *Diabetes Care* 2001;24(4),785–6.
- 6 Skriverhaug T, Stene LC, Drivvoll AK, Strøm H, Joner G: Incidence of type 1 diabetes in Norway among children aged 0-14 years between 1989 and 2012: has the incidence stopped rising? Results from the Norwegian Childhood Diabetes Registry. *Diabetologia* 2014;57(1),57–62.
- 7 Bendas A; Rothe U, Kiess W; Kapellen TM, Stange T, Manuwald U et al.: Trends in Incidence Rates during 1999-2008 and Prevalence in 2008 of Childhood Type 1 Diabetes Mellitus in Germany--Model-Based National Estimates. *PLoS One* 2015;10(7):e0132716.
- 8 American Diabetes Association: Standards of Medical Care in Diabetes - 2015. (2) Classification and diagnosis of diabetes. In: *Diabetes Care Suppl* 2015;38:S8-16.
- 9 Haak T, Kellerer M (Hg.): Diagnostik, Therapie und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus im Kindes- und Jugendalter. Evidenzbasierte Leitlinie. Deutsche Diabetes Gesellschaft, 2009, online verfügbar unter [http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte\\_Leitlinien/EBL\\_Kinderalter\\_2010.pdf](http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte_Leitlinien/EBL_Kinderalter_2010.pdf), zuletzt geprüft am 09.10.2015.
- 10 Danne T, Bangstad HJ, Deeb L, Jarosz-Chobot P, Mungaie L, Saboo B et al. (2014): ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Insulin treatment in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes Suppl* 2014;15(20),115-34.
- 11 Ludwig-Seibold CU, Holder M, Rami B, Raile K, Heidtmann B, Holl RW: Continuous glucose monitoring in children, adolescents, and adults with type 1 diabetes mellitus: analysis from the prospective DPV diabetes documentation and quality management system from Germany and Austria. *Pediatr Diabetes* 2012;13(1),12–14.

- 12 Rewers MJ, Pillay K, de Beaufort C, Craig ME, Hanas R, Acerini CL, Maahs DM: ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Assessment and monitoring of glycemic control in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes Suppl* 2014;15(20),102–14.
- 13 Kordonouri O, Klingensmith G, Knip M, Holl RW, Aanstoot HJ, Menon PSN, Craig ME: ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Other complications and diabetes-associated conditions in children and adolescents. *Pediatr Diabetes Suppl* 2014;15(20),270–8.
- 14 Seaquist ER, Anderson J, Childs B, Cryer P, Dagogo-Jack S, Fish L et al.: Hypoglycemia and diabetes: a report of a workgroup of the American Diabetes Association and the Endocrine Society. *Diabetes Care* 2013;36(5),1384–95.
- 15 Ly TT, Maahs DM, Rewers A, Dunger D, Oduwole A, Jones TW: ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Assessment and management of hypoglycemia in children and adolescents with diabetes. *Pediatr Diabetes Suppl* 2014;15(20),180–92.
- 16 Frier BM: Defining hypoglycaemia: what level has clinical relevance? *Diabetologia* 2009;52(1),31–34.
- 17 Amiel, SA: It's all in the name: what exactly is hypoglycemia? *Diabetic Hypoglycemia* 2013;5(3),15–8.
- 18 Mitrakou A, Ryan C, Veneman T, Mokan M, Jenssen T, Kiss I et al.: Hierarchy of glycemic thresholds for counterregulatory hormone secretion, symptoms, and cerebral dysfunction. *Am J Physiol* 1991;260(1Pt1),E67-74.
- 19 Cryer, PE: Hypoglycemia in type 1 diabetes mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39(3),641–54.
- 20 Seewi O, Jäger C, Bretzel RG, Schönau E: Insulin binding to antibodies is a risk factor for inexplicable severe hypoglycaemia in children with type-1 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2008;116(5),293–7.
- 21 Mianowska B, Bougneres PF, Bodalski J: Severe hypoglycemia in diabetic children and adolescents: frequency and circumstances of occurrence. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw* 1998;4(2),99–103.
- 22 Davis EA, Keating B, Byrne GC, Russell M, Jones TW: Hypoglycemia: incidence and clinical predictors in a large population-based sample of children and adolescents with IDDM. *Diabetes Care* 1997;20(1),22–5.
- 23 Boggetti F, Brunelli A, Meschi F, Viscardi M, Bonfanti R, Chiumello G: Frequency and correlates of severe hypoglycaemia in children and adolescents with diabetes mellitus. *Eur J Pediatr* 1997;156(8),589–91.
- 24 Cengiz E, Xing D, Wong JC, Wolfsdorf JI, Haymond MW, Rewers A et al.: (2013): Severe hypoglycemia and diabetic ketoacidosis among youth with type 1 diabetes in the T1D Exchange clinic registry. *Pediatr Diabetes* 2013;14(6),447–54.
- 25 Mortensen HB, Hougaard P: Comparison of metabolic control in a cross-sectional study of 2,873 children and adolescents with IDDM from 18 countries. The Hvidøre Study Group on Childhood Diabetes. *Diabetes Care* 1997;20(5),714–20.

- 26 Wagner VM, Grabert M, Holl RW: Severe hypoglycaemia, metabolic control and diabetes management in children with type 1 diabetes in the decade after the Diabetes Control and Complications Trial -- a large-scale multicentre study. *Eur J Pediatr* 2005;164,(2),73–9.
- 27 Fiallo-Scharer R, Cheng J, Beck RW, Buckingham BA, Chase HP, Kollman C et al.: Factors predictive of severe hypoglycemia in type 1 diabetes: analysis from the Juvenile Diabetes Research Foundation continuous glucose monitoring randomized control trial dataset. *Diabetes Care* 2011;34(3),586–90.
- 28 Rewers A, Chase HP, Mackenzie T, Walravens P, Roback M, Rewers M et al.: Predictors of acute complications in children with type 1 diabetes. *JAMA* 2002;287(19),2511–8.
- 29 Pickup JC, Sutton AJ: Severe hypoglycaemia and glycaemic control in Type 1 diabetes: meta-analysis of multiple daily insulin injections compared with continuous subcutaneous insulin infusion. *Diabetic Med* 2008;25(7),765–74.
- 30 Bali C, Gurdet C, Irsigler K: Retrospektive Analyse zur Inzidenz schwerer Hypoglykämien bei 458 Typ-1-Diabetikern. *Acta Med Austriaca* 1997;24(5), 165–9.
- 31 Egger M, Gschwend S, Smith GD, Zuppinger K: Increasing incidence of hypoglycemic coma in children with IDDM. *Diabetes Care* 1991;14(11),1001–5.
- 32 Östenson CG, Geelhoed-Duijvestijn P, Lahtela J, Weitgasser R, Markert-Jensen M, Pedersen-Bjergaard U: Self-reported non-severe hypoglycaemic events in Europe. *Diabet Med* 2014;31(1),92–101.
- 33 Kulzer B, Seitz L, Kern W: Real-world patient-reported rates of non-severe hypoglycaemic events in Germany. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2014;122(3),167–72.
- 34 Janssen MM, Snoek FJ, de Jongh RT, Casteleijn S, Devillé W, Heine RJ: Biological and behavioural determinants of the frequency of mild, biochemical hypoglycaemia in patients with Type 1 diabetes on multiple insulin injection therapy. *Diabetes Metab Res Rev* 2000;16(3),157–63.
- 35 Beck RW, Hirsch IB, Laffel L, Tamborlane WV, Bode BW, Buckingham B et al.: The effect of continuous glucose monitoring in well-controlled type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2009;32(8),1378–83.
- 36 Sundberg F; Forsander G: Detection and treatment efficacy of hypoglycemic events in the everyday life of children younger than 7 yr. *Pediatr Diabetes* 2014;15(1),34–40.
- 37 Heller SR, Cryer PE: Reduced neuroendocrine and symptomatic responses to subsequent hypoglycemia after 1 episode of hypoglycemia in nondiabetic humans. *Diabetes* 1991;40(2),223–6.
- 38 Cryer, PE: Hypoglycemia: still the limiting factor in the glycemic management of diabetes. *Endocr Pract* 2008;14(6),750–6.

- 39 Fanelli CG, Epifano L, Rambotti AM, Pampanelli S, Di Vincenzo A, Modarelli F et al.: Meticulous prevention of hypoglycemia normalizes the glycemic thresholds and magnitude of most of neuroendocrine responses to, symptoms of, and cognitive function during hypoglycemia in intensively treated patients with short-term IDDM. *Diabetes* 1993;42(11),1683–9.
- 40 Cryer, PE: Glycemic goals in diabetes: trade-off between glycemic control and iatrogenic hypoglycemia. *Diabetes* 2014;63(7),2188–95.
- 41 Tanenberg RJ, Newton CA, Drake AJ: Confirmation of hypoglycemia in the "dead-in-bed" syndrome, as captured by a retrospective continuous glucose monitoring system. *Endocr Pract* 2010;16(2),244–8.
- 42 Skriverhaug T, Bangstad HJ, Stene LC, Sandvik L, Hanssen KF, Joner G: Long-term mortality in a nationwide cohort of childhood-onset type 1 diabetic patients in Norway. *Diabetologia* 2006;49(2),298–305
- 43 Edge JA, Ford-Adams ME, Dunger DB: Causes of death in children with insulin dependent diabetes 1990-96. *Arch Dis Child* 1999;81(4),318–23.
- 44 Jacobson AM, Musen G, Ryan CM, Silvers N, Cleary P, Waberski B et al.: Long-term effect of diabetes and its treatment on cognitive function. *N Engl J Med* 2007;356(18),1842–52.
- 45 Wysocki T, Harris MA, Mauras N, Fox L, Taylor A, Jackson SC, White NH: Absence of adverse effects of severe hypoglycemia on cognitive function in school-aged children with diabetes over 18 months. *Diabetes Care* 2003;26(4),1100–5.
- 46 Perantie, DC, Lim A, Wu J, Weaver P, Warren, SL, Sadler M et al.: Effects of prior hypoglycemia and hyperglycemia on cognition in children with type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2008;9(2),87–95.
- 47 Perantie DC, Koller JM, Weaver PM, Lugar HM, Black KJ, White NH, Hershey T: Prospectively determined impact of type 1 diabetes on brain volume during development. *Diabetes* 2011;60(11),3006–14.
- 48 Draelos MT, Jacobson AM, Weinger K, Widom B, Ryan CM, Finkelstein DM, Simonson DC: Cognitive function in patients with insulin-dependent diabetes mellitus during hyperglycemia and hypoglycemia. *Am J Med* 1995;98(2),135–44.
- 49 King P, Kong MF, Parkin H, Macdonald IA, Tattersall RB: Well-being, cerebral function, and physical fatigue after nocturnal hypoglycemia in IDDM. *Diabetes Care* 1998;21(3),341–5.
- 50 Brod M, Christensen T, Thomsen T, Bushnell DM: The impact of non-severe hypoglycemic events on work productivity and diabetes management. *Value Health* 2011;14(5),665–71.
- 51 Patton SR, Dolan LM, Henry R, Powers SW: Fear of hypoglycemia in parents of young children with type 1 diabetes mellitus. *J Clin Psychol Med Settings* 2008;15(3),252–9.

- 52 Bundeszentrale für gesundheitliche Aufklärung: Forschung und Praxis der Gesundheitsförderung - Band 6: Was erhält Menschen gesund? Antonovskys Modell der Salutogenese - Diskussionsstand und Stellenwert. Erweiterte Neuauflage. Unter Mitarbeit von Jürgen Bengel, Regine Strittmatter und Hildegard Willmann, Köln, 2001.
- 53 Andersen, OO: Clinical significance of anti-insulin-antibodies. *Acta Endocrinol Suppl* 1976;205,231–40.
- 54 Velcovsky, HG, Federlin KF: Insulin-specific IgG and IgE antibody response in type I diabetic subjects exclusively treated with human insulin (recombinant DNA). *Diabetes Care Suppl* 1982;5(2),126–8.
- 55 Devlin JG: Evidence for the existence of an IgM immuno-globulin to insulin. *Ir J Med Sci* 1966;6(491),507–10.
- 56 Faulk WP, Karam JH, Fudenberg HH: Human anti-insulin antibodies. *J Immunol* 1971;106(4),1112–6.
- 57 Devey M, Sanderson CJ, Carter D, Coomb, RR: IgD antibody to insulin. *Lancet* 1970;2(7686),1280–3.
- 58 Yagi Y, Maier P, Pressmann D, Arbesman CE, Reisman RE, Lenzner AR: Multiplicity of insulin-binding antibodies in human sera. Presence of antibody activity in Gamma-, Beta-2a, and Beta-2m-globulins. *J Immunol* 1963;90,760–9.
- 59 Fineberg SE, Kawabata TT, Finco-Kent D, Fountaine RJ, Finch GL, Krasner AS: Immunological responses to exogenous insulin. *Endocr Rev* 2007;28(6),625–52.
- 60 Jensen PE, Kapp JA: Stimulation of helper T cells and dominant suppressor T cells that recognize autologous insulin. *J Mol Cell Immunol* 1985;2(3),133–9.
- 61 Asplin CM, Hartog M, Goldie DJ: Change of insulin dosage, circulating free and bound insulin and insulin antibodies on transferring diabetics from conventional to highly purified porcine insulin. *Diabetologia* 1978;14(2),99–105.
- 62 Fineberg SE, Galloway JA, Fineberg NS, Rathbun MJ, Hufferd S: Immunogenicity of recombinant DNA human insulin. *Diabetologia* 1983;25(6),465–9.
- 63 Heding LG, Marshall MO, Persson B, Dahlquist G, Thalme B, Lindgren F et al.: Immunogenicity of monocomponent human and porcine insulin in newly diagnosed type 1 (insulin-dependent) diabetic children. *Diabetologia Suppl* 1984;27,96–8.
- 64 Scherthaner G: Immunogenicity and allergenic potential of animal and human insulins. *Diabetes Care Suppl* 1993;16(3),155–65.
- 65 Andersen, OO: Antibodies to proinsulin in diabetic patients treated with porcine insulin preparations. *Acta Endocrinol* 1973;73(2),304–13.
- 66 Åkerblom HK, Mäkelä AL: Insulin antibodies in the serum of diabetic children treated from the diagnosis of the disease with highly purified insulins. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1977;270,69-79.
- 67 Feinglos MN, Jegasothy BV: "Insulin" allergy due to zinc. *Lancet* 1979;1(8108),122–124.

- 68 Kurtz AB, Gray, RS, Markanday S, Nabarro JD: Circulating IgG antibody to protamine in patients treated with protamine-insulins. *Diabetologia* 1983;25(4),322–4.
- 69 Jäger C: Zur Bedeutung einer differenzierten Autoantikörper- und Antikörperanalytik in der Diabetologie. Habilitationsschrift zur Erlangung der Venia legendi Habilitationsschrift zur Erlangung der Venia legendi des Fachbereichs Humanmedizin der Justus-Liebig-Universität Gießen. VVB Lauferweiler Verlag, 2005.
- 70 Robbins DC, Mead PM: Free covalent aggregates of therapeutic insulin in blood of insulin-dependent diabetics. *Diabetes* 1987;36(2),147–51.
- 71 Lahtela JT, Knip M, Paul R, Antonen J, Salmi J: Severe antibody-mediated human insulin resistance: successful treatment with the insulin analog lispro. A case report. *Diabetes Care* 1997;20(1),71–3.
- 72 Sahin SB, Cetinkalp S, Ozgen AG, Saygili F, Yilmaz C: The importance of anti-insulin antibody in patients with type 1 diabetes mellitus treated with continuous subcutaneous insulin infusion or multiple daily insulin injections therapy. *Acta Diabetol* 2010;47(4),325–30.
- 73 Fineberg SE, Kawabata TT, Finco-Kent D, Liu C, Krasner AS: Antibody response to inhaled insulin in patients with type 1 or type 2 diabetes. An analysis of initial phase II and III inhaled insulin (Exubera) trials and a two-year extension trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(6),3287–94.
- 74 Lassmann-Vague V, Belicar P, Racca D, Vialette B, Sodoyez JC, Vague P: Immunogenicity of long-term intraperitoneal insulin administration with implantable programmable pumps. Metabolic consequences. *Diabetes Care* 1995;18(4),498–503.
- 75 Asplin CM, Dornan TL; Raghu PK, Hansen JA, Palmer JP: The antibody response to insulin therapy. A prospective study in HLA-typed insulin-dependent diabetic subjects. *Diabetes* 1984;33(10),966–9.
- 76 Salardi S, Cacciari E, Steri L, Donati S, Mandini M, Gualandi S et al.: An 8-year follow-up of anti-insulin antibodies in diabetic children: relation to insulin autoantibodies, HLA type, beta-cell function, clinical course and type of insulin therapy. *Acta Paediatr* 1995;84(6),639–45.
- 77 Couper JJ, Haller MJ, Ziegler AG, Knip M, Ludvigsson J, Craig ME: ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Phases of type 1 diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes Suppl* 2014;15(20),18–25.
- 78 Ziegler AG, Rabl W, Albert E, Standl E: Insulin-Autoantikörper und Inselzellantikörper bei neu aufgetretenem Diabetes mellitus Typ I. Assoziation mit Manifestationsalter und HLA-Phänotyp. *Dtsch Med Wochenschr* 1991;116(46),1737–41.
- 79 Al Alwan I, Bin Dajim N, Jawdat D, Tamimi W, Al Ahmdi R, Albuhairan F: Prevalence of autoantibodies in children newly diagnosed with type 1 diabetes mellitus. *Br J Biomed Sci* 2012; 69(1):31–3.
- 80 Hirata Y, Tominaga M, Ito JI, Noguchi A: Spontaneous hypoglycemia with insulin autoimmunity in Graves' disease. *Ann Intern Med* 1974;81(2),214–8.

- 81 Hirata Y, Uchigata Y: Insulin autoimmune syndrome in Japan. *Diabetes Res Clin Pract Suppl* 1994;24,S153-7.
- 82 Lupsa BC, Chong AY, Cochran EK, Soos MA, Semple RK, Gorden P: Autoimmune forms of hypoglycemia. *Medicine* 2009;88(3),141–53.
- 83 Reisch N, Zwermann O, Reincke M: Hypoglykämien und transients Diabetes mellitus bei einem Autoimmun-Insulinsyndrom. *Dtsch Med Wochenschr* 2004;129(20), 1135–8.
- 84 Petersen KG, Storch MJ, Rother K, Licht T, Kerp L: Insulin and anti-insulin antibody interaction. Evidence for the formation of 7 S and 10 S structures. *Diabetes* 1985;34(8),799–802.
- 85 Tuft Louis: Insulin Hypersensitiveness: Immunologic considerations and case reports. *Am J Med Sci* 1928;176,707–20.
- 86 Lowell FC: Evidence for the existence of two antibodies for crystalline insulin. *Proc Soc Exper Biol And Med* 1942;150,167-72.
- 87 Berson SA; Yalow RS; Bauman A, Rothschild MA; Newerly K.: Insulin-I131 metabolism in human subjects: demonstration of insulin binding globulin in the circulation of insulin treated subjects. *J Clin Invest* 1956;35,170–90.
- 88 Harwood R: Insulin-binding antibodies and "spontaneous" hypoglycemia. *N Engl J Med* 1960;262,978–9.
- 89 Lowell FC: Immunologic studies in insulin resistance II. The presence of a neutralizing factor in the blood exhibiting some characteristics of an antibody. *J Clin Invest* 1944;23(2),233–40.
- 90 Berson SA, Yalow RS: Quantitative aspects of the reaction between insulin and insulin-binding antibody. *J Clin Invest* 1959;38,1996–2016.
- 91 van Haeften TW, Bolli GB, Dimitriadis GD, Gottesman IS, Horwitz DL, Gerich JE: Effect of insulin antibodies and their kinetic characteristics on plasma free insulin dynamics in patients with diabetes mellitus. *Metabolism* 1986;35(7),649–56.
- 92 van Haeften TW, Heiling VJ, Gerich JE: Adverse effects of insulin antibodies on postprandial plasma glucose and insulin profiles in diabetic patients without immune insulin resistance. Implications for intensive insulin regimens. *Diabetes* 1987;36(3),305–9.
- 93 Francis AJ, Hanning I, Alberti KG: The influence of insulin antibody levels on the plasma profiles and action of subcutaneously injected human and bovine short acting insulins. *Diabetologia* 1985;28(6),330–4.
- 94 Peters A, Klose O, Hefty R, Keck F, Kerner W: The influence of insulin antibodies on the pharmacokinetics of NPH insulin in patients with type 1 diabetes treated with human insulin. *Diabetic Med* 1995;12(10),925–30.
- 95 Bolli G, de Feo P, Compagnucci P, Cartechini MG, Angeletti G, Santeusano F et al.: Abnormal glucose counterregulation in insulin-dependent diabetes mellitus. Interaction of anti-insulin antibodies and impaired glucagon and epinephrine secretion. *Diabetes* 1983;32(2),134–41.
- 96 Gardner DF, Wilson HK, Podet EJ, Arakaki RF, Nell L.J, Thomas JW et al.: Prolonged action of regular insulin in diabetic patients: lack of relationship to circulating insulin antibodies. In: *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62(4), 621–7.

- 97 Heise T, Bot S, Tusek C, Stephan JA, Kawabata T, Finco-Kent D et al.: The effect of insulin antibodies on the metabolic action of inhaled and subcutaneous insulin: a prospective randomized pharmacodynamic study. *Diabetes Care* 2005;28(9),2161–9.
- 98 Chen JW, Frystyk J; Lauritzen T, Christiansen JS: Impact of insulin antibodies on insulin aspart pharmacokinetics and pharmacodynamics after 12-week treatment with multiple daily injections of biphasic insulin aspart 30 in patients with type 1 diabetes. *Eur J Endocrinol* 2005;153(6),907–13.
- 99 Dixon K, Exon PD, Hughes HR: (1972): Insulin antibodies in aetiology of labile diabetes. *Lancet* 1972;1(7746),343–7.
- 100 Keilacker H, Rjasanowski I, Ziegler M, Michaelis D, Woltanski KP, Besch W: Insulin antibodies in juvenile diabetes mellitus. Correlations to diabetic stability, insulin requirement and duration of insulin treatment. *Horm Metab Res* 1982;14(5),227–32.
- 101 Mianowska B, Szadkowska A, Pietrzak I, Zmysłowska A, Wegner O, Tomczonek J et al.: Immunogenicity of different brands of human insulin and rapid-acting insulin analogs in insulin-naïve children with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2011;12(2),78–84.
- 102 Winter S, Eckhard M, Bretzel RG, Bürstel M, Tafel J, Jäger C: Metabolic effects of insulin binding antibodies. *Diabetes, Stoffwechsel und Herz* 2011;20(6),369–72.
- 103 Quan H, Tan H, Li Q, Li J, Li S: Immunological hypoglycemia associated with insulin antibodies induced by exogenous insulin in 11 Chinese patients with diabetes. *J Diabetes Res* 2015, ID746271.
- 104 Jassam N, Amin N, Holland P, Semple RK, Halsall DJ, Wark G, Barth JH: Analytical and clinical challenges in a patient with concurrent type 1 diabetes, subcutaneous insulin resistance and insulin autoimmune syndrome. *Endocrinol Diabetes Metab Case Rep* 2014;13-0086.
- 105 Trabucchi A, Iacono RF, Guerra LL, Faccinetti NI, Krochik AG, Arriazu MC et al: Characterization of insulin antibodies by Surface Plasmon Resonance in two clinical cases: brittle diabetes and insulin autoimmune syndrome. *PloS One* 2013;8(12),e84099.
- 106 Segal T, Webb E, Viner R, Pusey C, Wild G, Allgrove J: Severe insulin resistance secondary to insulin antibodies: successful treatment with the immunosuppressant MMF. *Pediatr Diabetes* 2008;9(3Pt1),250–4.
- 107 Matsuyoshi A, Shimoda S, Tsuruzoe K, Taketa K, Chirioka T, Sakamoto F et al.: A case of slowly progressive type 1 diabetes with unstable glycemic control caused by unusual insulin antibody and successfully treated with steroid therapy. *Diabetes Res Clin Pract* 2006;72(3),238–43.
- 108 Koyama R, Nakanishi K, Kato M, Yamashita S, Kuwahara H, Katori H: Hypoglycemia and hyperglycemia due to insulin antibodies against therapeutic human insulin: treatment with double filtration plasmapheresis and prednisolone. *Am J Med Sci* 2005;329(5),259–64.
- 109 Kure M, Katsura Y, Kosano , Noritake M, Watanabe T, Iwaki Y et al.: A trial to assess the amount of insulin antibodies in diabetic patients by surface plasmon resonance. *Intern Med* 2005;44(2),100–6.

- 110 Jäger C, Eckhard M, Brendel MD, Bretzel RG: Diagnostic algorithm and management of immune-mediated complications associated with subcutaneous insulin therapy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004;112(8),416–421.
- 111 Razeghi S, Renner C, Überall MA, Stehr K: Nächtliche Hypoglykämien bei einer 12 Jahre alten Patientin mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus und Insulinantikörpern. *Monatsschr Kinderheilkd* 1998;146(8),773–6.
- 112 Moisés RS, Sá JR, Chacra AR, Russo EM: Relationship between insulin antibodies and metabolic control in type I diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res* 1990; 23(12),1243–52.
- 113 Livneh A, Avraham H, Bistrizter T, Weisglass L, Theodor R, Sack J: Deleterious effect of anti-insulin antibodies on diabetes control. *Isr J Med Sci* 1990;26(1),11–5.
- 114 Bistrizter T, Sack J, Theodor R, Weissglass L, Ben-Bassat I, Lahav M: Correlation between HbA1c, purified insulins, diabetic control, and insulin antibodies in diabetic children. *Horm Res* 1984;20(3),178–85.
- 115 Wredling R, Lins PE, Adamson U: Prevalence of anti-insulin antibodies and its relation to severe hypoglycaemia in insulin-treated diabetic patients. *Scand J Clin Lab Invest* 1990;50(5),551–7.
- 116 Walford S, Allison SP, Reeves WG: The effect of insulin antibodies on insulin dose and diabetic control. *Diabetologia* 1982; 22(2),106–10.
- 117 Asplin CM, Hartog M, Goldie DJ: The relationship between circulating free and bound insulin, insulin antibodies, insulin dosage and diabetic control in insulin treated diabetics. In: *Acta Endocrinol* 1978;87(2),330–8.
- 118 Goswami R, Jaleel A, Kochupillai NP: Insulin antibody response to bovine insulin therapy: functional significance among insulin requiring young diabetics in India. In: *Diabetes Res Clin Pract* 2000;49(1),7–15.
- 119 Fernández Castañer M, Pérez M, Maravall J, Montaña E, Soler J: Lack of relationship between insulin antibodies, metabolic control and insulin requirements in type 1 diabetes. *Diabet Med* 1996;13(7),686–7.
- 120 Ionescu-Tîrgoviște C, Mirodon Z, Paterache E, Cheța D, Mincu I: No relationship between insulin antibodies and hypoglycemia in insulin-treated diabetic patients. *Rom J Intern Med* 1991;29(3-4),189–98.
- 121 Hübinger A, Becker A, Gries FA: Total insulin levels in type 1 diabetic patients with insulin antibodies and their effect on insulin requirement and metabolic control. *Diabetes Res* 1988;7(2),65–9.
- 122 Asplin CM, Raghu P, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, McKnight B et al.: Randomized prospective trial of pure porcine and conventional bovine/porcine insulin. *Diabetes Care* 1987;10(3), 337–42.
- 123 Virgili F, Frigato F, Magnanini PG, Coronel GA, Iavicoli M: Reduction in insulin antibodies 42 months after transfer from porcine to human monocomponent insulins. *Diabetes Res* 1988;9(1),19–20.
- 124 Jeandidier N, Boivin S, Sapin R, Rosart-Ortega F, Uring-Lambert B, Réville P, Pinget M: Immunogenicity of intraperitoneal insulin infusion using programmable implantable devices. *Diabetologia* 1995;38(5),577–584.

- 125 Olsen CL, Chan E, Turner DS, Iravani M, Nagy M, Selam JL et al.: Insulin antibody responses after long-term intraperitoneal insulin administration via implantable programmable insulin delivery systems. *Diabetes Care* 1994;17(3),169–76.
- 126 Mianowska B, Perenc M, Heinrich A, Bodalski J: Severe hypoglycemia and insulin antibodies levels in children and adolescents with type 1 diabetes. *Endokrynol Diabetol Chor Przemiany Materii Wieku Rozw* 2003;9(1),29–34.
- 127 Schlosser M, Mueller PW, Törn C, Bonifacio E, Bingley PJ: Diabetes Antibody Standardization Program: evaluation of assays for insulin autoantibodies. *Diabetologia* 2010;53(12), 2611–20.
- 128 Kim MR, Sheeler LR, Mansharamani N, Haug MT, Faiman C, Gupta MK: Insulin antibodies and hypoglycemia in diabetic patients. Can a quantitative analysis of antibody binding predict the risk of hypoglycemia? *Endocrine* 1997, 6(3),285–291.
- 129 Velcovsky HG, Beringhoff B, Federlin K: Beitrag zur allergischen Sofortreaktion gegen Insulin. *Immun Infekt* 1978;6(4),146–52.
- 130 Schernthaner G, Ludwig H, Jarisch R, Bruneder H: Immediate-type allergy against insulin itself: clinical and immunologic studies on a diabetic patient with insulin intolerance. *Diabetes Care* 1981;4(2),196–201.
- 131 Kumar D: Lispro analog for treatment of generalized allergy to human insulin. *Diabetes Care* 1997;20(9),1357–9.
- 132 Hara M, Izumida Y, Sato N, Ohashi K, Osuga J, Tobe K et al.: Successful desensitization by glargine administration in a patient with insulin allergy: a case report. *Diabetes Res Clin Pract* 2009;84(3),e48-9.
- 133 Blumer, IR: Severe injection site reaction to insulin detemir. *Diabetes Care* 2006;29(4),946.
- 134 Sola-Gazagnes A, Pecquet C, M'Bemba J, Larger E, Slama G: Type I and type IV allergy to the insulin analogue detemir. *Lancet* 2007;369(9562),637–8.
- 135 Paley R; Tunbridge R: Dermal reactions to insulin therapy. *Diabetes* 1952; 1(1), 22–7.
- 136 Raile K, Noelle V, Landgraf R, Schwarz HP: Insulin antibodies are associated with lipotrophy but also with lipohypertrophy in children and adolescents with type 1 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2001;109(8), 393–6.
- 137 Lindsay RS, Ziegler AG, Hamilton BA.,Calder AA, Johnstone FD, Walker JD: Type 1 diabetes-related antibodies in the fetal circulation: prevalence and influence on cord insulin and birth weight in offspring of mothers with type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(7),3436–9.
- 138 Dufaitre-Patouraux L, Riveline JP, Renard E, Melki V, Belicar-Schaepelynck P, Selam JL et al.: Continuous intraperitoneal insulin infusion does not increase the risk of organ-specific autoimmune disease in type 1 diabetic patients: results of a multicentric, comparative study. *Diabetes Metab* 2006;32(5Pt1), 427–32.
- 139 Andersen, OO: Anti-insulin-antibodies and late diabetic complications. *Acta Endocrinol* 1976;83(2),329–40.
- 140 Klingensmith GJ: Insulin antibodies - are they still with us? Do they matter? In: *Pediatr Diabetes* 2011;12(2),75–7.

- 141 IDF: Global IDF/ ISPAD Guideline for Diabetes in Childhood and Adolescence. Hg. v. International Diabetes Federation, 2011, online verfügbar unter <http://www.idf.org/sites/default/files/Diabetes-in-Childhood-and-Adolescence-Guidelines.pdf> (zuletzt geprüft 12.10.2015).
- 142 Siemens Healthcare Diagnostics: Quantitative Measurement of Hemoglobin A1c on the DCA Vantage Point-of-Care Analyzer as a Diagnostic Test for Diabetes: An Internal Validation Study. Tarrytown, NY, USA. Online verfügbar unter [http://www.healthcare.siemens.com/siemens\\_hwem-hwem\\_sxxa\\_websites-context-root/wcm/idc/groups/public/@global/@lab/@poc/documents/download/mday/nzg2/~edisp/130890gc1\\_dca\\_hba1c\\_precision\\_study\\_white\\_paper\\_to\\_support\\_ous\\_dx\\_claim\\_final\\_web-01360756.pdf](http://www.healthcare.siemens.com/siemens_hwem-hwem_sxxa_websites-context-root/wcm/idc/groups/public/@global/@lab/@poc/documents/download/mday/nzg2/~edisp/130890gc1_dca_hba1c_precision_study_white_paper_to_support_ous_dx_claim_final_web-01360756.pdf), zuletzt geprüft am 12.10.2015.
- 143 Medipan GmbH: Arbeitsanleitung Medizym® IAA. Enzymimmunoassay zur Bestimmung Enzymimmunoassay zur Bestimmung der Autoantikörper gegen Insulin (IAA) in Humanserum, 01.02.2008, 1–4.
- 144 Grabert M, Schweiggert F, Holl RW: A framework for diabetes documentation and quality management in Germany: 10 years of experience with DPV. *Comput Methods Programs Biomed* 2002;69(2),115–21.
- 145 Danne T, Kordonouri O, Holder M, Haberland H, Golembowski S, Remus K et al.: Prevention of hypoglycemia by using low glucose suspend function in sensor-augmented pump therapy. *Diabetes Technol Ther* 2011;13(11),1129–34.
- 146 Craig ME, Handelsman P, Donaghue KC, Chan A, Blades B, Laina R et al.: Predictors of glycaemic control and hypoglycaemia in children and adolescents with type 1 diabetes from NSW and the ACT. *Med J Aust* 2002;177(5),235–8.
- 147 Karges B, Rosenbauer J, Kapellen T, Wagner VM, Schober E, Karges W, Holl RW: Hemoglobin A1c Levels and risk of severe hypoglycemia in children and young adults with type 1 diabetes from Germany and Austria: a trend analysis in a cohort of 37,539 patients between 1995 and 2012. *PLoS Med* 2014;11(10): e1001742.
- 148 DCCT Research Group: Hypoglycemia in the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 1997;46(2),271–86.
- 149 Hanas R, Adolfsson P: Insulin pumps in pediatric routine care improve long-term metabolic control without increasing the risk of hypoglycemia. *Pediatr Diabetes* 2006;7(1),25–31.
- 150 Ziegler AG, Hummel M, Schenker M, Bonifacio E: Autoantibody appearance and risk for development of childhood diabetes in offspring of parents with type 1 diabetes: the 2-year analysis of the German BABYDIAB Study. *Diabetes* 1999;48(3),460–8.
- 151 Holder M, Deiss, D, Lilienthal E, Heidtmann B: Insulinpumpentherapie und kontinuierliche Glukosemessung im Kindes- und Jugendalter. *Diabetologie* 2013;9(1),63–74.
- 152 Ziegler R, Heidtmann B, Hilgard D, Hofer S, Rosenbauer J, Holl RW: Frequency of SMBG correlates with HbA1c and acute complications in children and adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Diabetes* 2011;12(1),11–7.

- 153 Andersen, OO: Insulin antibody formation. I. The influence of age, sex, infections, insulin dosage and regulation of diabetes. *Acta Endocrinol* 1972;71(1),126–40.
- 154 Chawla AS, Hinberg I, Blais P, Johnson D: Aggregation of insulin, containing surfactants, in contact with different materials. *Diabetes* 1985;34(4),420–4.

## EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG

„Ich, Katrin Groß-Riemann, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Insulinantikörper und deren Bindungsverhalten im Zusammenhang mit dem Auftreten hypoglykämischer Episoden. Eine prospektive Querschnittsstudie bei Kindern und Jugendlichen mit Typ-1-Diabetes“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **LEBENS LAUF**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## **DANKSAGUNG**

Ich bedanke mich herzlich bei allen, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

An erster Stelle sind dies die Patienten des Diabeteszentrums für Kinder und Jugendliche der DRK Kliniken Berlin/ Westend und ihre Eltern, ohne deren Bereitschaft zur Studienteilnahme die Durchführung des Projekts nicht möglich gewesen wäre.

Ebenso danke ich dem ehemaligen Leiter des Diabeteszentrums Herrn Prof. Dr. Walter Burger für die Überlassung des Themas und die umfassende Unterstützung bei der Planung, Durchführung und Dokumentation der Arbeit. Seine beständige Bereitschaft, auftretende Fragen kurzfristig zu besprechen und seine stets motivierende Begleitung im Prozess der Entstehung dieser Arbeit haben maßgeblich dazu beigetragen, dass die Arbeit fertiggestellt werden konnte.

Für die organisatorische Hilfe bei der Datenerhebung danke ich den Diabetesberaterinnen und Arzthelferinnen des Diabeteszentrums für Kinder- und Jugendliche der DRK Kliniken Berlin/ Westend, insbesondere Frau Renate Lauterborn und Frau Silke Drescher.

Mein Dank gilt darüber hinaus Herrn Dr. med. Michael Eckhard und Frau Jutta Schmidt aus dem Universitätsklinikum Giessen für die fachkundige Beratung zur Interpretation der Antikörperdiagnostik und die Durchführung derselben.

Weiterhin danke ich sehr herzlich Herrn Reinhard Hartmann für die kompetente Beratung bei der biometrischen Planung der Studie und der statistischen Auswertung der Daten.

Meinem Mann, meinen Söhnen, meinen Eltern und Freunden danke ich für die Zeit und die Kraft, die sie mir für die Doktorarbeit gegeben und die sie selbst in Gespräche zum Fortgang der Arbeit, Kinderbetreuung und Korrekturlesen investiert haben.